

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

DISSERTAÇÃO

**ELABORAÇÃO E CARACTERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA DE
FILMES DE AMIDO ADICIONADOS DE AÇAÍ (*Euterpe oleracea* Mart.)
LIOFILIZADO.**

Kênia Letícia Ferreira Pessanha

2016



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

**ELABORAÇÃO E CARACTERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA DE
FILMES DE AMIDO ADICIONADOS DE AÇAÍ (*Euterpe oleracea* Mart.)
LIOFILIZADO.**

KÊNIA LETÍCIA FERREIRA PESSANHA

Sob a Orientação do Professor
Ronoel Luiz de Oliveira Godoy

e Co-orientação do Professor
Carlos Wanderlei Piler de Carvalho

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

Seropédica, RJ

Fevereiro, 2016

664.09 Pessanha, Kênia Letícia Ferreira, 1987-

P475e
T Elaboração e caracterização físico-química de filmes de
amido adicionados de açaí (Euterpe oleracea Mart.)
liofilizado / Kênia Letícia Ferreira Pessanha. - 2016.

99 f.: il.

Orientador: Ronoel Luiz de Oliveira Godoy.

Dissertação (mestrado) - Universidade Federal Rural do Rio
de Janeiro, Curso de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de
Alimentos, 2016.

Bibliografia: f. 75-99.

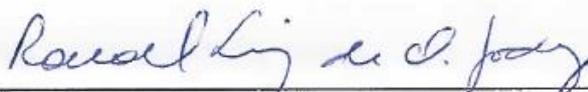
1. Alimentos - Embalagens - Teses. 2. Filmes plásticos -
Biodegradação - Teses. 3. Amido - Teses. 4. Açaí - Teses. 5.
Antocianinas - Teses. 6. Tecnologia de alimentos - Teses. I.
Godoy, Ronoel Luiz de Oliveira, 1951- II. Universidade
Federal Rural do Rio de Janeiro. Curso de Pós-Graduação em
Ciência 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**

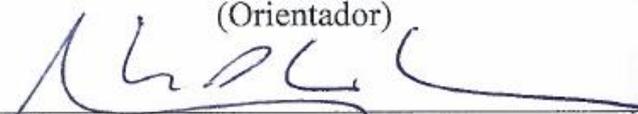
KÊNIA LETÍCIA FERREIRA PESSANHA

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

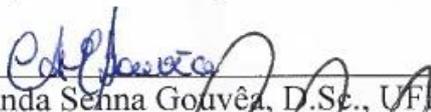
DISSERTAÇÃO APROVADA EM 02 / 03 / 2016.



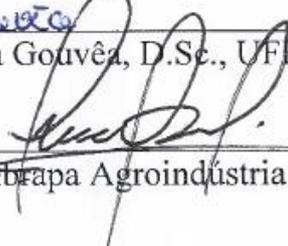
Ronoel Luiz de Oliveira Godoy, D.Sc., Embrapa Agroindústria de Alimentos
(Orientador)



Carlos Wanderlei Diler de Carvalho, Ph.D., Embrapa Agroindústria de Alimentos
(Co-orientador)



Ana Cristina Miranda Senna Gouvêa, D.Sc., UFRRJ



José Luis Ramirez Ascheri, D.Sc., Embrapa Agroindústria de Alimentos

DEDICATÓRIA

Dedico este trabalho a todas as pessoas que apesar das dificuldades impostas, encontraram nos estudos a única chance de mudança de vida. Também dedico a minha mãe Teresinha e a minha irmã Monique, por todo cuidado a mim dedicado e principalmente ao amor da minha vida, meu marido Renan, pelo apoio e amor incondicional durante todo este tempo ao meu lado.

AGRADECIMENTOS

À Jesus, que me deu saúde, força, luz e perseverança para concluir o mestrado.

À Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro e ao Programa de Pós Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos, pela oportunidade de realização deste estudo.

Ao meu orientador Ronoel Luiz de Oliveira Godoy, pela orientação, transmissão de conhecimentos, confiança, dedicação, pelos desafios e incentivos, fatores primordiais para a realização deste estudo.

Ao meu Co-orientador Carlos Wanderlei Piler de Carvalho, pelo apoio, disponibilidade e atenção durante a orientação.

Às queridas pesquisadoras Cristina Takeiti e Melícia Galdeano pela boa vontade, amizade e ajuda continua, meu agradecimento de coração.

Aos professores do Programa de Pós Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos, pelos ensinamentos.

À Embrapa Agroindústria de Alimentos pelas instalações que viabilizaram esta dissertação.

Expresso também todo meu agradecimento por minha formação moral e educacional à minha mãe Teresinha, pelo apoio incondicional e pela torcida em todos os momentos. A minha irmã Monique pelo incentivo. Às minhas tias Iara e Rita; meus primos Randley, Daniele, Raiane, Aline, Maíra e a minha Vó Letícia que nunca deixaram de me apoiar, assim como meu Vô Apolônio e minha tia Lenice que se ainda estivessem entre nós, estariam muito felizes com essa conquista. Ao meu amor, Renan, por todo companheirismo, apoio, ensinamentos, carinho e incentivo durante estes dois anos, em todas as fases do trabalho, nos momentos bons e difíceis dessa trajetória.

Aos pesquisadores Edla Bezerra e Rogério Germani, aos técnicos do laboratório de cereais da Embrapa Agroindústria de Alimentos Neuri, Sr. Francisco e principalmente a Adriana e Mariana, meu muito obrigada por tudo. Sempre digo que vocês não têm ideia da importância que tem para nós, estudantes.

Aos amigos da planta II da Embrapa Agroindústria de Alimentos, Ana Paula Gil por todo conhecimento transmitido e por toda paciência, a Érika Fraga pela disponibilidade em ajudar e ao Diego Renan, um amigo querido que quero levar para o resto da vida.

Aos analistas do laboratório de Cromatografia Manuela e Sidney, e a pesquisadora Renata Borguini por todo conhecimento, gentileza, disponibilidade e ajuda a mim doados, muito obrigada.

Às queridas do laboratório de Resíduos de Contaminantes, Alessandra, Mariana e à pesquisadora Izabela, por toda ajuda, pelas conversas e por ceder o laboratório.

A planta V Pós Colheita da Embrapa Agroindústria de Alimentos por ceder o laboratório, e a analista Henriqueta por todo conhecimento transmitido.

Aos amigos da UFRRJ e Embrapa: Carol que no início de tudo lá no Laboratório de Cromatografia Líquida tanto me ajudou, ao querido Davy por toda ajuda, transmissão de conhecimento e pelas risadas, a Mônica Farias por toda ajuda, treinamento e disponibilidade que foram essenciais para mim, ao Felipe Trombete e Regiane Ribeiro por todo apoio e incentivo desde o início, as queridas amigas Bete, Bebel, Ana Sérgio, Monique Barreto e Cristiane Oliveira pelos ensinamentos, risadas, companheirismo e amizade, a Sheyla Gonçalves, Michele Rodrigues, Júlia Rabelo, Renata Vaqueiro e Jhony pelo ótimo convívio e amizade. Aos poucos e verdadeiros amigos pessoais, e a todos que de uma forma ou de outra colaboraram prontamente na execução deste trabalho, tornando possível sua realização, quero expressar minha gratidão.

Ao CNPq, pelo apoio financeiro.

Muito obrigada!

RESUMO

PESSANHA, Kênia Letícia Ferreira. **Elaboração e caracterização físico-química de filmes de amido adicionados de açaí (*Euterpe oleracea* mart.) liofilizado**. 2016. 115 p. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos). Instituto de Tecnologia, Departamento de Alimentos, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ, 2016.

O uso de materiais sintéticos oriundos de fontes não renováveis tem gerado um alto impacto a nível ambiental, o que demanda da indústria o desenvolvimento de materiais a base de polímeros biodegradáveis. Polissacarídeos como o amido, têm a capacidade de formar filmes comestíveis, homogêneos e de baixo custo, gerando valor agregado aos alimentos devido à maior biodegradabilidade dos filmes e aumento da validade comercial do alimento embalado pela possibilidade da adição de compostos antioxidantes, nutrientes e pigmentos naturais ao filme, o que pode elevar as características nutricionais e organolépticas do alimento. Este trabalho teve como objetivo desenvolver e avaliar, química e fisicamente, filmes a partir de soluções filmogênicas (SF) elaboradas com amido de mandioca, açaí liofilizado e glicerol, através da técnica de espalhamento *casting*. Após o preparo sob condições controladas, as SF foram desidratadas a $30^{\circ}\text{C} \pm 5^{\circ}\text{C}$ por 24h em estufa com circulação de ar forçada. Os filmes resultantes foram desenformados e acondicionados em umidade relativa do ar controlada a 52,9% por seis dias para posterior caracterização. Os filmes foram caracterizados quanto a quantificação de antocianinas por Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE), capacidade antioxidante por ABTS^{•+} e ORAC, espessura, solubilidade em água, permeabilidade ao vapor de água (PVA), atividade de água (Aw), ângulo de contato, propriedades ópticas e propriedades mecânicas. Concomitantemente foi elaborado um filme controle (sem adição de açaí) que foi submetido aos mesmos testes físicos. Os resultados indicaram que a adição do açaí liofilizado permitiu o desenvolvimento de um filme plástico rico em antocianinas e com alta capacidade antioxidante (150,70 μmol Trolox) superior a frutas como o morango e framboesa. As antocianinas tiveram uma alta interação com as moléculas de amido, provavelmente através das hidroxilas de ambos que estabeleceram ligações de hidrogênio permitindo a imobilização das antocianinas no filme, o que foi vantajoso visto a instabilidade das antocianinas. A matriz polimérica adicionada de açaí liofilizado teve sua espessura aumentada o que provocou aumento da PVA, redução da solubilidade em água e da atividade de água, sendo estes dois últimos parâmetros vantajosos para uma embalagem de alimentos. Quanto às propriedades mecânicas, observou-se que a força de ruptura e a deformação na perfuração foram reduzidas. No teste de tração houve redução da tensão na ruptura e no módulo de elasticidade. A deformação na tração apresentou maior resultado, indicando que a adição do açaí liofilizado aumentou a flexibilidade do filme. Quanto a cor, o filme apresentou coloração escura compatível com o fruto, com potencial uso para embalagem de alimentos escuros.

Palavras chave: Embalagens ativas, biodegradáveis, antocianinas, antioxidantes.

ABSTRACT

PESSANHA, Kênia Letícia Ferreira. **Preparation and physicochemical characterization of starch films added açai (*Euterpe oleracea* Mart.) Lyophilized.** 2016. 115 p. Dissertation (Master in Food Science and Technology). Institute of Technology, Food Department, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ, 2016.

The use of synthetic materials derived from non-renewable sources has generated a high environmental impact, which required from the industry, the development of polymeric materials based on biodegradable polymers. Polysaccharides such as starch, are capable of forming low cost homogeneous edible films, resulting in aggregate value to the food due to the film increased biodegradability and increased shelf life of packaged food by the possibility of adding antioxidants, nutrients and natural pigments, which raise the nutritional and organoleptic characteristics of the product. This work was aimed at developing and evaluating, chemically and physically, films from filmogenic solutions (SF) developed with cassava starch, freeze-dried acai and glycerol, through spreading technique casting. After preparation under controlled conditions, SF were dried at 30 ± 5 ° C for 24 hours in an oven with forced air circulation. The resulting films were unmolded and stowed in relative humidity controlled at 52.9% for six days for further characterization. The developed films were characterized as the quantification of anthocyanins by High-Performance Liquid Chromatography (HPLC), Antioxidant Capacity by ABTS^{•+} and ORAC, thickness, water solubility, permeability to water vapor (PVA), water activity (Aw) , contact angle, optical properties and mechanical properties. At the same time a control film was elaborated (without the addition of acai) that underwent the same physical tests. The results indicated that the addition of acai pulp enabled the development of an edible plastic rich in anthocyanins and higher antioxidant capacity (150,70 $\mu\text{mol Trolox}$) than fruit like strawberry and raspberry. The anthocyanins had a higher interaction with the starch molecules, probably through the hydroxyl of both which established hydrogen bonds allowing immobilization of anthocyanins in the film, which was advantageous given the high instability of anthocyanins. The polymeric matrix added with freeze-dried acai had its thickness increased which caused an increase of the PVA, reduction of water solubility and water activity, the latter two being advantageous parameters for a food package. Regarding the mechanical properties, it was observed that the rupture power in drilling and deformation were reduced. In the pull test there was a reduction of stress at break and modulus of elasticity. The deformation in traction showed higher results, indicating that the addition of the freeze-dried acai increased film flexibility. As for color, the film presented a darker color compatible with the fruit, with a potential use for packaging of dark foods.

Keywords: Active packaging, biodegradable, anthocyanins, antioxidants.

LISTA DE ABREVIATURAS

ANVISA – Agência nacional de vigilância sanitária

Aw – Atividade de água

CO₂ – Dióxido de Carbono

CLAE – Cromatografia Líquida de Alta Eficiência

DEHP- Ftalato de di-(-2-etil-hexila)

DEHA- Adipato de di-(-2-etil-hexila)

EPA – Environmental Protection Agency

EO – *Euterpe Oleracea*

EP – *Euterpe Precatoria*

Hz- Unidade de Frequência

HPMC- Hidroxipropilmetilcelulose

IARC - Agência Internacional para Pesquisa sobre Câncer

OH – Hidroxila

O₂ - Oxigênio

OT – Óleo de tomilho

PO₂ – Permeabilidade ao oxigênio

PVA – Permeabilidade ao vapor de água

PVC – Policloreto de vinila

QSP- Quantidade suficiente para adquirir efeito desejado

RDI- Dose diária recomendada

SF – Solução filmogênica

Tg – Transição vítrea

γ - Amplitude

DTPDL - Determinação do Tamanho de Partícula por Difração de Raio Laser

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Decomposição de materiais na natureza, p. 4.

Tabela 2. Composição química e valor nutricional do açaí (*E. oleracea*), p. 15.

Tabela 3. Rendimento da extração de açaí a partir do despulpamento de 5 kg dos frutos, p. 18.

Tabela 4. Pontos da Curva Padrão de Trolox - Método ORAC, p. 41.

Tabela 5. Quantidade de matéria-prima utilizada no desenvolvimento dos filmes, p. 43.

Tabela 6. Teor de umidade das matérias-primas utilizadas no desenvolvimento dos filmes, p. 51.

Tabela 7. Resultado da análise colorimétrica para o açaí liofilizado, p. 51.

Tabela 8. Resultado da redução do tamanho de partícula do açaí, p. 53.

Tabela 9. Médias das triplicatas realizadas para a quantificação de antocianinas por CLAE, p. 55.

Tabela 10. Resultado da capacidade antioxidante do açaí liofilizado pelos métodos ABTS e ORAC, p. 58.

Tabela 11. Resultado dos parâmetros colorimétricos para o filme de açaí, p. 60.

Tabela 12. Resultado da capacidade antioxidante dos filmes de açaí pelos métodos ABTS e ORAC, p. 64.

LISTA DE QUADROS

Quadro 1. Equipamentos utilizados, p. 36.

Quadro 2. Valores das leituras das absorvâncias para elaboração da curva padrão de Trolox – Método ABTS, p. 39.

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1. Estrutura química do amido, p. 11.
- Figura 2. Estrutura química da amilose presente nos grãos de amido, p. 11.
- Figura 3. Estrutura química da amilopectina presente nos grãos de amido, p. 12.
- Figura 4. Açaizeiro, p. 13.
- Figura 5. Açaí, p. 14
- Figura 6. Distribuição do Consumo de açaí no Mundo, p. 17.
- Figura 7. Estrutura geral dos flavonoides, p. 19.
- Figura 8. Estruturas das antocianinas, p. 22.
- Figura 9. Representação da onda sonora: amplitude (γ) e comprimento de onda (λ), p. 28
- Figura 10. Representação da onda sonora de baixa e alta frequência, p. 28.
- Figura 11. Esquema de cor Cielab, p.32.
- Figura 12. Representação esquemática do teste de ruptura dos filmes, p.33.
- Figura 13. Curva característica da relação resistência a tração versus deformação, p. 34.
- Figura 14. Fluxograma do processo cromatográfico para quantificação de antocianinas, p.38.
- Figura 15. Curva padrão de 7 pontos de Trolox - Método ABTS, p. 40.
- Figura 16: Curva Padrão de 8 pontos de Trolox – Método ORAC, p. 42.
- Figura 17. Viscoamilógrafo Brabender (Duisburg, Alemanha), p. 43.
- Figura 18: Solução filmogênica de amido, glicerol e açaí liofilizado sendo vertida em placas *plexiglass*, p. 44.
- Figura 19. Câmaras herméticas a vácuo (Marconi, São Paulo, Brasil), p. 45.
- Figura 20: Filme moído de amido de mandioca e açaí liofilizado, 45.
- Figura 21. Medidor do ângulo de contato, p. 48.
- Figura 22a e 22b. Analisador de textura Texture Analyzer TA XT Plus, p.49.
- Figura 23a e 23b. Analisador de textura Texture Analyzer TA XT Plus, p. 49.

Figura 24. Curva do tamanho de partícula para o açaí liofilizado sonificado a 12% de amplitude, p. 53.

Figura 25. Curva do tamanho de partícula para o açaí liofilizado sonificado a 25% de amplitude, p. 54.

Figura 26. Curva do tamanho de partícula para o açaí liofilizado sonificado a 50% de amplitude, p. 54.

Figura 27. Cromatograma obtido no UV visível a 520 nm que reproduz o perfil das antocianinas do extrato antociânico do açaí liofilizado, p. 56.

Figura 28. Filme comestível a base de amido de mandioca, açaí liofilizado e glicerol, p. 60.

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	1
2 OBJETIVO	3
2.1 Objetivo Geral	3
2.2 Objetivos Específicos	3
3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	4
3. 1 Embalagens Sintéticas	4
3. 2 Biopolímeros Comestíveis	5
3.3 Plastificantes	8
3.4 Polissacarídeos	10
3.4.1 Amido	10
3.5 Caracterização do Açaí	12
3.5.1 Polpa	17
3.6 Antioxidantes	18
3.6.1 Flavonoides	19
3.6.1.1 Antocianinas	20
3.7 Extração de Antocianinas	22
3.8 Métodos de Análises de Antocianinas	23
3.8.1 Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE)	23
3.9 Determinação da Capacidade Antioxidante	24
3.10 Liofilização	25
3.11. Determinação do Tamanho de Partícula por Difração de Raio Laser	26
3.12 Tratamento Ultrassônico	27
3.13 Análises Realizadas na Caracterização dos Filmes	28
3.13.1 Aspecto visual e tátil	28
3.13.2 Espessura dos filmes	29
3.13.3 Solubilidade em água	29
3.13.4 Permeabilidade ao vapor de água	29
3.13.5 Ângulo de contato ou molhabilidade	30
3.13.6 Atividade de água	31
3.13.7 Análise colorimétrica	31
3.13.8 Propriedades mecânicas	32
3.13.8.1 Teste de perfuração	33
3.13.8.2 Teste de tração	34

4. MATERIAL E MÉTODOS	36
4.1 Matéria-Prima	36
4.2 Equipamentos Utilizados	36
4.3 Caracterização da Matéria-Prima	37
4.3.1 Umidade	37
4.3.2 Aspectos ópticos	37
4.4 Quantificação de Antocianinas por Cromatografia Líquida de Alta Eficiência da Polpa de Açaí Congelada, do Açaí Liofilizado e do Açaí sonicado	37
4.5 Determinação da Capacidade Antioxidante	38
4.5.1 ABTS	39
4.5.2 ORAC	40
4.6 Processamento Ultrassônico	42
4.7 Análise do Tamanho de Partícula por Difração de Raio Laser	43
4.8 Desenvolvimentos dos Filmes por <i> Casting</i>	43
4.9 Secagem	44
4.10 Condicionamento dos Filmes	44
4.11 Caracterização Analítica dos Filmes Obtidos	45
4.11.1 Quantificação de antocianinas por Cromatografia Líquida de Alta Eficiência	45
4.11.2 Determinação da capacidade antioxidante	45
4.11.2.1 ORAC	46
4.11.2.2 ABTS	46
4.11.3 Aspecto visual e tátil	46
4.11.4 Espessura dos filmes	46
4.11.5 Solubilidade em água	46
4.11.6 Permeabilidade ao vapor de água	47
4.11.7 Ângulo de contato	47
4.11.8 Atividade de água	48
4.11.9 Propriedades mecânicas	48
4.11.9.1 Teste de perfuração	48
4.11.9.2 Teste de tração	49
4.12 Análise Estatística	50
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO	51
5.1 Umidade da Matéria-Prima	51
5.2 Aspectos Ópticos da Matéria-Prima	51

5.3 Tratamento Ultrassônico e Análise do Tamanho de Partícula do Açaí por Difração de Raio Laser	52
5.4 Quantificação por CLAE das Antocianinas da Polpa de Açaí Congelada e do Açaí Liofilizado Submetido a Sonicação	55
5.5 Capacidade Antioxidante do Açaí Liofilizado	58
5.6 Desenvolvimentos do Filmes por <i>Casting</i>	59
5.6.1 Avaliações dos filmes elaborados: aspectos ópticos	59
5.6.2 Espessura do filme adicionado de açaí liofilizado e do filme controle	61
5.6.3 Quantificação de antocianinas por Cromatografia Líquida de Alta Eficiência	62
5.6.4 Capacidade antioxidante do filmes por ABTS e ORAC	64
5.6.5 Atividade de água dos filmes	66
5.6.6 Testes mecânicos	67
5.6.6.1 Ensaio de tração	67
5.6.6.2 Ensaio de perfuração	69
5.6.7 Solubilidade em água	70
5.6.8 Permeabilidade ao vapor de água	71
5.6.9 Ângulo de contato	72
6. CONCLUSÃO	74
7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	75

1. INTRODUÇÃO

O termo embalagem pode ser definido como ato ou efeito de embalar, invólucro ou recipiente utilizado para embalar. Desde a antiguidade, verificou-se a necessidade de um envoltório que pudesse transportar os alimentos e prolongar sua duração. Registros arqueológicos com data de 2200 a. C., revelam a existência de embalagens produzidas de matérias-primas naturais exclusivamente disponíveis na época (NEGRÃO e CAMARGO, 2008).

O desenvolvimento tecnológico e a ocorrência da maior quantidade de produtos alimentícios, contribuiu para o aumento na diversidade dos materiais com características adequadas para suprir a necessidade de cada alimento, o que demandou da indústria de embalagens uma produção em larga escala para atender a este mercado.

Tradicionalmente, os materiais utilizados como embalagem para alimentos são o vidro, papel, metal e o plástico, entretanto, devido o baixo custo de produção, a maioria das embalagens alimentícias são plásticas, com base em polímeros orgânicos oriundos do petróleo que possuem vantagens atrativas como o baixo custo e resistência, porém, não são biodegradáveis. Na tentativa de minimizar este problema, novos materiais de fontes renováveis como proteínas e polissacarídeos têm sido estudados, com objetivo de formar filmes biodegradáveis e comestíveis com capacidade de manter a qualidade dos alimentos e prolongar a sua validade comercial.

Apesar de promissora, a utilização de biopolímeros como embalagem tem como ponto crítico o alto preço agregado aos produtos, a instabilidade durante o processamento e as pobres características mecânicas. No entanto, para que o resultado final do processo seja exitoso, podem-se empregar aditivos como os agentes plastificantes, que aumentam a flexibilidade e a maleabilidade do filme. O polissacarídeo amido foi um dos primeiros materiais estudados para a formação de biopolímeros, e tem como vantagens o baixo custo, a disponibilidade e a acessibilidade de material; sendo conhecido como um bom formador de filmes.

Segundo Azeredo e seus colaboradores (2009), filmes comestíveis a base de compostos naturais provenientes de frutas, como agentes antimicrobianos, antioxidantes, compostos voláteis, pigmentos, fibras e a oleosidade natural do fruto, podem originar boas propriedades de barreira a gases e ainda resultar em filmes com valor agregado, pelo aumento da validade comercial dos alimentos embalados; além dos efeitos benéficos a nível biológico, devido à inserção destes compostos na dieta.

Desta forma, o açaí demonstra um grande potencial para o desenvolvimento de biofilmes comestíveis, devido o sabor e cor característicos, e aos compostos fenólicos que podem aumentar a validade comercial do alimento pelo elevado poder antioxidante atribuído ao fruto decorrente a alta concentração de antocianinas. O açaí contém elevado teor de antocianinas, superior a frutas pequenas conhecidas como *berries* tais como morango e amoras pretas, sendo considerado uma "super fruta" também pelo alto teor protéico, de sais minerais e gorduras. Este fato, desperta o interesse para a utilização do fruto no desenvolvimento de filmes com caráter funcional e com possibilidade de serem comestíveis, já que as antocianinas propiciam a prevenção contra a auto-oxidação e peroxidação lipídica em sistemas biológicos (LOPES et al., 2007).

Na literatura científica até o momento não há relatos sobre a utilização de amido de mandioca como matriz polimérica adicionado de açaí. Até o ano de 2014, não havia sequer estudos com objetivo de formar filmes com adição do fruto. Espitia e seus colaboradores (2014) desenvolveram um filme comestível a base da polpa do fruto e pectina, adicionado de glicerol como agente plastificante, óleo de tomilho (OT) e casca da maçã em pó, ambos

conhecidos pelos efeitos antimicrobianos e antioxidantes. Os resultados obtidos foram satisfatórios, pois os filmes apresentaram atividade antimicrobiana para *L. monocytogenes*. A cor obtida dos filmes foi vermelha, com variações para o amarelo e o azul. A análise termogravimétrica demonstrou que os componentes dos filmes tiveram perda de peso (água) em temperaturas de 50 a 400°C, sendo o açaí um dos componentes com maior estabilidade térmica e com maior temperatura de decomposição, em torno de 400 °C. A microscopia eletrônica de varredura demonstrou superfícies heterogêneas, com a presença de saliências e aglomerados nos filmes não adicionados de OT e casca da maçã em pó. Porém, não foram realizadas análises que confirmassem a presença de antocianinas e a capacidade antioxidante do material polimérico.

Desta forma, este trabalho teve como objetivo desenvolver filmes de amido de mandioca adicionado de açaí pelo método *casting*, analisando-os quanto a presença de antocianinas, bem como a capacidade antioxidante. A melhor formulação seguiu para as análises físicas, sendo, permeabilidade ao vapor de água (PVA), espessura, solubilidade em água, propriedades mecânicas, ângulo de contato e atividade de água (A_w).

2 OBJETIVO

2.1 Objetivo Geral

Desenvolver e caracterizar filmes comestíveis a partir de amido de mandioca adicionado de açaí liofilizado e glicerol, pela técnica de *casting*.

2.2 Objetivos Específicos

- Estudar a retenção de antocianinas nos filmes por cromatografia líquida.
- Estudar a capacidade antioxidante dos filmes pelos métodos ABTS^{•+} e ORAC.
- Determinar as propriedades físicas dos filmes de amido de mandioca adicionados ou não de açaí na forma de pó liofilizado, através das técnicas de análises de solubilidade em água, permeabilidade ao vapor de água, ângulo de contato, atividade de água e propriedades mecânicas.

3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1 Embalagens Sintéticas

Embalagens para alimentos é o maior mercado de aplicação para produtos biodegradáveis, seguido de embalagens para produtos não alimentícios (DAVIS e SONG, 2006). No entanto, as razões da maior utilização de embalagens plásticas são muitas, como: baixo peso, facilidade de processamento, boas propriedades físicas como a flexibilidade e o baixo custo de produção, que conseqüentemente, adiciona um baixo valor ao alimento embalado.

Cada plástico possui características próprias, como diferentes graus de permeabilidade a gases. Alguns dos polímeros sintéticos mais utilizados são: polietileno de alta densidade, polietileno de baixa densidade, policloreto de vinila (PVC), politereftalado de etileno, entre outros (FINNIGAN, 2009), porém, as diferentes características e a diversidade de composição desses polímeros tornam difícil o processo de reciclagem; também não são passíveis de biodegradação, pois os microrganismos que realizam esta função não possuem enzimas com capacidade de degradá-los (DAVIS e SONG, 2006; CAMPAGNER, 2014). Desta forma, quando o plástico não é reciclado e é descartado na natureza, leva mais de 400 anos para se decompor (Tabela 1). Pesquisas revelam que materiais plásticos são responsáveis por milhares de mortes de mamíferos e aves no oceano pacífico (MMA, 2015).

Tabela 1. Tempo de decomposição de matérias usados como embalagem quando descartados na natureza.

Material	Decomposição na natureza
Papel	3 a 6 meses
Tecido	6 meses a 1 ano
Metal	Mais de 100 anos
Alumínio	Mais de 200 anos
Plástico	Mais de 400 anos
Vidro	Mais de 1000 anos

Fonte: Ministério do Meio Ambiente (2015).

As embalagens plásticas sintéticas causam muitos danos ao meio ambiente; o Brasil produz cerca de 240 mil toneladas de lixo por dia, valor esse superior a países da Europa (FARIAS, et al., 2012), desse valor, 9,7% são sacolas plásticas, que no mundo são consumidas em torno de 1 milhão por minuto (UFTPR, 2010), este fato tem despertado o interesse no desenvolvimento de embalagens biodegradáveis a partir de biopolímeros (FARIAS, 2011).

Além dos danos ecológicos, as embalagens sintéticas podem provocar danos à saúde do consumidor, visto que, a maior parte dos alimentos são revestidos por PVC que é o segundo termoplástico mais utilizado no mundo, desenvolvido a partir do cloreto de vinila e plastificantes (BAZÍLIO, 2014). Este polímero quando submetido ao aquecimento, libera compostos voláteis tóxicos e ácido clorídrico (AZEREDO, 2012 a). Desta forma, a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (Anvisa) estabeleceu o limite máximo de composição permitido para uso do polímero em embalagens alimentícias de 1 mg/kg na composição da estrutura polimérica final e o limite de migração específica de 0,01 mg/kg (BRASIL, 2012).

Durante o desenvolvimento de polímeros, aditivos plastificantes são incorporados ao material polimérico para modificar suas características e melhorar o seu desempenho conferindo maleabilidade e flexibilidade (AZEREDO, 2012a). Um estudo divulgado pelo laboratório da Fiocruz, que é reconhecido como referência pela Anvisa, revelou que filmes de PVC ao embalar alimentos gordurosos, como queijo, frango e carne bovina podem trazer malefícios a saúde, pois, os plastificantes utilizados podem migrar para os alimentos com os quais ficam em contato. A difusão é espontânea sendo mais intensa para os alimentos citados acima, devido à semelhança estrutural dos aditivos com os lipídeos presentes nos alimentos. Os plastificantes utilizados que promovem a toxicidade são os compostos orgânicos ftalato de di-(-2-etil-hexila) ou DEHP e o adipato de di-(-2-etil-hexila) ou DEHA. Estes, superaram os valores de migração fixados pela União Europeia de aproximadamente 1,3 mg/kg para ftalato e 18 mg/kg para o adipato (BAZÍLIO, 2014; IDEC, 2004; CHANG, LIN e CHANG, 2013).

O DEHP é um plastificante muito estudado e possui toxicidade conhecida (SARANTOPOULUS et al., 2002). Embora a sua toxicidade aguda seja baixa e tenha sido considerado seguro por longo tempo, estudos relatam uma maior incidência de tumores no fígado de cobaias após sua administração oral (BAZÍLIO, 2014), bem como toxicidade aos rins, pulmão, ao sistema nervoso e ao sistema reprodutivo (MELO, 2007; SOUZA, et al., 2009). A toxicidade em humanos está relacionada a alterações endócrinas pela modulação dos níveis de hormônios sexuais (CHANG, LIN e CHANG, 2013), problemas hepáticos (SOUZA, et al., 2009) e ao câncer de mama em mulheres (BAZÍLIO, 2014).

Após observações toxicológicas, a Agência Internacional para Pesquisa sobre Câncer (IARC) que integra a Organização Mundial da Saúde, elevou a classificação de risco do DEHP para o grupo toxicológico 2B, como um possível carcinógeno humano (IARC, 2012 e 2014). A Agência de Proteção Ambiental dos Estados Unidos da América (EPA), baseado em estudos *in vivo*, o classifica como provável carcinógeno (EPA 2014; EPA, 2009). O DEHA é classificado segundo a IARC como substância do grupo três, com o risco cancerígeno para seres humanos não classificável, devido as poucas evidências (IARC, 2000). No entanto, não é seguro negligenciar a possível toxicidade do DEHA, já que o aditivo apresenta o mesmo metabólito que o DEHP, o composto 2-etil-hexano, e quando utilizado juntamente com o DEHP apresenta toxicidade (MELO, 2007; SOUZA, et al., 2009). Estudos apontam que o aquecimento de alimentos embalados com o filme de PVC pode ressaltar a migração dos plastificantes (AZEREDO, 2012a; MELO, 2007).

3. 2 Biopolímeros Comestíveis

Biopolímeros podem ser definidos como qualquer polímero (proteína, ácido nucléico ou polissacarídeo) produzido por um organismo vivo (BORSCHIVER, ALMEIDA e ROITMAN, 2008). Por serem oriundos de fontes renováveis, possuem um ciclo de vida mais curto em comparação com polímeros sintéticos oriundos do petróleo (BRITO et al., 2011). Segundo Yu, Dean e Li (2006), os polímeros biodegradáveis são divididos em diferentes categorias como: polímeros naturais de origem agrícola, proteica, polímeros formados a partir de microrganismos ou obtidos de monômeros naturais. Geralmente os de origem agrícola são os mais utilizados por serem de fontes renováveis, pela disponibilidade durante todo o ano e por serem mais viáveis economicamente. Dentre os produtos oriundos deste segmento, os polissacarídeos se destacam, principalmente o amido que é um polímero natural, com capacidade de formar filmes (ROCHA et al., 2014). Porém, nem sempre os plásticos biodegradáveis são elaborados a partir de biopolímeros e nem todos os biopolímeros são biodegradáveis. Polímeros biodegradáveis são aqueles que podem ser totalmente reabsorvidos pelo meio-ambiente. Sendo necessária uma estrutura química compatível com os processos de decomposição, que pode ser resultante da ação de microrganismos ou baseados em princípios

ativos como a oxidação, quando o processo é resultado da ação catalítica com o oxigênio, ou mesmo a degradação fotoquímica e pelo efeito da luz solar (MOTTIN et al, 2011). Tal biodegradação deve ocorrer em até 6 meses, para que não haja impactos ambientais (FURIGOTO, 2009). A biodegradação consiste na degradação catalisada por microrganismos que levam à fragmentação do produto em cadeias menores, cujo subproduto formado corresponde a dióxido de carbono (CO₂), água e biomassa, no caso, metano (CH₄). Em princípio, qualquer composto orgânico é biodegradável, ou seja, o carbono orgânico de qualquer substância, após uma série de etapas no processo de degradação, em graus variados de complexidade e duração, pode ser oxidado, transformando-se em CO₂, por meio de respiração microbiana (GARRIDO, 2013).

A maior parte dos biopolímeros é capaz de originar filmes ou revestimentos comestíveis biodegradáveis, formando matrizes contínuas, sendo o componente necessário no processo de desenvolvimento de embalagens comestíveis, pois a partir deles ocorre a formação da solução filmogênica (SF) e assim é possível originar matrizes poliméricas. São geralmente divididos em classes de acordo com os seus componentes principais, as classes possuem diversas subclasses (FARIAS, 2011) como os hidrocolóides que são moléculas de alto peso molecular e geralmente possuem característica polar, dividem-se em proteínas e polissacarídeos (DHANAPAL et al, 2012). Na classe das proteínas os principais constituintes utilizados são as proteínas do soro do leite (caseína), a proteína do milho (zeína), o glúten, a gelatina e o colágeno.

Nos filmes à base de polissacarídeos, os polímeros geralmente utilizados são: quitosana, alginato, pectinas, gomas, derivados da celulose, carregena e o amido. Nos filmes à base de lipídeos são utilizados monoglicerídeos, ácidos graxos, parafina, óleos minerais, vegetais ou animais; ceras naturais como cera de abelha e carnaúba, entre outros. Apesar de não serem considerados biopolímeros (SOARES et al., 2012), os lipídeos apresentam características positivas como eficiente barreira ao vapor de água, porém, têm como ponto negativo a baixa flexibilidade, maior opacidade e apresentam sabor residual (FAKHOURI et al., 2007). Já os filmes desenvolvidos a partir de hidrocolóides, possuem boas propriedades ópticas, mecânicas e sensoriais, e têm despertado o interesse para o revestimento de alimentos com baixa validade comercial como frutas e hortaliças, diminuindo a taxa de deterioração, conferindo boa aparência (SOARES et al., 2012) e minimizando gastos operacionais com equipamentos que são utilizados para controlar a atmosfera no processo de estocagem (MAIA et al., 2000). Entretanto, estes materiais apresentam um coeficiente alto de PVA e possuem baixa resistência à umidade (SOARES et al., 2012), são indicados para uso em embalagens em que o controle de migração do vapor de água não seja o objetivo principal. Quanto à barreira a outros gases como o CO₂ e oxigênio (O₂), e barreira à transferência de lipídeos, os hidrocolóides são eficientes (DONHOWE e FENNEMA, 1994; FARIAS, 2011).

Devido às diferentes características de cada biopolímero, a técnica de filmes compostos (*blend*) tem sido utilizada para melhorar as propriedades do biofilme, tal técnica ocorre pela associação de dois ou mais biopolímeros, o que agrega as vantagens dos pontos positivos de cada um dos constituintes isolados (ROCHA, et al., 2014). O desempenho da embalagem biodegradável irá depender da matriz do alimento e da característica de deterioração do produto a ser embalado (MAIA et al., 2000).

Há registros que aproximadamente no ano de 1960, as primeiras patentes relacionadas a biofilmes começaram a surgir, com objetivo de cobrir e embalar carnes congeladas, aves e mariscos, com filmes desenvolvidos a partir de alginato, gomas e amidos (BAUER, NEUSER e PINKALLA, 1968; EARLE, 1966 e 1968; SHAW, SECRIST e TUOMY, 1980). Países como a Alemanha, Estados Unidos e Japão são os maiores detentores de patentes relacionadas a materiais biodegradáveis, sendo a maior parte biopolímeros (BORSCHIVER, ALMEIDA e ROITMAN, 2008). O desenvolvimento dos primeiros biofilmes comestíveis foi a partir de

purê de frutas e o processo demonstrou ser eficiente na melhoria da qualidade e na extensão da validade comercial de frutas processadas (Mc HUGH, HUXSOLL e KROCHTA 1996). Porém, o uso de coberturas e filmes comestíveis tem aplicações desde o século XII na China, onde o revestimento era feito em frutas cítricas a partir de ceras, como o objetivo de melhorar a aparência das frutas e minimizar a desidratação (FAKHOURI, 2007). Pesquisas sugerem que a utilização de filmes comestíveis para embalar alimentos como frutas e vegetais podem diminuir a respiração aeróbica (SOARES et al., 2012).

Um filme biodegradável, camada protetora, cobertura ou embalagem é considerada comestível, quando se torna parte integral do alimento que o reveste e pode ser consumida juntamente com o alimento (FARIAS, 2011). Todavia, a cobertura consiste em uma camada fina do material ainda líquido, que é aplicado e formado diretamente na superfície do alimento, enquanto o filme é formado separadamente, e somente após o seu desenvolvimento é aplicado sobre o alimento (FAKHOURI, 2007).

Além do aumento da validade comercial do alimento e do caráter ecológico, a utilização de embalagens ou revestimentos biodegradáveis comestíveis, tem funcionado como um veículo para aditivos alimentares como antioxidantes, agentes antimicrobianos, nutrientes, corantes, sabores e aromas; o que é denominado de embalagem ativa (FARIAS, et al., 2012; SOARES et al., 2012). Filmes comestíveis podem ser considerados sistemas de embalagens ativas, porque podem auxiliar na redução da perda de umidade, controlar a permeabilidade a gases, conferir atividade antimicrobiana, preservar a integridade estrutural dos produtos e permitir a liberação controlada de compostos de sabor e antioxidantes. As embalagens ativas comestíveis possuem diversas aplicações na indústria alimentícia, como por exemplo, na indústria de carnes onde a permeabilidade ao O₂ é interessante para que haja a formação do composto vermelho oximioglobina. Têm-se utilizado revestimentos à base de polissacarídeos para evitar a desidratação superficial de carnes frescas e congeladas e para manutenção da cor (SOARES et al., 2012).

Embora no Brasil não haja uma legislação para o desenvolvimento e utilização de filmes comestíveis, é importante a avaliação da segurança. Desta maneira, é importante que todas as substâncias utilizadas na elaboração de biofilmes constem em uma das listas positivas de legislações devidamente reconhecidas, que além de autorizar a utilização da substância, também informam os limites máximos de utilização e migração permitidos. A Anvisa possui legislações harmonizadas com o MERCOSUL para a elaboração de embalagens alimentícias e uso de aditivos alimentares. A RDC nº 105/1999, aprova os regulamentos técnicos e disposições gerais para fabricação de embalagens e equipamentos plásticos em contato com alimentos, onde a maior parte dos biomateriais utilizados na elaboração de biofilmes são citados; a RDC nº 56/2012, abrange a lista positiva de monômeros, outras substâncias iniciadoras e polímeros autorizados para a elaboração de embalagens e equipamentos plásticos em contato com alimentos; RDCs 45 e 46/2010, fornecem as listas dos aditivos autorizados a terem contato com alimentos, ambas, incluem os aditivos que possuem a ingestão diária aceitável (IDA) especificada e a lista dos aditivos que não tem IDA especificada. Legislações internacionais como o *Food and Drug Administration* (FDA) e as listas da União Européia também são consideradas listas positivas devidamente reconhecidas.

Os solventes mais utilizados na elaboração de filmes comestíveis são a água e o etanol, podendo ser utilizados individualmente ou em conjunto. A solubilização da macromolécula está diretamente ligada à capacidade de interação com o solvente utilizado. Este é um aspecto primordial na formação do filme, já que é necessária uma total solubilização durante o processo (KESTER e FENNEMA, 1986; VIEIRA, et al 2011).

A fabricação do biofilme pode ser por meio úmido (*casting*) ou seco, em única camada ou bicamada. O desenvolvimento por *casting* ocorre através da fase de dispersão da molécula

do biopolímero no solvente, onde há a formação da SF (FARIAS, 2011) e está relacionado com a etapa primária em que a macromolécula precisa ser totalmente dissolvida no solvente escolhido. Durante este processo, adicionam-se substâncias necessárias para garantir uma boa flexibilidade e extensibilidade ao biofilme, que são os plastificantes (MALI et al., 2004), porém, pode-se adicionar qualquer outro aditivo, com objetivo de melhorar o produto final, como agentes antioxidantes ou antimicrobianos. Na etapa seguinte, a solução filmogênica é disposta em uma superfície adequada e submetida à secagem (evaporação do solvente). Já o desenvolvimento por meio seco, está relacionado com as características termoplásticas do biopolímero. O baixo teor de umidade tem obtido sucesso no desenvolvimento de biofilmes, sendo utilizadas tecnologias como a extrusão (FARIAS, 2011; CAMPAGNER et al., 2014).

Parâmetros como a natureza química, concentração dos polímeros, do solvente, plastificante e de outros aditivos utilizados, bem como o pH, condições de secagem, condições ambientais e o suporte utilizado, são primordiais para determinar as características finais do filme (VIEIRA et al, 2011).

Apesar dos benefícios, um dos maiores desafios para a produção industrial de filmes biodegradáveis em substituição as embalagens convencionais é a eficácia, referente à responsabilidade em garantir a qualidade do alimento e a sua validade comercial durante o período de armazenagem, bem como as características mecânicas limitadas como o baixo desempenho em relação à fragilidade e barreira à umidade (MOHANTI; MIRZA e DRZAL, 2002), que no geral são inferiores às embalagens convencionais (CAMPAGNER et al., 2014).

3.3 Plastificantes

Durante o desenvolvimento de biofilmes por vezes é necessário a adição de compostos plastificantes. Estes conferem mudanças nas características físico-químicas (ROCHA, et al., 2014), pois se inserem entre as moléculas do biopolímero aumentando os espaços livres entre as cadeias, modificando assim a conformação molecular tridimensional da rede, com isso reduzem as forças de tração intermoleculares, aumentando o volume livre do sistema conferindo extensibilidade e flexibilidade para os filmes devido o relaxamento da matriz polimérica. Os plastificantes mais utilizados em filmes biodegradáveis são os do tipo polióis, como o sorbitol, os derivados da glicerina, glicerol e gliceróis; os encontrados na forma de monossacarídeos, dissacarídeos e oligossacarídeos, como a glicose e a sacarose (VIEIRA, et al., 2011); a tricetina que é um composto orgânico gorduroso, e os lipídeos, sendo os mais utilizados os derivados do éster, ácidos graxos saturados, monoglicerídeos, (GUILBERT, 1986) surfactantes e óleos naturais.

O plastificante escolhido deve ser compatível com o solvente e com polímero usado no processo de desenvolvimento do filme, para que não haja separação entre as fases e deve ser miscível, para que o processo de secagem não seja interrompido. O ideal é que sejam líquidos insípidos, incolores, inodoros, como baixa volatilização, alto ponto de ebulição, com propriedades físico-químicas capazes de se alterarem na mistura com outro material, alta resistência à extração por água, óleos e solventes e boa resistência térmica. Porém, a característica mais importante de um plastificante deve ser a sua pouca migração para a superfície e a baixa toxicidade (VIEIRA, et al., 2011; RABELLO, 2000)

O plastificante atua como um solvente e suas moléculas penetram na fase polimérica. Quando ele é compatível com o polímero, a sua estrutura se integra de forma gradual durante a diluição, suas moléculas se inserem entre as moléculas do biopolímero, que são maiores, ocasionando uma separação entre elas, assim, quanto menor for a sua estrutura maior será a mobilidade entre as cadeias e a interação dos grupos polares do plastificante com o grupamento polar do biopolímero. Os grupos apolares do plastificante atuam realizando um espaçamento entre os dipolos ocasionando uma coesão estrutural na solução, o que resulta em

uma menor força intermolecular na rede polimérica e se obtêm a flexibilidade. Todo esse processo ocorre sem a modificação da natureza química da molécula. Essa plastificação é conhecida como intraestrutural, que confere ao biofilme uma diminuição da transição vítrea (T_g), que está relacionada com a diminuição da resistência ao calor e um aumento da resistência ao impacto em baixas temperaturas, logo, abaixo dela, o filme é mais estável, e acima a diferença entre a temperatura de estocagem e a T_g determina sua suscetibilidade a alterações (RABELLO, 2000; VIEIRA et al, 2011; AZEREDO, 2012b).

Quando as moléculas do plastificante não são miscíveis com as moléculas do polímero, pode ocorrer a separação de fases, sendo a separação entre a fração mais concentrada do plastificante e a fração mais concentrada do polímero, originando a perda de elasticidade (VIEIRA et al., 2011) ou a formação de zonas de descontinuidade nas regiões mais concentradas do plastificante, acarretando em uma maior PVA (ANDREUCETTI, CARVALHO e GROSSO, 2009).

Durante a utilização do plastificante, podem ocorrer duas diferentes formas de plastificação, a externa que é quando o plastificante adicionado a matriz polimérica altera apenas as características físico-químicas do polímero, ou a plastificação interna, onde há mudança na estrutura do polímero, como a copolimerização. Outra diferença relacionada ao uso de plastificantes é a polaridade, pois plastificantes hidrofílicos quando adicionados em concentração elevada podem promover um aumento da difusão da água na matriz polimérica. Em contraste, os plastificantes apolares podem fechar micro-espacos vazios na matriz, levando a uma diminuição da absorção de água. No entanto, plastificantes hidrofóbicos podem causar separação de fases levando a perdas de flexibilidade ou, ainda, permitir a formação de zonas de descontinuidade durante a secagem da película, acarretando no aumento das taxas de PVA. No geral, a maioria das plastificantes são moléculas pequenas e polares, logo, são facilmente inseridos entre as cadeias poliméricas reduzindo as ligações de hidrogênio (VIEIRA et al., 2011).

A adição do plastificante influencia diretamente a permeabilidade aos gases e ao vapor de água nos filmes. Assim, eles devem ser adicionados em determinadas concentrações para se obter filmes com flexibilidade melhorada, porém, sem a perda das propriedades de barreira. A diferença na composição, forma e estrutura dos plastificantes, também podem influenciar diretamente a capacidade de formar a rede polimérica (VIEIRA et al., 2011).

Muitos estudos têm sido realizados com objetivo de verificar a dosagem exata de plastificante necessária para se obter um bom resultado nos biofilmes. Um estudo realizado com filmes a base de amido de banana e pectina, com um alto teor de glicerol, resultou em um aumento da deformação, redução na elasticidade e na tensão de tração do filme (SOTHORNVIT e PITAK 2007). Geralmente, a concentração usada de plastificante no desenvolvimento de biofilmes varia de 10 a 60g/100g de matéria seca de polímero, dependendo da rigidez e das propriedades físicas desejadas no filme (GUILBERT, 1986). Wang e seus colaboradores (2010) desenvolveram filmes a base de purê de cenoura, carboximetilcelulose, amido de milho, gelatina e glicerol. Foi observado que o aumento da concentração de glicerol, elevou a PVA dos filmes, entretanto, filmes sem plastificante tornavam-se rígidos e quebradiços, já quando o plastificante era adicionado em concentrações adequadas, resultava em filmes flexíveis. Portanto, a concentração de glicerol não deve ser alta, também para que não haja migração do plastificante para superfície do filme e o mesmo se torne pegajoso (GARCÍA et al., 2009).

O processo de plastificação do amido ocorre a partir das hidroxilas (OH) da molécula, pois o amido possui três grupos de OH por monômero, essas OH possuem ligações de hidrogênio intra e intermoleculares, assim, quando o plastificante estabelece ligações de hidrogênio com o amido, automaticamente as ligações de hidrogênio originais das OH são desfeitas, ocasionando a plastificação (MA, YU e KENNEDY, 2005).

Um dos plastificantes mais utilizados em filmes a base de amido são os polióis, além da água que é considerada um bom plastificante para filmes hidrofílicos, por originar biofilmes com alto brilho. Estes são eficazes, pois diminuem as ligações de hidrogênio internas e aumentam os espaços intermoleculares. O glicerol é importante devido o seu alto caráter higroscópico, à sua estabilidade e compatibilidade com a natureza hidrofílica da maior parte dos biopolímeros (VIEIRA et al., 2011), pois de uma forma geral, os filmes elaborados com polímeros hidrofílicos e plastificados com glicerol se mostram mais flexíveis que os plastificados com sorbitol, apresentando, maiores valores de alongação (SHIMAZU, MALI e GROSSMAN, 2007).

3.4 Polissacarídeos

Um dos materiais mais estudados para a fabricação de biofilmes são os polissacarídeos, que devido à sua estrutura molecular conferem excelentes propriedades de barreira ao O₂ e ao CO₂, até superiores a filmes sintéticos (SOARES et al., 2012). São reconhecidos com um dos primeiros biopolímeros a serem formados na terra e estudados pelo homem (TOLSTOGZOV, 2004); possuem características peculiares como boas propriedades mecânicas, entretanto, devido à sua natureza polar, possuem baixa resistência ao vapor de água (FARIAS et al., 2012).

O amido é o polissacarídeo mais utilizado no desenvolvimento de biofilmes (SOARES et al., 2012).

3.4.1 Amido

O amido é um polissacarídeo produzido por plantas, sob a forma de grânulos de diferentes tamanhos no interior do endosperma. As fontes de amido mais conhecidas são: batata, trigo, milho e arroz (WATERSCHOOT et al., 2014). Entre os polissacarídeos, o amido (Figura 1) possui um dos melhores custos-benefícios, por ser o segundo polissacarídeo mais abundante depois da celulose (ROCHA et al., 2014), renovável e facilmente biodegradável (CAMPAGNER et al., 2014).

O formato e tamanho do amido variam de acordo com a espécie do vegetal, entretanto, é um polímero inodoro, insípido e em contato com água fria forma uma suspensão leitosa no formato de grânulos. É considerado uma das mais importantes fontes de energia das plantas (WATERSCHOOT et al., 2014).

Na indústria de alimentos o amido é utilizado para conferir textura, como espessante coloidal e agente de volume (NAIRETI e TITA, 2012). O amido de mandioca vem sendo bastante estudado por pesquisadores brasileiros para a produção de embalagens biodegradáveis (MALI, GORSSMAN e YAMASHITA, 2010) sendo o segundo amido mais utilizado para elaboração de filmes plastificados com glicerol, atrás apenas do amido de inhame (REIS et al, 2011).

A mandioca (*Manihot esculenta*) é um tubérculo de baixo custo e uma importante fonte de amido (EMBRAPA, 2014), a extração se dá a partir das partes comestíveis do tubérculo como raízes e rizomas (BRASIL, 2005). O Brasil ocupa o segundo lugar como o maior produtor de mandioca no mundo (SEAB, 2012). A safra 2012/2013 atingiu 24.455.717 toneladas (CONAB, 2013). Segundo a pesquisa realizada em 2011 pelo Centro de Estudos Avançados em Economia Aplicada (CEPEA/ESALQ), a indústria de amido de mandioca (SEAB, 2012), também designado fécula (BRASIL, 2005) teve um crescimento de 31,3%, no período de 2004 a 2011, passando de 14.063 para 18.467 toneladas/dia de mandioca em raiz, só o estado do Paraná produziu em 2011, 366 mil toneladas de fécula (SEAB, 2012).

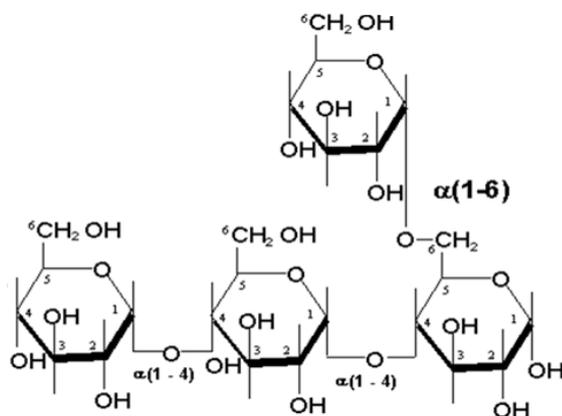


Figura 1. Estrutura química do amido, (Fonte: QUÍMICA NOVA INTERATIVA).

O amido é um biopolímero hidrocolóide, de cadeia ramificada, hidrófilo e com característica semi-cristalina, já que além de regiões cristalinas (organizadas) possui regiões amorfas (arranjo aleatório). É constituído de ligações α 1,4 e α 1,6 e composto por cerca de 30 a 35% de amilose, um polímero linear; em torno de 75 a 80% de amilopectina que é altamente ramificada e responsável pela cristalinidade do amido, e de outros compostos como lipídeos e proteínas. A amilose é capaz de formar um complexo do tipo hélice com vários ácidos e monoglicerídeos (WATERSCHOOT et al., 2014), é uma macromolécula linear com unidades de D-glicose unidas por ligações α 1-4 e polimerização variando de 200 a 300 dependendo da fonte de amido. Possui baixa massa molecular de 20 a 800 kg/mol (FARIAS, 2011) e o número de ligações varia de 200 a 10000 unidades (CARR, 2007) (Figura 2).

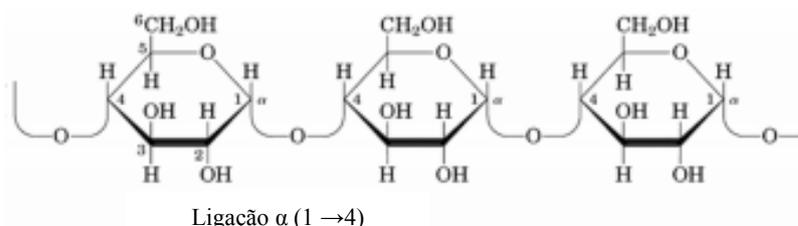


Figura 2. Estrutura química da amilose presente nos grãos de amido. (Fonte: QUÍMICA NOVA NA ESCOLA, 2008).

A amilose é o principal componente responsável por originar o filme (MALI, 2004). Garcia e seus colaboradores (2000) observaram que filmes de amido com alto teor de amilose, adicionados de lipídeos, são menos permeáveis aos gases e ao vapor de água. Pesquisas revelam que para o desenvolvimento de filmes a base de amido, quanto maior o teor de amilose no amido, maior será a resistência a tração do filme (ALVES et al., 2007). O amido de mandioca possui teor de amilose que varia de 10 a 16% (MALI, GROSSMAN e YAMASHITA, 2010).

A amilopectina possui cadeias ramificadas compostas de poli- α -1,4-D-glucopiranosídeo e α -1,6-D-glucopiranosídeo (5-6%), embora a estrutura exata permaneça desconhecida (HOOVER et al., 2010; WATERSCHOOT et al., 2014), possui elevada massa molecular entre 5000-30000 kg/mol (FARIAS, 2011; WATERSCHOOT et al., 2014) (Figura 3).

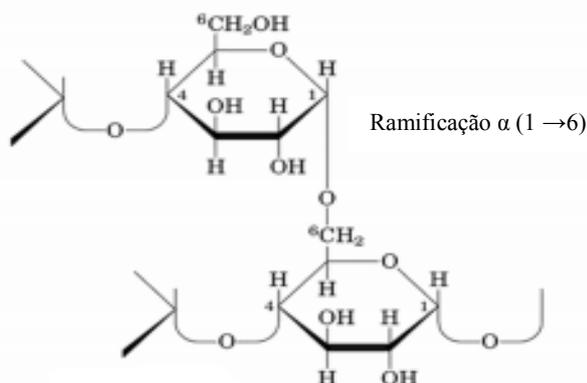


Figura 3. Estrutura química da amilopectina presente nos grãos de amido. (Fonte: QUÍMICA NOVA NA ESCOLA, 2008).

Quando aquecido na presença de excesso de água, o amido sofre gelatinização e por esta razão é utilizado como agente retentor de água. A gelatinização ocorre através do rompimento das ligações de hidrogênio a partir da absorção de água, originando o aumento da viscosidade pela liberação da amilose para o meio, ocorrendo a perda da birrefringência que é capacidade do amido refletir a luz polarizada. Após a gelatinização e posterior resfriamento, as moléculas de amilose se agrupam lado a lado devido a linearidade e formam ligações de hidrogênio com as OH dos polímeros a frente, este fenômeno recebe o nome de retrogradação. Por fim, ocorre diminuição do volume e redução da afinidade do polímero pela água, ocorrendo a gelatinização do amido (WATERSCHOOT et al., 2014) e a formação de matrizes poliméricas flexíveis e estáveis, podendo ser homogêneas e com diferentes propriedades físicas, de acordo com a proporção de amilose e amilopectina, característica relacionada à fonte botânica do amido (FARIAS, 2011; WATERSCHOOT et al., 2014).

Para a formação de películas transparentes e rígidas a partir da geleificação do amido, o *casting* ou espalhamento, tem sido uma das técnicas mais utilizadas (CAMPAGNER et al., 2014). Tem se obtido bons resultados como transparência, homogeneidade e flexibilidade (HENRIQUE; CEREDA e SARMENTO 2008), desde que adicionado de compostos plastificantes, pois filmes compostos apenas de amido, possuem característica quebradiça, o que impede a sua utilização como embalagem (MALI, 2004).

3.5 Caracterização do Açaí

O açaizeiro (Figura 4) faz parte de um gênero de plantas tropicais encontradas na América do Sul, especificamente na Amazônia, pertence à família *Arecaceae*, do gênero *Euterpe* (KANG et al., 2012).



Figura 4. Açazeiro (Fonte: AGEITEC EMBRAPA, 2011).

Existem três tipos de açazeiros que produzem frutos comestíveis, sendo a *Euterpe edulis* Mart., *Euterpe precatoria* Mart. e *Euterpe oleracea* Mart. A *Euterpe edulis*, produz o fruto conhecido como juçara, porém, é fonte primária para a extração do coração-de-palma (palmito), apresentando tronco de uma única haste (KANG et al., 2012) (unicaule) sendo amplamente distribuída na Mata Atlântica, encontrada principalmente nos estados do Rio Grande do Sul, Santa Catarina, Paraná, São Paulo, Rio de Janeiro, Minas Gerais e Bahia (BORGES et al., 2011). As duas outras espécies produzem o fruto conhecido como açai, entretanto, existem outros nomes para o fruto. A diferença principal da *Euterpe oleracea* para a *Euterpe precatoria*, além da composição fitoquímica, é que a *Euterpe precatoria* possui um único tronco esbelto, com folhas que alcançam até 20m de altura, já a *Euterpe oleracea* possui até 25 hastes, sendo portanto um aglomerado, a altura varia de 18 metros a 33 metros, já que possui hastes em diferentes fases de crescimento, com folhas pinadas organizadas de forma espiralada. As duas espécies variam também a partir da composição fitoquímica, porém, estudos sobre a composição dos frutos da *Euterpe precatoria* são pouco frequentes (KANG et al., 2012).

A *Euterpe oleracea* é amplamente distribuída na América do sul, mas atinge maior área na Amazônia brasileira, a *Euterpe precatoria* é comum da América central e na Europa central. Ambas podem ser classificadas como espécies com as seguintes características: crescimento lento, exigência de alta umidade, pouca exigência de luz para o crescimento das mudas, baixa taxa de sobrevivência das plantas e longa fase de plântula. Geralmente a palmeira cresce em regiões alagadas, entretanto a *Euterpe precatoria* ocorre quase que exclusivamente sobre a terra firme e ao longo das encostas que levam aos igapós e várzeas (OLIVEIRA, CARVALHO e NASCIMENTO, 2000; FAO, 2015).

Através de um melhoramento genético da *Euterpe oleracea*, a Embrapa Amazônia Ocidental localizada em Belém do Pará, Brasil, desenvolveu a BRS-Pará, um cultivar adequado para o plantio e desenvolvimento em terra, tornando mais fácil e produtivo o cultivo do açai. Após estudos, foi verificado que esta cultivar continha a presença de açúcares não digeríveis que geram metabólitos de cadeia curta benéficos para a flora intestinal; bem como teor de fibras superior ao de frutas tropicais como maçã e mamão, e níveis equivalentes com alimentos como bagaços de uva; alto teor de óleos com potencial antioxidante superior ao azeite, óleos de milho e girassol e alto teor de compostos fenólicos (RUFINO, 2011).

O açai é um fruto esférico com leve depressão, peso de aproximadamente 1,5 gramas e diâmetro variando de 1 a 2 cm. Possui epicarpo fino, que quando maduro apresenta coloração roxa ou verde, dependendo do tipo (OLIVEIRA, CARVALHO e NASCIMENTO, 2000; ROGEZ et al., 2011). Antes do amadurecimento o fruto possui cor verde, após adquire cor

roxo escuro característico do fruto, resultante do elevado teor de antocianinas, entretanto, existe uma variedade que mesmo após o amadurecimento, os frutos permanecem verdes, estes frutos possuem uma quantidade extremamente baixa de antocianinas, é conhecido como açai branco (LICHTENTHÄLER et al., 2005).

A semente do fruto é volumosa e equivale até 90% do seu peso, somente o restante do fruto (mesocarpo que reveste a semente) é comestível o que corresponde a um fino revestimento oleoso (polpa) (OLIVEIRA, CARVALHO e NASCIMENTO, 2000; ROGEZ et al., 2011). Os frutos se desenvolvem em cachos (Figura 5) e a colheita acontece ao longo de todo ano, entretanto, as características climáticas interferem nas características organolépticas do fruto. Os meses mais secos (agosto - dezembro) são conhecidos como alta temporada, pois os frutos apresentam melhores características (BORGES et al., 2011; VASCONSELOS e ALVES, 2006).



Figura 5. Açai. (Fonte: AÇAÍ FROOTY)

Outros tipos de açai ocorrentes na Amazônia são: o açai-açu, que é um fruto de cor roxa, comum em populações nativas, de cachos mais pesados, com maior número de frutos por ráquulas e maior diâmetro que os tipos comuns; o açai espada que ocorre principalmente na ilha do Combu no município de Acará e que difere dos tipos comuns pelo formato do cacho, por apresentar ráquulas primárias, secundária e terciárias; e o açai sangue-de-boi, que é mais prevalente em populações nativas no baixo Amazonas, no município de Santarém, os frutos possuem coloração avermelhada quando maduros, a polpa apresenta consistência menos pastosa que os tipos mais comuns, com menor aceitação regional pela consistência fina e sabor diferente dos frutos de cor roxa (OLIVEIRA, CARVALHO e NASCIMENTO, 2000).

O açai (*Euterpe oleracea*) é um fruto rico em ácidos graxos, em 100g de peso seco cerca de 32,5 g são gorduras, sendo 73,9% de gorduras insaturadas (ácido linoleico e o ácido oleico os mais predominantes) e 26% de gorduras saturadas, (destacando a presença do ácido palmítico) o que atribui um valor nutricional relativamente alto. Foi observado também a presença de fitoesteróis como β -Sitosterol, campesterol e estigmasterol (SCHAUSS et al., 2006b), gorduras consideradas importantes como redutores dos níveis de colesterol (LAAKSONEN et al., 2005). As características nutricionais e benéficas à saúde atribuídas ao fruto não eram conhecidas cientificamente, exceto a propriedade energética, até estudos realizados posteriormente (LICHTENTHÄLER et al., 2005). O açai possui uma concentração de proteínas superior a alimentos como o leite (3,50%) e ovo (12,49%). Já o teor de aminoácidos é equivalente ao do ovo. O fruto é rico em minerais, como cálcio e potássio. A vitamina E que é um antioxidante natural, é encontrada na polpa do fruto em maior concentração que outras vitaminas (Tabela 2) (COHEN, 2006).

Tabela 2. Composição química e valor nutricional do açaí (*E. oleracea*).

Composição	Unidade	Quantidade na matéria seca
pH	-	5,8
Matéria seca	%	15
Proteína	g/100g(1)	13
Lípideos totais	g/100g(1)	48
Açúcares totais	g/100g(1)	1,5
Açúcares redutores	g/100g(1)	1,5
Frutose	g/100g(1)	1,5
Glicose	g/100g(1)	34
Sacarose	g/100g(1)	0
Fibras brutas	g/100g(1)	34
Energia	Kcal/100g	66,3
Cinzas	g/100g(1)	3,5
Sódio	mg/100g(2)	56,4
Potássio	mg/100g(2)	932
Cálcio	mg/100g(2)	286
Magnésio	mg/100g(2)	174
Ferro	mg/100g(2)	1,5
Cobre	mg/100g(2)	1,7
Zinco	mg/100g(2)	7
Fósforo	mg/100g(2)	124
Vitamina B1	mg/100g(2)	0,25
Vitamina E	mg/100g(2)	45

Fonte: Adaptado de COHEN (2006).

A polpa do açaí possui 52,2% de carboidratos sendo o maior percentual de fibras e o menor de açúcares (SCHAUSS et al., 2006). As fibras têm papel fundamental na saúde pela prevenção de doenças de ordem metabólicas como obesidade, doenças cardiovasculares e gastrintestinais (ARTISS et al., 2003). Um litro de açaí do tipo médio, com 12,5% de matéria seca, contém 65,8 g de lipídios, o que corresponde a 66% da ingestão diária requerida; 31,5 g de fibras alimentares totais, o que equivale a 90% das recomendações diárias e 12,6 g de proteínas, o que corresponde de 25% a 30% da quantidade nutricional diária necessária. As antocianinas são encontradas em altas concentrações, aproximadamente 1,02/100g de extrato seco (COHEN, 2006).

O fruto é rico em compostos fenólicos, sendo mais presente o grupo dos flavonoides, destacando-se as antocianinas com cinco tipos identificadas; destas cinco, duas são majoritárias sendo a cianidina-3-*O*-rutenosídeo e a cianidina-3-*O*-glicosídeo (DEL POZO-INSFRAN et al., 2004; GORDON et al., 2012). Além das antocianinas, doze tipos de flavonoides diferentes foram identificados, como as catequinas, entre outros (SCHAUSS et al., 2006b). Por este motivo, para alguns estudiosos somente 10% do poder antioxidante do açaí está relacionado às antocianinas (LICHTENTHÄLER et al., 2005), já para outros a antocianina é o composto responsável pela maior capacidade antioxidante do fruto (DEL POZO-INSFRAN et al., 2004; RUFINO et al., 2010).

O líquido obtido da maceração do açaí, denominado de vinho, geralmente é comido na região de origem, sendo considerado um alimento básico, importante na dieta da maioria dos habitantes do baixo rio Amazonas onde é notificado um consumo diário individual de até 2 litros (FAO, 2015; NOGUEIRA, 2006). O gosto de açaí é único e de difícil descrição, sendo caracterizado como semelhante à beterraba, cenoura ou parecido com noz; com um odor fraco, aparência cremosa e oleosa (LICHTENTHÄLER et al., 2005). Nas zonas urbanas, os frutos são utilizados no preparo de bebidas, a partir da maceração e da mistura com diferentes quantidades de água (COHEN e ALVEZ, 2006).

O suco é extremamente perecível, porém, a forma desidrata pode ser conservada por até 115 dias e ser comercializada internacionalmente (FAO, 2015). A Delegacia Federal de Agricultura (2000) divide as bebidas a base de açaí em três classificações de acordo com o resultado da extração realizada com a adição de água, como: açaí fino que consiste de 8-11% de matéria seca e aparência pouco densa, açaí médio que possui de 11-14% de matéria seca e aparência densa e o açaí grosso que é composto a partir de 14% de matéria seca e possui aparência muito densa (LICHTENTHÄLER et al., 2005; COHEN e ALVEZ, 2006).

A Amazônia é a principal região de consumo popular em todos os níveis econômicos e sociais (LICHTENTHÄLER et al., 2005), o fruto tem grande importância socioeconômica devido ao aproveitamento de toda matéria-prima e a geração de empregos diretos e indiretos. Na década de 90, o açaí se popularizou no Brasil, principalmente nos centros urbanos. A indústria alimentícia tem aproveitado as características funcionais do açaí para promover a comercialização, especificamente para indivíduos praticantes de esportes, bem como exportação da polpa congelada (AGEITEC, 2011; HOMMA, 2006). Em 2010, os estudos científicos se intensificaram na tentativa de desvendar os atributos fitoquímicos e funcionais do fruto, com objetivo de utilizá-lo com um aditivo ou ingrediente alimentar (RUFINO, et al., 2009; RUFINO et al., 2010 e SCHRECKINGER, et al., 2010).

Existem outros usos do açaizeiro além do fruto e do palmito, como a extração do pigmento antocianina a partir dos frutos, com objetivo de se obter corantes naturais para atender a indústria alimentícia. Estudos demonstram que *Euterpe oleracea* e *E. edulis*, são as fontes principais para extração do pigmento (FAO, 2015).

Schauss e seus colaboradores (2006) utilizando sistema de cromatografia líquida de alta eficiência acoplada a um detector fotodiodo e espectrofotometria de massas, encontraram o conteúdo total de 319 mg/100g de antocianinas em amostras de açaí liofilizado. Rosso e seus colaboradores (2008) quantificaram um total de antocianinas de 293mg/100g em polpa de açaí congelado proveniente do Estado do Pará, dentre as antocianinas identificadas a cianidina-3-*O*-rutenosídeo apresentou 86,8 mg/100g e a cianidina-3-*O*-glicosídeo 13,2 mg/100g. Um estudo realizado por Lichtenthäler e seus colaboradores (2005), demonstrou que a polpa do açaí roxo da qualidade grosso, colhido no período da alta temporada, também continha uma concentração significativamente alta das mesmas antocianinas (cianidina-3-*O*-rutenosídeo e cianidina-3-*O*-glicosídeo) com excelente capacidade antioxidante, 11 vezes maior do que o esperado contra peróxido, e um bom resultado para peróxido nítrico, entretanto, contra radicais hidroxilas (OH) o açaí resultou em capacidade antioxidante extremamente baixa.

Pesquisas apontam que capacidade antioxidante do fruto pode estar relacionada também com compostos ainda não conhecidos; e que a capacidade antioxidante das antocianinas está diretamente ligada com as condições de armazenamento, pois análises realizadas com amostras comerciais de açaí congelado resultaram em resultados inferiores, provavelmente devido à instabilidade das antocianinas durante longos períodos de estocagem (PRIOR; GU, 2005). Muitos trabalhos vêm sendo conduzidos com o fruto e seus derivados, o que possibilita demonstrar as atividades farmacológicas do açaí e seus benefícios para a saúde

(HEINRICH; DHANJI; CASSELMAN, 2011; HOGAN et al., 2010; JENSEN et al., 2008; 2009).

3.5.1 Polpa

O comércio de frutos na forma de polpas tem se elevado nos últimos anos. O Brasil é um dos maiores produtores e exportadores dentre os países em desenvolvimento. As polpas além de possuírem as características organolépticas dos frutos, apresentam excelentes fontes de vitaminas.

Para um alimento ser considerado polpa de fruta, deve ser extraído de partes comestíveis da fruta madura em boas condições, por processo tecnológico adequado com um teor mínimo de sólidos totais. De acordo com o Ministério da Agricultura e Abastecimento, os padrões de identidade e qualidade devem ser como um produto não fermentado, não concentrado, não diluído e obtido de frutos polposos (BRASIL, 2000).

A venda de polpa congelada de açaí para outros estados brasileiros aumentou significativamente (Figura 6), anualmente as taxas são superiores a 30%. As exportações, na forma de mix ou de polpa, ultrapassam o número mil toneladas por ano. No ano de 2010, a exportação do fruto movimentou UU\$ 121.7 (BRASIL, 2015).



Figura 6. Distribuição do Consumo de açaí no Mundo (Fonte: CONAB- 2013).

Para elaboração da polpa de açaí, após a colheita e debulha, é realizado o processo de seleção dos frutos, onde os melhores seguem para a higienização passando por 4 lavagens, sendo a primeira uma lavagem comum com objetivo de retirar as sujidades, a segunda lavagem tem como objetivo conferir amolecimento ao fruto, desta forma a água é utilizada em temperatura ambiente ou entre 40 °C e 60 °C, com tempo variando de 10 a 60 min de acordo com o grau de maturação do fruto, a terceira lavagem é feita com água clorada e a última com água potável para o enxágue. Após, os frutos seguem para o processo de despulpamento. O açaí obtido pelo despulpamento pode ser imediatamente embalado e congelado ou passar por tratamentos térmicos prévios. Após a colheita, os frutos têm a validade comercial muito baixa quando não submetidos a métodos de conservação, de no máximo 12 horas, ainda que sob refrigeração (VASCONCELOS e ALVES, 2006; COHEN e ALVES, 2006).

A alta taxa de perecibilidade pode ser associada à alta carga microbiana presente naturalmente nos frutos como bolores e leveduras, ou muitas das vezes oriundas das condições inadequadas de colheita, armazenamento, transporte e processamento o que propicia a contaminação por bactérias patogênicas como coliformes fecais, *Salmonella*, entre

outros. As boas práticas agrícolas e as boas práticas de fabricação diminuem a probabilidade de contaminação microbiológica do açaí durante o processamento, elevando a conservação do produto. Além dos fatores externos, o processo de degradação do açaí, pode ocorrer por ação enzimática, o que pode conferir mudanças nas propriedades organolépticas e nutricionais do fruto. A enzima peroxidase que é uma enzima termorresistente, tem a sua inativação utilizada como indicadora da eficiência dos tratamentos térmicos. O açaí também pode ser degradado através da ação da enzima polifenoloxidase. Apesar de provocarem mudanças organolépticas e sensoriais, existe a necessidade da aplicação de alguns métodos de conservação com objetivo de proporcionar segurança ao consumidor e aumentar a validade comercial do açaí, como o congelamento, a atomização e a pasteurização que promove o aquecimento da polpa de açaí sob temperatura de 80°C a 90°C durante 10 segundos e resfriamento imediato no próprio trocador de calor (COHEN e ALVES, 2006).

O rendimento da polpa do açaí varia de acordo com os seguintes fatores: procedência do fruto, período de produção, intervalo entre a colheita, tipo de processamento dos frutos e classificação da polpa (Tabela 3).

Tabela 3. Rendimento da extração do açaí, a partir do despulpamento de 5 kg dos frutos.

Qualidade da polpa de açaí	Nascimento (1992)	Guimarães e Henrique (1996)	Poulet (1997)	Cavalcante (1991)
Fino	4,5 a 7,0L	-	2,5L	6L
Médio	3,0 a 4,5L	2,5L	-	-
Grosso	1,5 a 2,5L	2,0L	1,7L	-

Fonte: Adaptado de COHEN e ALVES (2006).

3.6 Antioxidantes

Um composto antioxidante pode ser definido como uma substância química que previna a oxidação, ou como qualquer outro composto que quando presente, ainda que em baixas concentrações comparado a um substrato oxidável, minimize ou previna consideravelmente a oxidação do mesmo (SUCUPIRA et al., 2012).

Os organismos vivos utilizam a oxidação durante o processo biológico para produção de energia. Durante este processo são gerados os radicais livres, e o excesso dessas substâncias estão relacionadas ao envelhecimento celular e a doenças degenerativas. Os radicais livres, são responsáveis pelo processo de desenvolvimento de rancidez e auto-oxidação nos alimentos (RUFINO et al., 2011), desta forma, a aplicação de compostos antioxidantes em alimentos além de conferir saúde ao consumidor, tem como vantagem o aumento da validade comercial dos produtos.

O mecanismo antioxidante desenvolvido pelos seres humanos contra os radicais livres, inclui a produção endógena de substâncias como as enzimas glutathione, peroxidase, catalase e a superóxido dismutase. Outros antioxidantes também são provenientes da dieta (exógenos), os antioxidantes não enzimáticos como as vitaminas A, C e E, e os compostos fenólicos (TRIPATHI; MOHAN; KAMAT, 2007).

A literatura relata duas categorias básicas de antioxidantes, o sintético e o natural, sendo ambos encontrados no mercado em grande quantidade e diversidade de compostos, entretanto, para que seu uso seja permitido em alimentos, é necessário que sejam cumpridos requisitos básicos, principalmente relacionados à segurança para a saúde. Dentre os antioxidantes naturais, os compostos que mais se destacam são os alcaloides, derivados da

clorofila, aminoácidos, carotenoides, ácido ascórbico (GENEMA, 2002) e principalmente os flavonoides, que têm sido alvos de estudos por possuírem alta capacidade antioxidante (RAHMAN et al., 2006).

A atividade antioxidante dos flavonoides é atribuída a sua capacidade de sequestrar radicais livres, atuando como doadores de átomos de hidrogênios, ainda podem quelar íons metálicos (TERAO, 2009; KANG et al., 2011), regular a atividade de enzimas antioxidantes, modular receptores nucleares, atuar na sinalização celular e atuar como ligantes em fatores de transcrição conferindo alterações sobre a expressão gênica (SEERAM, 2006).

Schauss (2006a) identificou uma alta concentração de antioxidantes na polpa do açaí e realizou a avaliação do total de antioxidante da polpa do fruto, os resultados foram nomeados como: antioxidantes de ação demorada, sendo os componentes com capacidade antioxidante exibindo resultados em 30 minutos, e os de ação rápida, com resultados mesurados em 30 segundos, assim como a vitamina C. Os resultados indicaram que os componentes antioxidantes da polpa de açaí são de ação demorada como os polifenóis, sendo mais potentes na ação antioxidante que os de ação rápida.

3.6.1 Flavonoides

Os flavonoides constituem o grupo dos compostos fenólicos que contém mais de 6000 mil substâncias identificadas. São metabólitos secundários das plantas e são sintetizados pela via do ácido chiquímico e acetato (HUANG et al., 2015; AERNE e O'BRIEN, 2002) sendo compostos de 15 átomos de carbono e um átomo de oxigênio (RHODES, 1996; BRAVO, 1998). Possuem grande importância na saúde devido as características anti-inflamatórias, antioxidantes, anticâncer, antibacteriana (HUANG et al., 2015; AERNE e O'BRIEN, 2002) e prevenção de doenças degenerativas (XIA et al., 2010). São estruturas de baixo peso molecular e possuem em sua estrutura química anéis aromáticos, A e B, e um anel heterocíclico denominado núcleo flavano (anel C) (COOK e SAMMAN, 1996) (Figura 7). A formação do anel A é dependente da condensação de 3 moléculas de Malonil Coenzima A (coA), já o anel B é originário da via do ácido chiquímico a partir do aminoácido fenilalanina que é convertido em ácido cinâmico e posteriormente em ácido cumárico. Os anéis A e B originam o anel C (MERKEN e BÉCHER 2000).

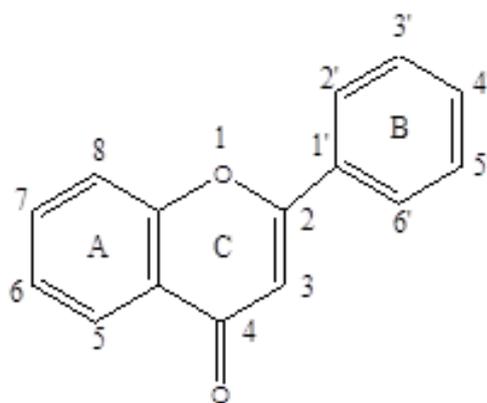


Figura 7. Estrutura geral dos flavonoides. Adaptado de Braga (2016).

Os compostos fenólicos têm ação antioxidante e uma das fontes dessas substâncias são as frutas (KANG et al., 2011).

Kang e seus colaboradores (2011), por meio de estudos químicos e espectroscópicos identificaram quatro novos flavonoides na polpa do açaí, que até então não se tinha o

conhecimento, sendo: (2S,3S)-dihidrocaempferol 3-O- β -D-glicosídeo, seu isômero (2R,3R)-dihidrocaempferol 3-O- β -D-glicosídeo, velutina e 5,4-dihidroxi-7,3,5-trimetoxiflavone.

Em estudos realizados por Gordon e seus colaboradores (2012), oito flavonoides foram detectados na polpa do açaí em diferentes concentrações dependendo do estágio de maturação do fruto. Foi observado que dos oitos compostos detectados, as maiores concentrações ocorriam em frutos verdes, pois alguns durante o processo de amadurecimento tinham as suas concentrações diminuídas, já outros desapareceram quase que completamente. Logo, os resultados indicaram que as concentrações de flavonoides são superiores em frutos no estágio inicial de maturação com presença dominante das flavonas orientin e homoorientin (GORDON et al., 2012). No estágio maduro há uma redução de até 30% dos compostos fenólicos, o que significa que a capacidade antioxidante também é superior no estágio inicial. Durante a maturação, existe a redução de alguns flavonoides e de compostos de grande importância nutricional, como minerais e proteínas, entretanto, há o brusco aumento de antocianinas, bem como a redução da acidez, ocorrendo o aumento de gordura (GORDON et al., 2012).

3.6.1.1 Antocianinas

As antocianinas (*anthos* do grego flor e *Kyanos* do grego azul para designar as substâncias azuis extraídas das flores; ainda que a diversidade de cor seja superior, o termo se manteve para designar o grupo) (MARÇO e POPPI, 2008) são compostos fenólicos encontrados em diversas plantas. Após a clorofila, é o mais importante grupo de pigmentos vegetais e compõe o maior grupo de pigmentos hidrofílicos do reino vegetal. Pertencem ao grupo dos flavonoides e devido a sua baixa toxicidade são utilizadas em alimentos por ser um corante natural. As antocianinas possuem diferentes colorações e são responsáveis pelos tons intensos de folhas, flores e frutos, variando entre o vermelho e o azul. As funções desempenhadas pelas antocianinas são diversas como potente antioxidante, promovem funções importantes nas plantas como a polinização (através da atração), e em alimentos propiciam a prevenção contra auto-oxidação e peroxidação de lipídeos.

Diferentemente da maioria dos flavonoides que possuem alta absorvância na faixa de 250 a 270 nm (região UV) as antocianinas, particularmente, apresentam também uma intensa absorção na faixa de 520 a 560 nm (região visível) (LOPES et al., 2007; JAGANATH e CROZIER, 2010; YI et al., 2010; MERKEN e BECHER 2000).

As antocianidinas são precursoras das antocianinas (VOLP et al, 2008), são livres de moléculas de açúcar e apresentam como estrutura básica o cátion flavílico (MARÇO e POPPI, 2008) (2-fenilbenzopirilium) (YI et al., 2010; REQUE et al., 2014), a maioria possui OH ligadas nas posições 3, 5 e 7. Já as antocianinas são glicosídeos, ou seja, uma ou mais OH da sua estrutura (normalmente nas posições 3 e 5) estão ligadas a moléculas de açúcares, sendo os mais comuns a glicose, xilose, galactose, arabinose, ramnose ou dissacarídeos, o que confere maior estabilidade a molécula. Devido a sua solubilidade em água, as antocianinas ocorrem nos tecidos das plantas dissolvidas no fluído da célula vegetal, que geralmente apresentam pH levemente ácido (MARÇO e POPPI, 2008; HARBONE; SAITO; DETONI, 1994).

A elevada capacidade antioxidante das antocianinas está relacionada à deficiência de elétrons do núcleo flavílium e à presença de grupos hidroxilas livres. O alto poder de reação do grupo hidroxil com o radical livre faz com que o mesmo seja inativado (WADA, 2007; KUSKOSKI et al., 2004; GOUVÊA, 2010; CARDOSO, 2011).

Atualmente se conhece aproximadamente cerca de 500 antocianinas e 23 antocianidinas, onde 6 são mais comumente encontradas em alimentos e possuem importância

dietética, sendo a cianidina mais prevalente (50%), seguida da delphinidina, pelargonidina e peonidina (12%) e em menor proporção a petunidina e malvidina (7%). A diferença básica entre as antocianinas está na sua estrutura química, pois existe variação no número e posição das OH, como também no tipo, na posição e acilação dos açúcares presentes na sua estrutura (YI et al., 2010; REQUE et al., 2014). A nomenclatura das antocianinas encontradas em alimentos é derivada da origem botânica em que foram primeiramente isoladas (MARÇO e POPPI 2008).

Apesar das inúmeras vantagens, as antocianinas são instáveis, pois são fotossensíveis, sensíveis ao pH, ao oxigênio (TONON, BRABET e HUBINGER, 2010) e sensíveis à enzimas como a polifenoloxidase e a peroxidase, que na presença de substratos como o ácido clorogênico e oxigênio promovem a degradação das antocianinas (REQUE et al., 2014). Outra característica importante é o fato das antocianinas diminuírem a sua concentração com longos períodos de estocagem (TONON, BRABET e HUBINGER 2010). Esse é um dos fatores impedem a larga utilização das antocianinas como corantes em alimentos (REQUE et al., 2014). Estudos sugerem que as antocianinas podem ser polimerizadas durante o armazenamento, tanto em sucos como em frutos *in natura* devido a maior atividade de água (*Aw*). A polimerização origina moléculas maiores, com diferente coloração e menor capacidade antioxidante (HILLEBRAND et al., 2004; REQUE, 2014). Matrizes com maior *Aw* podem propiciar a mobilidade das antocianinas, o que facilita as reações físico-químicas de degradação, embora alguns estudos também relatem degradação de antocianinas em menores *Aw* (TONON, BRABET e HUBINGER, 2010).

O pH é um fator importante, geralmente as antocianinas são mais estáveis em pH ácido entre 1 e 4. Em solução se encontram com frequência na forma de uma mistura de diferentes estruturas químicas em equilíbrio como: cátion flavilium (vermelho), base anidra quinoidal (azul), pseudo-base carbinol (incolor), e chalcona (incolor ou levemente amarela). Em pH muito ácido (1-2) o cátion flavílico predomina o que confere coloração avermelhada; com o pH próximo de 4,5 há um equilíbrio entre pseudo base carbinol e chalconas; com o aumento do pH são formadas moléculas desprotonadas, denominadas bases quinoidas, de cor azul ou violeta (MARÇO e POPPI, 2008; BOBBIO e BOBBIO,1995).

A luz (MARÇO e POPPI, 2008; COSTA et al, 2015) e o aquecimento aumentam a degradação das antocianinas e alteram a sua coloração, porém, a presença de flavonóis e ácidos fenólicos, por exemplo, podem aumentar a estabilidade das antocianinas através da associação entre os compostos, o que minimiza a perda de cor pela formação de copigmentos (MARÇO e POPPI, 2008; BOBBIO e BOBBIO,1995).

Schauss e seus colaboradores (2006b) identificaram as antocianinas cianidina-3-*O*-glicosídeo e cianidina-3-*O*-rutenosídeo como as majoritárias do açaí. Também encontraram cianidina-3-*O*-sambubioside, peonidina-3-*O*-glicósido e peonidina-3-*O*-rutinosídeo em menores concentrações (Figura 8).

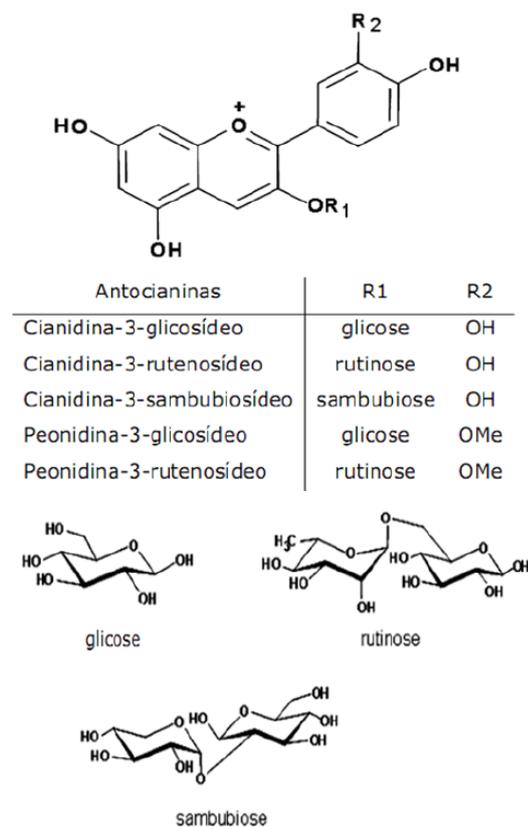


Figura 8. Estruturas das antocianinas (Fonte: SCHAUSS, 2006b).

Gordon observou uma concentração de 1:1 na fase intermediária de maturação do açaí, enquanto que em frutos maduros, a concentração foi de 4:1 com maior proporção para cianidina-3-O-rutenosídeo. Peonidina 3-O-rutenosídeo foi encontrada em menor teor na amostra de polpa de açaí, já a pelargonidina 3-O-glicósido foi detectada apenas em frutos de *Euterpe precatória* (Pacheco-Palencia et al., 2009).

3.7 Extração de Antocianinas

As antocianinas são compostos instáveis em pH alcalino e neutro. Ainda que o pH esteja ácido, pode haver degradação da cor gradualmente com a exposição à luz. Como o pigmento é hidrossolúvel, a escolha do solvente para extração deve ser polar, como soluções alcoólicas de metanol ou etanol, adicionadas de ácido acético ou ácido clorídrico, por exemplo (MARÇO e POPPI, 2008). O ácido cítrico é um ácido orgânico fraco e tem melhor ação com o uso do metanol, seguido pelo ácido tartárico, ácido fórmico, ácido acético e o ácido propiônico (TEIXEIRA, STRINGHETA e OLIVEIRA, 2008). É importante que durante a extração seja realizado a monitorização do pH, pois o mesmo deve se manter ácido (LOPES et al., 2007). Os solventes escolhidos não devem ter uma acidez elevada para que não haja hidrólise dos açúcares ligados as antocianinas (TEIXEIRA, STRINGHETA e OLIVEIRA, 2008). A água e o etanol também podem ser utilizados como solvente, no entanto, caso a extração tenha uma prioridade quantitativa, o metanol é o solvente mais eficaz utilizado, pois a limitação do uso do etanol e da água está relacionada com menor eficiência de extração de antocianinas (TERCI, 2004). Apesar da sua toxicidade, o metanol é quantitativamente cerca de 20% mais eficiente na extração que o etanol (SANTIAGO et al., 2010).

Após o processo de maceração da amostra na solução extratora, obtêm-se o extrato do pigmento, caso haja necessidade de armazená-lo, o local deve ser escuro e sob baixas temperaturas (MARÇO e POPPI 2008). Em geral realizam-se em média três extrações consecutivas do pigmento, porém, de acordo com a matriz utilizada é importante que se repita o processo até que se esgote a coloração do solvente (TEIXIERA, STRINGHETA e OLIVEIRA 2008).

3.8 Métodos de Análises de Antocianinas

Muitos são os métodos utilizados para análises de antocianinas. Dependendo da finalidade, métodos simples e baratos como a cromatografia em papel que detecta a presença de antocianinas, podem ser suficientes. A cromatografia em camada delgada é uma alternativa mais específica em relação à cromatografia em papel.

Técnicas mais avançadas para detecção e identificação de antocianinas, ainda que sejam mais caras, apresentam melhor resolução, confiabilidade e eficiência como a cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE), que para a identificação dos compostos, é desejável que se compare com padrões. Além disso, as antocianinas podem ser identificadas por métodos como a ressonância magnética nuclear de carbono (RHM ^{13}C) e de próton (RHM ^1H) que permitem a elucidação estrutural; espectrometria de massas que geralmente está associando a CLAE; e a espectrometria UV-Vis. No caso de uma nova espécie de composto, a combinação dessas técnicas com informações da literatura fornecem subsídios que permitem a identificação, já que a maior dificuldade para identificação das antocianinas está na falta de padrões comerciais (MARÇO e POPPI, 2008).

3.8.1 Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE)

A descoberta da cromatografia se deu no ano de 1903 com o botânico Mikhail Semenovich Tswet, sendo considerado o pai da cromatografia moderna. Foi aplicada com objetivo de separar substâncias. A origem do nome é grego “chroma +graphein”, a cromatografia ou escrita da cor.

Mikhail efetuou particularmente a separação de pigmentos corados presentes em extratos de plantas por adsorção diferencial em colunas de vidro, tendo verificado a perfeita separação dos pigmentos. A partir de então, muitos avanços têm sido concretizados por um grande número de cientistas (ETTRE, 2000).

Um sistema de CLAE é composto por um reservatório de solvente, uma bomba, um injetor de amostra, uma coluna, um detector e um computador com software para processamento dos dados (ROSA, 2005). Uma das técnicas mais utilizadas para separação de antocianinas é a cromatografia líquida de alta eficiência com fase reversa que utiliza colunas fechadas contendo solvente específico. A fase móvel é eluída a pressão, o que garante uma maior capacidade de realizar as separações com alta eficiência, alta resolução e sensibilidade. (ESCRIBANO-BAILÓN, SANTOS-BUELGA e RIVAS-GONZALO, 2004; MARÇO e POPPI, 2008). Na CLAE de fase reversa, as colunas utilizadas possuem grupos funcionais apolares (C_8 , C_{18} e C_{30}) quimicamente ligados a um suporte de sílica (ROSA, 2005).

Ultimamente a CLAE de fase reversa acoplada a um detector de arranjo de fotodiodos (PDA) tem sido a ferramenta mais utilizada para a quantificação e identificação de antocianinas. As antocianinas podem ser separadas de acordo com a sua polaridade, o que atribui diferentes tempos de retenção (HONG e WROLSTAD, 1990; FRANCIS, 1982). Os detectores mais utilizados em CLAE são os de absorvância de radiação ultra-violeta; estes possuem como princípio de funcionamento que a fase móvel emergente da coluna passa através de uma pequena célula que é mantida no caminho de um feixe de radiação UV-

Visível, oriunda de uma lâmpada de deutério (UV), ou tungstênio (Visível). A radiação que não absorvida, é medida em um fotodiodo (SKOOG; HOLLER; NIEMAN, 1997; GOUVEA 2010).

3.9 Determinação da Capacidade Antioxidante.

Muitos métodos são utilizados para determinar a capacidade antioxidante de materiais biológicos. Os métodos se baseiam na captura do radical peroxil como o ORAC (Capacidade de Absorção de Radicais de Oxigênio) e TRAP (Potencial Antioxidante Reativo Total); na redução de metais como o FRAP (Ferric Reducing Antioxidant Power), CUPRAP (Cupric Ion Reducing Antioxidant Capacity) (SUCUPIRA, et al., 2012) que é conhecido por ser mais estável a luz e a umidade que os reagentes cromogênicos como ABTS e DPPH e é seletivo devido seu baixo potencial redox, logo, não oxida açúcares simples e ácido cítrico, reage com maior gama de antioxidantes do grupo tiol e possui curva analítica linear ao longo de um amplo intervalo de concentração (OXFORD, 2010); captura do radical hidroxila (ABST- 2,2'-azino-bis (ácido 3-etilbenzotiazolina-6-sulfônico), captura do radical orgânico (DPPH-(2,2-difenil-1-picrilidrazil) e quantificação de produtos formados durante a peroxidação lipídica (TBARS, oxidação do LDL e co-oxidação do β -caroteno) (RUFINO et al., 2007; SUCUPIRA, et al., 2012).

Os métodos que envolvem compostos cromogênicos de natureza radical, ABTS e o DPPH, têm sido uns dos mais utilizados para determinar a capacidade antioxidante em frutas. Estes estimulam as espécies redutoras de oxigênio e são considerados bons métodos, pois são acessíveis, práticos, rápidos, sensíveis e estáveis. Nestes métodos a presença de um composto antioxidante, leva o desaparecimento do radical cromógeno, o que caracteriza uma diminuição na leitura da absorvância.

O radical ABTS é produzido a partir do precursor, ácido 2,2'-azino-bis(3-etilbenzotiazolin)-6-sulfônico. É um composto cromóforo, estável, hidrossolúvel, com máxima absorvância a 414 nm e de medidas secundárias de absorvância a 645, 734 e 815 nm. Deve ser gerado por reações enzimáticas ou químicas, podendo ser solubilizado em meios orgânicos e aquosos nos quais a capacidade antioxidante pode ser determinada, dependendo da natureza dos compostos antioxidantes. O método ABTS se baseia na capacidade dos antioxidantes em capturar o cátion $ABTS^{\bullet+}$, o que provoca um decréscimo na absorvância, e ocorre a partir da mistura do radical com o antioxidante em diferentes tempos, sendo representados graficamente (SUCUPIRA et al, 2012). O radical livre é altamente reativo devido aos seus elétrons não pareados, desta forma, o agente antioxidante promove a transferência de elétrons, o estabilizando (HUANG, OU e PRIOR, 2005; RUFINO et al., 2007). Este método tem como vantagem a possibilidade de ser utilizado para amostras hidrossolúveis e lipossolúveis, apresenta excelente estabilidade, sendo um dos testes mais rápidos de capacidade antioxidante e que oferece resultados reprodutíveis, além de oferecer máximo de absorção e boa solubilidade (SUCUPIRA et al, 2012). Ainda é um método barato e fácil de usar, é estável em pH em curtos períodos de tempo, portanto, pode ser utilizado para estudar o efeito do pH sobre a capacidade antioxidante (ZULETA, ESTEVES e FRÍGOLA 2009).

O método *Oxygen radical absorbance capacity* (ORAC) foi desenvolvido inicialmente em 1993 por Cao, Alessio e Cutler; e consiste em medir a diminuição da fluorescência de uma proteína, como um resultado de uma desnaturação a partir de um dano oxidativo causados por uma fonte de radicais peroxil (ROO^{\bullet}). O método mede a capacidade dos antioxidantes em proteger a proteína da degradação oxidativa (ZULETA, ESTEVES e FRÍGOLA 2009) pela transferência de átomos de hidrogênio o que promove uma reação competitiva entre o antioxidante e o substrato para formação do radical por decomposição de compostos azo

(azida) (HUANG, OU e PRIOR, 2005). Os radicais são gerados por aquecimento de um composto azida, que se decompõe, eliminando gás nitrogênio, deixando para trás radicais centrados em carbono. Na presença de oxigênio, estes radicais são convertidos quase instantaneamente radicais ROO• que atacam moléculas-alvo que têm cor (fluorescência) ou reagem com os antioxidantes. As reações de alvos e antioxidantes com o ROO• constitui a base do ensaio (SCHAICH, TIAN e XI, 2015).

Inicialmente, a proteína utilizada no método foi a b-ficoeritrina, porém, esta apresentou uma série de desvantagens, como a inconsistência entre lotes na aquisição, fotossensibilidade e interação com os compostos fenólicos devido à ligação não específica da proteína. Desta forma, em 2001 Hampsch-Woodill e Prior propuseram o uso da proteína fluoresceína (30,60-dihydroxyspiro [isobenzofurano-1 [3 H], 90 [9H]-xanten] -3-ona) uma proteína altamente fluorescente, como a proteína alvo, sendo utilizada até os dias atuais. Normalmente, o método exige o uso de equipamentos caros e a variabilidade dos dados pode ser grande nos equipamentos, é um método sensível ao pH e requer períodos mais longos para quantificar resultados (ZULETA, ESTEVES e FRÍGOLA 2009). Os resultados são calculados como a área total sob as curvas (AUC) de reação para cada amostra antioxidante, subtraídas pela área do branco (SCHAICH, TIAN e XI, 2015). No ensaio, o radical 2,2'-azobis(2-amidinopropano) dicloridrato (AAPH) é adicionado à fluoresceína, a 37°C, na presença do composto antioxidante a ser analisado, e a fluorescência é medida ao longo do tempo, até que seja reduzida a valores baixos. O ensaio geralmente é realizado utilizando microplacas com 96 espaços, o que permite que várias amostras sejam analisadas simultaneamente (LIMA, 2008).

A escolha da utilização deste método é vantajosa, pois o ORAC utiliza radicais livres biologicamente relevantes (ROO•) *in vivo* e em alimentos como o AAPH; fornece contínua geração de radicais a uma escala de tempo realista, o ensaio pode ser adaptado para detectar antioxidantes hidrófilos e hidrófobos alterando a fonte de radicais, solvente e a molécula alvo; tem sido rotineiramente automatizado (SCHAICH, TIAN e XI, 2015); permite a comparação de dados em laboratórios e integra tanto o grau e o tempo de reação antioxidante. O método ORAC fornece uma subestimação da capacidade antioxidante de alimentos ou bebidas de natureza mais complexa (ZULETA, ESTEVES e FRÍGOLA 2009).

3.10 Liofilização

A retirada parcial ou total da água dos alimentos é um dos métodos de conservação mais antigos, que se baseiam no controle da umidade. A liofilização é um método de secagem artificial por sublimação (NETO, 2008) sendo caracterizada por três etapas, onde primeiramente o alimento é congelado para que haja diminuição das atividades biológicas e interrupção das reações químicas do alimento, após o alimento congelado é desidratado por sublimação e por fim ocorre a dessorção sob pressão e temperaturas reduzidas (TATTINI JUNIO, PARRA e PITOMBO, 2006). O processo se diferencia de outros métodos como a secagem ou desidratação natural, secagem osmótica e a secagem artificial, que geralmente necessitam de grandes áreas e envolvem perdas das características sensoriais dos alimentos (IBARZ e BARBOSA-CANOVAS, 1999).

A liofilização permite o controle de parâmetros como a umidade e a temperatura, não necessita de grandes espaços, sendo um processo em que os alimentos são desidratados sob pressão e temperatura, onde a água presente passa do estado sólido para o estado gasoso através da sublimação. O processo ocorre sob baixa umidade, alto vácuo e baixas temperaturas, permitindo que características organolépticas e químicas do alimento sejam preservadas (GAVA, 1994; CELESTINO, 2010). O resultado do processo é um produto facilmente transformado em pó (FODA et al., 1970) e com uma maior validade comercial

pela diminuição da A_w , que reduz o desenvolvimento microbiano e reações enzimáticas. A liofilização agrega vantagens ao alimento, como menor peso durante o transporte e facilidade de armazenagem (BOSS, 2004).

Um estudo realizado por Menezes, Torres e Srur (2008), observou que a liofilização é uma excelente alternativa de conservação da polpa do açaí, pois foi detectado no final do processo a presença de importantes componentes nutricionais naturais do fruto.

3.11. Determinação do Tamanho de Partícula por Difração de Raio Laser

A técnica de Determinação do Tamanho de Partícula por Difração de Raio Laser (DTPDL) é muito utilizada em diversos ramos da indústria devido à facilidade de operação, rapidez (leitura de 5-10 minutos por amostra) e amplitude de leitura (DI STEFANO, FERRO e MIRABILE, 2010; NUNES et al., 2014). Por algumas décadas, a DTPDL tem sido amplamente aceita como uma eficiente tecnologia de caracterização. No entanto, para muitos pesquisadores a técnica não é verdadeiramente uma determinação do tamanho de partícula, mas sim, uma técnica de caracterização do sistema de partículas já que não há nenhuma única partícula esférica cujo padrão de difração seja idêntico à de uma partícula não esférica. Nesta técnica, o processamento de dados de dispersão de luz é baseado na suposição de partículas esféricas, de modo que o padrão de dispersão teórico de uma distribuição de partículas esféricas é utilizado para fornecer o melhor ajuste. Quando se lida com partículas não esféricas, há uma maior preocupação com todos os fatores que podem afetar o resultado final como a aglomeração, segregação, atrito, dissolução, entre outros (TINKE et al., 2008).

Por este método, as partículas são dispersas em um fluido sob movimento o que causa discontinuidades na fluidez do líquido, são detectadas por uma luz incidente, e correlacionadas com o tamanho de partícula. Ao atingir um certo número de partículas, a luz incidente sofre uma interação relacionada a quatro diferentes fenômenos sendo, difração, refração, reflexão e absorção; formando um invólucro tridimensional de luz. A forma e a dimensão deste invólucro são afetadas pelo índice de refração relativo da partícula no meio dispersante, pelo comprimento de onda da luz, pelo tamanho e formato da partícula (NUNES et al., 2014).

Um diâmetro de partícula obtido pelo método de difração de raio de laser é equivalente ao de uma esfera que dá a mesma difração como partícula. Um difrator de raio laser visualiza a partícula como um objeto bidimensional.

O princípio da DTPDL define que as partículas de um dado tamanho difratam a luz através de um determinado ângulo. O ângulo de difração é inversamente proporcional ao tamanho de partícula, e a intensidade do feixe de luz difratado em qualquer ângulo é uma medida do número de partículas com uma área de seção transversal específica no caminho óptico (DI STEFANO, FERRO e MIRABILE, 2010).

Um feixe paralelo de luz monocromática passa através de uma suspensão contida na amostra, e a luz difratada é focada sobre detectores. Para calcular os tamanhos de partículas e a intensidade de luz detectada pelos detectores, duas teorias de difração são comumente usadas: a difração de Fraunhofer e a teoria de Mie. Ambas teorias assumem que as partículas têm uma forma esférica, ou seja, a dimensão da partícula é o diâmetro esférico óptico. A teoria de Fraunhofer é baseada na aproximação em que o feixe do laser é paralelo e o detector está a uma distância muito grande em comparação com o tamanho da partícula de difração (DI STEFANO, FERRO e MIRABILE, 2010), e tem sido usada em instrumentos mais antigos de difração. Neste modelo há a suposição que as partículas submetidas ao teste são opacas e espalham luz em ângulos estreitos, desta forma é somente aplicável às partículas grandes e poderá fornecer uma avaliação incorreta da fração de partículas finas (ISAAC et al, 2008).

O modelo de Mie abrange toda dispersão de luz por partículas esféricas, e todos os dados de difração de raios laser podem ser transformados em uma distribuição de tamanho de partículas, usando um algoritmo contínuo (NUNES et al, 2014). É uma teoria mais rigorosa para o cálculo da distribuição de tamanho da partícula dos dados de espalhamento de luz, e as intensidades de espalhamento podem ser aplicadas a todos os tamanhos de partículas, transparentes ou opacas, permitindo assim um espalhamento preliminar da superfície da partícula, com a intensidade calculada pela diferença do índice de refração entre a partícula e o meio de dispersão. É possível, também, determinar o espalhamento secundário, causado pela refração dentro da partícula.

Os tamanhos são relativos às proporções em que (d)10, (d)50 e (d)90% do material devem ser determinados, sendo a frequência acumulada. O d50 representa o tamanho médio do material, já a razão d90/d10 oferece uma indicação da homogeneidade granulométrica do material (ISAAC et al., 2008).

3.12 Tratamento Ultrassônico

O tratamento ultrassônico, também conhecido como sonicação, é visto como um processo não convencional e ecologicamente correto para efetuar modificações físico-químicas, inativação de microrganismos e ruptura de membranas lipídicas (ZILL-E-HUMA e KHAN 2011). O emprego de ultrassom é um método reconhecidamente eficaz para a redução de tamanho de partículas. Esta técnica pode gerar partículas nanoscópicas em suspensões, dispersões e emulsões, além disso, acelerar reações químicas e bioquímicas através da maior facilidade da mistura dos reagentes e aumento nas taxas de difusão (KULDILOKE, 2002).

Existem três tipos diferentes de ondas sonoras, as ondas de baixa frequência, conhecidas como infrassônicas, que possuem frequência inferior a 20 Hz; as ondas sonoras possíveis de serem auscultadas que possuem frequência de 20 a 20.000 Hz, e as ondas ultrassônicas que possuem frequência acima de 20.000 Hz (MC CARTY 2005). A aplicação do ultrassom no intervalo 20 a 1000 kHz é dividida em duas bandas, sendo ultrassom de baixa potência, baixa amplitude e alta frequência (100-1000kHz), e a outra banda é o ultrassom de alta potência, alta amplitude e baixa frequência (20-100 kHz). Este segundo tipo é o mais utilizado no processamento de alimentos, devido as bolhas de cavitação que são mais difíceis de serem formadas com frequências ultrassônicas mais elevadas (GOLMOHAMADI, et al., 2013)

Na indústria alimentícia a aplicação do ultrassom é utilizada para emulsificação, cristalização, homogeneização, filtração, alteração da viscosidade, inativação microbiana, cozimento, desgaseificação, congelamento e descongelamento, secagem, amaciamento, indução da fermentação e do envelhecimento pela geração de radicais livres (MASON, 1998; CHEMAT, ZILL-E-HUMA e KHAN 2011).

Durante a sonicação de sistemas líquidos, ocorre o processo conhecido como cavitação (MASON, 1998; CHEMAT, ZILL-E-HUMA e KHAN 2011) onde há uma iniciação de reações químicas e o aparecimento de bolhas que induzem altos gradientes de pressão e altas velocidades locais do líquido, essa cavitação provoca forças de cisalhamento em moléculas maiores reduzindo-as de tamanho (PORTENLAENGER e HEUSINGER 1997). O processo de cavitação e a temperatura gerada no colapso das moléculas estão diretamente ligados a pressão de vapor do solvente utilizado no processo (BORGES E KORN 2002), pois a temperatura do meio aumenta devido o colapso assimétrico de bolhas perto das superfícies das paredes celulares e a produção de micro jatos. Essa energia produzida é parcialmente absorvida pelo meio e dissipada na forma de calor, resultando no aumento da temperatura. No entanto, a temperatura normalmente é baixa, inferior a 70°C quando o reator está equipado com um sistema de refrigeração (GOLMOHAMADI et al., 2013).

Além do processo de cavitação promover o cisalhamento das moléculas, este processo permite a extração de produtos naturais que normalmente levam horas ou dias para serem extraídos, ainda permite uma potencialização da extração de compostos que podem estar presos no interior das moléculas. Com o uso do ultrassom, extrações completas podem ser concluídas em minutos, com alta reprodutibilidade, reduzindo o consumo de solvente, simplificando a manipulação e o trabalho, conferindo maior pureza ao produto final, eliminando o pós-tratamento de águas residuais e consumindo apenas uma fração da energia fóssil normalmente necessária para um método de extração convencional. Várias classes de componentes alimentares tais como aromas, pigmentos e antioxidante são extraídos e analisados de forma eficiente a partir de uma variedade de matrizes, principalmente tecidos animais, alimentos e plantas (CHEMAT, ZILL-E-HUMA e KHAN 2011).

Parâmetros como a amplitude (γ) e comprimento de onda (λ) são importantes para o alcance dos objetivos. A γ da onda é a medida da magnitude de um distúrbio em um meio durante um ciclo de onda. Por exemplo, ondas em uma corda têm sua amplitude expressada como uma distância (altura entre a crista e o vale) em metros, como Figura 9, e pode ser constante (neste caso a onda é uma onda contínua), ou pode variar com tempo e/ou posição. Já o comprimento da onda é a distância entre um pico e outro.

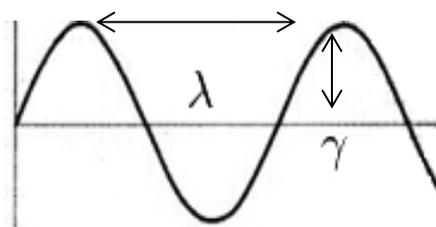


Figura 9. Representação da onda sonora: amplitude (γ) e comprimento de onda (λ). Adaptado de UFMG (2008).

Uma onda sonora pode ter uma alta ou uma baixa frequência, como Figura 10, que é determinada pelo número de oscilações ou vibrações da onda em um certo período de tempo, representado pela unidade hertz (Hz) que equivale a 1 segundo (UFMG, 2008).

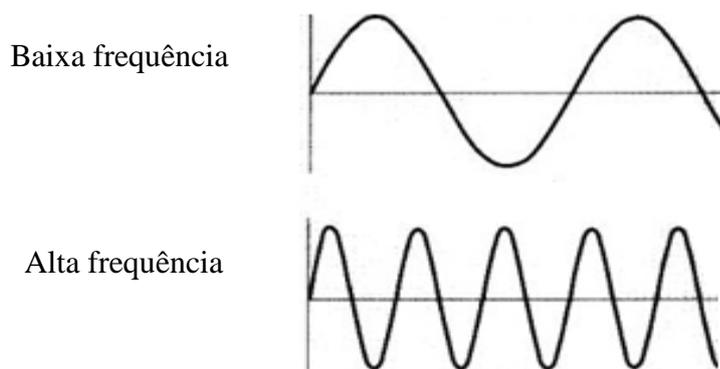


Figura 10. Representação da onda sonora de baixa e alta frequência. Adaptado de UFMG (2008).

3.13 Análises Realizadas na Caracterização dos Filmes

3.13.1 Aspecto visual e tátil

Os filmes devem apresentar superfícies homogêneas após o processo de secagem, essa característica pode ser observada de forma visual como cor uniforme e brilho ou pelo contato

físico com o produto, como aspecto liso e sem rugosidades excessivas. Ao fim do processo de secagem, o filme não deve oferecer resistência para se desprender da placa de secagem, evitando assim possíveis fissuras (OLIVEIRA et al., 1996; FARIAS, 2011).

3.13.2 Espessura dos filmes

A espessura é um parâmetro importante nos filmes plásticos, é expressa em mm (SARANTÓPOULOS, 2002) e é definida como a distância entre as duas superfícies principais do material. A espessura está diretamente ligada com as características do filme, pois pode indicar informações sobre as propriedades mecânicas, barreira a gases e PVA do polímero (XIE, et al., 2002; VICENTINI, 2003), fatores essenciais que podem comprometer a uniformidade e o desempenho das embalagens (SARANTÓPOULOS et al., 2002).

O controle da espessura dos filmes é importante para avaliação da uniformidade do material, garantindo a reprodutibilidade e permitindo a comparação entre os filmes. Durante o processo de produção do tipo *casting*, o controle da espessura dos filmes pode ser difícil, pois o controle da espessura depende diretamente da viscosidade da solução filmogênica elaborada (SOBRAL, 2000).

3.13.3 Solubilidade em água

A solubilidade é definida como a propriedade de uma substância formar uma solução com outra, ou a capacidade de uma substância se dissolver em outra. É expressa pela concentração da solução saturada da primeira substância na segunda onde foi inserida (FERREIRA, 1999) e pode ser obtida a partir de isotermas de adsorção e análise de solubilidade em água (BERTUZZI et al., 2007).

A solubilidade em água de filmes biodegradáveis é de grande importância, uma vez que a grande maioria dos filmes elaborados a partir de carboidratos e proteínas possuem grande afinidade com a água (SOARES et al., 2012), o que pode definir a aplicação do filme (FAKHOURI et al., 2007). Alimentos com elevado teor de água necessitam de embalagens resistentes a umidade; diferente de alimentos desidratados que necessitam de um processo de hidratação antes do consumo ou semi-prontos destinados ao preparo por cocção; estes poderiam ser embalados com filmes de baixa resistência a água ou que se desintegram em contato com água, tal aplicação pode obter sucesso quando destinada a estes alimentos (BERTUZZI et al., 2007; FAKHOURI et al., 2007; FARIAS et al., 2012). Um filme com alta solubilidade possui uma baixa resistência à água (FARIAS et al., 2012). Estudos relatam que filmes de fécula de mandioca, com espessura aumentada adquirem uma menor solubilidade em água (VICENTINI 2003).

3.13.4 Permeabilidade ao vapor de água

A permeabilidade é definida como 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, a umidade relativa e a temperatura especificada (ASTM, 1990). É um parâmetro muito importante, pois está relacionada a capacidade de barreira do polímero em limitar as transferências entre o meio ambiente e o conteúdo da embalagem. No desenvolvimento dos filmes, a escolha do polímero está diretamente ligada a propriedade de barreira que este pode oferecer, já que dependendo desse parâmetro, poderá ou não ocorrer mudanças na qualidade do alimento até a chegada ao consumidor final (VENKATESH e RAGHAVAN, 2004), devido a migração de vapor de água que pode alterar as características

organolépticas, bem como a estabilidade durante a estocagem (GONTARD et al.,1994; CHEN, 1995).

O coeficiente de PVA pode ser definido como a transferência do vapor permeante através de um material (CARULO 2005). O uso de plastificantes pode reduzir a diferença da pressão de vapor de água entre os componentes, pois, o plastificante fixa as moléculas de água no componente de maior atividade de água, reduzindo a pressão de vapor (MAHMOUD e SAVELLO, 1992; ROCHA, 2009). O processo de permeação de gases e vapores entre os espaços intermoleculares do material ocorre em 3 etapas: a) sorção e solubilização do permeante na superfície do material; b) difusão do permeante através do material devido à ação de um gradiente de concentração; c) desorção e evaporação do permeante na outra face do material (SARANTÓPOULOS, 2002).

Os filmes biodegradáveis necessitam impedir a transferência de umidade entre o alimento e o ambiente externo, sendo necessário que a PVA seja a menor possível. Fatores como a integridade do filme, hidrofiliçidade e hidrofobicidade, raios entre as zonas amorfas e cristalinas e a mobilidade das cadeias poliméricas, são de extrema importância, pois a permeabilidade do filme depende desses fatores (MEI e ZHAO, 2003). A umidade pode influenciar as reações químicas e enzimáticas, já que as propriedades de textura, estabilidade física e microbiana dos alimentos podem mudar a qualidade do alimento durante o processamento e armazenamento. Com o objetivo de aumentar a validade comercial dos alimentos, pode ser necessário limitar a migração de umidade utilizando substâncias com capacidade de inibir a transferência de água, tal como compostos hidrofóbicos (MARTIN-POLO et al., 1992; GONTARD e GUILBERT,1996).

Em geral, filmes a base de frutas conferem baixa barreira à difusão do vapor de água, porém, possuem uma barreira eficaz semi-permeável a gases, o que cria uma atmosfera modificada quando aplicado às frutas e produtos vegetais pela redução das trocas de CO₂ e de O₂, originando níveis altos de CO₂ e baixos de O₂. Este fato permite a redução da taxa de respiração, diminuição da perda de água, melhora da textura e integridade mecânica, ainda, minimiza as alterações de cor e sabor e reduzem o crescimento microbiano, o que conseqüentemente, aumenta a validade comercial do alimento. Entretanto, a atmosfera não deve criar condições de anaerobiose que permitam crescimento de microrganismos anaeróbios e formação de características organolépticas indesejáveis (SOARES et al., 2012).

Estudos relatam que o aumento da concentração de plastificante do tipo polióis em filmes de amido de mandioca causam aumento da PVA, devido aumento da difusão da água através do filme, ocasionado por sua alta hidrofiliçidade (TALJA et al., 2007). A PVA pode variar de acordo com a espessura dos filmes, devido a mudanças estruturais ocasionadas pelo inchamento da matriz, este fato altera a estrutura dos filmes e provoca tensões intrínsecas, o que pode influenciar a permeação (XIE, et al., 2002; VICENTINI, 2003).

3.13.5 Ângulo de contato ou molhabilidade

Ângulo de contato ou molhabilidade é definido como uma representação macroscópica da interação molecular entre líquidos e sólidos em contato direto na interface entre eles, é a existência entre as forças coesivas do líquido que tende a formar uma gota esférica, e as forças adesivas entre o sólido e o líquido que tendem a dispersar o líquido sobre o sólido. O ângulo de contato é definido pela competição entre estas duas forças (FARIAS et al., 2012b). O espalhamento é um parâmetro bastante utilizado na molhabilidade, pois ele mede a diferença do trabalho de adesão entre o líquido e o sólido e a energia de coesão do líquido.

Um líquido é considerado molhante, quando os ângulos são inferiores a 90°, logo, um líquido é não molhante quando os ângulos forem acima de 90°. A molhabilidade pode ser detectada através da interação da água com superfícies sólidas, pelo conceito de polaridade, já

que a água possui caráter hidrofílico. Quando a água em contato com uma superfície apresenta um ângulo de contato menor que 90°, a superfície é considerada hidrofílica, entretanto, se o ângulo de contato for maior que 90°, o material é considerado apolar. Em filmes de amido, o teste para ângulo de contato em água é muito importante pelo propósito de recobrimento de frutas e vegetais, pois geralmente são armazenadas em câmaras-frias com uma alta umidade relativa, o que pode levar o filme a absorver água e perder a sua aplicação (BIALOPIOTROWICZ, 2003).

Azevêdo e seus colaboradores (2007) realizaram um estudo com filmes de amido de milho, fécula de batata e de fécula de mandioca nas concentrações de amido de 1, 2 e 3%; e foi observado que não houve efeito significativo em relação a concentração de amido sobre a molhabilidade para o amido de milho, enquanto que para os filmes de fécula de batata e mandioca houve redução da molhabilidade. Bialopiotrowicz (2003) analisou filmes a base de amido de milho e de batata nas concentrações de 2, 4, 6, 8, 10 e 12%, com objetivo de verificar a molhabilidade para diferentes líquidos como glicerol, água, etileno glicol, formamida, diiodometano e polimetila metacrilato. Os resultados demonstraram que para todos os filmes, o ângulo de contato diminuiu de forma linear com o aumento da concentração de amido, sendo os maiores valores de molhabilidade para amido de batata do que para os filmes de amido de milho.

3.13.6 Atividade de água

A atividade da água (A_w) é definida como a relação entre a pressão de vapor de um alimento em relação à pressão do vapor da água pura à mesma temperatura. A A_w varia de 0 a 1 e é considerada como um dos parâmetros mais importantes para a indústria de alimentos, sendo inteiramente ligada a umidade e conservação do produto, já que por meio da A_w é possível determinar a estabilidade do alimento através da disponibilidade de água existente, ou seja, a água livre que está diretamente relacionada a deterioração do produto frente a participação em reações enzimáticas e no crescimento microbiano. A A_w de um produto pode ser diminuída mediante a adição de solutos, ou pela extração da água por técnicas como a liofilização. O pH, o oxigênio e a A_w junto a temperatura, são os fatores que mais influenciam na estabilidade dos alimentos (FARIAS, et al., 2012b).

O higrômetro eletrônico e o higrômetro de ponto de orvalho, são os melhores métodos de medição existentes atualmente.

3.13.7 Análise colorimétrica

A cor é uma das características mais importantes nos filmes, e está relacionada com a matéria prima utilizada no desenvolvimento do produto (VICENTINI, 2003). Um filme destinado a ser usado como embalagem plástica deve apresentar alto brilho e transparência, entretanto, a transparência pode não ser desejada se for necessário a proteção contra a incidência de luz no alimento a ser embalado (OLIVEIRA, et al., 1996).

O parâmetro colorimétrico é definido em uma escala de 0 a 100, onde 100 é luz e 0 é escuro. A parte do espectro chamado de luz, constitui-se de ondas eletromagnéticas visíveis os olhos humanos (LUCAS et al., 1996), que ocupam uma parte menor do espectro, com início de 380 a 400 nm e segue de 700 a 780 nm (TORNQUIST, 2008).

A luz que não absorvida é refletida e possui apenas informações da composição do espectro, a cor só passa a existir quando o reflexo do objeto alcança a retina do observador e gera a percepção de cor através das ondas de luz nos diferentes comprimentos de onda (KUPPERS, 1995; SACHS, 2007). A cor é definida a partir de três características: tonalidade

(h) que é definida pelo comprimento de onda (GUIMARAES, 2004) onde o ângulo 0° representa o vermelho puro, o ângulo 90° representa o amarelo puro, o 180° o verde e o 270° o azul (FERNANDES et al., 2010); o brilho que é a luminosidade da cor e o croma (C) que é o grau de pureza da cor (GUIMARAES, 2004) onde valores próximos de 0 indicam cores neutras e valores próximos de 60 indicam cores vívidas (FERNANDES et al., 2010). Como a visão humana é individual e subjetiva, houve-se a necessidade de criar métodos quantitativos que pudessem dimensionar as cores, muitos métodos já foram criados, porém, em 1931 a Comissão Internacional de L'Ecalirage (CIE), desenvolveu um sistema para caracterização da cor que pôde ser utilizado em larga escala de forma tridimensional, pelo princípio da síntese de combinação de tons das cores primárias, o verde, azul e o vermelho. Este método é altamente utilizado para análise em espectrofotômetro da luz refletida, reemitida ou absorvida (BERTOLINI, 2010). O sistema CIELAB especifica um espaço tridimensional de cor em que coordenadas retangulares dos eixos a^* e b^* formam um plano ortogonal ao eixo de L^* , representando o estímulo de cor como um sinal acromático de L^* e dois canais cromáticos, sendo o amarelo-azul (coordenada b^*) que pode variar assumindo valores de -50 (azul) a +70 (amarelo) e o vermelho-verde (coordenada a^*) que também possui variação assumindo valores de -80 (verde) a +100 (vermelho) (Figura 11) (LEITE, 2006; MINOLTA, 2007; ALVES et al., 2008).

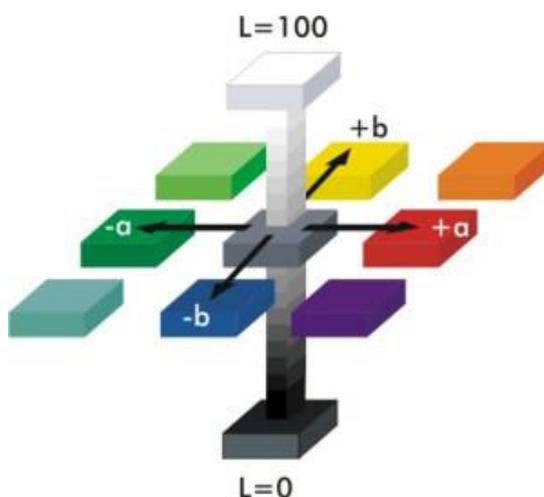


Figura 11: Esquema de cor CIELAB Fonte: QUIMIANIL CORANTES (2010).

3.13.8 Propriedades mecânicas

As propriedades mecânicas dos filmes são parâmetros relacionados com a sua estrutura química, que também se relacionam as características referentes à resistência à tração, deformação na tração e módulo de elasticidade (MCHUGH e KROCHTA, 1994). A matriz polimérica é responsável pela distribuição e concentração de forças intra e intermoleculares na estrutura formadora de filme (CUQ, GONTARD e GUILBERT, 1998).

Os filmes poliméricos possuem uma característica importante, que é a resposta a aplicação de força, indicado pelo comportamento elástico e plástico. Materiais elásticos retornam a sua forma original quando a força é removida, materiais plásticos não. Filmes poliméricos sintéticos em geral, demonstram uma mistura dos comportamentos elástico e plástico, onde o comportamento plástico prevalece, após o limite elástico se exceder (KESTER e FENNEMA 1986; BARRETO, 2003).

Algumas das propriedades mecânicas mais importantes para os filmes são a resistência à tração e o módulo elasticidade, pois os filmes devem proteger o alimento durante o

manuseio e transporte, garantindo a integridade da resistência à ruptura e a abrasão, devem ainda ser suficientemente flexíveis para que se adaptem a eventuais condições de estresse, sem que haja deformações no alimento ou dano mecânico (GONTARD et al., 1994; DAVAÇO, 2006).

Na avaliação de filmes poliméricos são verificados principalmente a capacidade de deformação sem que o filme se rompa, bem como a deformação elástica que é habilidade dos materiais recuperarem sua forma inicial após alguma deformação e o módulo de elasticidade também conhecido como módulo de Young, que consiste na relação linear entre a tensão aplicada e a deformação sofrida, sendo determinado pela inclinação da curva de tensão *versus* a deformação na região elástica (VICENTINI, 2003; BOURBON et al., 2011). Logo, as propriedades mecânicas demonstram a capacidade do filme em manter-se íntegro.

A resistência à tração é uma propriedade mecânica definida pela força máxima desenvolvida sobre o filme durante o teste de tração, já a deformação na ruptura do teste de tração consiste na medida da capacidade de alongamento do filme antes da sua ruptura (GENNADIOS et al., 1994).

Filmes comestíveis à base de hidrocolóides são mais resistentes, enquanto que os filmes de lipídios se caracterizam por apresentar baixa resistência mecânica (KESTER e FENNEMA 1986).

3.13.8.1 Teste de perfuração

O teste de perfuração determina a força necessária em Newton (N) para que uma sonda perfure a superfície do biofilme utilizando um analisador de textura. A força relacionada ao tempo é registrada e analisada por um computador que representará através de uma curva, o comportamento do material (PATIL et al., 2005).

O dispositivo cilíndrico que perfura o filme desce perpendicularmente à superfície do filme, fixado na base do equipamento, até ocorrer o seu rompimento (Figura 12). 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 N. A medida do deslocamento da sonda entre o momento onde ela toca o filme e onde o filme se rompe, se traduz pela deformação do filme, o resultado é expresso em % (VICENTINI, 2003).

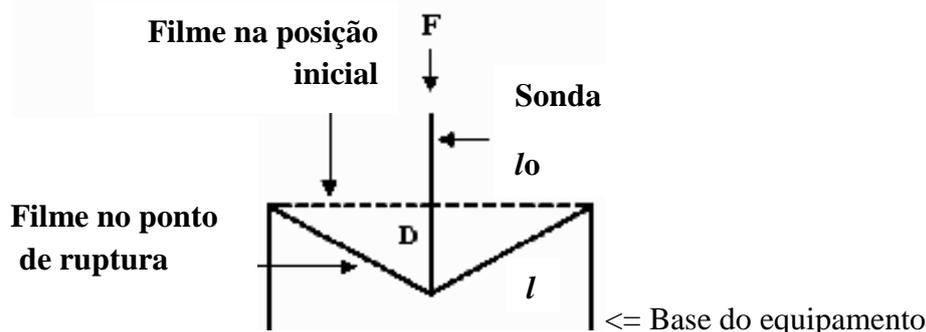


Figura 12. Representação esquemática do teste de perfuração na ruptura dos filmes (com modificações), (Fonte: VICENTINI, 2003).

A deformação na perfuração do filme está ligada ao comprimento inicial do filme utilizado no teste para a determinação da força de perfuração, pois quando a superfície do filme é submetida a uma determinada força, pode haver resistência até determinado instante, onde o filme mantém a sua estrutura por uma elongação até que este se rompa. Este parâmetro é considerado de grande importância na caracterização de filmes (SOBRAL et al., 2001).

3.13.8.2 Teste de tração

Este teste determina a resistência do material ao alongamento e ao rompimento quando submetido à tração, expressando a resistência do filme à deformação pelo alongamento. O registro do teste é feito por uma curva característica de tensão à tração *versus* a deformação (Figura 13). Inicialmente o material oferece resistência crescente à solicitação de tração, a qual provoca seu alongamento, que é totalmente reversível. A partir do ponto A (limite de proporcionalidade do material), o aumento de resistência passa a ser menor para um mesmo aumento de deformação até o ponto de escoamento (B), a partir do qual a força requerida para deformar a amostra diminui e, uma vez cessada a tensão, o material estará permanentemente deformado. Com o decorrer do alongamento, o material resiste até que ocorra a ruptura no ponto C. A tensão neste ponto é denominada de tensão na ruptura (T) e corresponde a deformação na ruptura ou alongação na ruptura (E). O módulo de Young (Y) representa a inclinação da curva de tensão *versus* deformação, dentro do limite elástico (SARANTÓPOULOS et al, 2002; VICENTINI, 2003).

As características de tração determinam a resistência do material ao alongamento e ao rompimento quando este for submetido à tração; o alongamento na ruptura é definido como a capacidade do filme se deformar antes de quebrar, logo, o módulo de elasticidade é visto como um indicador da rigidez do filme. Quanto maior o módulo de elasticidade, maior é a rigidez do material (OLIVEIRA et al., 1996). O módulo de elasticidade em que a deformação é totalmente reversível e proporcional à tração, determina a razão entre a tensão e a deformação dentro do limite elástico do corpo de prova (MANO e MENDES, 1999; ROCHA, 2009).

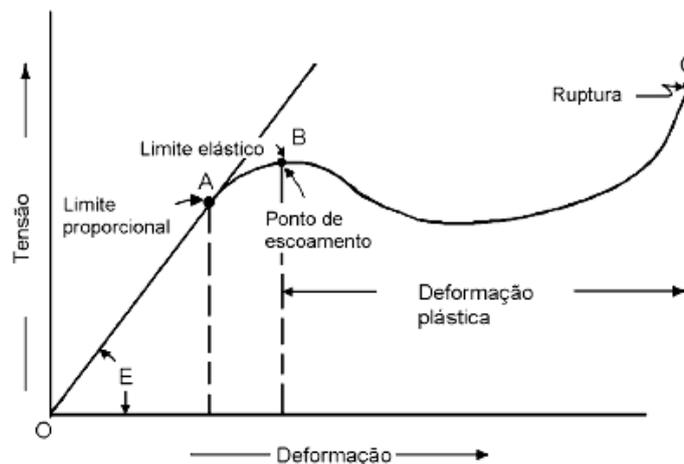


Figura 13. Curva característica da relação resistência a tração versus deformação (Fonte: MILTZ,1992).

Comumente a resistência à tração é expressa em MPa, N/m^2 ou kgf/cm^2 , sendo definida pela relação entre a força medida pela área transversal inicial do corpo de prova. O fator de ruptura, é expresso em MPa, N/m^2 ou kgf/cm^2 , sendo a relação entre a força máxima de tração por unidade de largura inicial do corpo de prova. A porcentagem de deformação na tração (alongamento) é a relação entre o alongamento do corpo de prova e seu comprimento inicial, podendo ser determinada na situação de ruptura. 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), onde geralmente é utilizado o Instron ou o texturômetro que é um instrumento universal de teste mecânico (SARANTÓPOULOS, 2002).

Devido à diferença entre as estruturas de materiais, existem diferentes padrões de tração, como por exemplo, o filme de um polissacarídeo que possui cadeia linear, possui alta resistência à tração e pouca elongação, enquanto que filmes protéicos que possuem uma estrutura complexa, apresentam moderada resistência à tração e grande elongação (CHEN, 1995).

4. MATERIAL E MÉTODOS

4.1 Matéria-Prima

Foram utilizadas 6 polpas de açaí congeladas do tipo médio de diferentes marcas (Santa Helena, Vitanat, Tropinat, Ice Frut, São Pedro e Tropicália), adquiridas na Central de Abastecimento do Estado do Rio de Janeiro S/A(CEASA), açaí liofilizado doado pela empresa Liotécnica (São Paulo, SP), amido de mandioca da marca Yoki (Yoki Alimentos, Paranaíba, PR), denominado polvilho doce adquirido no comércio local, como agente plastificante foi utilizado o glicerol P.A e como solvente foi utilizado água destilada.

Juntamente com o preparo do filme de açaí, foi desenvolvida uma formulação controle com as mesmas quantidades de matéria prima, exceto o açaí que não foi adicionado. Os equipamentos utilizados para o preparo dos filmes e para caracterização dos mesmos estão dispostos no quadro 1.

4.2 Equipamentos Utilizados

Quadro 1. Equipamentos utilizados (Continua)

Estufa a vácuo Yamato ADP-31 (Santa Clara, CA, USA)	Determinação da umidade da polpa <i>in natura</i> e do filme. Secagem das amostras no teste de solubilidade em água.
Viscoamilografo modelo N182506 (Brabender, Duisburg, Alemanha)	Formação da solução filmogênica.
Balança semi-analítica (TECNAL, modelo BTEC-330).	Controle das alíquotas nas placas descartáveis; controle de peso no teste de permeabilidade ao vapor de água.
Balança de infra vermelho MOC 120H (Shimadzu, Kyoto, Japão).	Determinação da umidade do amido de mandioca e açaí liofilizado.
Estufa com circulação de ar forçada (ELKA, Alemanha).	Secagem da solução filmogênica em placas plexyglass.
Câmaras herméticas.	Armazenamento dos filmes e equilíbrio da umidade.
Micrômetro digital Fowler IP 54 (Newton, EUA).	Determinação da espessura dos filmes.
Higrômetro AquaLab LITE (Decagon Devices Inc., Pullman, EUA).	Determinação da Atividade de água.
Câmara a vácuo (Marconi, São Paulo, Brasil).	Permeabilidade ao vapor de água.
Incubadora tipo BOD, Hydrosan (Belo Horizonte, Brasil).	Armazenamento do conjunto célula de permeação e dessecadores no teste de PVA.
Cromatógrafo a líquido Alliance, Waters 2695 (Milford, EUA).	Determinação do teor de Antocianinas.
Medidor de ângulo de contato CAM 101 (KSV Instruments, Finlândia).	Determinação do ângulo de contato.

Quadro 1. Continuação.

Agitador do tipo banho Dubnoff – modelo NT 232 (Piracicaba, SP, BR).	Teste de solubilidade em água dos filmes.
Texture Analyser TA XT Plus (Stable Microsystems, Surrey, Inglaterra).	Propriedades mecânicas: teste de tração e teste de perfuração.
Espectrofotômetro UV 1601 PC Shimadzu	Determinação da capacidade antioxidante
Ultrassom de ponta Branson, modelo 450 (400W)	Redução do tamanho da partícula do açaí
Analisador de partículas a laser Microtac S3500	Determinação do tamanho de partícula do açaí
Moinho IKA	Moagem do filme
Fluorímetro Tecan Infnit M200 Rchisto	Determinação da fluorescência
Colorímetro Color Quest XE, HunterLab. Escala CIELAB e CIELCh, abertura de 25mm de diâmetro, iluminante D65/10.	Análise colorimétrica

4.3 Caracterização da Matéria-Prima

4.3.1 Umidade

Foram avaliados o teor de umidade do amido de mandioca e do açaí liofilizado em balança de infravermelho. O teor de umidade da polpa *in natura* congelada foi obtido de acordo com metodologia para análise de umidade a vácuo a 70°C descrita pela Association of Official Analytical Chemists, método 926,12. Utilizando como equipamento a estufa a vácuo à 70°C, sob vácuo de 10 cm Hg.

4.3.2 Aspectos ópticos

Para determinação dos parâmetros colorimétricos do açaí liofilizado, foi utilizada a metodologia proposta por Gennadios e seus colaboradores (1996), utilizando os padrões CIE Lab (L^* , a^* e b^*), D65, ângulo 10°. Realizou-se as leituras em 40 g de açaí liofilizado que foi disposto em cubetas de quartzo de 10 mm, utilizando o aparelho Color Quest XE, HunterLab, com escala CIELAB e CIELCh, abertura de 25mm de diâmetro e iluminante D65/10.

4.4 Quantificação de Antocianinas por Cromatografia Líquida de Alta Eficiência da Polpa de Açaí Congelada, do Açaí Liofilizado e do Açaí sonicado

Realizou-se a quantificação de antocianinas de seis marcas de açaí comercializados como polpa *in natura* congelada e do açaí liofilizado por CLAE em um cromatógrafo Waters Alliance 2690/5 (Milford, EUA), em coluna 4,6x100mm e 2,4 μ m (Thermo®), fase móvel

gradiente de acetonitrila e solução de ácido fórmico 5%, fluxo de 1,0mL/min.; temperatura do injetor de 40°C, detector de UV PDA 2996 Waters (520 nm); volume de injeção 20 µl e tempo de corrida 20 minutos (GOUVEA, et al.; 2015).

Para análise da amostra foi realizada uma extração prévia segundo a metodologia descrita por Santiago e seus colaboradores (2010) onde foram pesados aproximadamente 0,1g e 1g de açaí liofilizado e polpa de açaí congelada respectivamente. Para o açaí liofilizado sonificado pesou-se 1g. Após a transferência para tubo falcon, foi adicionado 2 mL de solução extratora de antocianinas (ácido fórmico 10% em metanol) e este permaneceu sob agitação por um minuto, em seguida foi direcionado para extração em banho ultrassônico por 10 min. Após a extração, a amostra foi centrifugada a 6000 RPM por 10 minutos e o sobrenadante foi recolhido e transferido para um balão volumétrico de 10 mL. Este processo foi realizado mais três vezes e por fim o balão foi avolumado com a solução extratora. Após, foram pipetados 400 µl do extrato e este foi seco com ar comprimido e depois solubilizado com 200 µl de solução de injeção (metanol 10% em 5% de ácido fórmico), transferido para um ependof e centrifugado por 5 minutos a 120 RPM, por fim, 100 µl desta solução foi vertida para um redutor inserido em um vial e injetado no cromatógrafo.

A quantificação de antocianinas foi realizada em triplicata para todas as amostras. O fluxograma do processo cromatográfico segue conforme Figura 14.

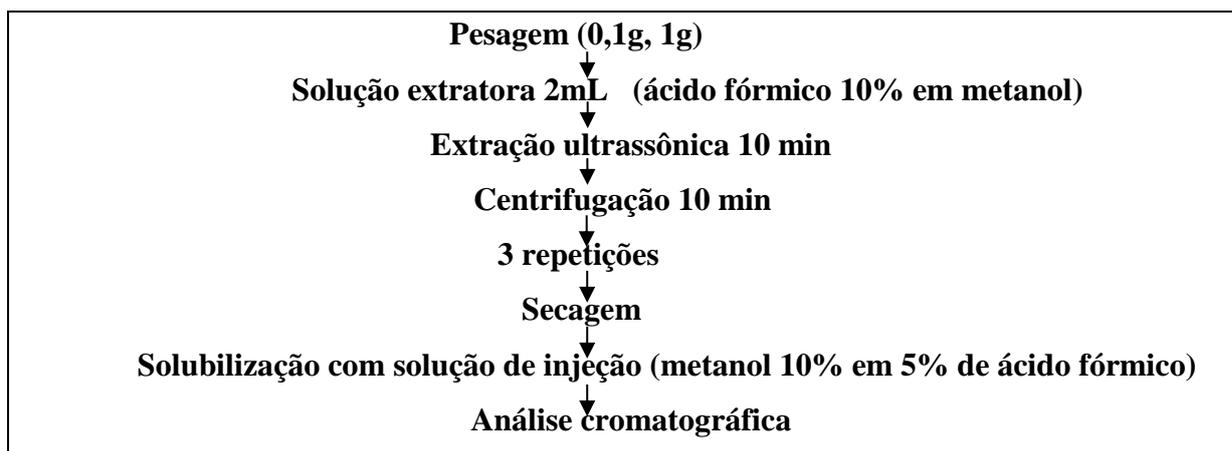


Figura 14. Fluxograma da extração para quantificação de antocianinas.

A quantificação das antocianinas foi realizada através de uma curva analítica por padronização externa, onde foi utilizado o padrão de cianidina 3-*O*-glicosídeo isolado pelo próprio laboratório, conforme a metodologia descrita por Gouvêa e seus colaboradores (2012).

4.5 Determinação da Capacidade Antioxidante

A determinação da capacidade antioxidante foi realizada segundo a metodologia de Re e seus colaboradores (1999), Rufino e seus colaboradores (2007) e Zuleta e seus colaboradores (2009).

Primeiramente foi realizado o extrato em triplicata de cada amostra, onde aproximadamente 0,2g de açaí liofilizado foi pesado em tubos falcon. Após, foi adicionado 10 mL de metanol 50% em todas as amostras e estas foram agitadas e armazenadas sob temperatura ambiente ao abrigo da luz por 60 minutos. Após, a solução foi centrifugada por 15 minutos a 2000 RPM e o sobrenadante foi recolhido em balão volumétrico âmbar de 25 mL. A última etapa da extração se deu pela adição de 10 mL de solução de acetona 70% nos tubos contendo o precipitado, estes foram submetidos a agitação e foram armazenados sob

temperatura ambiente ao abrigo da luz por 60 minutos. Após, a solução foi centrifugada por 15 minutos a 2000 RPM e por fim, o sobrenadante foi recolhido no mesmo balão volumétrico anterior e este foi avolumado a 25mL com água destilada.

Os extratos prontos foram vertidos para ependorfs e estes foram armazenados em um freezer até o momento da realização das análises de ORAC e ABTS.

4.5.1 ABTS

Para a análise de capacidade antioxidante por ABTS, inicialmente preparou-se uma solução de ABTS a 7mM com 0,1922g de ABTS que foi dissolvido em 50 mL de água destilada e armazenada em frasco âmbar. Uma solução de persulfato de potássio 140 mM também foi preparada com 0,3784g de persulfato de potássio que foi dissolvido em 10 mL de água e armazenado em balão volumétrico âmbar. Ao final do preparo das soluções, foi preparada a solução de radical ABTS, onde 5 mL da solução inicial de ABTS foi misturada a 88 µL da solução de persulfato; esta solução permaneceu em repouso por 16 horas em frasco âmbar e ao abrigo da luz, sob temperatura ambiente.

Após as 16 horas, a solução de radical ABTS preparada foi diluída em etanol e procedeu-se as leituras das absorvâncias, até que se observasse a absorvância entre 0,690 a 0,720 nm.

Para comparar os resultados elaborou-se a curva padrão, onde foi pesado 0,0101g de trolox e este foi dissolvido em 10 mL de etanol P.A. A partir da solução de trolox preparada, 7 diluições diferentes foram realizadas com a solução de trolox e etanol P.A, com volume final de 5 mL (por exemplo, 0,25 mL de solução de trolox mais quantidade suficiente para (*qsp*) 5 mL de etanol P.A). Antes da leitura das absorvâncias, o espectrofotômetro foi ajustado para 734 nm e zerado com etanol P. A; e após, 3 mL da solução ABTS^{•+} foi adicionada de 30 µl da solução de Trolox. As análises foram realizadas em triplicata e o branco da reação foi preparado com 3 mL da solução ABTS^{•+} adicionado de 30 µl de etanol. Após 6 minutos foram realizadas as leituras das absorvâncias (Quadro 2).

Quadro 2: Valores das leituras das absorvâncias para elaboração da curva padrão de Trolox – Método ABTS.

Volume solução mãe (mL)	Volume final (mL)	Conc Trolox (µM)	Controle	Abs1	Abs2	Abs3	Abs média	Abs média - Abs controle
0,05	5	20,18	0,694	0,677	0,686	0,689	0,688	0,006
0,1	5	40,35	0,715	0,680	0,691	0,690	0,691	0,025
0,2	5	80,71	0,703	0,684	0,685	0,691	0,685	0,018
1	5	403,53	0,714	0,595	0,603	0,612	0,599	0,115
2	5	807,06	0,699	0,495	0,489	0,501	0,492	0,207
3	5	1210,60	0,704	0,361	0,386	0,408	0,374	0,331
4	5	1614,13	0,711	0,248	0,268	0,305	0,258	0,453

Por fim, as leituras obtidas foram plotadas em um gráfico (Figura15) onde obteve-se a equação da reta com o R² próximo de 1. ((y= - ax + b) onde x corresponde a 1.000 µM de Trolox; e y corresponde a absorvância correspondente a 1.000 µM de Trolox).

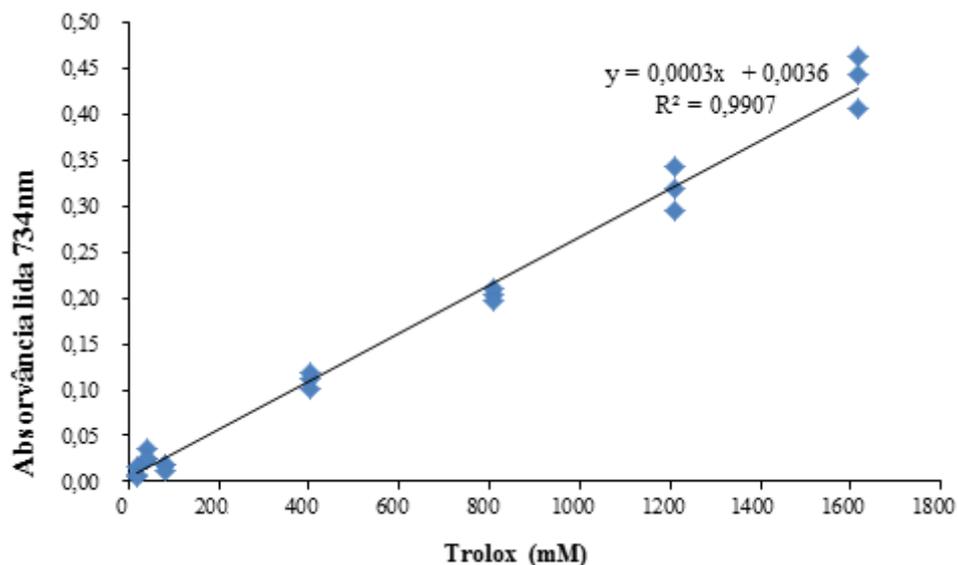


Figura 15. Curva padrão de 7 pontos de Trolox - Método ABTS.

A partir desta etapa, realizou-se as leituras dos extratos, onde 30 μL de extrato foi adicionado a um tubo de ensaio com 3 mL de solução radical ABTS, a mistura foi agitada em um vórtex e após 6 minutos foram realizadas as leituras das absorvâncias (RE e PELEGRINE 1999; RUFINO et al 2007). Por fim, com as respectivas absorvâncias plotou-se o gráfico e calculou-se a equação da reta. A capacidade antioxidante foi obtida através da equação 1, onde y equivale a absorvância correspondente a 1.000 μM de Trolox (curva padrão) e x corresponde a diluição da amostra (mg/L) equivalente a 1000 μM de Trolox.

$$Y = ax + b$$

(Equação 1)

O resultado final foi obtido pela divisão de 1000 μM de Trolox pelo valor de x(g) e multiplicado por 1(g), sendo expresso em μM de Trolox/g.

4.5.2 ORAC

Para realização da capacidade antioxidante do açaí liofilizado pelo método ORAC, primeiramente foi elaborado a curva padrão de trolox. Para realização da curva, preparou-se 300 mL de solução tampão de fosfato de sódio pH 7,4. Após, 0,06g de Trolox foi pesado e diluído em 50 mL de solução tampão de fosfato de sódio. Para total diluição do Trolox a solução permaneceu por 5 minutos em banho ultrassônico. Após, seguiu-se com a elaboração dos oito pontos da curva, como Tabela 4, com volume final de 5 mL.

Tabela 4: Pontos da Curva Padrão de Trolox - Método ORAC

Pontos	Vol. SM de Trolox (mL)	Vol. Final tampão (mL)
P1	0,1	5
P2	0,2	5
P3	0,3	5
P4	0,4	5
P5	0,6	5
P6	0,8	5
P7	1	5
P8	1,2	5

Efetuuou-se o preparo de uma solução de radical AAPH, onde foi pesado 0,6003 g do radical e este foi dissolvido com 10 mL de solução tampão fosfato de sódio pH 7,4 e armazenado em frasco escuro. Posteriormente, foi realizado o preparo da solução estoque de fluoresceína e a partir desta foi preparada a solução de trabalho, como comunicado técnico (EMBRAPA, 2015). Após o preparo de todas as soluções, procedeu-se o plaqueamento onde, os três primeiros poços da placa foram preenchidos com 80 µL de solução tampão, estes poços são utilizados como o branco da reação; os demais poços foram preenchidos com 80 µL dos respectivos pontos da curva (soluções P1, P2, P3, P4, P5, P6, P7) em triplicata. Os poços restantes foram preenchidos em triplicata com 80 µL dos extratos das amostras, sendo estes diluídos 40 vezes (100 µL para 3,9 mL de solução tampão), e as soluções de AAPH e de fluoresceína foram vertidas para os tubos do equipamento, para que pudessem ser bombeadas durante a análise, por fim foi realizada a análise no fluorímetro.

Depois de duas horas de análise, aproximadamente, o equipamento emitiu o resultado possibilitando o tratamento dos dados para a elaboração da curva padrão de trolox com a utilização do programa Prism 5. A partir da curva, obteve-se a equação da reta (Figura 16).

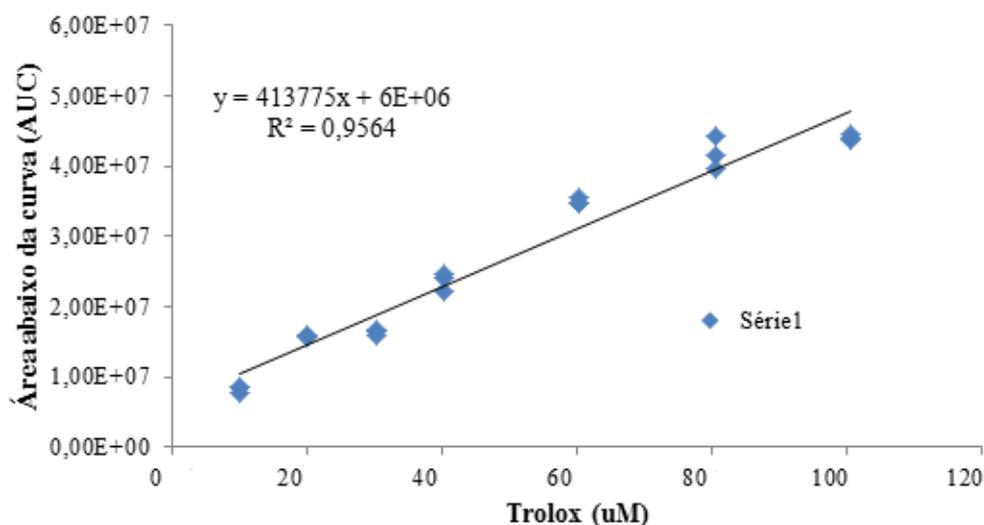


Figura 16. Curva Padrão de 8 pontos de Trolox – Método ORAC.

Foi realizado o tratamento dos dados das amostras no mesmo programa de estatística, onde a partir dos resultados obtidos, foi calculada a área abaixo da curva (AUC) como equação 2.

(Equação 2)

$$\text{ORAC } (\mu\text{mol Trolox} \cdot \text{g}^{-1}) = \frac{[(\text{AUC}_{\text{amostra}} - \text{AUC}_{\text{Branco}}) - b]}{\alpha \cdot \text{Concentração amostra}}$$

b= valor onde a curva intercepta o eixo y,

a= valor da inclinação da curva

Concentração da amostra= massa em g em um litro de solução ($\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$)

4.6 Processamento Ultrassônico

O tratamento ou processamento ultrassônico ocorreu apenas para o açaí liofilizado, já que o objetivo era a redução do tamanho da partícula da melhor matéria prima que originaria o filme. Desta forma, antes do preparo da solução filmogênica, 6,065g de açaí liofilizado foi dissolvido em 350 mL de água destilada e adicionado de 6mL de solução de ácido cítrico 3% com objetivo de estabilizar as antocianinas na solução e assim promover coloração mais expressiva bem como evitar a degradação do composto. Após a solubilização em béquer de polietileno, a solução foi submetida ao ultrassom em três diferentes amplitudes (12, 25 e 50%) por 5 minutos, com pulso de intervalo regular de 5 s ligados e 2 s desligados. A ponteira utilizada para o processo foi a ½ Dia. Tapped. Bio Horn (Transmissor 101-147-037) que atua como um conector e /ou sonda transmitindo a vibração ultrassônica para outra sonda e /ou diretamente para a solução, no caso desta análise a ponteira foi utilizada como extensora para a ponteira ½ Extension (Sonda/ponteira 101-147-049) que transmitiu a vibração ultrassônica diretamente para a solução.

Após o término do processo, as amostras seguiram para as análises do tamanho de partícula e para quantificação de antocianinas por CLAE.

4.7 Análise do Tamanho de Partícula por Difração de Raio Laser

A análise do tamanho de partícula correu como descrito na metodologia ISO 13320-1 Particle Size Analysis - Laser diffraction methods (2009).

Pesou-se 3 gramas de açaí liofilizado e solubilizou-se em 5 mL de água destilada. O equipamento foi preparado para análise com água destilada como solvente e o índice de refração determinado para a amostra de açaí foi absorção.

Para as amostras sonicadas, como estas já estavam solubilizadas, não houve a necessidade de solubiliza-las novamente.

Antes da leitura, foi ativado o sistema de rinsagem do equipamento e somente após iniciaram-se as leituras. Com a ajuda de um bastão de vidro, foi colocada a amostra no equipamento em quantidade necessária para a leitura. O equipamento realizou 3 corridas seguidas para cada amostra e a cada troca de amostra o mesmo era rinsado com água destilada.

4.8 Desenvolvimentos dos Filmes por *Casting*

Os filmes foram desenvolvidos a partir do melhor açaí adquirido, e este foi identificado através de diferentes análises que serão abordadas a frente. A Tabela 5 reporta a quantidade de matéria-prima utilizada para elaboração dos filmes adicionados de açaí liofilizado.

Tabela 5. Quantidades de matéria-prima utilizada no desenvolvimento dos filmes.

Matéria-prima	Quantidade
Amido de mandioca	17,56 g (4% do volume total)
Glicerol	4,8 g (23,7% do peso do amido)
Água destilada	395 mL
Açaí liofilizado	6,065 g (34,43% do peso do amido)

A elaboração se deu com a total solubilização de todos os componentes separadamente em água destilada até homogeneização, como já foi relatado o açaí liofilizado foi previamente diluído e sonificado, somente após foi misturado com as demais matérias primas. Para o preparo da solução filmogênica, utilizou-se o viscoamilógrafo Brabender (Duisburg, Alemanha) (Figura 17) onde a solução filmogênica permaneceu em condições controladas de cisalhamento e temperatura (90°C, permanecendo nesta temperatura por 10 minutos e resfriadas a 50°C).



Figura 17. Viscoamilógrafo (Brabender, Duisburg, Alemanha) usado no preparo da solução filmogênica.

Por fim, realizou-se a técnica de *casting*, que consiste na elaboração do filme pela desidratação da solução filmogênica (SF) aplicada em suporte adequado (CAMPAGNER et al., 2014) (figura 18).



Figura 18: Solução filmogênica de amido, glicerol e açáí liofilizado sendo vertida em placa de petri *plexiglass*.

Foram realizadas 3 repetições na elaboração do filme e todas as análises foram realizadas em triplicata nas três repetições elaboradas, bem como o filme controle.

4.9 Secagem

Após o resfriamento da SF, 41,7 g de solução foi pesada em placas *plexiglass* de 142 mm de diâmetro, com o controle de peso aferido em balança semi-analítica (TECNAL, modelo B-TEC-330). Por fim, as placas foram depositadas em estufa com circulação de ar forçada (ELKA, Alemanha) a 30 ± 5 °C por 24 h.

4.10 Condicionamento dos Filmes

Após completa secagem e remoção das placas, os filmes foram condicionados em câmaras herméticas (Figura 19) com umidade relativa do ar controlada por meio de uma solução saturada de nitrato de magnésio ($Mg(NO_3)_2$) a 52,9%, sob vácuo de forma a equalizar o teor de umidade para as demais análises, em particular os ensaios mecânicos. Os filmes foram mantidos nestas condições, por 6 dias até o equilíbrio do teor de umidade e somente após este período foram caracterizados.



Figura 19. Câmaras herméticas a vácuo usada para condicionar os filmes a 52,9% (Marconi, São Paulo, Brasil).

4.11 Caracterização Analítica dos Filmes Obtidos

4.11.1 Quantificação de antocianinas por Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE)

A quantificação de antocianinas para os filmes ocorreu de forma parecida como foi descrito acima (item 4.4.) para a polpa de açaí congelada e para o açaí liofilizado. A diferença principal se deu no início do processo onde o filme foi previamente congelado com nitrogênio líquido em *qsp* e moído para otimizar a extração. Posteriormente, o filme moído foi macerado em grau de porcelana por aproximadamente 10 minutos e por fim peneirado (peneira com mesh de 150). Após, 0,4g do pó obtido (Figura 20) foi adicionado de 400 μ L de água destilada, agitou-se e a mistura permaneceu sob repouso por 10 minutos. A partir desta etapa a extração para quantificação de antocianinas dos filmes por CLAE ocorreu de forma idêntica como para o açaí liofilizado.



Figura 20: Filme moído de amido de mandioca e açaí liofilizado

4.11.2 Determinação da capacidade antioxidante

Para determinação da capacidade antioxidante dos filmes, foram realizadas extrações em triplicata, onde aproximadamente 0,5g do mesmo pó obtido na etapa anterior para quantificação de antocianinas por CLAE (item 4.11.1) foi utilizado para a análise de capacidade antioxidante. A extração para o filme em pó, ocorreu de forma idêntica a extração

realizada para a o açaí liofilizado (item 4.5). Os extratos obtidos foram utilizados para as análises de ORAC e ABTS.

4.11.2.1 ORAC

Para realização da capacidade antioxidante dos filmes por ORAC, foram realizados os mesmos procedimentos utilizados para a determinação da capacidade antioxidante do açaí liofilizado, como descrito no item 4.5.2. Foi obtida a seguinte equação da reta:

$$y=1E+06x+ 2,00E+07 \quad \text{(Equação 3)}$$
$$R^2 = 0,9819$$

4.11.2.2 ABTS

Para determinação da capacidade antioxidante dos filmes, utilizou-se os mesmos procedimentos descritos anteriormente (no item 4.5.1) para determinação da capacidade antioxidante do açaí liofilizado. E como para a capacidade antioxidante do filme, foi utilizada a mesma solução inicial de ABTS⁺• (elaborada 16 horas antes) preparada para análise da capacidade antioxidante da polpa (já que as análises foram realizadas no mesmo momento), foi utilizado também a mesma curva padrão de trolox e a mesma equação da reta.

A partir desta etapa realizou-se as leituras dos extratos do filme, onde 30 µL de extrato foi adicionado a um tubo de ensaio com 3 mL de solução de radical ABTS. A mistura foi agitada em um vórtex e após 6 minutos foi realizada a leitura da absorvância.

4.11.3 Aspecto visual e tátil

Análises visuais e táteis foram realizadas com o intuito de utilizar apenas os filmes homogêneos sem a presença de partículas grandes, sem rupturas, com coloração uniforme e que não apresentasse resistência para retirada da placa. Para determinação dos parâmetros colorimétricos, foi utilizada a metodologia proposta por Gennadios e seus colaboradores (1996), utilizando os padrões CIE Lab (L *, a * e b *), D65, ângulo 10°. Realizou-se três leituras para cada amostra, utilizando o equipamento Color Quest XE, HunterLab, com escala CIELAB e CIELCh, abertura de 25mm de diâmetro e iluminante D65/10.

4.11.4 Espessura dos filmes

A espessura dos filmes foi determinada segundo o método descrito por Cao, Fu e He (2007), em micrômetro digital Fowler IP 54 (Newton, EUA), com sensibilidade de ±0,001 mm, aferida em cinco pontos aleatórios para cada filme. Três filmes de cada tratamento foram analisados e do resultado final foi realizada a média.

4.11.5 Solubilidade em água

A solubilidade em água das amostras foi determinada em triplicata. As amostras foram recortadas em formato circular de 20 mm de diâmetro, e após a pesagem foram mergulhadas em béquer contendo 50 mL de água destilada de acordo com Gontard e seus colaboradores, (1993). O sistema foi mantido sob lenta agitação em banho-maria, por agitador Dubnoff NT 232 (Piracicaba, Brasil) a 25°C, por 24 h. Após as 24 h, as amostras foram removidas da água

e secas em estufa a 105°C por 24 h, para determinar o peso seco final do material que não foi dissolvido. O resultado foi expresso em porcentagem de material seco solubilizado. As análises foram realizadas em triplicata e a solubilidade foi determinada pela porcentagem de material seco solubilizado, calculado de acordo com a equação abaixo.

$$\text{SOL} = \left(\frac{M_i - M_f}{M_i} \right) \times 100 \quad \text{(Equação 4)}$$

SOL = massa solubilizada em função da massa seca inicial (%)

M_i = massa inicial do material seco (g)

M_f = massa final do material seco não solubilizado (g).

4.11.6 Permeabilidade ao vapor de água

A transmissão do vapor da água nos filmes foi determinada por técnica gravimétrica segundo método proposto pela ASTM (*American Society for Testing and Material*), E96-80 (2001) modificado, como metodologia citada por Vicentini (2003). Os filmes foram recortados em formato circular com 40 mm de diâmetro e aplicados em células de permeação contendo água destilada. Estas células foram colocadas em dessecador contendo sílica gel com indicador de umidade azul, de forma a assegurar um gradiente hídrico no sistema, o conjunto foi armazenado a 25°C e umidade relativa de 53% em incubadora BOD (Hydrosan, Belo Horizonte, Brasil). Ao longo de nove dias, realizou-se monitoramento do peso das células e dos filmes em intervalos de 24 h de forma a acompanhar a variação de peso no período. As análises foram realizadas em triplicata e o fluxo de PVA foi determinado de acordo com a metodologia de Nazan, Truhan e Sahbaz (2004). O cálculo foi realizado por regressão linear entre os pontos de ganho de peso, segundo as equações:

$$F_{va} = \frac{g}{t \cdot A} \quad \text{(Equação 5)}$$

$$PVA = \left(\frac{g}{t \cdot A} \right) * \frac{x}{\Delta P} \quad \text{(Equação 6)}$$

F_{va} = Fluxo de permeabilidade ao vapor de água; g = ganho de peso (g); t = tempo total em horas; A = área de permeação;

x = Espessura média do filme (mm); ΔP = Diferença de pressão de vapor do ambiente contendo sílica gel (kPa, a 25°C) e a água pura (3,167 kPa, a 25°C)

4.11.7 Ângulo de contato

A molhabilidade da gota de água sob o filme foi determinada no tempo (segundos) 20 a temperatura ambiente, de acordo com a metodologia descrita por Silva e seus colaboradores (2007), no sistema medidor de ângulo de contato KSV CAM 101 (Finlândia) (Figura 21).

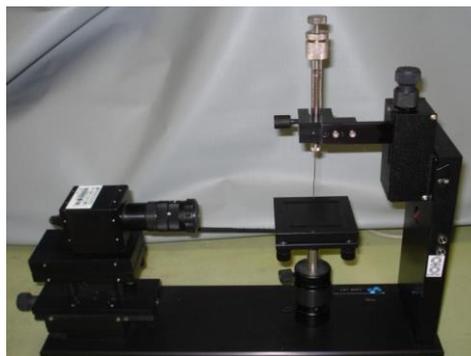


Figura 21. Medidor do ângulo de contato KSV CAM 101

O ângulo de contato foi calculado automaticamente por meio de software instalado em um computador acoplado ao equipamento. As amostras foram recortadas e afixadas em uma lâmina de vidro por meio de fita adesiva dupla face, que foi colocada na base do aparelho. Uma gota de água de 0,1 mL foi colocada sobre a superfície da amostra com auxílio de uma seringa e a imagem da gota foi captada por uma câmera digital durante 40 segundos com intervalos de 1 segundo, cada amostra foi utilizada para análise por 3 vezes em diferentes pontos.

4.11.8 Atividade de água

A atividade de água foi determinada em triplicata por leitura direta utilizando o medidor de atividade de água AquaLab Lite 2T, da Decagon Devices Inc, (Pullman, EUA), operando-o à temperatura de 25°C. Para calibração do equipamento foram utilizadas soluções padrão saturadas de cloreto de lítio (A_w 0,250) e cloreto de sódio (A_w 0,760). As amostras foram recortadas em formato circular de 35 mm de diâmetro e foram colocadas nas cápsulas plásticas do próprio equipamento.

4.11.9 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), operado de acordo com o método padrão ASTM D 882-83 (ASTM, 1995D).

4.11.9.1 Teste de perfuração

Através do teste de perfuração foram determinadas a força e a deformação na ruptura de acordo com a metodologia descrita por Vicentini (2003). O equipamento utilizado foi analisador de textura Texture Analyzer TA XT Plus, onde os 15 corpos de prova previamente dimensionados com 20 mm de diâmetro foram fixados no equipamento em plataforma móvel com abertura de 10 mm; a amostra foi perfurada por um probe com ponta de esfera com 5 mm de diâmetro e com velocidade de deslocamento de 1 mm/s⁻¹ (Figura 22a e 22b). Das curvas de força *versus* deformação 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 7, onde l_0 é o comprimento inicial do filme, igual ao raio da célula de medida (5 mm).

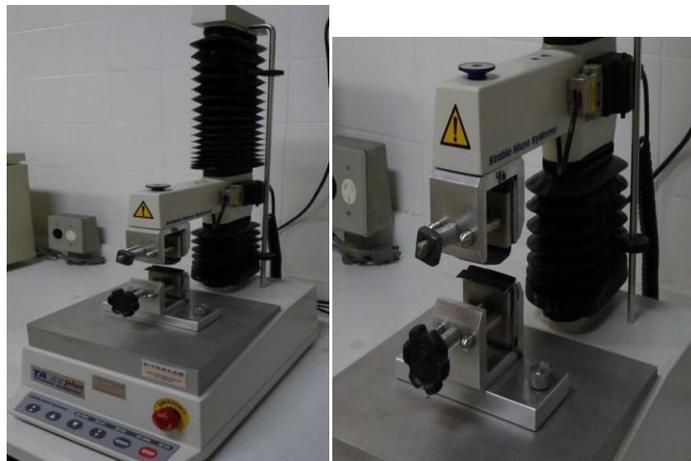
$$\frac{\Delta L}{l_0} = \frac{(\sqrt{D^2 + l_0^2} - l_0)}{l_0} \quad \text{(Equação 7)}$$



Figura 22a e 22b. Analisador de textura Texture Analyzer TA XT Plus equipado com acoplamento utilizado nos testes de perfuração.

4.11.9.2 Teste de tração

Para a determinação da tensão, deformação e módulo de elasticidade seguiu-se o método padrão proposto pela *American Society for Testing and Material* (ASTM, 1995), D 828-95^a, por meio do Analisador de textura Texture Analyzer TA XT Plus (Surrey, Inglaterra) (Figuras 23a e 23b).



Figuras 23a e 23b. Analisador de textura Texture Analyzer TA XT Plus (Surrey, Inglaterra) com acoplamento utilizado nos testes de tração.

Foram utilizados 15 corpos de prova dimensionados com 50 mm de comprimento e 15 mm de largura, e foram fixados nas garras do equipamento com distância inicial entre elas de 30 mm e a velocidade de tração de 1 mm/s⁻¹. A tensão na ruptura foi determinada pela relação entre força e área da seção transversal inicial do filme. O módulo de Young ou de elasticidade foi determinado na região linear do gráfico da curva de tensão em função da deformação. A deformação na ruptura foi determinada de acordo com a equação 8, onde l_0 é o comprimento inicial e l é o comprimento final.

$$\text{Deformação linear} = (l - l_0) / l_0 \quad \text{(Equação 8)}$$

4.12 Análise Estatística

Os resultados de cada parâmetro foram submetidos à análise de variância (ANOVA) e teste de Tukey com 95% de confiança. Para avaliar os dados e interpretá-los estatisticamente foi utilizado o programa XLSTAT.

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 Umidade da Matéria-Prima

Os resultados de umidade da polpa congelada, do açaí liofilizado e do amido de mandioca estão dispostos na Tabela 6.

Tabela 6. Teor de umidade das matérias-primas utilizadas no desenvolvimento dos filmes.

Matéria-prima	Umidade%
Amido	11,46
Polpa <i>in natura</i> congelada	92,17± 0,1
Açaí Liofilizado	4,41

A umidade encontrada para o amido de mandioca neste estudo foi próxima a encontrada por Machado e seus colaboradores (2012), que desenvolveram filmes de amido de mandioca, nanocelulose e extrato de erva mate, amido este com 11-14% de umidade. Menezes e seus colaboradores (2008) encontraram 4,92% de umidade para a polpa de açaí liofilizada, valor similar ao encontrado no presente estudo assim como Novello (2011), que encontrou 6,43% de umidade. Para a polpa congelada o valor encontrado neste estudo foi próximo ao valor encontrado por Alexandre e seus colaboradores (2004), sendo 86,01%. Leite (2015) encontrou valores de umidade de 92,59% para a polpa de *E. edulis*. Canuto e seus colaboradores (2010) reportaram valores de 83,03% de umidade para a polpa de *E. oleracea*. A presença da alta quantidade de água na polpa congelada, revela um dos motivos da substituição deste material pelo açaí liofilizado, já que há uma grande redução na diluição, o que permite uma maior contração de antocianinas.

5.2 Aspectos Ópticos da Matéria-Prima

O resultado da análise colorimétrica do açaí liofilizado está disposto na Tabela 7.

Tabela 7. Resultado da análise colorimétrica para o açaí liofilizado.

Parâmetros	POLPA
L*	36,81± 0,2
a*	1,86 ± 0,08
b*	-0,89 ± 0,03
C*	2,06 ± 0,05
H	334,32 ± 1,9

Estes resultados indicam que a luminosidade (L) do açaí liofilizado utilizado neste estudo tem maior tendência ao escuro, logo, uma coloração característica com o fruto, pois o açaí é considerado umas das frutas mais escuras como demonstrou Canuto e seus colaboradores (2010) durante a caracterização físico-química de polpas de frutos da Amazônia, onde a coordenada L* para a polpa do açaí apresentou valor de 16,6.

Já a coordenada a^* para o açaí liofilizado indicou leve tendência ao vermelho devido o baixo valor e a coordenada b^* maior tendência ao azul. Estes resultados se encontram próximos aos valores encontrados na literatura para a fruta. A classificação colorimétrica para o a polpa do açaí fresco foi definida por Cipriano (2011) sendo $L^* = 25,46$; $a^* = 1,02$; $b^* = 0,29$; $C = 1,06$; $h = -8,02$ e para a polpa do açaí termicamente tratada os parâmetros foram definidos por Alexandre, Cunha e Hubinger (2004), que relataram as seguintes medidas colorimétricas: $L^* = 21,79$; $a^* = 4,01$; $b^* = 0,88$. Rocha (2009) encontrou valores próximos os deste estudo para análise com polpa de mirtilo, uma fruta de coloração próxima ao açaí, sendo $L^* = 24,55$; $a^* = 2,23$; $b^* = -0,54$; $C = 2,29$; $h = -0,24$ (exceto para coordenada h , já que tal análise não foi realizada em polpa de mirtilo liofilizada, logo possui menor concentração).

A coordenada C indica a saturação da tonalidade, um valor alto indica a pureza da cor, e o valor obtido por este estudo é próximo ao valor para polpa de açaí fresco. Segundo Lima e seus colaboradores (2007) o valor de h (ângulo hue) indica a tonalidade da cor, quanto menor o seu ângulo mais próxima a amostra estará do eixo a^* , e mais vermelha será amostra; o resultado obtido por este estudo é muito maior que o obtido para polpa de açaí fresco, essa diferença é justificada pela alta concentração da polpa decorrente a liofilização, promovendo maior tendência ao vermelho. O ângulo hue demonstra a localização tridimensional da cor, logo um ângulo próximo de 360° já é novamente próximo de 0 (MC GUIRE 1992).

As diferenças que ocorrem nos valores da colorimetria, além do fato do açaí utilizado no estudo ser liofilizado, o que concentra a amostra, também pode estar relacionado ao grau de maturação dos frutos. Frutos em menor estado de maturação possuem um menor teor de antocianinas, logo, resultará em uma polpa com menor pigmentação. Shultz e seus colaboradores (2015) observaram em amostras de *E. edulis* com diferentes graus de maturação, que as amostras em início de maturação apresentaram valores de $L^* 22,26$, $a^* 2,73$ e $b^* 1,19$ e quantificação de antocianinas de $18,76$ mg/g, as com maturação intermediária apresentaram valores de $L^* 20,21$, $a^* 0,61$, $b^* 1,00$ e $634,26$ mg/g de antocianinas totais e as como maior taxa de maturação apresentaram $L^* 24,87$, $a^* 0,60$, $b^* 1,14$ e $425,76$ mg/g de antocianinas totais. A redução de antocianinas e do parâmetro a^* apresentada no último período de amadurecimento pode ser devido as reações de oxidação e a degradação durante o período de senescência do fruto. Para os demais períodos de amadurecimento a luminosidade (L^*) apresenta uma oscilação em seus valores ocorrendo uma redução ao longo da maturação, ou seja, um aumento da coloração escura. Já para o parâmetro a^* e b^* ocorre uma redução dos valores indicando uma redução da coloração vermelha intensa e a predominância da coloração roxa a azulada, característica da fruta (BORGES, 2013).

5.3 Tratamento Ultrassônico e Análise do Tamanho de Partícula do Açaí por Difração de Raio Laser

Os resultados do processo ultrassônico realizado no açaí liofilizado com objetivo de reduzir o tamanho das partículas para que o filme apresentasse característica visual e tátil mais homogênea, estão dispostos na Tabela 8.

Tabela 8. Resultado da redução do tamanho de partícula do açaí.

Tempo de processo ultrassônico	Amplitude %	Diâmetro médio μm
5 min	50	$79,59 \pm 8,9^a$
5 min	25	$102,5 \pm 3,2^b$
5 min	12	$162,6 \pm 16,3^c$

Letras diferentes significam diferença significativa a um nível de significância de 5% pelo teste Tukey.

Os resultados da utilização do ultrassom por 5 minutos com pulso de intervalo regular de 5 segundos ligados e 2 segundos desligado a 50% de amplitude foi o mais eficaz na redução do tamanho partícula apresentando um D90 médio de $79,59 \mu\text{m}$, enquanto que o açaí liofilizado não submetido a sonicação apresentou um D90 de $221,6 \mu\text{m}$. O açaí submetido a 25% de amplitude apresentou um D90 médio de $102,5 \mu\text{m}$ e o submetido a 12% apresentou um D90 médio de $162,6 \mu\text{m}$. O diâmetro médio foi determinado com base no diâmetro médio de uma esfera de mesmo volume (diâmetro de Brouckere), geralmente utilizado para caracterizar partículas de pó. O valor D90 retrata a distribuição acumulativa em 90% da amostra analisada, onde 90% das partículas tem o tamanho de até $102,5 \mu\text{m}$ como no caso do açaí liofilizado submetido a 25% de amplitude, por exemplo.

A análise estatística (ANOVA) indicou que as diferentes amplitudes utilizadas no ultrassom promoveram uma diferença significativa no tamanho da partícula do açaí ($P < 0,05$) e o teste de Tukey indicou que todas as amostras apresentavam diferenças entre si.

A Figura 24 corresponde às curvas obtidas para as partículas produzidas com 12% de amplitude, a Figura 25 corresponde às curvas obtidas para as partículas produzidas com 25% de amplitude e a Figura 26 corresponde às curvas obtidas para as partículas produzidas com 50% de amplitude.

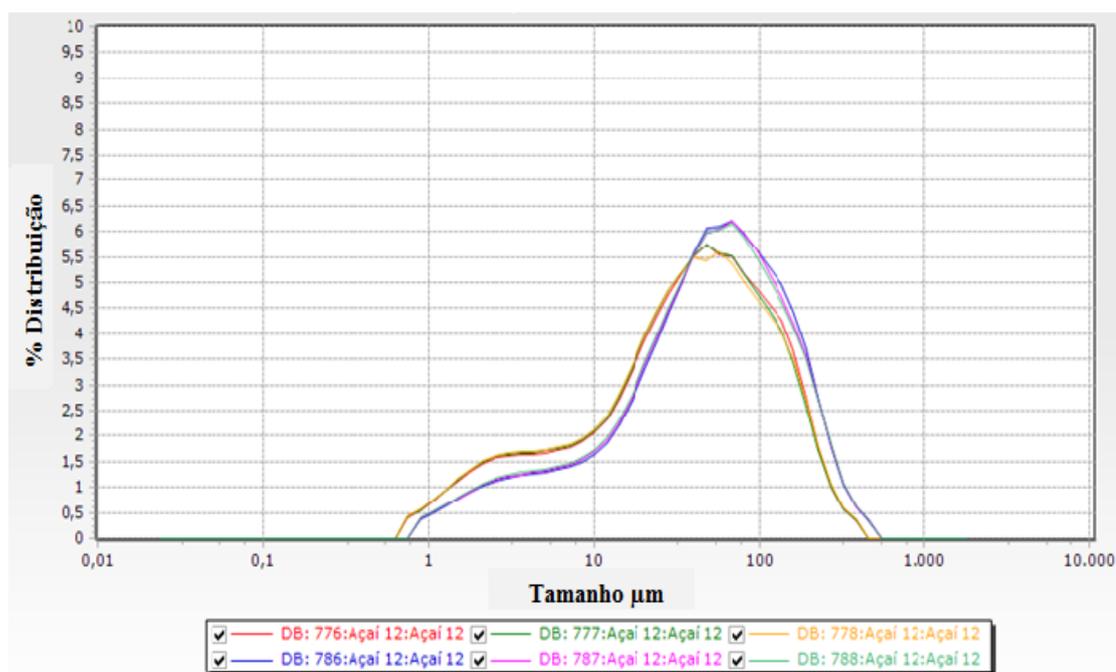


Figura 24. Curva do tamanho de partícula para o açaí liofilizado sonicado a 12% de Amplitude.

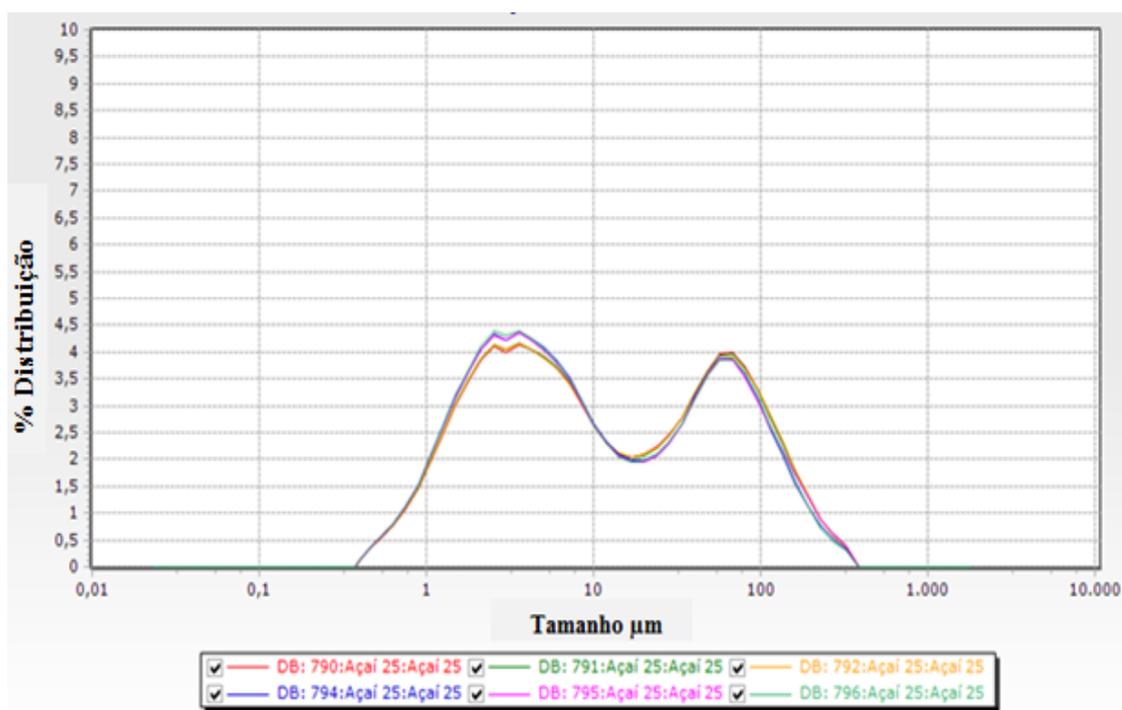


Figura 25. Curva do tamanho de partícula para o açai liofilizado sonicado a 25% de Amplitude.

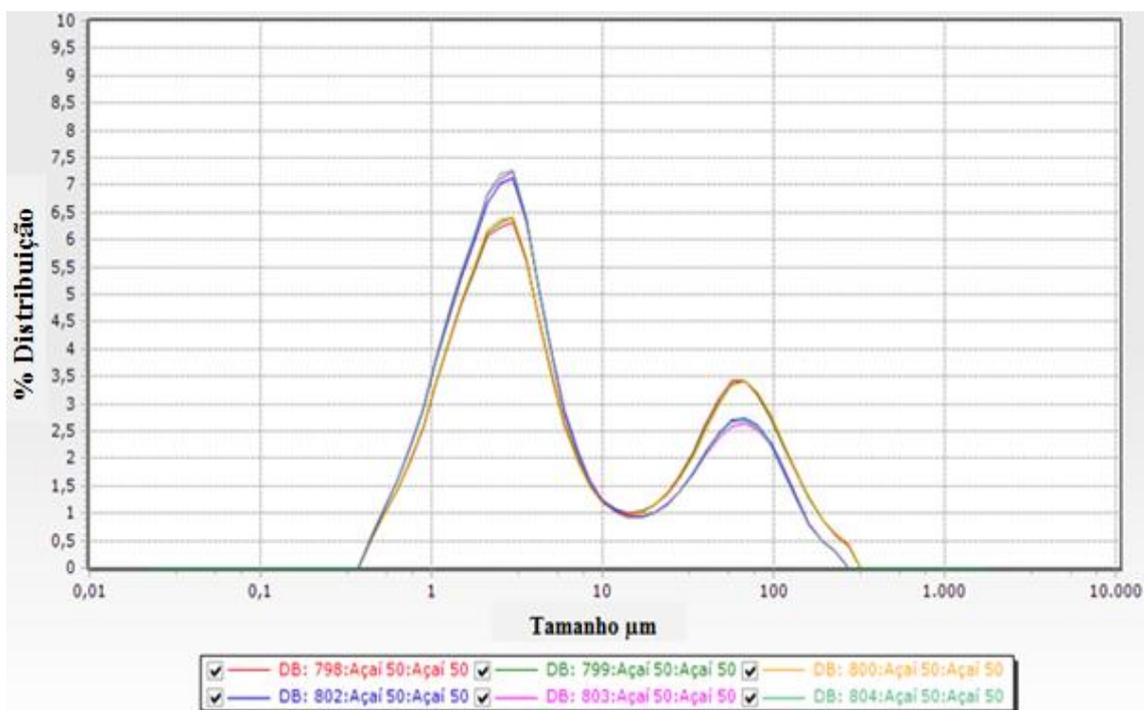


Figura 26. Curva do tamanho de partícula para o açai liofilizado sonicado a 50% de Amplitude.

As partículas apresentaram diâmetros variando de 79,59 a 162,6 μm . Observa-se que ocorreu uma distribuição bimodal, ou seja, apresentaram dois picos distintos, cada um dos picos maior que o outro (Figuras 24, 24 e 26). Neste caso não existe uma simetria em relação às partículas de tamanho médio, quer para o lado das partículas mais finas, quer para o lado das partículas de maior dimensão.

A partir destes resultados observa-se que a cavitação provocou forças de cisalhamento nas partículas maiores reduzindo-as de tamanho, tendo então a sonicação contribuído para a redução do tamanho da partícula de forma significativa.

A liofilização, que foi submetido o açaí utilizado neste estudo, é um processo de secagem a frio, que além da retirada da água e manutenção das características nutricionais e organolépticas do alimento, por se utilizar de baixas temperaturas, contribui para o encolhimento da partícula, originando assim partículas com diâmetros menores, diferente dos processos realizados com maiores temperaturas, que tendem a produzir partículas maiores, pois a secagem rápida promove a formação imediata de estruturas, evitando assim, que as partículas encolham durante a secagem (REINECCIUS, 2001). Desta forma a substituição da polpa congelada para o açaí liofilizado já representa uma redução no tamanho das partículas do fruto, devido o processo de secagem, o que contribui para um melhor aspecto óptico do filme.

5.4 Quantificação por CLAE das Antocianinas da Polpa de Açaí Congelada e do Açaí Liofilizado Submetido a Sonicação.

Realizou-se a quantificação de antocianinas por CLAE, de seis marcas de açaí comercializados como polpa *in natura* congelada, do açaí liofilizado, e do açaí liofilizado submetido a sonicação. As polpas comerciais testadas demonstraram um baixo valor na quantificação de antocianinas, sendo o maior valor de 19,73 mg/100g, já o açaí liofilizado apresentou valores superiores (açaí não sonicado 311,46 mg/100g), mesmo após a sonicação (Tabela 9).

Tabela 9 – Médias das triplicatas realizadas para da quantificação de antocianinas por CLAE.

Amostras de açaí	Cianidina-3- <i>O</i> -glicosídeo	Cianidina-3- <i>O</i> -rutenosídeo	Totais mg/100g
	mg/100g	mg/100g	
Congelada A	8,66	11,08	19,7 ± 1,1
Congelada B	4,12	5,22	9,3 ± 0,8
Congelada C	1,98	4,16	6,1 ± 0,3
Congelada D	4,98	6,44	11,4 ± 0,6
Congelada E	4,38	5,54	9,9 ± 1,0
Congelada F	3,52	6,99	10,5 ± 1,5
Liofilizada	113,85	197,62	311,5 ± 8,8
Liofiliz. 12%A	1,58	2,86	4,44 ± 1,0
Liofiliz. 25%A	1,49	2,7	4,19 ± 0,1
Liofiliz. 50%A	0,94	1,79	2,94 ± 0,9
Aplicação do fator de diluição =>	Solução de 6 g em 400 mL: 6/400= 0,015		
Liofiliz. 12%A	105,29	190,49	295,8 ± 33,3
Liofiliz. 25%A	99,05	180,03	279,1 ± 10,7
Liofiliz. 50%A	62,7	119,52	182,2 ± 32,2

O fator de diluição aplicado refere-se a diluição realizada no açaí liofilizado para que o mesmo fosse submetido a sonicação, onde 6 g de açaí foi solubilizado em aproximadamente

400 mL de água. Os valores de 6 g e 400 mL foram utilizados com objetivo de se aproximar a realidade das quantidades de matérias-primas utilizadas para o desenvolvimento do filme. Após, 1 g desta solução foi pesada para realizar a extração de antocianinas. A partir do cálculo de diluição (6 g /400 mL) verificou-se ter 0,015 g de antocianinas em 1 mL da solução (400 mL) submetida a sonicação. O resultado obtido da quantificação por CLAE foi dividido por 0,015, obtendo-se o valor correto da concentração de antocianinas.

O cromatograma obtido (Figura 27) corrobora que as antocianinas majoritárias do açaí são as cianidina-3-O-glicosídeo e cianidina-3-O-rutenosídeo como relata a literatura (GORDON, et al. 2012; SCHAUSS, et al. 2006b).

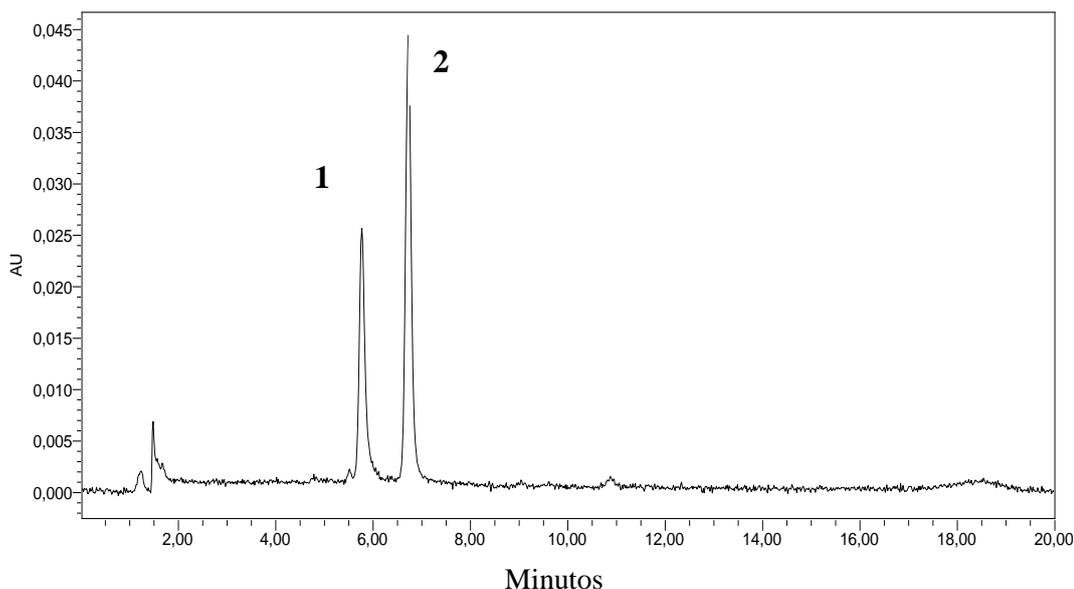


Figura 27: Cromatograma obtido na região do UV visível a 520 nm que reproduz o perfil das antocianinas do extrato antociânico do açaí liofilizado, pico (1) cianidina-3-O-glicosídeo e pico (2) cianidina-3-O-rutenosídeo.

Todas as amostras apresentaram os espectros de UV/Visível das duas antocianinas acima, com o mesmo perfil cromatográfico, variando apenas a magnitude dos picos, que é proporcional à concentração das antocianinas de cada uma das amostras analisadas.

A partir dos resultados obtidos com a redução do tamanho de partícula por difração de raio laser decorrente a sonicação em diferentes amplitudes, e do resultado da concentração de antocianinas por CLAE dos diferentes tipos de açaí (polpa congelada e açaí liofilizado sonicado), determinou-se o parâmetro com o melhor resultado. E este foi utilizado para as demais análises e para o desenvolvimento dos filmes. Apesar da amplitude de 12% apresentar a maior quantificação de antocianinas, essa amplitude apresentou um tamanho de partícula maior, desta forma a polpa escolhida para o desenvolvimento do filme foi a polpa submetida a 25% de amplitude, pois este apresentou significativa redução no tamanho de partícula e um considerável teor de antocianinas.

As polpas congeladas apresentaram uma quantificação de antocianinas inferior, provavelmente pela alta diluição durante o preparo da polpa, apesar de as polpas analisadas serem do tipo médio (com maior teor de sólidos totais), o que segundo a legislação garante um material menos diluído em comparação com a polpa de açaí do tipo fino, que é mais diluída e possui menor teor de sólidos totais (BRASIL 2000). Como foi observado nos resultados sobre a umidade da matéria prima, a polpa de açaí congelada apresentou umidade de 97,12%. Segundo Tonon e seus colaboradores (2010) altos valores de A_w podem

promover maior degradação das antocianinas pela provável mobilidade da molécula no alimento, o que facilita as reações físico-químicas de degradação.

Outras características que podem implicar na degradação das antocianinas é a perda que ocorre durante o processamento e durante o período de estocagem. Pois devido à alta carga microbiana dos frutos, as polpas de açaí congeladas comercializadas nos estados brasileiros são submetidas a processos de conservação como branqueamento e pasteurização que podem impactar de forma a reduzir os compostos bioativos do fruto, bem como as características organolépticas. Entretanto, são processos fundamentais para garantir uma maior validade comercial e segurança ao consumidor (COHEN e ALVES, 2006). A atividade enzimática da peroxidase e da polifenoloxidase também é um fator que deve ser considerado na redução das antocianinas durante a estocagem. Altos períodos de estocagem também podem influenciar no teor dos compostos bioativos, este fenômeno é conhecido por cinética de primeira ordem (TONON, BRABET e HUBINGER 2010), ainda que o armazenamento ocorra sobre baixas temperaturas. Estudos revelaram que antocianinas de suco de mirtilo armazenados por 6 meses sob congelamento, resultaram em degradação de 83% de cianidina-3-*O*-glicosídeo, por exemplo, (REQUE, 2014), sendo esta, uma das antocianinas identificadas como majoritárias no açaí (GOUVÊA, 2010). Entretanto, alguns estudos apontam que com 3 meses de armazenamento sob congelamento a -23°C, 67% dos compostos antocianínicos já se encontram degradados e que com 6 meses apenas 12% dos compostos se encontram íntegros (CHAOVANALIKIT e WROLSTAD, 2004a, b).

Quanto as polpas submetidas a sonicção, observa-se que a polpa submetida a 50% de amplitude apresentou o menor percentual de antocianinas pela provável degradação durante o processo. Já que a sonicção pode provocar efeitos químicos pela geração de radicais livres. O efeito químico do ultrassom em soluções aquosas (sonólise) propicia a hidrólise das ligações de hidrogênio nas moléculas de água o que acarreta na produção direta de radicais livres (KORN, ANDRADE e BORGES, 2003). A polpa submetida a menor amplitude apresentou resultado na quantificação de antocianinas muito próximo a quantificação realizada no açaí liofilizado não sonicado. Porém, todos os valores encontrados foram superiores a estudos com polpa de açaí fresco que apresentaram valores inferiores de antocianinas totais como o realizado por Heinrich; Dhanji; Casselman, (2011) (111 mg/100g). Malcher (2011), também revelou valores inferiores para a quantificação de antocianinas em polpa de açaí do tipo médio e do tipo grosso, fresco (*in natura*), com uma média de 157,70 mg/100g e 201,44 mg/100g respectivamente. Esta diferença entre o açaí liofilizado e as polpas *in natura*, deve-se ao fato da liofilização concentrar as amostras, como foi verificado por Bezerra (2014) durante o estudo da liofilização de polpa de Marolo, onde foi observado um aumento dos compostos nutricionais. Gouvêa (2010) encontrou valores inferiores ao deste estudo em polpas de açaí congelada e liofilizada sendo 48,2 mg/100g de antocianinas, essa redução provavelmente deve-se ao mal processamento realizado pela indústria que vai desde a colheita do fruto a estocagem, e principalmente pela alta diluição no preparo. Outra questão diretamente relacionada à diferença da quantificação de antocianinas entre as polpas é o grau de amadurecimento do fruto (ROGEZ et al., 2011).

O baixo teor de antocianinas também pode ser atribuído aos processos industriais utilizados na conservação da polpa, uma vez que Klopotek, Otto e Böhm (2005) reportaram uma perda de 27% das antocianinas de suco de morango como consequência da pasteurização.

Golmohamadi e seus colaboradores (2013), não encontraram redução das antocianinas em purê de framboesa vermelha *in natura* após sonicção, no entanto o processo foi realizado em recipiente externo contendo cubos de gelo, por diferentes tempos. O teor total de antocianinas monoméricas aumentou 12,6% a 20 kHz e 6,7% em 490 KHz após 10 min de sonicção. Tiwari e seus colaboradores (2008) também observaram um ligeiro aumento no

teor de antocianinas em sucos de morango sonicado por menos de cinco minutos a 20 kHz em amplitudes menores que 60%. Segundo Chen e seus colaboradores (2007) é importante a manutenção da temperatura a baixo dos 40°C durante a sonicação, e neste estudo a temperatura não foi considerada. Outra questão a ser considerada, é que nos estudos onde ocorreram aumentos das antocianinas monoméricas a sonicação não ocorreu na polpa do fruto processada, e sim na fruta *in natura*, sendo esta apenas amassada, o que contribui para as maiores proporções de antocianinas.

5.5 Capacidade Antioxidante do Açaí Liofilizado

Os resultados da capacidade antioxidante do açaí liofilizado estão dispostos na Tabela 10, tanto pela técnica ABTS quanto pela técnica ORAC.

Tabela 10. Resultado da capacidade antioxidante do açaí liofilizado pelos métodos ABTS e ORAC

Capacidade antioxidante - Método ABTS	Capacidade antioxidante - Método ORAC
208,02 ± 8,6 µmol Trolox/g	568,79 ± 9,1 µmol Trolox/g

Os valores de capacidade antioxidante encontrados para o açaí liofilizado, tanto por ABTS quanto por ORAC são bem superiores em comparação a estudos com polpas de açaí *in natura*. Cruz (2008) encontrou 36,6 µmol Trolox/g para polpa de açaí através da técnica ABTS, onde os frutos foram adquiridos, higienizados e despulpados, logo, não eram frutos provenientes de altos períodos de estocagem ou altamente diluídos. Malcher (2011) em uma extensa análise da capacidade antioxidante de polpas de açaí colhidas em diferentes localidades do Brasil, com diferentes técnicas de plantio e em diferentes épocas do ano (safra, entre-safra e fora de safra), o que influi diretamente na composição dos compostos bioativos, encontrou a maior capacidade antioxidante por ABTS para apenas 1 das dez análises realizadas, com valor máximo de 421,37 µmol Trolox/g. Os demais valores variaram de 70,51 a 313,31 µmol Trolox/g. O maior valor encontrado se refere a uma amostra de açaí colhida na alta temporada e cultivada pela Embrapa AP, que cultiva o fruto com o mínimo de impacto.

Pacheco-Palencia, Hawken, e Talcott (2007), utilizando a metodologia ORAC, encontraram valores de atividade antioxidante para a polpa integral, na ordem de 54,4 µmol Trolox. Palacio (2008) encontrou valores de 35,2 µmol Trolox para mesma análise, porém, com açaí do tipo grosso congelado, o que pode ter contribuído para redução das antocianinas e consequentemente da capacidade antioxidante, já que há uma correlação positiva entre o teor de antocianinas de um fruto com sua capacidade antioxidante; os maiores valores são obtidos a frutos com altos teores de antocianinas (KUSKOSKI et al., 2006).

Os valores de capacidade antioxidante obtidos pelo método ORAC normalmente são superiores em comparação a outros métodos quando se refere as antocianinas. Tabart e seus colaboradores (2009) avaliaram a capacidade antioxidante de vários compostos e também verificaram que, no caso das antocianinas, os valores obtidos pelo ORAC foram superiores. De acordo com os autores, os resultados obtidos pelo método ORAC tem um significado diferente e representam mais do que apenas o sequestro de radicais livres. Neste ensaio, os radicais livres resultantes da decomposição térmica do AAPH são gerados a uma taxa constante, no decorrer do tempo, de modo que o ORAC é o único método que combina o tempo e o grau de inibição, além de apresentar a particularidade de resultar em uma reação completa.

Em seus estudos com polpa de açaí liofilizada, Schauss e seus colaboradores (2006a) também obtiveram um alto valor de capacidade antioxidante pelo método ORAC de 1027 μmol Trolox, para frutos colhidos e liofilizados especificamente para a análise, em condições de armazenamento de -20°C , o que pode justificar a maior capacidade antioxidante em relação a este estudo, visto a alta instabilidade das antocianinas e as possíveis perdas que podem ocorrer durante a estocagem. O açaí liofilizado demonstrou ainda uma elevada capacidade de eliminação do radical superóxido (1614 unidades / g), do radical hidroxila e do radical peroxinitrito. A análise também verificou que o açaí liofilizado tinha um efeito inibitório significativo sobre as espécies reativas de oxigênio, bem como desempenhou um aumento na atividade de neutrófilos / macrófagos que desempenham um papel importante na fagocitose de microrganismos e outros compostos maléficos ao organismo humano, sendo considerado um imunestimulador. O açaí liofilizado demonstrou ainda uma leve capacidade de inibição *in vitro* das enzimas COX-1 e COX-2 que são conhecidas por estimular a resposta inflamatória.

5.6 Desenvolvimentos do Filmes por *Casting*

5.6.1 Avaliações dos filmes elaborados: aspectos ópticos

As quantidades de matéria-prima utilizadas foram fixadas a partir da análise dos resultados encontrados na elaboração e caracterização de filmes de amido de mandioca, glicerol, polpa de frutas (FARIAS; 2011; SOUZA et al., 2012) e/ou diversos outros componentes, encontrados na literatura (SHIMAZU, MALI e GROSSMAN 2007; MACHADO et al., 2012). A mistura da polpa do fruto liofilizada, adicionada de água, amido e glicerol nas quantidades utilizadas resultou em uma solução filmogênica que originou o filme comestível (Figura 28).

Analisando visualmente, os filmes descolaram-se facilmente da placa assim como o filme controle, porém, os filmes de açaí apresentaram característica heterogênea, apesar da redução do tamanho das partículas do fruto. Os filmes desenvolvidos por Espitia e seus colaboradores (2014), também apresentaram tal característica, devido as partículas do açaí.

Inicialmente, na tentativa de utilizar a polpa congelada de açaí, a centrifugação foi um método utilizado com objetivo de excluir os particulados da polpa no filme, porém, houveram perdas dos compostos de interesse no precipitado. Palacio (2008) também centrifugou a polpa do açaí e observou perdas de 74,23 % das antocianinas da polpa de açaí grosso, bem como Gouvêa (2010) que relatou perda de 72,8% e 75,8% das antocianinas majoritárias cianidina-3-O-glicosídeo e cianidina-3-O-rutenosídeo, respectivamente. Por este motivo foi utilizado o açaí liofilizado submetido à sonicação.

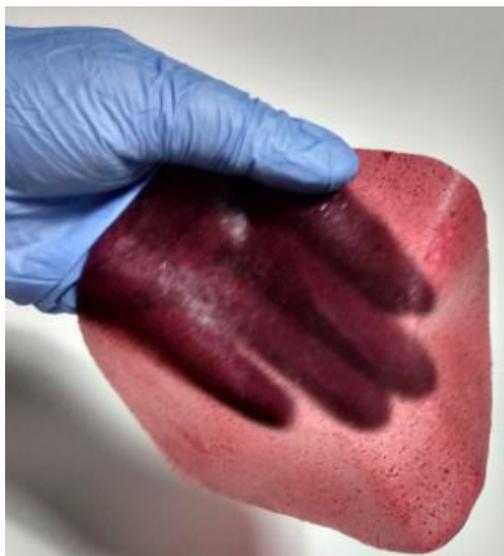


Figura 28. Filme comestível a base de amido de mandioca, açaí liofilizado e glicerol

Quanto aos parâmetros colorimétricos os resultados se encontram dispostos na Tabela 11.

Tabela 11. Resultado dos parâmetros colorimétricos para o filme de açaí

Parâmetros	Filme de açaí	Açaí fresco (Cipriano, 2011)
L*	27,43 ± 1,1	25,46
a*	11,87 ± 0,9	1,02
b*	1,58 ± 1,7	0,29
C	12,28 ± 4,0	1,06
H	18,02 ± 4,2	-8,02

Quanto aos parâmetros colorimétricos os filmes apresentaram o valor médio da coordenada L* de 27,43 que corresponde a uma baixa luminosidade, com maior tendência ao escuro; a coordenada b* apresentou valores baixos, o que corresponde uma maior tendência ao azul, já a coordenada a* apresentou valores médios positivos com maior intensidade da cor vermelha. Estes valores são próximos tanto aos do açaí liofilizado utilizado para o preparo do filme de amido, como para os relatados sobre a polpa do fruto (L* = 25,46; a* = 1,02; B* = 0,29), o que indica que o processo de desenvolvimento do filme não alterou de forma brusca o cromóforo dos pigmentos do açaí, o cátion flavílico. O Croma, atribuído a saturação da cor, indicou cores vívidas (maiores que 0) e o ângulo hue (H) apresentou uma tonalidade com tendência ao vermelho.

Os filmes desenvolvidos por Espitia e seus colaboradores (2014b), apresentaram medidas colorimétricas de L* = 26,96; a* = 7,17 e b* = 2,66, sendo valores muito próximos ao do atual estudo, exibindo tons de cores que vão do vermelho para o laranja amarelado, isto é justificado pelos autores devido a adição de agentes antimicrobianos ao filme (óleo de tomilho e polifenóis da casca de maçã) que contribuíram positivamente para uma tendência ao amarelo nos filmes comestíveis de açaí e pectina. Tonon (2009) encontrou valores similares aos do presente estudo para a análise colorimétrica de suco de açaí em pó encapsulado com o mesmo polímero utilizado para o desenvolvimento do filme, a fécula de mandioca, tendo apresentado valores da coordenada L* de 20,92, para a coordenada a* maior intensidade da cor vermelha com valor de 9,18, e para a coordenada b* uma maior intensidade da cor azul

com valor de 0,64. Porém, esta coloração foi reconhecida pelo estudo como a mais escura da análise, sendo justificada pela menor quantidade de agente carreador presente neste pó em relação as demais amostras, o que explica a coloração roxa mais intensa. Arena (2012) encontrou valores diferentes para os filmes de amido de mandioca adicionado de extrato de antocianina em pó, onde o parâmetro L^* variou de 53,13 a 70,04 de acordo com a adição de pó e pH do meio. Observa-se que estes valores são maiores que o encontrado para o presente estudo indicando que estes filmes tem maior tendência a claridade, enquanto o filme de açaí do atual estudo tem menor luminosidade, sendo muito mais próximo do fruto. O parâmetro a^* também variou de acordo com os mesmos parâmetros (13,3 a 30,16) onde o maior valor foi para a maior adição de pó e para o menor pH, indicando maior intensidade da cor vermelha; por fim a coordenada b^* obteve valores negativos de -4,89 a -8,60, com o valor mais baixo para a maior adição de pó e menor pH, com predominância da coloração azul/roxo.

Os filmes de açaí elaborados neste estudo apresentaram valores positivos para a coordenada a^* (vermelho), e baixos valores para a coordenada b^* , o que indica uma maior tendência a coloração azul, apesar dos valores serem positivos.

5.6.2 Espessura do filme adicionado de açaí liofilizado e do filme controle

A espessura média dos filmes adicionados de açaí variou de 0,162 a 0,174 mm, já os filmes controles apresentaram menor espessura (0,09 mm \pm 0,0) assim como os filmes de amido de mandioca e glicerol de Shimazu, Mali e Grossman (2007) que tiveram espessura de 0,007 a 0,10 mm; Gomes (2014) também obteve baixos valores de espessura para filmes de amido nativo das sementes de *Swartzia burchelli* com valores de 0,050 a 0,070 mm, de acordo com o aumento do teor de glicerol; assim como Machado e seus colaboradores (2012) que encontraram valores entre 0,10 e 0,15 mm para filmes de amido de mandioca, nanocelulose e extrato de erva mate, a variação ocorreu de acordo com o percentual de amido.

Apesar da boa reprodutibilidade dos filmes, a adição do açaí liofilizado causou uma diferença significativa na espessura ($p < 0,0001$) indicando que a adição da polpa aumentou a espessura do material. Essa diferença na espessura pode estar diretamente relacionada com a adição do açaí liofilizado, pois como já foi dito, apesar das tentativas em reduzir as partículas para obtenção de um filme mais homogêneo e fino, a alta quantidade de fibras presentes no fruto, bem como o desejo da manutenção máxima dos compostos antioxidantes, fizeram com que optássemos em utilizar o açaí submetida a sonicação média.

Os resultados deste estudo são muitos próximos aos resultados encontrados para filmes adicionados de polpa de fruta. Sothornvit e seus colaboradores (2007) estudando filmes exclusivamente elaborados com purê de manga obtiveram a espessura média de 0,170 mm. Segundo o autor, esse valor é justificado pela alta concentração de polpa de manga utilizada na elaboração dos filmes. Farias e seus colaboradores (2012), a partir do desenvolvimento de filmes de amido de mandioca e polpa de acerola centrifugada e liofilizada, obtiveram variação em sua espessura de 0,121 mm para filmes com 60% de polpa e 15,86% de glicerol, e 0,158 mm para filmes com 60% de polpa e 44,14% de glicerol, sendo este último valor próximo ao mínimo encontrado para o presente estudo. Dantas e seus colaboradores (2015) obtiveram valores de espessura que variaram de 0,08 mm (controle) a 0,20 mm para formulações de filmes de amido com diferentes concentrações de polpa de frutas (acerola, seriguela e manga) incorporadas como aditivos antioxidante, valor este superior ao do presente estudo. Todos os filmes, independente da fruta utilizada, também apresentaram espessura superior ao filme controle, sugerindo que a incorporação de polpas de frutas pode elevar a espessura das embalagens, o que, conseqüentemente, promove aumento das suas propriedades de barreira.

Nascimento, Calado e Carvalho (2012) obtiveram valores de espessura próximos aos encontrados no presente estudo com uma variação de 0,133 a 0,185 mm para de filmes de amido de mandioca e farinha do mesocarpo de maracujá adicionado de nanopartículas de argila. Já Reis e seus colaboradores (2014) obtiveram valores de espessura entre 0,111 e 0,125 mm para filmes de amido de mandioca, polpa de manga e extrato de erva mate, enquanto os filmes controle, sem polpa de manga, apresentaram valores de 0,113 mm.

Nos filmes de açaí e pectina com diferentes concentrações de agentes antimicrobianos (casca de maçã em pó e óleo de tomilho – OT), Espitia e seus colaboradores (2014) encontraram diferentes espessuras onde os filmes controle apresentaram 0,104 mm, os filmes adicionados de 3% de casca de maçã em pó 0,116mm, os filmes com 3% de OT 0,165mm, os filmes com 3% de casca de maçã em pó + 3% de OT 0,127 mm, os filmes com 6% de casca de maçã em pó 0,201mm e os filmes com 6% de OT 0,144mm.

Arena (2012) desenvolveu e caracterizou filmes de amido de mandioca, argila e glicerol adicionado de antocianinas em pó pelo método *casting* e obteve valores de espessura entre 0,119 e 0,123 mm, a variação correu de acordo com o percentual de antocianinas adicionado. Rocha e seus colaboradores (2014) encontraram valores de 0,107 a 0,132mm para filmes de amido de mandioca e proteína de soja. Veiga Santos e seus colaboradores (2011) encontraram espessura média entre de 0,92 e 0,116mm. E assim como o estudo atual os filmes controles, apenas de amido, apresentaram valores menores (0,84 mm), isto devido a não adição tanto do açaí, como dos extratos de antocianinas utilizados para elaboração dos filmes de Veiga (casca da uva e sementes como fontes de antocianina, simulando resíduos industriais de vinícolas, e espinafre como uma fonte de clorofila para serem utilizados como indicador de pH).

5.6.3 Quantificação de antocianinas por Cromatografia Líquida de Alta Eficiência

O teor de antocianinas nos filmes de amido e açaí liofilizado analisados por CLAE apresentaram valores de médios de 21, 59 ± 3,62 mg/100g, com o mesmo perfil cromatográfico representado na Figura 26.

Apesar deste resultado representar 10% do teor de antocianinas totais do açaí liofilizado utilizada neste estudo, este resultado é ainda duas vezes superior aos encontrados nas 6 polpas de açaís congeladas vendidas em estabelecimentos do Rio de Janeiro analisadas, como foi apresentado no item 5.4. Polpas estas do tipo médio que deveriam, segundo a legislação brasileira, ser menos diluída. O resultado ainda é próximo a quantificação encontrada em alguns estudos com polpa de açaí congelada como o realizado por Kuskosky e seus colaboradores (2006) com valores de 22,8 mg/100g; por Lichtenthäler e seus colaboradores (2005), que demonstrou que a polpa do açaí roxo da qualidade grosso, colhido no período da alta temporada, continha uma concentração variada (de acordo com o grau de maturação) de cianidina-3-*O*-rutenosídeo com valores entre 13 e 456 mg/L e para cianidina-3-*O*-glicosídeo um teor entre 1.6 e 13 mg/L, apenas. Outro fator importante é que o filme não é composto apenas de açaí, logo a massa pesada de 0,4 g para realizar a extração de antocianinas é composta em sua grande maioria de amido e glicerol, com uma menor quantidade de açaí que corresponde a apenas 34,54% da composição final do filme.

Com objetivo de desenvolver um filme de amido rico em vitamina C e carotenoides através de polpa de acerola, Farias e seus colaboradores (2012) após a elaboração do material, verificaram que os filmes comportavam valores de vitamina C que variavam de 74,13 a 3761,84 mg e os valores de beta caroteno de 2703 a 5431 mg, de acordo com o teor de polpa adicionado, quanto maior o percentual de polpa, maiores eram os valores de vitamina C e beta caroteno. Segundo Batista (2000) o teor de ácido ascórbico presente na acerola varia de 800 mg a 2700 mg dependendo do grau de maturação, e o teor de β -caroteno e licopeno varia de

23,49 a 37,04 mg/100 mL e de 0,00 a 2,70 mg/100 mL, respectivamente (SILVA et al., 2013). No estudo de Farias e seus colaboradores (2012), o material com a maior concentração de polpa liofilizada (85,45%), apresentou em 1 g de filme 3,89 vezes a dose diária recomendada (RDI) para vitamina C e 56,18 vezes a RDI para β -caroteno.

Estes resultados demonstram que filmes comestíveis adicionados de polpas de frutas são uma ótima fonte suplementar de compostos nutricionais e agentes antioxidantes. Apesar de alguns filmes e/ou revestimentos comestíveis adicionados de polpa de frutas serem desenvolvidos e não serem analisados quanto a retenção de compostos antioxidante (AZEREDO, MIRANDA e RIBEIRO, 2012). O teor de antocianinas totais encontrados nos filmes de açaí se assemelham ao teor encontrado em frutas, como determinados tipos de uvas escuras (30,9 mg/100 g) e para polpa de amora (41,8 mg/100 g) (KUSKOSKI et al. 2006), indicando que o material polimérico é uma boa fonte deste pigmento antioxidante.

Durante a análise de quantificação de antocianinas, notou-se certa dificuldade em realizar a extração com o solvente, por este motivo houve-se a necessidade de modificar o processo com a adição de pequenas quantidades de água no filme em pó, e que este permanecesse sob repouso por 10 minutos. Este processo permitiu que a extração ocorresse. É provável que as OH das antocianinas ligaram-se as OH do amido por meio de ligações de hidrogênio, o que justifica a utilização de pequenas quantidades de água antes da adição do solvente para extração. As antocianinas possuem a capacidade de estabelecer ligações de hidrogênio com outras moléculas devido a presença de hidroxilas em sua estrutura química (BARTOLOME e GOMEZ-CORDOVES, 2005; ANTOLOVICH et al., 2000; BRAVO, 1998; ESCARPA e GONZALEZ, 2001) e o mesmo ocorre com as moléculas de amido. No amido, as ligações de hidrogênio mantêm o arranjo molecular do grânulo o que permite o arranjo das áreas cristalinas, porém, durante o aquecimento em meio aquoso ocorre o intumescimento do grânulo pela entrada da água, e a conseqüente alteração da sua estrutura com perda da birrefringência e cristalinidade. Essa modificação estrutural denominada gelatinização, forma o gel no qual as frações de amido tendem a se agregar com o resfriamento e durante esta reorganização, a amilose, por ser uma molécula linear, apresenta maior tendência para interagir e formar ligações de hidrogênio, fenômeno conhecido como retrogradação (WATERSHOOT et al., 2014). É possível que neste estudo as ligações de hidrogênio também tenham ocorrido com as antocianinas o que de certa forma imobilizou as moléculas no biofilme. Este fato é importante visto a instabilidade das antocianinas perante muitos fatores externos, logo o aprisionamento das antocianinas com os grânulos de amido provavelmente permitirá uma maior preservação do composto bioativo no material polimérico até a chegada ao consumidor, e como o filme é passível de ser ingerido, poderá ser utilizado como uma fonte de ingestão de antocianinas, no entanto são necessárias análises específicas para comprovar esta interação.

Estima-se que o consumo geral de flavonoides e ácidos fenólicos seja de 1g/dia (SCALBET e WILLIAMSON, 2000) e deste, 25% seja de antocianinas (BRINDLE, TIMBERLAKE 1997). Por outro lado, segundo Wu e seus colaboradores (2006) o consumo de antocianinas no mundo varia de acordo com cada país, nos Estados Unidos estima-se que o consumo seja em torno de 12,5 mg/dia por adulto, com uma variação entre 3 e 215 mg/dia (DE PASCUAL-TERESA, MORENO, GARCÍA-VIGUERA, 2010). Estudos demonstram que as antocianinas ingeridas são hidrolisadas e as antocianidinas resultantes são degradadas em ácidos fenólicos correspondentes, derivados do anel B (MANACH et al., 2005). A hidrólise dos flavonoides é dependente do açúcar presente na estrutura fundamental e deve ocorrer no intestino delgado, pois se ocorrer no cólon fica sujeita a degradação acarretando em uma menor biodisponibilidade (SCALBET e WILLIAMSON, 2000). Apesar destes relatos, há poucos estudos *in vivo* demonstrando a biodisponibilidade de antocianinas e flavonoides (PRIOR; GU, 2005).

Estudos *in vivo* têm demonstrado que a administração de antocianinas sob a forma de extratos ou através do consumo de frutos tem efeitos benéficos tanto na supressão de estados de doença como na prevenção de câncer, doenças cardiovasculares, doenças cerebrovasculares, aterosclerose e diabetes (COOKE et al., 2005; TSUDA et al., 2003). Os mecanismos de ação das antocianinas podem estar relacionados com a sua capacidade de supressão da proliferação e migração celular bem como com a sua capacidade de proteção ao DNA e pela capacidade de indução da apoptose (morte programada) em células tumorais. Por este motivo os efeitos anticancerígenos das antocianinas têm sido extensamente estudados (ZAFRA-STONE, et al., 2007; BOMSER et al, 1996; WANG e STONER 2008). Logo, a ingestão deste filme pode ser um coadjuvante no aumento da dose diárias de antocianinas, visto que ele contém uma quantidade significativa do antioxidante.

A dose de consumo diário estimada de antocianinas em alguns países (180 a 215 mg/dia) é muito superior a dose recomendada (23 mg/dia) para outros flavonoides, como a quercetina e kaempferol, por exemplo (GALVANO et al., 2004). Desta forma a ingestão de dois filmes ao dia na forma de embalagem/cobertura em frutas escuras com baixa validade comercial como uvas ou ameixa, por exemplo, representaria aproximadamente 20% da dose diária estimada de antocianinas, o que de acordo com o estudo citado acima, seria superior ao que é ingerido atualmente.

5.6.4 Capacidade antioxidante do filmes por ABTS e ORAC

A capacidade antioxidante dos filmes de amido e açaí liofilizado medida por ABTS e ORAC indicaram uma capacidade antioxidante média de 34,38 $\mu\text{mol Trolox}$ e 150,70 $\mu\text{mol Trolox}$ respectivamente (Tabela 12). Em relação ao açaí utilizado, a capacidade antioxidante do filme pelo método ORAC representa em torno de 20 %, o que indica que o processo de desenvolvimento do material afetou as condições de estabilidade das antocianinas, entretanto, assim como para a quantificação de antocianinas, o filme representa apenas 34, 54% de açaí liofilizado e todo o restante é amido, água e glicerol, o que pode justificar a redução da capacidade antioxidante, bem como a heterogenicidade do material polimérico, o que permite que em algumas partes do filme haja menor, ou maior concentração de antocianinas. Apesar da aparente redução, o filme ainda apresenta uma capacidade antioxidante superior a polpas de açaís congeladas vendidas comercialmente, bem como outras frutas como já foi relatado neste estudo.

Tabela 12. Resultado da capacidade antioxidante dos filmes de açaí pelos métodos ABTS e ORAC.

Capacidade antioxidante – Método ABTS	Capacidade antioxidante – Método ORAC
34, 48 \pm 4,6 $\mu\text{mol Trolox}$	150,70 \pm 5,8 $\mu\text{mol Trolox}$

A discrepância nos resultados em relação aos métodos utilizados, provavelmente deve-se ao fato de que o método ORAC seja mais indicado para avaliação das antocianinas. Para Cao e Prior (1998) o método ORAC tem maior especificidade e é capaz de responder a um número maior de compostos antioxidantes do que os outros métodos de ensaio como FRAP e ABTS. Silva e seus colaboradores (2007b) corroboram essa afirmação, pois compararam os métodos de ORAC e TEAC para medir a capacidade antioxidante de 15 plantas brasileiras, e concluíram que o método ORAC foi melhor porque mediu a capacidade antioxidante de outros compostos, bem como compostos fenólicos, que não foram observados com o método

TEAC. Cerezo e seus colaboradores (2010) também verificaram tal diferença, onde os ensaios de ORAC e FRAP demonstraram valores de 32,61% e 17,58% respectivamente, para mostras de morango.

Os resultados encontrados neste estudo são maiores do que os resultados encontrados para capacidade antioxidante em muitas frutas como o morango (20,6 $\mu\text{m Trolox/g}$) e framboesa (21,4 $\mu\text{m Trolox/g}$) pelo método ORAC (KALT et al., 1999) e para o mirtilo (29,20 $\mu\text{m Trolox/g}$) pelo método ABTS (REQUE et al., 2014). Dos Santos e seus colaboradores (2008) estudaram a capacidade antioxidante de polpas comerciais de açaí por ABTS, obtendo o valores de TEAC de 10,21 a 52,47 $\mu\text{m Trolox/g}$ e com resultados obtidos para quantificação de antocianinas de 19,30 a 54,18 mg/100 g. Resultados esses bem inferiores aos obtidos para o atual estudo com os filmes de açaí. Canuto e seus colaboradores (2009) estudaram a atividade antiradical livre de diversas polpas de fruto da Amazônia, entre elas o açaí, e obtiveram valores de 10 $\mu\text{m Trolox/g}$, valor também inferior aos obtidos neste estudo. Barreto (2008), estudou os compostos bioativos e sua relação com as propriedades anti-radical livre em frutas tropicais, e encontrou valores aproximados ao deste estudo para o bacuri (164 $\mu\text{m Trolox/g}$), Tucumã (215,54 $\mu\text{m Trolox/g}$) e resultados bem elevados para o piquiá (2.528,00 $\mu\text{m Trolox/g}$). Valores esses obtidos de frutas tropicais com alto valor de lipídios como o açaí, corroborando então que o estudo para o desenvolvimento de filmes comestíveis adicionados de açaí liofilizado obteve êxito.

O fato do filme ter sido elaborado com um açaí liofilizada sonicado, parece não ter tido alta influência na capacidade antioxidante do material. Apesar de alguns estudos demonstrarem que a utilização do ultrassom pode degradar antioxidantes como o ácido ascórbico, principalmente pela produção de radicais livres, caso sejam utilizadas condições físicas extremas nos experimentos como temperatura ou alto impacto energético (VALDRAMIDIS et al., 2010). Uma análise de capacidade antioxidante por DPPH realizada com purê de framboesas vermelhas submetidas à sonicação em diferentes frequências demonstrou que a capacidade antioxidante da solução controle de ácido ascórbico não alterou de forma significativa com o uso de baixa frequência e alta intensidade (20 kHz) ou média intensidade (490 kHz). Também não houve mudança significativa no teor de fenólicos totais para o purê de framboesa vermelha em todas as frequências de ultrassom testadas, exceto para sonicação em 986 kHz por 30 min, onde houve aumento de 10,9%, no total de compostos fenólicos, provavelmente pelo aumento da temperatura que pode aumentar a extração de compostos fenólicos. Desta forma, o ultrassom não demonstrou poder deteriorante sobre os efeitos antioxidantes do purê de framboesas vermelhas, pelo contrário, o tempo de 30 min com a frequência de 20 kHz foi onde se obteve o maior valor de capacidade antioxidante de 6808 $\mu\text{mol/L}$, em comparação com valor encontrado no tempo de 0 min (6189 $\mu\text{mol/L}$) (GOLMOHAMADI et al., 2013).

A partir desses resultados, pode-se afirmar que o filme de açaí, funciona como um veículo para ingestão das antocianinas com considerável capacidade antioxidante, pois alguns estudos que tiveram por objetivo desenvolver produtos alimentícios ricos em antocianinas com considerável capacidade antioxidantes encontraram resultados inferiores ao deste estudo. Peixoto (2014), desenvolveu uma bebida funcional a base de polpa de açaí liofilizado, e das dez bebidas desenvolvidas, a que obteve o maior valor de capacidade antioxidante pela análise ORAC foi de $74,13 \pm 2,59$ Trolox $\mu\text{g/mL}$, assim como Leite (2015) que encontrou 44,29 Trolox $\mu\text{g/mL}$ para uma bebida probiótica.

Diferentes estudos tem relatado a ação antioxidante de filmes biodegradáveis adicionado de aditivos naturais, como polpa de manga, acerola, erva-mate, dendê, urucum e α -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 dos aditivos, polpa de manga (10%) e erva-mate (30%) quando incorporados em filmes de amido, e

constatou que sua adição permitiu a redução pela metade da formação do índice de peróxido no azeite de dendê após 45 dias, quando comparado com o azeite armazenado no filme controle.

5.6.5 Atividade de água (Aw) dos filmes

Os filmes controle apresentaram resultados médios de 0,55 a 0,56. Já os filmes de amido de mandioca com adição de açaí liofilizado apresentaram resultados menores, variando de 0,52 a 0,53. Segundo a análise estatística com intervalo de confiança de 95% a adição do açaí provocou uma diferença significativa ($P < 0,05$), pois houve uma redução na Aw o que resultou em um material com menor propensão a atividade microbiana e com maior chance de preservação das antocianinas na matriz polimérica. Uma baixa Aw dificulta que as antocianinas ganhem mobilidade na matriz polimérica e participem de reações de degradação, ainda, altos valores de Aw podem aumentar a conversão de antocianinas para a base carbinol que é incolor e a sua forma mais instável, o que atribui uma menor capacidade antioxidante. Apesar da polpa de açaí possuir uma alta Aw (0,92%) a utilização do fruto liofilizado permitiu uma grande redução neste parâmetro, bem como o binômio tempo/temperatura utilizado no processo de secagem dos filmes.

Estes resultados foram similares aos encontrados por Sothornvit e seus colaboradores (2007) que, trabalhando com filmes elaborados com purê de manga e obtiveram Aw de 0,52. Assim como os resultados encontrados por Farias (2011) para filmes de amido de mandioca e polpa de acerola liofilizada que obtiveram Aw com variação de 0,50 a 0,54, de acordo com o teor de polpa adicionado. Os filmes de Arena (2011) apresentaram valores superiores de Aw (0,75) assim como Machado e seus colaboradores (2012) que obtiveram valores entre 0,64 a 0,69 para filmes de amido de mandioca, glicerol e nanocelulose. Dantas e seus colaboradores também obtiveram valores maiores para os filmes de amido de mandioca, glicerol e diferentes polpas de frutas, com valores de 0,66 a 0,70; entretanto, esses valores ainda se encontram a baixo de 0,80, assim como aos resultados deste estudo, pois esse valor é preocupante já que possui o crescimento microbiano aumentado (BARBOSA CANÓVAS et al., 2007).

Filmes não plastificados normalmente possuem características hidrofílicas e adquirem características mais quebradiças. Essa característica também pode ocorrer com baixo teores de plastificante, o que origina um efeito antiplastificante, indicando que interações mais fortes entre o plastificante e o polímero estejam ocorrendo, como interações do tipo ligações de hidrogênio, que induzem a um decréscimo da mobilidade molecular e da capacidade de ligação com a água. Shimazu, Mali e Grossman (2007) observaram isso nos filmes de amido de mandioca sem plastificante que apresentaram baixos valores de Aw (0,11), porém, uma alta taxa de hidroflicidade em comparação com as amostra plastificadas com glicerol em diferentes teores (5 a 40 g / 100 g amido), sendo estes menos hidrofílicos. Sob baixos valores de Aw, filmes com baixos teores de plastificante, se mostraram menos hidrofílicos e menos flexíveis que os filmes não plastificados, sugerindo um efeito antiplastificante do glicerol. Apenas os filmes com alto teor de glicerol (30 e 40 g/ 100 g amido) foram mais hidrofílicos que os não plastificados. Os filmes de açaí neste estudo receberam 27,3% de agente plastificante o que também pode justificar sua característica hidrofílica.

5.6.6 Testes mecânicos

5.6.6.1 Ensaio de tração

Os filmes de amido adicionados de açaí liofilizado apresentaram valores médios de tensão na ruptura de $1,3 \pm 1,2$ MPa; $17,74 \pm 1,4\%$ de alongação na ruptura e o módulo de elasticidade $62,79 \pm 1,6$ MPa. Já os filmes controle apresentaram valores médios de $5,43 \pm 0,4$ MPa; $0,061 \pm 0,0\%$ de alongação na ruptura e $133,5 \pm 1,7$ MPa de módulo de elasticidade, indicando que a adição do açaí modificou as propriedades mecânicas, reduzindo a resistência e aumentando a deformação do filme. A análise de variância indicou diferença significativa nos três parâmetros com valor de $P < 0,05$.

Valores semelhantes foram encontrados por Sothornvit e Rodsamran (2008), em filmes de purê de manga, sendo $1,2$ MPa de tensão na ruptura e $18,5\%$ de deformação na tração. Rojas-Grau e seus colaboradores (2007) também encontraram baixos valores de tensão na ruptura ($2,90$ MPa) em filmes de purê de maçã, alginato e glicerol, assim como Rocha e seus colaboradores (2014) com valores de tensão na ruptura variando de $0,08$ a $2,78$ MPa para filmes de amido de mandioca, glicerol e proteína soja. Farias e seus colaboradores (2012) obtiveram valores de $0,775$ a $3,97$ MPa para os filmes de amido de mandioca, polpa de acerola liofilizada e glicerol em diferentes concentrações, onde de acordo com aumento progressivo da polpa de acerola foi observada menor resistência a tração, confirmando que existe uma redução da força no filme com adição da polpa de fruta, assim como no estudo atual. Já a deformação na tração foi superior aos do presente estudo com uma variação de $23,11$ a $44,63\%$ (FARIAS et al., 2012), pois o aumento da concentração de glicerol favoreceu a maior deformação dos filmes; isto provavelmente se deve à capacidade do glicerol em reduzir as interações entre cadeias poliméricas, diminuindo a resistência do filme promovendo a flexibilidade (SOTHORNVIT, R.; KROCHTA, 2000).

O teor de fibras presente em um filme através de polpa de frutas, por exemplo, pode aumentar a resistência e reduzir significativamente a elasticidade (SOTHORNVIT e RODSAMRAN, 2008; SOUZA et al., 2011). No entanto, o filme de açaí apresentou característica contrária com uma maior alongação na ruptura no teste de tração em comparação ao filme controle, provavelmente pelo efeito plastificante dos componentes do açaí como os açúcares e os óleos que juntamente com o glicerol, que pode ter sido adicionado em baixa concentração, aumentaram a alongação do filme. Porém, filmes de purê de frutas, normalmente apresentam baixos valores de alongamento (SOTHORNVIT e RODSAMRAN de 2008; WANG et al., 2011).

Reis e seus colaboradores verificaram redução na tensão nos filmes de amido de mandioca, glicerol e polpa de manga com valores de $4,3$ a $1,37$ MPa (de acordo com teor de polpa), enquanto o filme controle apresentou maior força de $5,4$ MPa. A alongação na ruptura também apresentou redução com adição da polpa de manga com valores de $56,7$ a $57,9\%$ enquanto o filme sem a polpa apresentou $70,28\%$. Uma possível explicação para a redução da força e da alongação dos filmes com polpa de frutas é que os açúcares livres naturalmente presentes nas polpas de fruta, podem atuar como plastificantes, no entanto se o plastificante já tiver sido adicionado (em concentração adequada), pode acarretar em uma alta concentração de plastificante no material, resultando em uma excessiva interação entre a rede polimérica e os plastificantes (ARVANITTOYANNIS et al., 1996), reduzindo a flexibilidade da película. Apesar do aumento da deformação com a adição do açaí liofilizado no atual estudo, este resultado é baixo se comparado a outros filmes biodegradáveis, e permanece muito inferior se comparado a filmes sintéticos como o filme de polietileno de baixa densidade com 500% de deformação (MALI, GROSSMAN e YAMASHITA 2010).

Dantas e seus colaboradores (2015) verificaram maior força na ruptura para filmes de amido de mandioca, polpa de frutas (acerola, seriguela e manga) e glicerol, onde todos os filmes com polpa de fruta apresentaram maior resistência. Em relação à deformação, foram encontrados percentuais que variaram de 14,77 a 34,78% enquanto o filme controle, sem polpa de frutas, apresentou valor superior de 38,61%, indicando que adição de polpa reduziu a alongação dos filmes.

Veiga-Santos, Ditchfield e Tadini (2011) encontraram valores de 1,79 a 4,19 MPa de tensão na ruptura (aumento da força proporcional a adição de extratos de vegetais até 3,79g/100g) para os filmes de amido de mandioca adicionados de extrato de uva e espinafre como fonte de antocianinas e clorofila para serem utilizados como indicadores de pH. Apesar do aumento da resistência com a adição dos extratos, os valores ainda são inferiores os do filme controle, sem adição dos extratos (8,49 MPa). Wang e seus colaboradores (2010) encontraram valores superiores aos do filme de açaí em filmes de purê de cenoura, carboximetilcelulose, amido de milho, gelatina e glicerol, com resultados que variaram de 5,06 a 11,73 Mpa. 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. A incorporação de polpas de frutas em biofilmes altera substancialmente suas propriedades mecânicas, devido à formação de uma nova matriz, gerada a partir de interações da água com as fibras e dos componentes da própria matriz polimérica com as polpas (SOUZA et al., 2011).

Filmes plastificados, particularmente com glicerol ou sorbitol, apresentam um decréscimo da resistência máxima à tração com o aumento da A_w , ou seja, filmes com menor A_w são mais resistentes enquanto que os filmes com maior A_w são menos resistentes (SHIMAZI, MALI e GROSSMAN 2007). No entanto, no atual estudo o filme controle apresentou maior A_w e maior resistência, já o filme de açaí apresentou uma menor A_w e uma menor resistência, uma provável explicação é que os filmes de açaí não foram visivelmente homogêneos devido a presença de particulados na superfície do filme, o que deve ter comprometido a sua resistência quanto à força na ruptura, similar ao resultado encontrado por Souza e seus colaboradores (2012b) em filmes de amido de mandioca, açúcar invertido, polpa de manga e acerola. A baixa resistência é um comportamento esperado para materiais hidrofílicos como os filmes de amido, que podem sofrer plastificação pela água. A utilização do agente plastificante, também interfere nas propriedades mecânicas dos filmes pelo possível efeito antiplastificante, isto é, ao invés de aumentar a mobilidade molecular entre as cadeias de amido, podem-se ligar fortemente às cadeias de amido aumentando o grau de interação, e consequentemente, a resistência mecânica e rigidez destes materiais (SHIMAZI, MALI e GROSSMAN 2007). Em concentrações adequadas, o glicerol permite um maior volume livre entre as cadeias poliméricas, facilitando o aumento da deformação na tração dos filmes (BERTUZZI et al., 2007) pelo rompimento de interações intermoleculares ocasionada pela presença do plastificante (ROCHA et al., 2014).

Romero-Bastida (2005) na elaboração de filmes de amido de banana e polpa de manga adicionados de 50% de glicerol, reportou de 30 a 40% de deformação na tração, assim como Wang e seus colaboradores (2010) observaram em filmes compostos de purê de cenoura, carboximetilcelulose, amido de milho, gelatina e glicerol, que a elevação da concentração de glicerol provocou o aumento na deformação na tração.

Filmes com altos valores de módulo de elasticidade possuem maior rigidez (ROTTA, 2008), ou seja, quanto maior o valor do Módulo de Young, menor a flexibilidade dos filmes (CANEVAROLO, 2002; LUCAS, SOARES, MONTEIRO, 2001). O filme de açaí apresentou um valor de módulo de elasticidade significativamente inferior ao filme controle ($P < 0,05$), no entanto, um valor superior se comparado aos filmes de manga de Sothornvit e Rodsamran (2008) sem adição de plastificante com 8,3 MPa de módulo de elasticidade. Romero-Bastida e

seus colaboradores (2005) elaboraram filmes de amido de banana, manga e 50% de glicerol, estes apresentaram valores de módulo de elasticidade entre 1,6 a 1,4 MPa. Este estudo comprova que a elevação do teor de glicerol provoca a redução do módulo de elasticidade, devido a capacidade do glicerol em reduzir as interações entre as cadeias poliméricas, diminuindo a resistência do filme e aumentando a flexibilidade (SOTHORNVIT e KROCHTA 2000). Sothornvit e Pitak (2007) trabalhando com filmes de farinha de banana (4, 6 e 8%), pectina (0 e 1%) e glicerol (30 e 50%) também observaram que o módulo de elasticidade diminuiu com o aumento do teor de glicerol.

O filme de açaí possui módulo de elasticidade inferior se comparado a filmes de purê de vegetais não adicionados de plastificantes como os elaborados por Mc Hugh e Olsen (2004) com valores de 208,9 e 421,5 MPa para filmes de cenoura e brócolis respectivamente. Apesar do filme de açaí ter sido adicionado de glicerol, a quantidade pode não ter sido suficiente para plastificá-lo.

5.6.6.2 Ensaio de perfuração

Os filmes de açaí apresentaram valores médios de $1,12 \pm 1,6$ N no teste de força na perfuração e $6,37 \pm 1,3\%$ na deformação na perfuração. Já os filmes controle apresentaram valores de $3,18 \pm 0,6$ N no teste de força e $15,49 \pm 2,2\%$ no teste de deformação na perfuração, indicando que o filme de açaí tem uma menor força e menor capacidade de alongação na perfuração, provavelmente pela presença de fibras na superfície dos filmes que proporcionam maior fragilidade. A análise estatística indicou um impacto significativo a um nível de confiança de 95% ($p < 0,05$) com a adição de polpa.

Farias e seus colaboradores (2012) obtiveram valores maiores no teste de perfuração para os filmes de amido, glicerol e polpa de acerola, valores que variaram de 3,7 a 13,3 N. A elevação da concentração de polpa reduziu a força na ruptura dos filmes, assim como foi observado com relação ao glicerol que, a elevação da concentração apresentou uma redução da força na ruptura. Resultado parecido foi relatado por Monterrey-Quintero e Sobral (2000) com filmes a base de amido de cará que apresentaram valores de 8,02 a 6,03 N, a variação se deu para adição de glicerol, onde o maior teor do plastificante, provocou redução na força de perfuração.

Para a deformação na ruptura, Farias e seus colaboradores obtiveram pequena variação de 4,66 a 5,00%, resultados similares aos encontrados no presente estudo. Rojas-Grau e seus colaboradores (2007) em filmes elaborados com purê de maçã, alginato e glicerol, obtiveram 51,06% para deformação na perfuração. Esta diferença talvez se deva ao teor de amido de mandioca presente nos filmes de açaí, conferindo menor deformação do que o filme sem adição de amido, pois pesquisas revelam que para o desenvolvimento de filmes quanto maior o teor de amilose, maior será a rigidez, ou seja, menor será sua deformação, devido a linearidade da amilose que tende a formar ligações de hidrogênio com os polímeros à frente (ALVES et al., 2007). Nascimento, Calado e Carvalho (2012) verificaram que a força na perfuração foi reduzida pela adição de nanoargilas ao filme de amido de mandioca adicionado de farinha do mesocarpo de maracujá e glicerol. Essa redução foi atribuída a uma provável incompatibilidade da argila com o polímero, enquanto os filmes controle (sem nanoargila) apresentaram valores maiores. Neste estudo, a deformação na perfuração também foi ligeiramente maior para o filme controle (4,77%) enquanto os filmes compósitos apresentaram valores de 4,4 a 4,3%.

5.6.7 Solubilidade em água

A solubilidade em água dos filmes variou de 16,30 a 18,07%. Quanto aos filmes controle a solubilidade variou de 28,18 a 36,81%. Normalmente os polissacarídeos são altamente higroscópicos e se desintegram rapidamente em água (Shih, 1996), o que justifica a maior solubilidade do filme controle, composto somente de amido, glicerol e água. A adição do açaí liofilizado alterou a solubilidade dos filmes ($P < 0,05$) de forma positiva, pois um material menos solúvel pode ser utilizado como embalagem em uma maior gama de alimentos.

Farias e seus colaboradores (2012) obtiveram valores muito próximos ao deste estudo (16,8 a 52,9%) para filmes de amido de mandioca e polpa de acerola em diferentes concentrações, onde o maior teor de polpa promoveu redução da solubilidade. Rotta (2008) obteve valores parecidos com o atual estudo para filmes de quitosana (16,84%), que é um polímero de característica hidrofóbica se comparado com o amido, assim como Gomes (2014) que obteve valores de 16,60% para filmes de amido de semente de *Swartzia Burchelli* com 10% de glicerol.

Já os filmes desenvolvidos com quitosana e hidroxipropilmetilcelulose (HPMC) (um derivado hidrossolúvel da celulose) apresentaram solubilidade intermediária variando de 25,5 a 48,11%, onde a solubilidade aumentou com a maior incorporação de HPMC. Este resultado foi próximo aos do filme controle deste estudo já que os dois polímeros (HPMC e amido) possuem característica hidrofílica. Os filmes de HPMC puros tiveram uma total solubilização em água, pois a estrutura molecular da HPMC possui caráter altamente polar, conferindo, assim, uma alta hidrofiliabilidade. Bourtoom e Chinnan (2007) também observaram maior solubilidade para os filmes de amido na produção de filmes a base de quitosana e amido de arroz, obtendo uma maior solubilidade para as amostras contendo maior proporção de amido.

Os valores de solubilidade em água encontrados para os filmes de açaí foram menores que os encontrados por Yamashita e seus colaboradores (2005) em filmes biodegradáveis à base de amido de mandioca contendo propionato de cálcio e permanganato de potássio (conservador), com valores entre 78 a 86%. Shen e seus colaboradores (2010), estudando filmes a base de batata doce, sorbato de potássio, quitosana e glicerol obtiveram resultados diferentes de acordo com a adição dos componentes, onde a solubilidade aumentou de 23,4 para 28,8% com o aumento de 5 para 15% de sorbato de potássio. Nesse mesmo estudo foi constatada uma diminuição da solubilidade em água de 10,0 para 4,5% com o aumento da concentração de quitosana de 5 para 15%. Rocha e seus colaboradores (2014) encontraram solubilidade variando de 14,8 a 61,0% para filmes a base de amido de mandioca e proteína de soja. Dantas e seus colaboradores (2015) encontraram altos valores de solubilidade para filmes adicionados de polpa de frutas, muito superiores ao atual estudo com valores de 62 a 73%.

Uma alta solubilidade não inviabiliza o uso do filme em produtos com alto teor de umidade, como é o caso de filmes que precisam ser submetidos ao contato com a água durante o preparo de alimentos desidratados. Nesse caso, embalagens comestíveis têm sido utilizadas para acondicionamento de porções de ingredientes ou aditivos alimentares destinados a serem dispersos em misturas alimentares (porções individuais de sopas, chás, açúcar e temperos), onde é desejável uma alta solubilidade, ou seja, uma dissolução instantânea no meio utilizado (AYRANCI, 2003; FARIAS et al, 2012). Outro uso é no encapsulamento de alimentos ou aditivos (BERTUZZI et al., 2007) bem como na cobertura de sementes agrícolas, que necessitem de rápida germinação no campo, ou como carreadores de aditivos necessários ao crescimento das mesmas (BERTAN et al., 2005; FARIAS et al 2012). A solubilidade também é vantajosa em casos onde o filme é consumido junto com o alimento (CHEN 1995).

Os resultados alcançados por este estudo corroboram as observações de Vicentini (2003), pois, os filmes de amido de mandioca e açaí que possuem maior espessura adquiriram uma menor solubilidade em água em comparação com o filme controle.

A solubilidade em água de um filme biodegradável é a principal característica que determina a sua aplicabilidade, para alimentos em que a embalagem deva ser consumida, a alta solubilidade é importante, entretanto, quando o alimento é líquido ou então exsuda uma solução aquosa, biofilmes de elevada solubilidade não são indicados (FAKHOURI, 2007) e caso haja a necessidade de reduzir este parâmetro, ácidos graxos podem ser adicionados durante o desenvolvimento (MALI, GROSSMAN e YAMASHITA 2010).

5.6.8 Permeabilidade ao vapor de água

A permeabilidade ao vapor de água (PVA) dos filmes variou de 0,36 a 0,40 ($\text{g mm h}^{-1} \text{m}^{-2} \text{kPa}^{-1}$). Para o filme controle a variação foi de 0,34 a 0,35 ($\text{g mm h}^{-1} \text{m}^{-2} \text{kPa}^{-1}$). Segundo a análise estatística por meio da ANOVA, a adição do açaí exerceu efeito significativo sobre o filme ($P > 0,05$) com um aumento da PVA. O aumento na PVA pode ser explicado pelo fato de que a adição do açaí aumentou a espessura do filme e uma maior espessura influencia diretamente no aumento da PVA. Essa variação também ocorreu com Farias e seus colaboradores (2012), em filmes de amido e polpa de fruta, pois a PVA variou de 0,208 a 0,273 ($\text{g mm h}^{-1} \text{m}^{-2} \text{kPa}^{-1}$), valores próximos aos encontrados neste estudo, entretanto, o maior valor correspondeu ao filme adicionado de maior quantidade de polpa de acerola, o que também provocou o maior aumento na espessura dos filmes, e influenciou a PVA.

Reis e seus colaboradores (2014) também verificaram maior PVA em filmes de amido de mandioca adicionados de polpa de manga. A adição do menor teor de polpa atribuiu a maior PVA ($9,55 \text{ g mm h}^{-1} \text{m}^{-2} \text{kPa}^{-1}$), porém, ainda assim este material apresentou maior espessura que o filme controle. Os filmes adicionados de maior teor de polpa obtiveram valores entre 5,7 e 7,8 $55 \text{ g mm h}^{-1} \text{m}^{-2} \text{kPa}^{-1}$, valores menores em relação ao filme sem polpa de manga ($8,60 \text{ g mm h}^{-1} \text{m}^{-2} \text{kPa}^{-1}$). No entanto, todos estes valores são superiores ao encontrados neste estudo. A redução da PVA com o aumento do teor de polpa de manga pode ser explicado pela melhor interação entre as fibras da polpa e o amido, e pela presença das fibras insolúveis da manga que reduziram o espaço livre na matriz polimérica obstruindo a passagem de vapor de água através dos filmes. Sobral e seus colaboradores, (1999) em filmes elaborados com gelatina, constataram que o aumento da espessura dos filmes também provocou aumento da PVA e da força na ruptura dos mesmos. A influência do aumento da PVA em relação ao aumento da espessura também foi verificado por Bertan e seus colaboradores (2005) em filmes de gelatina adicionado de ácido láurico. Kechichian e seus colaboradores (2010) também encontraram valores maiores de PVA, para os filmes de amido de mandioca adicionados de compostos antimicrobianos, com PVA entre 4,79 e 9,01 $\text{g mm h}^{-1} \text{m}^{-2} \text{kPa}^{-1}$. Estes filmes adquiriram maiores valores de espessura em comparação com os filmes controle, apenas de amido ($1,47$ a $2,65 \text{ g mm h}^{-1} \text{m}^{-2} \text{kPa}^{-1}$), que ainda assim foram superiores aos encontrados no presente estudo com filme de açaí.

Outra explicação para o aumento da PVA é a utilização de biopolímeros e outras substâncias de natureza hidrofílica como o amido e o glicerol. Wang e seus colaboradores (2011) identificaram que a PVA dos filmes de amido e CMC aumentava de acordo com adição destes materiais ($38,28 \text{ g mm h}^{-1} \text{m}^{-2} \text{kPa}^{-1}$) bem como a adição de glicerol devido a sua natureza hidrofílica o que promove o aumento da taxa de difusão de água no interior o filme, permitindo uma maior mobilidade da cadeia do polímero. Porém, a PVA reduziu ($21,56 \text{ g mm h}^{-1} \text{m}^{-2} \text{kPa}^{-1}$) à medida que houve adição de gelatina a partir de 0,3% (w / w).

Nascimento, Calado e Carvalho encontraram valores de PVA, próximos ao do atual estudo, com uma variação de 0,29 a 0,36 $\text{g.mm.h}^{-1}.\text{m}^{-2}$ para os filmes de amido de mandioca

e farinha extraído do mesocarpo de maracujá adicionado de nanoargilas. Rocha e seus colaboradores (2014), que elaboraram filmes compostos biodegradáveis a base de amido de mandioca, glicerol e proteína de soja em diferentes concentrações, obtiveram resultados que variaram de 0,168 a 0,374 ($\text{g mm h}^{-1} \text{m}^{-2} \text{kPa}^{-1}$).

Os resultados do estudo atual se mostraram bem mais promissores que os resultados alcançados em estudos como os de Pelissari e seus colaboradores (2009) que encontraram uma PVA de $1,39 \times 10^{-10} \text{ g sec}^{-1} \text{ m}^{-1} \text{ Pa}^{-1}$, para filmes de fécula de mandioca; Espitia e seus colaboradores (2014b) obtiveram valores de PVA 3,56 $\text{gmm/m}^2 \text{ hPa}$ para os filmes de pectina e polpa de açaí, assim como os filmes de amido e antocianina em pó desenvolvidos por Arena (2011) apresentaram altos valores de 5,45 a 7,54 $\text{g mm h}^{-1} \text{m}^{-2} \text{kPa}^{-1}$; Machado e seus colaboradores (2012) também obtiveram altos valores de 5,93 a 5,97 $\text{g mm h}^{-1} \text{m}^{-2} \text{kPa}^{-1}$ para filmes de amido de mandioca, nanocelulose e extrato de erva mate. Alguns filmes na literatura exibem valores extremamente altos, como resultado encontrado por Alves e seus colaboradores (2007) para filmes com altos valores de glicerol (45%) onde o maior valor de PVA encontrado foi de 42,34 $\text{g mm h}^{-1} \text{m}^{-2} \text{kPa}^{-1}$. Um filme com alto valor de PVA provocará pouca ou nenhuma alteração na atmosfera no interior da embalagem e a perda da umidade do alimento poderá provocar perda da qualidade pelo murchamento e perda de frescor. Nesse caso, o filme indicado é de permeabilidade intermediária, que permite um equilíbrio na atmosfera (MANTILLA, et al., 2010).

Características como a fonte (GRAAF, KARMAN e JANSSEN, 2003), proporção de amilopectina e amilose (RINDLAV-WESTLING et al 2008) e concentração de amido utilizado bem como a concentração de glicerol e outros aditivos influenciam diretamente a PVA dos filmes (MALI et al, 2006).

Segundo Robertson, (1993), os valores de PVA de filmes de polímeros sintéticos como o PVC, Polietileno de alta densidade e Polietileno de baixa densidade encontrados na literatura são de 0,029, 0,005 e 0,001 $\text{g mm h}^{-1} \text{m}^{-2} \text{kPa}^{-1}$ respectivamente, outros autores relatam PVA de 0,0482 $\text{g mm h}^{-1} \text{m}^{-2} \text{kPa}^{-1}$ para o polietileno de baixa densidade e para o polietileno de alta densidade 0,0122 $\text{g mm h}^{-1} \text{m}^{-2} \text{kPa}^{-1}$ (MALI, GROSSMAN e YAMASHITA 2010), valores muito inferiores aos encontrados neste estudo o que justifica a alta utilização destes materiais pela indústria. Desta forma pode-se observar que a PVA dos filmes elaborados no presente trabalho encontra-se superior à PVA dos filmes de polímeros sintéticos, limitando a sua utilização às aplicações que exigem uma PVA muito baixa. No entanto, a PVA dos filmes de açaí são inferiores se comparados com a PVA de filmes de celofane (7,3 $\text{g mm m}^{-2} \text{d}^{-1} \text{kPa}$) (TAYLOR, 1986), sugerindo a sua aplicação em alguns produtos alimentares, e apresenta valores menores em relação a outros plásticos biodegradáveis o que corrobora os estudos de Azeredo (2012) no que se refere ao benefício da adição de polpa frutas em biopolímeros pela melhoria das propriedades de barreira.

5.6.9 Ângulo de contato

De acordo com os resultados da análise de ângulo de contato, os valores médios obtidos para os filmes de açaí e para o filme controle foram de $85,0^\circ \pm 5,0$ e $77, 23^\circ \pm 2,85$, respectivamente. Os filmes controle resultaram em valores menores, ou seja, uma superfície com caráter mais hidrofílico que os filmes adicionados de açaí liofilizado. No entanto, a análise estatística demonstrou que a diferença não foi significativa para as amostras ($P > 0,05$). Logo, a adição do açaí não alterou a molhabilidade dos filmes apesar de numericamente os filmes de açaí aparentarem uma característica menos hidrofílica.

É possível verificar que o material de açaí apresentou característica hidrofílica o que corresponde ao ângulo de contato menor que 90° , e isto ocorre devido a presença de grupos funcionais polares (grupos OH) que fazem com que as moléculas da água interajam mais

facilmente com as moléculas do amido presentes no filme. Silva e seus colaboradores (2007) identificaram ângulo de contato para filmes a base de 3% de fécula de batata de aproximadamente 41°. De acordo com Mali e seus colaboradores (2004), uma maior concentração de amido proporciona uma matriz com maior número de grupos hidrofílicos, ou seja, haveria maior interação com a água.

Farias (2011) obteve um valor muito baixo de ângulo de contato para filmes de amido de mandioca e polpa de acerola em diferentes concentrações, com valores variando entre 22,24 a 29,76°. Nascimento, Calado e Carvalho (2012) obtiveram valores de 64,3 a 39° para os filmes de amido de mandioca, farinha do mesocarpo de maracujá e nanopartículas em diferentes concentrações. Este resultado pode ser explicado pela alta concentração de pectina no mesocarpo da fruta, que tem grupos de alta polaridade e podem interagir com as moléculas de água reduzindo o ângulo de contato, e aumentando difusão de água na superfície do filme. Já a presença da argila tende a limitar a penetração da gota no interior do filme, aumentando o ângulo.

Pode se observar que o estudo atual demonstrou melhores valores para este parâmetro, indicando que o filme de açaí tem superfície menos hidrofílica que os filmes citados acima. Entre os tipos de amido, de milho, de batata e de mandioca, o de mandioca apresenta a característica menos hidrofílica (AZEVEDO 2007), entretanto este material é bem inferior quando comparado a filmes de polietileno, com um ângulo maior que 90° (105,1°), o que caracteriza uma superfície hidrofóbica (VAN OSS, 1994).

6. CONCLUSÃO

Foi possível obter um filme ativo a partir do amido de mandioca, açaí liofilizado e glicerol com 10% de retenção de antocianinas e considerável capacidade antioxidante, superior a frutas. O material ainda apresentou menor solubilidade em água e uma superfície menos hidrofílica do que o filme controle, sem adição do açaí liofilizado, demonstrando possibilidade de ser utilizado em diferentes tipos alimentos.

A adição do açaí na matriz polimérica provocou maior permeabilidade ao vapor de água no material, menor força de ruptura na perfuração e na tensão, bem como uma menor deformação na perfuração em comparação ao filme controle. No entanto, a adição do açaí juntamente ao amido de mandioca e o glicerol originou uma embalagem biodegradável passível de ser ingerida, o que pode promover a redução do impacto dos materiais plásticos sintéticos, bem como aumentar a ingestão de antocianinas na dieta. É possível que o uso deste material retarde a formação de radicais livres nos alimentos embalados minimizando a auto-oxidação lipídica, no entanto, é necessário que análises de validade comercial com alimentos sejam realizadas.

A incorporação de compostos bioativos em filmes biodegradáveis demonstrou oferecer vantagens adicionais aos sistemas de embalagens de alimentos, principalmente quanto a ação antioxidante. Embora o material polimérico apresente menores propriedades de barreira com a adição do açaí, a ação antioxidante é dependente da presença do fruto. Nesse sentido, existe o desafio de encontrar formulações como melhores propriedades mecânicas e de barreira à umidade.

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AÇAÍ FROOTY. **Açaí da Amazônia.** Disponível em: <<http://www.acaifrooty.com.br/blog/acai-na-amazonia/>> Acesso em: 16 Set. 2014.

AGÊNCIA INTERNACIONAL DE PESQUISAS PARA O CÂNCER - IARC. **Di(2-ethylhexyl) Adipate.** Disponível em: <<http://monographs.iarc.fr/ENG/Monographs/vol177/mono77-7.pdf>> Acesso em: 14 Jan. 2015.

AGÊNCIA EMBRAPA DE INFORMAÇÃO TECNOLÓGICA - AGEITEC. 2011. Disponível em: <<http://www.agencia.cnptia.embrapa.br/gestor/acai/Abertura.html>> Acesso em: 19 Set. 2014.

AHERNE, S. A.; O'BRIEN, N. M. Dietary flavonols: chemistry, food content, and, metabolism. **Nutrition.**, v. 18, p. 75-81, 2002.

ALEXANDRE, D.; CUNHA, R. L.; HUBINGER, M. D. Conservação do açaí pela tecnologia de obstáculos. **Ciênc. Tecnol. Aliment.**, Campinas, v. 24, p. 114-119, 2004.

ALI, S. S.; et al. Indian medicinal herbs as sources of antioxidants. **Food Research International**, v. 41, p. 1-15, 2008.

ALVES, V. D.; et al. Effect of glycerol and amylose enrichment on cassava starch film properties. **Journal of Food Engineering**, v. 78, p. 941-946, 2007.

ALVES, C. C. DE O.; et al. Estabilidade da microestrutura e do teor de carotenóides de pós obtidos da polpa de pequi (*Caryocar brasiliense* Camb.) liofilizada. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 28, p. 830-839, 2008.

ALVES, R. E.; CHITARRA, A. B.; CHITARRA, M. I. F. Postharvest physiology of Acerola (*Malpighia emarginata* D.C.) fruits: Maturation changes, respiratory activity and refrigerated storage at ambient and modified atmospheres. **Acta Horticulturae**, v. 370, p. 223-230, 1995.

AMERICAN SOCIETY FOR TESTING AND MATERIALS (ASTM) Standard test methods for tensile properties of thin plastic sheeting (D 828-95a) In: **Annual Book of ASTM Standards**. Philadelphia: ASTM, 1995. (CD ROOM).

AMERICAN SOCIETY FOR TESTING AND MATERIALS (ASTM) Standard test methods for water vapor transmission of materials (E96-80) In: **Annual Book of ASTM Standards**. Philadelphia: ASTM, p. 730-739, 1989.

AMERICAN SOCIETY FOR TESTING AND MATERIALS (ASTM) Standard test methods for tensile properties of thin plastic sheeting, Designation D 882-91, **ASTM Book of Standards**, ASTM, Philadelphia, PA, p. 316, 1993.

AMERICAN SOCIETY FOR TESTING AND MATERIALS (ASTM). Standard test method for water vapor transmission of materials. Designation E-96-90, **ASTM Book of Standards**, ASTM, Philadelphia, PA, p. 834-841, 1990.

ANDREUC CETTI, C.; CARVALHO, R. A.; GROSSO, C. R. F. Effect of hydrophobic plasticizers on functional properties of gelatin-based films. **Food Research International**, v. 42, p. 1113–1121, 2009.

ANTOLOVICH, M., PRENZLER, P.; ROBARDS, K.; RYAN, D. Sample preparation in the determination of phenolic compounds in fruits. **Analyst**, v. 125, p. 989-1009, 2000.

ARVANITTOYANNIS, I., PSOMIADOU, E., NAKAYAMA, A. Ediblefilms made from sodium caseinate, starches, sugars orglycerol. **Carbohydr. Polym.**v. 31, p.179–192, 1996.

ARENAS, A. M. Z. **Filme biodegradável à base de fecula de mandioca como potencial indicador de mudança de pH**. São Paulo. Dissertação de mestrado, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2012.

ARTISS, J. D.; et al. The effects of a new soluble dietary fiber on weight gains and selected blood parameters in rats. **Metab. Clin. Experim.**, v. 55, p. 195-292, 2006.

AYRANCI, E.; TUNC, S.; **Food Chem.** v. 80, p. 423, 2003.

AZEREDO, H. M. C.; et al. Nanocomposite edible films from mango puree reinforced with cellulose nanofibers. **J Food Sci**, v. 74, p. 31–35, 2009.

AZEREDO, H. M. C.; FARIA, J. A. F.; BRITO, E. S. Embalagens e suas interações com os alimentos. In: AZEREDO, H. M. C. (Ed). **Fundamentos de estabilidade de Alimentos**. Brasília, DF: Embrapa, 328 p. pt. 2, cap 7, p. 223-250, 2012a.

AZEREDO, H. M. C.; BRITO, E. S.; GARRUTI, D. S. Alterações químicas em alimentos durante a estocagem. In: AZEREDO, H. M. C. (Ed). **Fundamentos de estabilidade de Alimentos**. Brasília, DF: Embrapa, 328 p. pt 2, cap 2, p. 39-69, 2012b..

AZEREDO, H. M. C.; MIRANDA, K. W. E.; RIBEIRO, H, L. Comunicado Técnico 191. **Revestimentos Comestíveis de Alginato e Polpa de Acerola**. ISSN 1679-6535 dezembro, 2012 Fortaleza, CE.

BARBOSA-CÁNOVAS, G.; et al. **Water Activity in Foods: Fundamentals and Applications** Ames: Wiley-Blackwel , p. 453, 2007.

BARRETO,G.P.M. **Carotenóides e compostos bioativo: relação com propriedades anti-radical livre e corante em frutas tropicais**. Faculdade de Engenharia de Alimentos da Universidade Estadual de Campinas, CampinasSP, 2008.165p.

BARRETO, P. L. M. **Propriedades Físico-Químicas de Soluções Formadoras e de Filmes de Caseinato de Sódio Plastificados com Sorbitol**. Tese [Doutorado em Ciências] Curso de Pós-Graduação em Química da Universidade Federal de Santa Catarina. Florianópolis, 114 folhas, 2003.

BARROS, H. D. **Estudo da exposição do consumidor aos plastificantes Ftalato e adipato de di-(2-etil-hexila) adicionados a filmes de PVC, utilizados para acondicionamento de**

alimentos Gordurosos. 2010. 79 f. Tese (Doutorado em Vigilância Sanitária)- Fundação Oswaldo Cruz, Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde, Rio de Janeiro, 2010.

BARTOLOME, M. M.; GOMEZ-CORDOVES, B.C. Updated knowledge about the presence of phenolic compounds in wine. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.*, v. 45, p. 85-118, 2005.

BATISTA, M.S.; FIGUEIREDO, R.M.F.; QUEIROZ, A.J.M. Parâmetros físico-químicos da acerola em diferentes fases de maturação. **Revista Brasileira de Produtos Agroindustriais**. v.2, n.2, p.19-24. 2000.

BAUER, C. D.; NEUSER, G. L. AND PINKALLA, H.A. U.S. **patent** 3,406,081,1968.

BAZILIO, F.; S. (2014). **Determinação da migração específica dos plastificantes ftalato de di-(2-etil-hexila) e adipato de di-(2-etil-hexila) de filmes flexíveis de pvc para alimentos gordurosos: validação de método e controle sanitário do filme flexível de pvc**. (Dissertação de mestrado). Fundação Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro.

BIALOPIOTROWICZ, T. Wettability of starch gel films. **Food Hydrocolloids**. v. 17, p. 141-147, 2003.

BERTAN, L. C., FAKHOURI, F. M., SIANI, A. C., GROSSO Influence of the addition of lauric acid to films made from gelatin, triacetin and a blend of stearic and palmitic acids. **Macromolecular Symposia**. Germany, v. 229, p.143 - 149, 2005.

BERTOLINI, C. **Sistema para medição de cores utilizando espectrofotômetro**. Trabalho de Conclusão de Curso (Bacharelado em ciência da computação) - Universidade regional de Blumenau, 2010.

BERTUZZI, M. A.; ARMADA, M.; GOTTIFREDI, J. C. Physicochemical characterization of starch based films. **Journal of Food Engineering**, v. 82, n. 1, p. 17-25, 2007.

BEZERRA, T. S. **Caracterização física, química e morfológica de polpa de marolo liofilizada**. Tese (Pós Graduação em Ciência dos Alimentos). Universidade Federal de Lavras. Lavras, MG. 141 p., 2014.

BOBBIO, P. A.; BOBBIO, F. O. **Química do Processamento de Alimentos**. 2a. edição. São Paulo: Varela, p.111, 1995.

BOMSER, J., et al. In vitro anticancer activity of fruit extracts from *Vaccinium* species. **Planta medica**, v. 62, p. 212-216, 1996.

BORGES, G. S. C. **Determinação de compostos bioativos e avaliação da atividade antioxidante das diferentes frações dos frutos de juçara (*Euterpe edulis* Mart.) Cultivados no Estado de Santa Catarina**. Tese de Doutorado - Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, SC 2013.

BORGES, G. D. S. C.; et al. Chemical characterization, bioactive compounds, and antioxidant capacity of jussara (*Euterpe edulis*) fruit from the Atlantic Forest in southern Brazil. **Food Research International**, v. 44, p. 2128–2133, 2011.

BORSCHIVER, S.; ALMEIDA, L. F. M.; ROITMAN, T. Monitoramento Tecnológico e Mercadológico de Biopolímeros. **Polímeros: Ciência e Tecnologia**, v. 18, nº 3, p. 256-261, 2008.

BOSS, E. A. **Modelagem e otimização do processo de liofilização: aplicação para leite desnatado e café solúvel**. Universidade Estadual de Campinas. Faculdade de engenharia química- Desenvolvimento de processos químicos. Tese de Doutorado. SÃO PAULO (SP), 2004.

BORGES, S. S.; KORN, M. Geração sonoquímica de oxidantes em solução aquosa saturada de tetracloreto de carbono. **Quím. Nova**, São Paulo, v. 25, n. 4, p. 558-562, 2002.

BOURBON, A. I.; et al. Physico-chemical characterization of chitosanbased edible films incorporating bioactive compounds of different molecular weight. **Journal of Food Engineering**, v. 106, n. 2, p. 111–118, 2011.

BOURTOOM, T.; CHINNAN, M. J.; Preparation and properties of rice starch-chitosan blend biodegradable film; **Food Science and Technology**, 2007.

Braga, E. C. O. **Caracterização química de compostos bioativos dos frutos de duas espécies do gênero Eugenia**. Dissertação de Mestrado apresentada ao Programa de Pós Graduação em Alimentos e Nutrição da Universidade Federal do Estado do Rio de Janeiro. Rio de Janeiro 2016.

BRASIL. Resolução RDC nº 263, de 22 de setembro de 2005. Aprova o "Regulamento técnico para produtos de cereais, amidos, farinhas e farelos", constante do Anexo desta Resolução. **Diário Oficial da República Federativa do Brasil**. Brasília, DF, 23 de setembro de 2005.

BRASIL. Resolução nº 105, de 19 de maio de 1999. Aprova os Regulamentos Técnicos: Disposições Gerais para Embalagens e Equipamentos Plásticos em contato com Alimentos. **Diário Oficial da República Federativa do Brasil**. Brasília, DF, 20 de maio de 1999.

BRASIL. Resolução da Diretoria Colegiada – RDC nº. 45, de 03 de novembro de 2010. Dispõe sobre aditivos alimentares autorizados para uso segundo as Boas Práticas de Fabricação (BPF). **Diário Oficial da União República Federativa do Brasil**. Brasília, DF, 03 de novembro de 2010.

BRASIL. Resolução nº 46 de 03 de novembro de 2010. Dispõe sobre limites máximos para aditivos excluídos da lista de "aditivos alimentares autorizados para uso segundo as Boas Práticas de Fabricação (BPF)". **Diário Oficial da República Federativa do Brasil**. Brasília, DF, 05 de novembro de 2010.

BRASIL. Resolução nº 56, de 16 de Novembro de 2012. Dispõe sobre a lista positiva de monômeros, outras substâncias iniciadoras e polímeros autorizados para a elaboração de embalagens e equipamentos plásticos em contato com alimentos. **Diário Oficial da República Federativa do Brasil**. Brasília, DF, 21 de Novembro de 2012.

BRASIL. Instrução normativa n. 1, de 07 de janeiro de 2000. **Regulamento técnico geral para fixação dos padrões de identidade e qualidade para polpa de fruta**. Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil, Poder Executivo, Brasília, DF, 10 jan. 2000. (Seção 1).

BRASIL. **PARÁ, TERRA DO AÇAÍ OPORTUNIDADE DE INVESTIMENTOS**. Disponível em: <http://www.agricultura.gov.br/arq_editor/file/camaras_setoriais/Frucultura/34RO/App_Banco_Mundial_Frucultura.pdf> Acesso em 24.09.2015.

BRAVO, L. Polyphenols: chemistry, dietary sources, metabolism, and nutritional significance. **Nutrition reviews**, v. 56, p. 317-33, 1998.

BRIDLE, P.; TIMBERLAKE, C. F. Anthocyanins as natural food colours selected aspects. Journal: Food Chemistry - FOOD CHEM , vol. 58, p. 103-109, 1997.

BRITO, G. F.; et al. Biopolímeros, Polímeros Biodegradáveis e Polímeros Verdes. **Revista Eletrônica de Materiais e Processos**, v.6.2, 127-139, 2011.

CAMPAGNER, M. R. et al. Filmes Poliméricos Baseados em Amido e Lignossulfonatos: Preparação, Propriedades e Avaliação da Biodegradação. **Polímeros**, v. 24(06), p. 740-751, 2014.

CANEVAROLO JR, S. V. **Ciência dos polímeros**. São Carlos; Artliber Editora, p. 15, 16,19, 22, 23, 29, 30, 91, 92, 115-117, 122, 152, 153, 2002.

CANUTO, G. A. B.; et al. Caracterização físico-química de polpas de frutos da Amazônia e sua correlação com a atividade anti-radical livre. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 32, n. 4, p. 1196-1205, 2010.

CAO, G.; PRIOR, R. L. Comparison of different analytical methods for assessing total antioxidant capacity of human serum. **Clinical Chemistry**, 44, 1309–1315, 1998.

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.

CARDOSO, L. M., et al. Efeitos biológicos das antocianinas no processo aterosclerótico. **Rev. colomb. cienc. quim. farm.** [online], v. 40, p. 116-138, 2011.

CARR, L. G. **Desenvolvimento de embalagem biodegradável tipo espuma a partir de fécula de mandioca**. Tese (Doutorado em engenharia) - Universidade de São Paulo. São Paulo, 2007.

CARULO, M. F. **Desenvolvimento e caracterização de biofilmes ativos, contendo sorbato de potássio, feitos com alginato de cálcio e ácidos graxos**. Dissertação (Mestrado) - Faculdade de engenharia Química, Campinas: 2005.

CELESTINO, S. M. C. **Princípios de Secagem de Alimentos** - Planaltina, DF: Embrapa Cerrados, p. 33-46, 2010.

CEREZO, A. B.; et al. Isolation, identification, and antioxidant activity of anthocyanin compounds in Camarosa strawberry. **Food Chemistry**, v. 123, p. 574–582, 2010.

CHANG, Y. J.; LIN, K. L.; CHANG, Y. Z. Determination of Di-(2-ethylhexyl)phthalate (DEHP) metabolites in human hair using liquid chromatography–tandem mass spectrometry. **Clin Chim Acta**, v. 420, p. 155-159, 2013.

CHAOVANALIKIT, A.; WROLSTAD, R. E. Total anthocyanins and total phenolics of fresh and processed cherries and their antioxidant properties. **Journal of Food Science**, v. 69, p. 67–72, 2004 a.

CHAOVANALIKIT, A.; WROLSTAD, R. E. Anthocyanin and polyphenolic composition of fresh and processed cherries. **Journal of Food Science**, v. 69, p. 73–83, 2004 b.

CHEMAT, F.; ZILL-E-HUMA, KHAN, M. K. Applications of ultrasound in food technology: Processing, preservation and extraction. **Ultrasonics Sonochemistry**, v. 18, 813–835, 2011.

CHEN, H. Functional properties and applications of edible films made of milk proteins. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 78, n. 11, p. 2563-2583, 1995.

CHEN, F. Y.Z.; et al. Optimization of ultrasound-assisted extraction of anthocyanins in red raspberries and identification of anthocyanins in extract using high-performance liquid chromatography-mass spectrometry, **Ultrason. Sonochem**, v. 14, p. 767–778, 2007.

CHIELLINI, E.; et al. Gelatin-based blends and composites. Morphological and Thermal Mechanical Characterization. **Biomacromolecules**, v. 2, p. 806 - 8011, 2001.

CIPRIANO, P. D. A. **Antocianinas de Açaí (*Euterpe Oleracea* Mart.) e casca de Jaboticaba (*Myrciaria jaboticaba*) na formulação de bebidas isotônicas**. Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal de Viçosa, Minas Gerais, MG, 2011.

COHEN, K. O.; ALVES, S. M. **Sistema de produção do açaí - Processamento embalagem e conservação**. Empresa brasileira de pesquisa agropecuária- Embrapa Amazônia oriental. 2006. Disponível em:

<http://sistemasdeproducao.cnptia.embrapa.br/FontesHTML/Acai/SistemaProducaoAcai_2ed/paginas/processamento.htm> 20. Acesso em: 19 Set. 2014.

COHEN, K. O. **Sistema de produção do açaí - Composição química do açaí**. Empresa brasileira de pesquisa agropecuária- Embrapa - Amazônia oriental, 2006. Disponível em:

<http://sistemasdeproducao.cnptia.embrapa.br/FontesHTML/Acai/SistemaProducaoAcai_2ed/paginas/composicao.htm>. Acesso em 17 Set. 2014.

COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO – CONAB. **Mandioca – raiz, farinha e fécula**. Disponível em:

<http://www.conab.gov.br/OlalaCMS/uploads/arquivos/13_03_13_14_03_50_mandioca04a080313.pdf> Acesso em: 16 Set. 2014.

COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO – CONAB. **Açaí**. Disponível em: <http://www.conab.gov.br/OlalaCMS/uploads/arquivos/13_03_22_16_33_46_acaifrutomarco2013.pdf> Acesso em: 16 Set. 2014.

COOK, N. C.; SAMMAN, S. Flavonoids: chemistry, metabolism, cardioprotective effects and dietary sources. **J. Nutr.**, v. 7, p. 66-76, 1996.

COOKE, D., et al. Anthocyanins from fruits and vegetables—Does bright colour signal cancer chemopreventive activity? **European Journal of Cancer**, v. 41, p. 1931-1940, 2005.

COSTA, Z. G.; et al. **Estudo da estabilidade de antocianinas extraídas dos frutos de açaí (*Euterpe oleracea* Mart.)** XXXVII ENEMP. Universidade Federal de São Carlos, 2015.

CRUZ, A. P. G. **Avaliação do efeito da extração e da microfiltração do açaí sobre sua composição e atividade antioxidante**. Dissertação de Mestrado, UFRJ, 2008.

CUQ, B., GONTARD, N., GUILBERT, S. Protein as agricultural polymers for packaging production. **Cereal Chemistry**, v.75, n.1, p.1-9, 1998.

DANTAS, E. A.; et al. Caracterização e avaliação das propriedades antioxidantes de filmes biodegradáveis incorporados com polpas de frutas tropicais. **Ciência Rural, Santa Maria**, v.45, n.1, p.142-148, 2015.

DHANAPAL, A.; et al. Edible films from Polysaccharides. **Food Science and Quality Management**, v. 3, p., 9, 2012.

DAVAÇO, T. **Desenvolvimento e Caracterização de Biofilmes à base de Gelatina, Triacetina, Ácido esteárico ou Ácido capróico e Surfactantes**. Campinas, 2006. 130p. Dissertação (Mestrado em Alimentos e Nutrição). Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas. 2006.

DAVIS, G.; SONG, J. H. Biodegradable packaging based on raw materials from crops and their impact on waste management. **Industrial Crops and Products**, v. 23, p. 147-161, 2006.

DEL POZO-INSFRAN, D.; BRENES, C. H.; TALCOTT, S. T. Phytochemical composition and pigment stability of Açaí (*Euterpe Oleracea* Mart). **J. Agrac. Food Chem.**, v. 52, p. 1539-1545, 2004.

DE PASCUAL-TERESA, S.; MORENO, D. A.; GARCÍA-VIGUERA, C. Flavanols and anthocyanins in cardiovascular health: a review of current evidence. **Int. J. Mol. Sci.**, v. 11, p. 1679-703, 2010.

DI STEFANO, C.; FERRO, V.; MIRABILE, S. Comparison between grain-size analyses using laser diffraction and sedimentation methods. **Biosystems engineering**, v. 106, p. 205-215, 2010.

DOS SANTOS, G. M.; et al. Correlação entre atividade antioxidante e compostos bioativos de polpas comerciais de açaí (*Euterpe oleracea* Mart). **Archivos latinoamericanos de nutrición**, vol.58, n.2, p.187-192, 2008.

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, 1994.

EARLE, R. D. AND SNYDER, C. E. U. S. **patent** 3,255,021, 1966.

EARLE, R. D. U. S. **patent** 3,395,024, 1968.

EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPEUÁRIA- EMBRAPA. **Pesquisa Mandioca e fruticultura 2014.** Disponível em: <http://www.cnpmf.embrapa.br/index.php?p=pesquisa-culturas_pesquisadas-mandioca.php&menu=2#mandioca><http://www.cnpmf.embrapa.br/index.php?p=perguntas_e_respostas-mandioca.php> Acesso em: 19 Jul. 2014.

ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY - EPA,U.S. **Integrated Risk Information System - Di(2-ethylhexyl) phthalate.** 2014. Retirado de <<http://www.epa.gov/iris/subst/0014.htm>> Acesso em: 14 Jan. 2015.

ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY - EPA,U.S. **Di(2-ethylhexyl) adipate.** 2009. Disponível em: <http://www.epa.gov/enviro/html/emci/chemref/103231.html>> Acesso em: 14 Jan. 2015.

ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY – EPA. **Integrated Risk Information System - Di(2-ethylhexyl) adipate.** 2014b. Disponível em: <<http://www.epa.gov/iris/subst/0420.htm>>. Acesso em: 28 Abr. 2015.

ESCARPA, A.; GONZALEZ, M. C. An overview of analytical chemistry of phenolic compounds in foods. Crit. Rev. **Anal. Chem.**, v. 31, p. 57-139, 2001.

ESCRIBANO-BAILÓN, M. T.; SANTOS-BUELGA, C.; RIVAS-GONZALO, J. C.; **J. Chromatogr.**, 1054, 129, 2004.

ESPITIA, P. J. P.; et al. Physical and Antibacterial Properties of Açaí Edible Films Formulated with Thyme Essential Oil and Apple Skin Polyphenols. **Journal of Food Science**, v. 79, Nr. 5, 2014.

ESPITIA, P. J. P.; et al. Optimal antimicrobial formulation and physical–mechanical properties of edible films based on ac,ai´ and pectin for food preservation. **Food packaging and shelf life.** v. 2, p. 38–4, 2014b.

ETTRE, L. S. Chromatography: the separation technique of the 20th century. **Chromatographia**, v.51, p.7-17, 2000.

FAKHOURI, F. M.; et al. Filmes e coberturas comestíveis compostas à base de amidos nativos e gelatina na conservação e aceitação sensorial de uvas Crimson. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 27 n. 2, p. 369-375, 2007.

FARIAS, M. G. et al. Caracterização físico-química de filmes comestíveis de amido adicionado de acerola (*malphigia marginatad.* c.). **Química Nova**, 35(03), 546-552, 2012.

FARIAS, M. G.; CARVALHO, C. W. P.; TAKEITI, C. Y.; ASCHERI, J. L. R. **O efeito da permeabilidade ao vapor de água, atividade de água, molhabilidade e solubilidade em água em filmes de amido e polpa de acerola.** In: VI Workshop da Rede de nanotecnologia Aplicada ao Agronegócio, 2012, Fortaleza. Acesso Livre à informação Científica da Embrapa. Embrapa Agroindústria Tropical, 2012b.

FARIAS, M. G. **Elaboração de filmes comestíveis de amido adicionados de polpa de acerola.** Dissertação (Mestrado em Ciência dos Alimentos). Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro. Rio de Janeiro (RJ), 2011.

FAIRLEY, P. MONAHAN, F. J.; GERMAN, J. B.; KROCHTA, J. M. Mechanical Properties and Water Vapor Permeability of Edible Films from Whey Protein Isolate and Sodium Dodecyl Sulfate. **J. Agric. Food Chem**, v.44, p. 438-443, 1996.

FERNANDES A. M. et al. Qualidade físico-química de fritura de tubérculos de cultivares de batata na safra de inverno. **Horticultura Brasileira**, v. 28, p. 299-304, 2010.

FERREIRA, A. B. H. **Novo Aurélio Século XXI: o dicionário de Língua Portuguesa.** 3ª ed. Rio de Janeiro: Editora Nova Fronteira, 1999.

FINNIGAN, B. Barrier polymers, in: K.L. Yam (Ed.), **The Wiley Encyclopedia of Packaging Technology**, John Wiley and Sons, Inc., New York, p. 103–109, 2009.

FODA, Y. H.; HAMED, M. G. E.; ABD-ALLAH, M. A. Preservation of orange and guava juices by freeze-drying. **Food Technology**, v. 24, n. 12, p. 74-80, 1970.

FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION - FAO. Document repository. Marilene L. A. Bovi; Aline de Castro. **Selected species and strategies to enhance income generation from Amazonian...** Assaí. Disponível em:
<<http://www.fao.org/docrep/v0784e/v0784e0b.htm>> Acesso em: 12 Fev.2015.

FRANCIS, F. Analysis of anthocyanins. In Markakis, P. (Ed.), **Anthocyanins as Food Colors.** New York: Academic press, 1982.

FURIGO, A. JR.; AMATES, A. A.; BARROS, G. V.; YAMANISHI, V. F. Departamento de engenharia química e engenharia de alimentos EQA5316 - Engenharia Bioquímica. Florianópolis 30 de junho de 2009.

GALVANO, F.; et al. Cyanidins: metabolism and biological properties. **Journal of Nutritional Biochemistry**, v. 15, p. 2-11, 2004.

GAO, L.; MAZZA, G., Extraction of anthocyanin pigments from purple sunflower hulls, **Journal of Food Science**, v.61, p.600–603, 1996.

GARRIDO, I. D. A. M. J. **Plásticos Biodegradáveis. Câmara dos Deputados -Área do Meio Ambiente e Direito Ambiental, Organização Territorial, Desenvolvimento Urbano e Regional.** Brasília. 2013

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.

GARCÍA, M. A., et al. **Characterization of starch and composite edible films and coatings, in Edible Films and Coatings for Food Applications**, Em busca do, M.E. and Huber, K.C., Huber, K.C. (eds). (Springer Science and Business Media, LLC, New York, USA), p. 169–210, 2009.

GAVA, Altamir Jaime. **Princípios de Tecnologia de Alimentos**. São Paulo: Nobel, 1994.

GENNADIOS et al., 1994 A. GENNADIOS, C.L. WELLER, C.H. GOODING Measurement errors in water vapor permeability of highly permeable, hydrophilic edible films. **J. Food Eng.**, v. 21, p. 395–409, 1994.

GENNADIOS, A., Mc HUGH, T. H., WELLER, C. L., KROCHTA, J.M. **Edible Coatings and Films to Improve Food Quality**. Technomic Publishing Company, Lancaster, PA, J. M. Krochta, E. A. Baldwin, M. Nisperos-carriedo (Eds.), p. 201-277, 1994.

GENNADIOS, A.; WELLER, C. L.; HANNA, M. A.; FRONING, G. W. Mechanical and barrier properties of egg albumen films. **Journal of Food Science**, Chicago, v. 61, p. 585-589, 1996.

GENEMA, A.K. **Extração e caracterização do extrato de alecrim (*rosmarinus officinalis* L.) Estudo de sua ação antioxidante**. Dissertação (Mestrado em Engenharia de Alimentos) - Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis – SC, p. 145, 2002.

GOLMOHAMADI, A.; MÖLLER, G.; POWERS, J.; NINDO, C. Effect of ultrasound frequency on antioxidant activity, total phenolic and anthocyanin content of red raspberry puree. **Ultrasonics Sonochemistry**, v. 20, p. 1316–1323, 2013.

GOMES, M. A. **Caracterização de filmes comestíveis do amido fosfatado da *Swartzia burchelli* para aplicação pós-colheita em tomate cereja**. Mestrado em Engenharia agrícola - Universidade Estadual de Goiás – GO, 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. Prolongation of the shelf-life of perishable food products using biodegradable films and coatings. **Lebensm. Wiss. Technol.**, v. 29, n. 1-2, p. 10-17, 1996.

GONTARD, N.; GUILBERT, S.; CUQ, J. L. Edible wheat gluten films: influence of the main process variables on film properties using response surface methodology. **J Food Sci.** v. 57, p. 190-199, 1992.

GONTARD, N.; DUCHEZ, C.; CUQ, J-L.; GUILBERT, S. Edible composite films of wheat and lipids: water vapor permeability and other physical properties. **International, Journal of Food Science and Technology**, v.29, p.39-50, 1994.

GRAFF, R. A.; KARMAN, A.; JANSSEN, L. P. M. J. Material Properties and Glass Transition Temperatures of Different Thermoplastic Starches After Extrusion Processing. **Starch/starke**, v.55, p. 80-86. 2003.

GOUVÊA, A. C. M. S. Quantificação das antocianinas majoritárias do açaí por cromatografia líquida de alta eficiência. Pós-graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos. Dissertação de mestrado -UFRRJ, 2010.

GOUVÊA, A. et al. Anthocyanins standards (cyaniding-3-O-glucoside and cyaniding-3-O-rutinoside) isolation from freeze-dried açaí (*Euterpe oleracea* Mart.) by HPLC. **Ciência e Tecnologia de Alimentos (impresso)**, v. 1, n. 32, p. 14, 2012.

GOUVÊA, A. C. M.S. ; et al. Identification and quantification of anthocyanins in fruits from *Neomitranthes obscura* (DC.) N. Silveira an endemic specie from Brazil by comparison of chromatographic methodologies. **Food Chemistry** , v. 185, p. 277-283, 2015.

GORDON, A.; et al. Chemical characterization and evaluation of antioxidant properties of Açaí fruits (*Euterpe oleracea* Mart.) during ripening. **Food Chemistry**, v.133, p. 256–263, 2012.

GUILBERT, S. Technology and application of edible protective films. In M. Mathlo uthi (Ed.), **Food Packaging and Preservation: Theory and Practice** (pp. 371- 394). Edited by M. Mathlo uthi, Elsevier Applied Sci., London, England, p. 371- 394, 1986.

GRISI, C. **Utilização de derivados do dendê (*Elaisguineesisjaquim*) em embalagens ativas à base de fécula de mandioca com função antioxidante**. 2008. 156f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Química) – Escola Politécnica, Universidade Federal da Bahia, Salvador, BA.

GUIMARAES, L. **A cor como informação: a construção biofísica, linguística e cultural da simbologia das cores**. 3 ed. São Paulo: Annablume, 2004.

GUTI_ERREZ, T. K.; et al. Structural and mechanical properties of edible films made from native and modified cush-cush yam and cassava starch. **Food Hydrocolloids**, v.45, p. 211-217, 2015.

HARBONE, J.B.; SAITO, N.; DETONI, C. H. Anthocyanins of *Cephaelis*, *Cynomorium*, *Euterpe*, *Lavatera* and Pinanga. **Biochemical Systematics and Ecology**. v. 8, p. 835-836, 1994.

HEINRICH, M.; DHANJI, T.; CASSELMAN, I. Açaí (*Euterpe oleracea* Mart.)- A phytochemical and pharmacological assessment of the species' health claims. **Phytochemistry Letters**, v.4, p.10-21, 2011

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.

HOGAN, S.; et al. Antiproliferative and antioxidant properties of anthocyanin-rich extract from açaí. **Food Chemistry**, v. 118, p. 208–214, 2010.

HOMMA, A K, O. **Sistema de produção do açaí - Mercado e comercialização**. Empresa brasileira de pesquisa agropecuária- Embrapa - Amazônia oriental, 2006. Disponível em: <http://sistemasdeproducao.cnptia.embrapa.br/FontesHTML/Acai/SistemaProducaoAcai_2ed/paginas/mercado.htm> Acesso em: 12 Fev. 2015

HONG, V.; WROLSTAD, R. E. Use of HPLC separation / photodiode array detection for characterization of anthocyanins. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.38, p.708-715, 1990.

HOOVER R, HUGHES T, CHUNG HJ, LIU Q. Composition, molecular structure, properties, and modification of pulse starches: a review. **Food Res Int**, v. 43, p. 399–413, 2010.

HUANG, D.; OU, B.; PRIOR, R. L. The chemistry behind antioxidant capacity assays – review **Journal Agric. Food Chem.**, v. 53, p. 1841-1856, 2005.

HUANG, A. J.F.; et al. Determination of phenolic acids and flavonoids in *Rhinacanthus nasutus* (L.) kurz by highperformance-liquid-chromatography with photodiode-array detection and tandem mass spectrometry *R.T. Journal of functional foods*, v. 12, p. 498–508, 2015.

IARC - AGÊNCIA INTERNACIONAL PARA PESQUISA SOBRE CÂNCER.
Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans: v. 77,
2000. Disponível em: <<http://monographs.iarc.fr/ENG/Monographs/vol77/mono77-7.pdf>>. Acesso em: 16 jun. 2014

IARC - AGÊNCIA INTERNACIONAL PARA PESQUISA SOBRE CÂNCER.
Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans: v.
101, 2012. Disponível em: <<http://monographs.iarc.fr/ENG/Monographs/vol101/mono101-006.pdf>>.
Acesso em: 29 Abr. 2015.

IARC -AGÊNCIA INTERNACIONAL PARA PESQUISA SOBRE CÂNCER.
Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans: List of
Classifications, 2014. Disponível em: <<http://monographs.iarc.fr/ENG/Classification/ClassificationsAlphaOrder.pdf>>. Acesso em: 29 Abr. 2015.

INSTITUTO BRASILEIRO DE DEFESA DO CONSUMIDOR – IDEC. **Risco no uso de PVC**. Disponível em: <http://www.idec.org.br/uploads/revistas_materias/pdfs/2004-07-ed79-servico-saude.pdf> Acesso em 20 Dez. 2014.

ISAAC, V.L.B.; et al. Protocolo para ensaios físico-químicos de estabilidade de fitocosméticos. **Rev. Ciênc. Farm. Básica Apl.**, v. 29, p. 81-96, 2008.

ISO 13320-1 2009. **Particle Size Analysis - Laser diffraction methods**. Retirado de : <http://www.iso.org/iso/catalogue_detail.htm?csnumber=44929> Acesso em 02 10 2015.

JAGANATH, I.B.; CROZIER, A. Dietary flavonoids and phenolic compounds. In: FRAGA, C.G. **Plant Phenolics and Human Health**. Cap.1, p.1-39, New Jersey: Wiley, 2010. 610pp.

JENSEN, G.S.; SCHAUSS, A.G.; BEAMAN, R.; AGER, D.M. Açai fruit (*Euterpe oleracea* Mart.): Systematic and collaborative study of the phytochemistry, nutrient composition, and in vitro and in vivo bioactivities of the Amazonian palm fruit in humans. **Alternative Therapies in Health and Medicine**, v.15, p.90-91, 2009.

JENSEN, G.S; et al. In vitro and in vivo antioxidant and anti-inflammatory capacities of an antioxidant-rich fruit and berry juice blend. Results of a pilot and randomized, double-blinded, placebo-controlled, crossover study. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 56, p. 8326-8333, 2008.

KALT, W.; FORNEY, C.F.; MARTIN, A.; PRIOR, R. L. Antioxidant capacity, vitamin C, phenolics, and anthocyanins after fresh storage of small fruits. **J. Agr. Food Chem.** 47:4638–4644, 1999.

KAMPER, S. L., E FENNEMA, O. Water vapour permeability of edible bilayer films. **Journal of Food Science**, v. 49, p. 1482–1485, 1984.

KANG, J.; et al. Flavonoids from acai (*Euterpe oleracea* Mart.) pulp and their antioxidant and anti-inflammatory activities. **Food Chemistry**, v.128, p. 152–157, 2011.

KANG, J.; et al. Bioactivities of açai (*Euterpe precatoria* Mart.) fruit pulp, superior antioxidant and anti-inflammatory properties to *Euterpe oleracea* Mart. **Food Chemistry**, v. 133, p. 671–677, 2012.

KECHICHIAN, V., et al. Natural antimicrobial ingredients incorporated in biodegradable films based on cassava starch. **LWT - Food Science and Technology**, v. 43, p. 1088-1094, 2010.

KECHICHIAN, Viviane. **Adição de ingredientes antimicrobianos em filmes biodegradáveis à base de fécula de mandioca**. 2007. Dissertação (Mestrado em Engenharia Química) - Escola Politécnica, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2007.

KESTER, J. J.; FENNEMA, O. R. Edible films and coatings: a review. **Food Technol.**, v. 40, n. 4, p. 47-59, 1986.

KORN, M. ; ANDRADE, M. V. A. S. ; BORGES, S. S. . Procedimentos Analíticos Assistidos por Ultra-som. *Analytica (São Paulo)* , São Paulo, v. 2, n.3, p. 34-39, 2003.

KOŁODZIEJSKA, I.; PIOTROWSKA, B., The water vapour permeability, mechanical properties and solubility of fish gelatin-chitosan films modified with transglutaminase or 1-ethyl-3-(3-dimethylaminopropyl) carbodiimide (EDC) and plasticized with glycerol. **Food Chemistry**, In Press, 2006.

KULDILOKE, J. Effect of Ultrasound, Temperature and Pressure Treatments on Enzyme Activity and Quality Indicators of Fruit and Vegetable Juices. **Thesis at Technische Universität Berlin**, 2002.

KUPPERS, Harald. *Fundamento de la Teoría de los colores* .Ed. G.G. 5ª edición. Gustavo Gili,1995.

KLOPOTEK, Y.; OTTO, K. e BÖHM, V. Processing strawberries to different products alters contents of vitamin C, Total Phenolics, Total Anthocyanins, and Antioxidant Capacity. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 53, p. 5640-5646, 2005.

KUSKOSKI, E.M.; ASUERO, A. G.; GARCIA-PARILLA, M. C.; TRONCOSO, A. M.; FETT, R. Actividad antioxidante de pigmentos antocianicos. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 24, n. 4, p. 691-693, 2004.

KUSKOSKI, E. M.; ASUERO, A. G.; TRONCOSO, A. M.; FETT, R. Comparación de métodos en la determinación de la actividad antioxidante de pulpas de frutos congelados. **Schironia**, v..5, p.17-20, 2006.

KUSKOSKI, E. M.; ASUERO, A. G.; MORALES, M. T.; FETT, R. 2006b. Frutos tropicais silvestres e polpas de frutas congeladas: atividade antioxidante, polifenóis e antocianinas. **Ciência Rural**, v.36, n.4, p.1283-1287.

LAAKSONEN, D. E.; et al. Dietary and serum lonoleic and polyunsatures fatty acids predict cardiovascular mortality in middle-ages men. **Arch Intern Med.**, v. 165, p. 193-199, 2005.

LEITE, S. T. Iogurte simbiótico de açaí (*Euterpe edulis* Mart.): caracterização físico-química e viabilidade de bactérias lácticas e probióticas. PPGCTA - Dissertações de mestrado- UFES. 2015.

LEITE, F. N. **Calibração de Dispositivos a Cores Utilizando uma Câmera Digital**. Dissertação (Mestrado em Engenharia Elétrica), Universidade de Brasília, Brasília, 2006.

LICHTENTHÄLER, R.; et al. Total oxidant scavenging capacities of *Euterpe oleracea* Mart. (Açaí) fruits. **International Journal of Food Sciences and Nutrition**, v. 56, p. 53- 64, 2005.

LIMA, V. L. A. G.; MELO, E. A.; GUERRA, A. B. Correlação entre o Teor de Antocianinas e Caracterização Cromática de Polpas de Diferentes Genótipos de Acerolei. **Braz. J. Food Technol.**, Campinas, v. 10, n. 1, p. 51-55, 2007.

LIMA, A. **Caracterização química, avaliação da atividade antioxidante in vitro e in vivo, e identificação dos compostos fenólicos presentes no Pequi (*Caryocar brasiliense*, Camb.)**. São Paulo, 2008. 199p. Tese (Doutorado em Ciência dos Alimentos) – Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade de São Paulo.

LOPES, T. J.; et al. Antocianinas: uma breve revisão das características estruturais e da estabilidade. **R. Bras. Agrocência**, Pelotas, v.13, n.3, p. 291-297, 2007.

LÓPEZ O. P.; JIMÉNEZ A. R.; VARGAS F. D. et al. Natural pigments: carotenoids, anthocyanins, and betalains –characteristics, biosynthesis, processing, and stability, **Critical Reviews Food Science Nutrition**, v.40, p.173-289, 2000.

LUCAS, J. et al. Colour measurement: fundamentals. Azúrem: Eurotex, 1996.

MA, X. F.; YU, J. G.; KENNEDY, J. F. Studies on the properties of natural fiber reinforced thermoplastic starch composites. **Carboidrate Polymers**, v. 62, p. 19-24, 2005.

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, Santa Maria**, v.42, n.11, p.2085-2091, nov, 2012.

MAIA, L. H.; PORTE, A.; SOUZA, V. F. Filmes comestíveis: aspectos gerais, propriedades de barreira e oxigênio. **Boletim do CEPPA**, Curitiba, v.18, n.1, 2000.

MALCHER, E. S. L T. Influência da sazonalidade sobre a composição química e atividade antioxidante do açai (Euterpe oleracea Mart.), Tese de Doutorado. Universidade de Viçosa MG- 2011.

MALI, S.; GROSSMANN, YAMASHITA, F. Filmes de amido: produção, propriedades e potencial de utilização. **Ciências Agrárias, Londrina**, v. 31, n. 1, p. 137-156, 2010.

MALI, S.; et al. Barrier, mechanical and optical properties of plasticized yam starch films. **Carbohydrate Polymers**, v.56, p. 129-135, 2004.

MALI, S.; GROSSMANN, M. V. E. Effects of yam starch on storability and quality of fresh strawberries (*Fragaria ananassa*). **J. Agric. Food Chem**, v.51, 7055, 2003.

MAHMOUD, R.; SAVELLO, P A. Mechanical Properties of and Water Vapor Transferability Through Whey Protein Films. **J. Dairy Sci** v.75 p.942-946, 1992.

MANACH, C.; et al. Bioavailability and bioefficacy of polyphenols in humans. I. Review of 97 bioavailability studies. **The American Journal of Clinical Nutrition**, v. 81, p. 230S-42S, 2005.

MANO, E. B., MENDES, L. C. **Avaliação das propriedades dos polímeros**. In: Introdução a Polímeros. Editora Edgard Blucher Ltda. São Paulo, Brasil, p.58-64, 1999.

MARÇO, P.H; POPPI, R. J.; SCARMINIO, I. S. Procedimentos analíticos para identificação de antocianinas presentes em extratos naturais. **Quim. Nova**, v. 31, p. 1218-1223, 2008.

MARINOVA, E. et al. Synergistic antioxidant effect of α -tocopherol and myricetin on the autoxidation of triacylglycerols of sunflower oil. **Food Chemistry**, v.106, n.2, p.628-633, 2008.

MARTIN-POLO, M.; et al. 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.

MASON, T. J. Power ultrasound in food processing. The way forward. In: POVEI, M. J. W.; MASON, T. J. (eds.). **Power ultrasound in food processing** London. Chapman e Hall. 1998. 105-126.

MANTILLA, S. P. S., et al. Atmosfera modificada na conservação de alimentos. **Rev. Acad., Ciênc. Agrár. Ambient**, v. 8, n. 4, p. 437-448, 2010.

MC CARTHY, M. J. et al. **Engineering properties of food**. 3 rd ed. Boca Raton: Taylor & Francis 2005, 738 p.

MC GUIRE. Reporting of objective color measurements. **Subtropical Horticulture**, v. 27(12), 1992.

MC HUGH, T. H.; HUXSOLL, C. C.; KROCHTA, J. M. Permeability Properties of Fruit Puree Edible Films. **Journal of Food Science**, v. 61(01), p. 88–91, 1996.

MEI, Y.; ZHAO, Y.Y., Barrier and mechanical properties of milk protein-based edible films containing nutraceuticals. **Journal of Agriculture and Food Chemistry**. v. 51 p. 1914–1918, 2003.

MELO, N. R. de. **Migração de plastificantes e avaliação de propriedades mecânicas de filme de poli (cloreto de vinila) para alimentos**. Tese (Doutorado) - Universidade Federal de Viçosa, MG, 2007.

MENEZES, E. M. da S.; TORRES, A. T.; SRUR, A. U. S. Valor nutricional da polpa de açaí (*Euterpe oleracea* Mart.) liofilizada. **Acta amazônica**, v. 38, p. 311 – 316, 2008.

MERKEN H.M. BECHER G.R., Measurement of food flavonoids by high-performance liquid chromatography: A review, **J. agric. Food Chem.**, v. 48, p. 577-599, 2000.

MC HUGH, T.H.; KROCHTA, J.M. Sorbitol vs. glycerol-plasticized whey protein edible films: integrated oxygen permeability and tensile property evaluation. **Journal of Agriculture and Food Chemistry**. v.42, n.4, p.841-845, 1994.

MILTZ, J. Food Packing. In: HELDMAN, D.R; LUND, D.B. (Ed.), Handbook of food engineering. New York: Marcel Dekker INC.; p. 667-718, 1992.

MINISTÉRIO DO MEIO AMBIENTE –MMA. **Impacto das embalagens no meio ambiente**. Disponível em: <<http://www.mma.gov.br/responsabilidade-socioambiental/producao-e-consumo-sustentavel/consumo-consciente-de-embalagem/impacto-das-embalagens-no-meio-ambiente>> Acesso em: 21 Jan. 2015.

MINOLTA. **Precise Color Communication: Color Control from perception to Instrumentation**. Japan: Minolta Co. Ltd., 2007.

MONTERREY-QUINTERO, E. S.; SOBRAL, P. J. A.; **Pesq. Agropec. Bras.** v.35, 179, 2000.

MOTTIN, A. C.; CÂMARA, J. J. D.; DE MIRANDA, C. A. S.; PAGNAN, C. S. **O uso de bioplásticos no desenvolvimento de produtos sustentáveis**. Desenhando o futuro 2011 | 1º Congresso nacional de design, 2011.

NASCIMENTO, T. A.; CALADO, V.; CARVALHO, C. W. P. Development and characterization of flexible film based on starch and passion fruit mesocarp flour with nanoparticles. **Food Research International**, v. 49 , p. 588–595, 2012.

NASCIMENTO T. L.; STRINGHETA, P. C.; ALVES O. F. Comparação de métodos quantitativos para quantificação de antocianinas. **Revista Ceres**, v. 55, p. 297-305, 2008.

NAMPOOTHIRI M. K.; NAIR N. R.; ROJAN P. J. An overview of the recent developments in polylactide (PLA) research. **Bioresource technology**, v.101, p.8493–8501, 2010.

NAIARETTI, D. G.; TITA, O. Biopolymers used in food packaging: a review. **Acta Universitatis Cibiniensis Series E: Food technology**, v. 16, n. 2, 2012. Disponível em: <http://saiapm.ulbsibiu.ro/rom/cercetare/ACTA_E/AUCFT2012_II_3_19.pdf> Acesso em: 12 Fev. 2015

NARAYAN, M. S.; et al. Antioxidant effect of anthocyanin on enzymatic and non-enzymatic lipid peroxidation. **Prostaglandins, Leukotrienes and Essential Fatty Acids**, v. 60, n.1, p. 1-4, 1999.

NEGRÃO, CELSO; CAMARGO, ELEIDA. **Design de Embalagem do Marketing à Produção**. São Paulo: Novatec Editora, 2008.

NETO, H. J. L. Obtenção do tomate seco através do uso de um sistema solar alternativo de baixo custo. 2008. 42 f. Tese (Mestrado em Engenharia mecânica) – Programa de Pós-Graduação em Engenharia Mecânica, Universidade Federal do Rio grande de Norte, Natal

NOGUEIRA, O. L. **Sistema de Produção do Açaí Introdução e importância econômica**. Empresa brasileira de pesquisa agropecuária. Embrapa Amazônia oriental, 2006. Disponível em: <http://sistemasdeproducao.cnptia.embrapa.br/FontesHTML/Acai/SistemaProducaoAcai_2ed/paginas/intro.htm>2006b. Acesso em: 19 Set. 2014.

NOVELLO, A. A. **Extração de antocianinas dos frutos do açaí da Mata Atlântica (*Euterpe edulis Martius*) e sua atuação nas atividades antioxidante e antiaterogênica em camundongos ApoE -/-**. Dissertação de mestrado. Universidade de Viçosa, 2011.

NOUR, V.; STAMPAR, F.; VEBERIC, R.; JAKOPIC, R. Anthocyanins profile, total phenolics and antioxidant activity of black currant ethanolic extracts as influenced by genotype and ethanol concentration. **Food Chemistry**, v.141, p. 961–966, 2013.

NUNES, A. N et al. O milho processado e diferentes técnicas de determinação do amido na alimentação de suínos. **Revista eletrônica nutritime**, v. 11 – 04, p. 3508- 3514 –2014.

OLIVEIRA, L. M.; et al. **Ensaio para avaliação de embalagens plásticas e flexíveis**. Campinas: Centro de Tecnologia de Embalagem/ITAL, 216p, 1996.

OXFORD BIOMEDICAL RESEARCH. **CUPRAC Food and Beverage Antioxidant Assay**. 2010. Disponível em: <<http://www.oxfordbiomed.com/cuprac-food-and-beverage-antioxidant-assay>> Acesso em: 02 Set. 2014.

PACHECO-PALENCIA, L. A.; HAWKEN, P. AND TALCOTT, S. T. Juice matrix composition and ascorbic acid fortification affects on the phytochemical, antioxidant and pigment stability of açaí (*Euterpe oleracea Mart.*) **Food Chemistry**, v. 105, p. 28 - 35, 2007.

PALACIO, D. N. M. **Concentração de suco clarificado de açaí por osmose inversa**. UFRJ, Dissertação de mestrado, Rio de Janeiro, 2008.

PACHECO-PALENCIA, L. A.; HAWKEN, P. AND TALCOTT, S. T. Phytochemical, antioxidant and pigment stability of açaí (*Euterpe oleracea* Mart.) as affected by clarification, ascorbic acid fortification and storage **Food Research International**, v. 40, p. 620 – 628, 2007.

PACHECO-PALENCIA, L. A.; DUNCAN, C. E.; TALCOTT, S. T. Phytochemical composition and thermal stability of two commercial acai species, *Euterpe oleracea* and *Euterpe precatoria*. **Food Chemistry**, v. 115, p. 1199–1205, 2009.

PATIL, R. T.; et al. **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, 2005.

PEIXOTO, J. C. **Desenvolvimento de bebida funcional à base de açaí liofilizado para o controle do estresse muscular e oxidativo e atenuação de indicadores cardiorrespiratórios e de percepção de esforço em atletas Rio de Janeiro**. Tese de Doutorado - Universidade Federal do Rio de Janeiro, 2014.

PELLISSARI, F. M.; GROSSMANN, M. V. E.; YAMASHITA, F.; PINEDA, E. A. G. **J Agric Food Chem**, v. 57, p. 7499, 2009.

QUIMANIL CORANTES E AUXILIARES. **Colorimetria**. Disponível em <<http://www.quimanil.com.br/imagens/Cielab.jpg>> Acesso em 06 Out. 2014.

QUÍMICA NOVA NA ESCOLA. **Carboidratos: Estrutura, Propriedades e Funções**, nº 29, 2008. Acesso em: 22 Jan. 2016. Disponível em: <<http://qnesc.sbq.org.br/online/qnesc29/03-CCD-2907.pdf>>

PORTENLÄNGER, G.; HEUSINGER, H. The Influence of Frequency on the Mechanical and Radical Effects for the Ultrasonic Degradation of Dextranes. **Ultrasonics Sonochemistry**, v. 4, p.127-30, 1997.

PRIOR, R.; GU, L. Occurrence and biological significance of proanthocyanidins in the American diet. **Phytochemistry**, v.66, n.18, p.2264-2280, 2005.

QUÍMICA NOVA INTERATIVA - Sociedade Brasileira de Química. **Amido (C₆H₁₀O₅)_n**. Disponível em: <http://qnint.sbq.org.br/qni/popup_visualizarMolecula.php?id=N46O8_aHhyCmeUe0VyK7YfjrtZ17qbXNAPizKU0WdhrqggtCX8-NhHQxXJHLnH1gZTvzRFNfNCrXxEP4njfW9Q==>> Acesso em: 7 Ago. 2014.

RABELLO, M. **Aditivação de polímeros**, São Paulo: Editora Artliber, 2000, p. 242.

RAHMAN, M. M.; et al. Superoxide radical and peroxynitrite-scavenging activity of anthocyanins; structure activity relationship and their synergism. **Free radic Res**, v. 40, p. 993-1002, 2006.

REINECCIUS, G.A. Multiple-core encapsulation: the spray drying of food ingredients. In: VILSTRUP, P. **Microencapsulation of food ingredients**. Surrey, Leatherhead Publishing, p.151-185, 2001.

REIS, L. C. B.; et al. Active biocomposites of cassava starch: The effect of yerba mate extract and mango pulp as antioxidant additives on the properties and the stability of a packaged product. **Food and bioproducts processing** x x x (2 0 1 4) xxx-xxx.

RE, R.; PELLEGRINI, N.; PROTEGGENTE, A.; PANNALA, A.; YANG, M.; RICE-EVANS, C. (1999). Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. **Free Radical Biology & Medicine**, 26 (9/10), 1231–1237, 1999.

REIS, L. C. B. et al. Filme biodegradável incorporado com glicerol e aditivos naturais. **Cadernos de Prospecção** - ISSN 1983-1358 (print) 2317-0026 (online), v. 4, p.23-32, 2011.

REQUE, P. M.; et al. Cold storage of blueberry (*Vaccinium* spp.) fruits and juice: Anthocyanin stability and antioxidant activity. **Journal of Food Composition and Analysis**, v.33, p.111–116, 2014.

RINDLAV-WESTLING, A.; STADING, M.; HERMANSSON, A.M.; GATENHOLM, P. Structure, mechanical and barrier properties of amylose and amylopectin films. **Carbohydrate Polymers**, Oxford, v. 36, n. 2-3, p. 217-224, 1998.

ROBERTSON, G. **Food packaging: principles and practice**, Marcel Dekker, 1993.

ROCHA, I. G. **Avaliação da cor e da atividade antioxidante da polpa e extrato de mirtilo (*Vaccinium myrtillus*) em pó**. Dissertação de Mestrado. Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG, 2009.

ROCHA, G. O. et al. Filmes Compostos Biodegradáveis a Base de Amido de Mandioca e Proteína de Soja. **Polímeros**, v. 24(05), p. 587-595, 2014.

ROCHA, G.O. **Obtenção e caracterização de filmes biodegradáveis a partir de misturas de amido de mandioca e extrato protéico de soja**. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos). Universidade federal rural do Rio de Janeiro, 2009.

ROGEZ, H. **Açaí: Preparo, Composição e Melhoramento da Conservação**. Belem. Brazil: EDUFPA. P. 313, 2000.

ROGEZ, H., et al. Sigmoidal kinetics of anthocyanin accumulation during fruit ripening: A comparison between açai fruits (*Euterpe oleracea*) and other anthocyanin-rich fruits. **Journal of Food Composition and Analysis**, 24, 796–800, 2011.

ROJAS-GRAU, M. A.; et al. Effects of plant essential oil compounds on mechanical, barrier and antimicrobial properties of alginate-apple puree edible films **J. Food Eng.**, v.81, p.634, 2007.

ROMERO-BASTIDA, C. A.; et al. Physicochemical and microstructural characterization of films prepared by thermal and cold gelatinization from non-conventional sources of starches. **Carbohydr. Polym.** v.60, p.235, 2005.

ROSA, J. S. **Desenvolvimento de um método rápido para análise de vitamina C por cromatografia líquida de alta eficiência utilizando coluna de troca iônica.** Rio de Janeiro, 2005, 92p. Dissertação (Mestre em Ciências), Instituto de Tecnologia, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro (UFRRJ).

ROSSO, V. V. et al. Determination of anthocyanins from acerola (*Malpighia emarginata* DC.) and açai (*Euterpe oleracea* Mart.) by HPLC-PDAMS/MS. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 21, p. 291-299, 2008.

ROTTA, J. **Propriedades físico-químicas de soluções formadoras e de filmes de quitosana e hidroxipropilmetilcelulose.** Pós-Graduação em Ciência dos Alimentos da Universidade Federal de Santa Catarina Florianópolis 2008.

RUFINO, M. D. S. M.; et al. Açai (*Euterpe oleracea*) 'BRS Pará': A tropical fruit source of antioxidant dietary fiber and high antioxidant capacity oil. **Food Research International**, v. 44, p. 2100–2106, 2011a.

RUFINO, M. S. M.; et al. Quality for fresh consumption and processing of some non-traditional tropical fruits from Brazil. **Fruits**, v. 64, p. 361–370, 2009.

RUFINO, M. S. M.; et al. Bioactive compounds and antioxidant capacities of 18 non-traditional tropical fruits from Brazil. **Food Chemistry**, v. 121, p. 996–1002, 2010.

RUFINO, M. S. M.; et al. Free radical scavenging behavior of ten exotic tropical fruit extracts. **Food Research International**, v. 44, 2072-2075, 2011.

RUFINO, M. S. M.; et al. **Comunicado técnico - metodologia científica: determinação da atividade antioxidante total em frutas pela captura do radical livre DPPH.** Fortaleza: Embrapa, 2007. 4 p.

SANTANA, M.C.C.B. et al. The incorporation of annatto as antioxidant additive based biodegradable packaging chitosan. **Ciência Rural**, v.43, n.3, p.544-550, 2013.

SCALBERT, A, WILLIAMSON, G. Dietary intake and bioavailability of polyphenols. **J. Nutr.** v. 130, p. 2073-85, 2000.

SACHS, P. D. **Uso de Software em Análises de Interesse Agrônomo:** Determinação de Dimensões e Cores. Dissertação de Mestrado. Curso de pós graduação em agronomia. Universidade Estadual de Londrina, 2007.

SANTIAGO, M. C. P. A.; et al. Adaptação de um método por cromatografia líquida de alta eficiência para análise de antocianinas em suco de açai (*Euterpe oleracea* Mart.) ISSN 0103-5231 Dezembro, 2010 Rio de Janeiro, RJ.

SARANTÓPOULOS, C. I. G. L.; et al. **Embalagens Plásticas Flexíveis. Principais Polímeros e Avaliação de Propriedades.**, p. 267, 2002.

SCHAUSS, A. G.; et al. Antioxidant capacity and other bioactivities of the freeze-dried Amazonian Palm Berry, *Euterpe oleracea*, Mart. (Açai). **J. Agric. Food Chem.**; v. 54, p. 8604-8610, 2006 a.

SCHAUSS, A. G.; et al. Phytochemical and nutrient composition of the freeze-dried amazonian palm berry, *Euterpe oleraceae* Mart. (Açaí). **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 54, p. 8598–8603, 2006b.

SCHRECKINGER, M. E.; et al. Berries from South America: A comprehensive review on chemistry, health potential, and commercialization. **Journal of Medicinal Food**, v. 13, p. 233–246, 2010.

SEERAM, N. P. Berries. In: Heber, D., Blackburn, G. L.; Go, V. L. W.; Milner, J. (Eds). **Nutritional Oncology**. Massachusetts: Academic Press, 2006. 632 p., cap. 37 p. 615-628. Disponível em:

<<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/B9780120883936500932>> Acesso em: 10 Fev. 2015.

SCHAICH, K. M.; TIAN, X.; XIE, J. Reprint of “Hurdles and pitfalls in measuring antioxidant efficacy: A critical evaluation of ABTS, DPPH, and ORAC assays”. **Journal of Functional Foods** 2015.

SCHULTZ, M.; et al. Chemical composition, bioactive compounds and antioxidant capacity of juçara fruit (*Euterpe edulis* Martius) during ripening. **Food Research International** 2015.

SHIH, F.F. Edible films from rice protein concentrate and pullulan. **Cereal Chemistry**, v.73, n.3, p.406-409, 1996.

SHEN X. L.; et al. Antimicrobial and physical properties of sweet potato starch films incorporated with potassium sorbate or chitosan. **Food Hydrocolloids**. v. 24, p. 285–290, 2010.

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

SHIH, F.F. Edible films from rice protein concentrate and pullulan. **Cereal Chemistry**, v.73, n.3, p.406-409, 1996.

SILVA, E.; et al, Antioxidant activities and polyphenolic contents of fifteen selected plant species from the Amazonian region., **Food Chemistry**, v.101, p.1012-1018, 2007b.

SILVA, W. A. DA; et al. Determinação da cor, imagem superficial topográfica e ângulo de contato de biofilmes de diferentes fontes de amido. **Ciênc. agrotec.**, [online], v.31, p. 154-163, 2007.

SOARES, N. F. F. et al. Embalagem ativa na conservação de alimentos **In: AZEREDO, H. M. C. (Ed). Fundamentos de estabilidade de Alimentos**. Brasília, DF: Embrapa, 2012. 328 p. pt 2, cap. 8, p. 253–280.

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 beta-lactoglobulin films **J. Agric. Food Chem**, v.48, p.6298, 2000.

SOTHORNVIT, R.; PITAK, N. Oxygen permeability and mechanical properties of banana films. **Food Research International**, v. 40, p. 365-370, 2007.

SECRETARIA DE ESTADO DA AGRICULTURA E DO ABASTECIMENTO - SEAB. **Mandiocultura - Análise da Conjuntura Agropecuária**. 2012. Disponível em: <http://www.agricultura.pr.gov.br/arquivos/File/deral/Prognosticos/mandiocultura_2012_13.pdf> Acesso em 16 Set. 2014.

SKOOG, D. A.; HOLLER, F. J.; NIEMAN, T. A. **Principles of instrumental analysis**. 6a ed. Fort Worth: Saunders College Publishing, 1997. 849p.

SHAW, C. P.; SECRIST, J.L. AND TUOMY, J.M. U.S. **patent** 4, 196, 219, 1980.

SILVA, M. L. S.; et al. Teor de carotenoides em polpas de acerola congeladas Carotenoids in frozen acerola pulps. **Revista Verde (Mossoró – RN - Brasil)**, v. 8, n. 1, p. 170 – 173, 2013.

SOBRAL, P. J. A. Propriedades funcionais de biofilmes de gelatina em função da espessura. **Ciência e Engenharia**. Uberlândia. v. 8, n. 1, p. 60-67, 1999.

SOBRAL, P.J.A.; Influencia da espessura de biofilmes feitos a base de proteínas miofibrilares sobre suas propriedades funcionais. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.35, n.6, p. 1251-1259, 2000

SOBRAL, P. J. A.; et al. Mechanical, water vapor barrier and thermal properties of gelatin based edible films. **Food Hydrocolloids**, v. 15, p. 423-432, 2001.

SOUZA, C.O. et al. Mango and acerola pulps as antioxidante additives in cassava starch bio-based film. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.59, p.2248-2259, 2011.

SOUZA, A. C.; et al. Cassava starch biodegradable films: Influence of glycerol and clay nanoparticles content on tensile and barrier properties and glass transition temperature. **LWT - Food Science and Technology**, v. 46, p. 110–117, 2012.

SOUZA, C.O.; SILVA, L.T.; DRUZIAN, J.I. Estudo comparativo da caracterização de filmes biodegradáveis de amido de mandioca contendo polpas de manga e de acerola. **Quim.Nova**, v.2, p. 262–267, 2012b.

SOUZA, M. L., et al. Aplicação de espectroscopias raman e infravermelho na identificação e quantificação de plastificantes em filmes comerciais de PVC esticável. **Química. Nova**, v. 32(6), p. 1452-1456, 2009.

SUCUPIRA, N. R.; et al. Métodos Para Determinação da Atividade Antioxidante de Frutos. **UNOPAR Cient Ciênc Biol Saúde**, v. 14(4), p. 263-269, 2012.

TABART, J. ; KEVERS, C.; PINCEMAIL, J. ; DEFRAIGNE, J.O. ; DOMMESA, J. Comparative antioxidant capacities of phenolic compounds measured by various tests. **Food Chemistry**, v.113, n.4, p.1226-1233, 2009.

TALJA, R. A.; et al. Effect of type and content of binary polyol mixtures on physical and mechanical properties of starch-based edible films. **Carbohydrate Polymers**, v. 71(2), p. 269-276, 2008.

TALJA, R. A.; et al. Effect of various polyols and polyol contents on physical and mechanical properties of potato starch-based films. **Carbohydrate Polymers**, v. 67, p. 288-295, 2007.

TAYLOR, C. C. Cellophane In: BAKKER, M. (Ed.) **The Wiley encyclopedia of packaging technology**. New York: John Wiley & Sons, p. 159-163, 1986.

TATTINI JUNIOR, V.; PARRA, D. F.; PITOMBO, R. N. M. Influência da taxa de congelamento no comportamento físico-químico e estrutural durante a liofilização da albumina bovina. **Revista Brasileira de ciências farmacêuticas**, São Paulo, v. 42, p. 127-136, 2006.

TIWARI, B. K. C.P.; et al. Anthocyanin and ascorbic acid degradation in sonicated strawberry juice. **J. Agric. Food Chem**, v. 56, p. 10071–10077, 2008.

TEIXEIRA, L. N.; STRINGHETA, P. C.; OLIVEIRA, F. A. Comparação de métodos para quantificação de antocianinas. **R. ceres**, v. 55(4), p. 297-304, 2008.

TERAO, J. Dietary flavonoids as antioxidants. **Forum of Nutrition**, v. 61, p. 87–89, 2009.

TERCI, D.B.L. **Aspectos analíticos e didáticos de antocianinas extraídas de frutas**, 2004. Tese de Doutorado, Instituto de Química, UNICAMP, Campinas, 2004.

TINKE, A. P.; et al. Particle shape and orientation in laser diffraction and static image analysis size distribution analysis of micrometer sized rectangular particles. **Powder Technology**, v. 186, p. 154–167, 2008.

TOLSTOGZOV, V. Why are polysaccharides necessary? **Food hydrocolloids**, v. 18, p. 873 -877, 2004.

TONON, R. V. **Secagem por atomização do suco de açaí: influência das variáveis de processo, qualidade e estabilidade do produto**. Mestrado em Engenharia de Alimentos. Universidade Estadual de Campinas, Campinas, agosto de 2009.

TONON, R. V.; BRABET, C.; HUBINGER, M. D. Anthocyanin stability and antioxidant activity of spray-dried açaí (*Euterpe oleracea* Mart.) juice produced with different carrier agents. **Food Research International**, v.43, p. 907–914, 2010.

TORNQUIST, J. **Color y Luz: teoria y práctica**. Edição/reimpressão: 2008. Barcelona. Editor: Editorial Gustavo Gili, 2008.

TRIPATHI, R.; MOHAN, H.; KAMAT, J.P. Modulation of oxidative damage by natural products. **Food Chemistry**, v. 100, p.81-90, 2007.

TSUDA, T., F. Dietary cyanidin 3-O- β -Dglucoside-rich purple corn color prevents obesity and ameliorates hyperglycemia in mice. **The Journal of nutrition**, v. 133, p. 2125-2130, 2003.

UFMG. **O som. Amplitude, comprimento de onda, período e frequência.** Fonética e Fonoaudiologia. Projeto Sonoridade em Artes, Saúde e Tecnologia, 2008. Acesso em: 12. Jan. 2016. Disponível em: < http://www.fonologia.org/acustica_osom_2.php>

UNIVERSIDADE TECNOLÓGICA FEDERAL DO PARANÁ – UFTPR. **Uma grande ideia.** Retirado de <<http://www.utfpr.edu.br/medianeira/estrutura/assessorias/ascom/noticias/acervo/uma-grande-ideia>> Acesso em: 20. Jan 2015.

VALDRAMIDIS, V. P. P.J.; et al. Quantitative modelling approaches for ascorbic acid degradation and non-enzymatic browning of orange juice during ultrasound processing, **J. Food Eng.**, v. 96, p. 449–454, 2010.

VAN OSS, C. J.; DEKKER, M. Interfacial forces in aqueous media. **Journal of Chemical Technology and Biotechnology**, v. 64, p.311, 1994. DOI: 10.1002/jctb.280640321

VASCONCELOS, M. A. M.; ALVES, S. M. **Sistema de Produção do Açaí - Colheita e pós-colheita.** Empresa brasileira de pesquisa agropecuária - Embrapa Amazônia oriental, 2006. Disponível em: <http://sistemasdeproducao.cnptia.embrapa.br/FontesHTML/Acai/SistemaProducaoAcai_2ed/paginas/colheita.htm>. Acesso em: 19 Set. 2014.

VEIGA-SANTOS, P.; DITCHFIELD, C.; TADINI, C. C. Development and evaluation of a novel pH indicator biodegradable film based on cassava starch. **Journal of Applied Polymer Science**, v. 120, p. 1069–1079, 2011.

VENKATESH, M. S.; RAGHAVAN, G. S. V. An overview of microwave processing and dielectric properties of agri-foods materials. **Biosystems Engineering**, v. 88, p. 1-18, 2004.

VICENTINI, N. M. **Elaboração e caracterização de filmes comestíveis a base de fécula de mandioca para uso em pós-colheita** Tese (Doutorado) - Faculdade de Ciências Agrônômicas – UNESP, Botucatu – SP, 2003.

VIEIRA, M. G. A.; et al. Natural-based plasticizers and biopolymer films: A review. **European Polymer Journal**, v. 47(3), p. 254–263, 2011.

VOLP, A.C.P; RENHE, I.R.T.; BARRA, K.; STRINGUETA, P.C. Flavonóides antocianinas: características e propriedades na nutrição e saúde. **Revista Brasileira de Nutrição Clínica**, n.23, p.141-149, 2008.

WADA, M.; et al. Chemiluminescent screening of quenching effects of natural colorants against reactive oxygen species: Evaluation of grape seed, monascus, gardênia and red radish extracts as multi-functional food additives. **Food Chemistry**, v. 101, p. 980-986, 2007.

WANG, X.; et al. **Food Bioproducts Processing**, v. 147, 2010.

WANG, L.-S.; STONER, G.D. Anthocyanins and their role in cancer prevention. **Cancer letters**, v. 269, p. 281-90, 2008.

WATERSCHOOT, J.; GOMAND, S. V.; FIERENS, E.; DELCOUR, J. A. Production, structure, physicochemical and functional properties of maize, cassava, wheat, potato and rice starches. **Starch/Stärke**, v. 66, p. 1–16, 2014.

WU, X.; et al. Concentrations of anthocyanins in common foods in the United States and estimation of normal consumption. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 54(11), p. 4069, 2006.

XEI, F.; et al. Starch-based nano-biocomposites. **Progress in Polymer Science**, v. 38, p. 1590– 1628, 2013.

XIA, E.-Q., et al. Biological activities of polyphenols from grapes. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 11, p. 622–646, 2010.

XIE, L.; et al. 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.

YI, L.; CHEN, C.; JIN, X.; MI, M.; YU, B.; CHANG, H.; LING, W.; ZHANG, T. Structural requirements of anthocyanins in relation to inhibition of endothelial injury induced by oxidized low-density lipoprotein and correlation with radical scavenging activity. **FEBS-letters**, v.584, p.583-590, 2010.

YU, L.; DEAN, K.; LI, L. Polymer blends and composites from renewables resources. **Progress in Polymer Science**, v. 31, p. 576-602, 2006.

YAMASHITA, F.; NAKAGAWA, A. VEIGA, G. F.; MALI, S.; GROSSMANN, M. V. E. Filmes Biodegradáveis para Aplicação em Frutas e Hortaliças Minimamente Processadas. **Braz. J. Food Technol.**, v.8, n.4, p. 335-343, 2005.

ZAFRA-STONE, S., et al. Berry anthocyanins as novel antioxidants in human health and disease prevention. **Molecular nutrition & food research**, v. 51, p. 675-83, 2007.

ZANATTA, C. F.; et al. Determination of anthocyanins from camucamu (*Myrciaria dubia*) by HPLC-PDA, HPLC-MS, and NMR. **J. Agric. Food Chem.**, v. 53, 531, 2005.

ZULETA, A.; ESTEVE, M. J.; FRÍGOLA, A. ORAC and TEAC assays comparison to measure the antioxidant capacity of food products. **Food Chemistry**, v. 114, p. 310–316, 2009.