UNIVERSIDADE FEDERAL DE GOIÁS
ESCOLA DE AGRONOMIA

FERNANDA GARCIA DO AMARAL

DESENVOLVIMENTO DE FILME COMESTÍVEL A BASE DE FÉCULA DE AÇAFRÃO (*Curcuma longa* L.) E LIPÍDIOS

Goiânia
2014

FERNANDA GARCIA DO AMARAL

DESENVOLVIMENTO DE FILME COMESTÍVEL A BASE DE FÉCULA DE AÇAFRÃO (*Curcuma Longa* L) E LIPÍDIOS

Dissertação de Mestrado apresentada à Escola de Agronomia da Universidade Federal de Goiás para obtenção do título de Mestre em Ciência e Tecnologia de Alimentos.

Orientadora: Profª. Drª Katiuchia Pereira Takeuchi
Coorientadores: Prof. Dr. Celso José de Moura e Profª. Drª. Miriam Fontes Araujo Silveira

Goiânia
2014

UNIVERSIDADE FEDERAL DE GOIÁS
ESCOLA DE AGRONOMIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE ALIMENTOS

FERNANDA GARCIA DO AMARAL

DESENVOLVIMENTO DE FILME COMESTÍVEL A BASE DE FÉCULA DE AÇAFRÃO (*Curcuma Longa* L) E LIPÍDIOS

Dissertação DEFENDIDA e APROVADA em 29 de agosto de 2014, pela Banca Examinadora constituída pelos membros:

_____
Profª. Drª. Katiuchia Pereira Takeuchi
Orientadora – EA/UFG

_____
Profª. Drª. Maria Ássima Bittar Gonçalves
EA/UFG – Membro

_____
Profª. Drª. Eliane Dalva Godoy Danesi
DEA/UEPG – Membro

_____
Prof. Dr. Celso José de Moura
Coorientador – EA/UFG

_____
Profª. Drª. Miriam Fontes Araujo Silveira
Coorientadora – EA/UFG

AGRADECIMENTOS

Primeiramente, agradeço a Deus e Santa Rita de Cássia por iluminar meus caminhos, guiar meus passos e abençoar minhas escolhas. Sem eles, tudo isso não teria sido possível.

Aos meus pais, José Cassiano do Amaral (*in memorian*) e Elza Garcia Bessa, e meu irmão, Gustavo Garcia do Amaral, pelo apoio, carinho, paciência e confiança em todos os momentos desta caminhada.

À Escola de Agronomia, e ao Setor de Engenharia de Alimentos pela oportunidade de realizar este trabalho.

À Profª. Drª. Katiuchia Pereira Takeuchi pela orientação, paciência, oportunidade de aprendizado e auxílio pessoal nos momentos difíceis enfrentados durante este mestrado. Obrigada por me ajudar tanto e acreditar em mim quando perdi meu pai.

À banca examinadora: Profª. Drª. Katiuchia Pereira Takeuchi, Profª. Drª. Maria Ássima Bittar Gonçalves e Profª. Drª. Eliane Dalva Godoy Danesi, pelas contribuições científicas para a melhoria deste trabalho.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pela concessão da bolsa de mestrado e pelo apoio financeiro. Ao financiamento do projeto de mestrado obtido pela Encomenda MCT/SEBRAE/FINEP, Plano de Trabalho Nº 04/2007 - Cooperação ICT's/MPE's, inserida em APL'S – Nº 01/2007: **Potencializando o Açafrão de Mara Rosa-GO.**

Ao Prof. Dr. Celso José de Moura pelo auxílio técnico e financeiro e pela coorientação em todos os momentos de elaboração deste trabalho, da obtenção de rizomas de açafrão até os filmes, fornecendo equipamentos e o seu laboratório, além disso, gostaria também de agradecer pelas parcerias em outros projetos e pela confiança depositada na organização das oficinas ministradas na Agro Centro-Oeste Familiar 2013.

À Profª. Dr.ª Miriam Fontes Araujo Silveira que como minha coorientadora foi fundamental nos momentos em que os filmes aglomeravam e apresentavam bolhas, sem os seus conselhos e suas orientações talvez não tivesse conseguido.

Ao Prof. Dr. Robson Maia Geraldine pelas orientações na parte inicial de elaboração deste projeto sempre a disposição para sanar minhas dúvidas relacionadas à estatística e à microbiologia, além de auxiliar com o empréstimo de seus equipamentos e de sua melhor aluna de iniciação científica.

À Profª. Drª. Maria Ássima Bittar Gonçalves pelo auxílio na concessão dos seus equipamentos, reagentes, sua sala, nitrogênio para fratura dos filmes, além de sempre estar disponível nos apoiando nos momentos difíceis.

Ao PET – Programa de Educação Tutorial e todos os seus integrantes que nos auxiliaram muito principalmente na extração da fécula de açafrão.

Ao Laboratório de Microscopia Eletrônica do Instituto de Física da UFG e à Drª. Tatiane Oliveira dos Santos pela colaboração nos ensaios para avaliação da microestrutura dos filmes.

À Secretaria de Pós-Graduação representada pela Srtª Maria José da Silva Marques pela ajuda nas questões acadêmicas.

Ao grupo GSA na pessoa do Sr. Sergio Rocha Gomes pela doação do amido de milho e da lecitina de soja.

À Cooperativa de Produtores de Açafrão de Mara Rosa pela doação, sempre que foi necessário, dos rizomas de açafrão usados para extração da fécula.

Aos técnicos do departamento de tecnologia de alimentos: MSc. Deivis de Moraes Carvalho, Ana Paula de Moraes dos Santos e Aysha Jussara Ivonilde Carrim pela ajuda na utilização de todos os equipamentos que precisei em todos os laboratórios que utilizei, e também pela pronta liberação dos mesmos sempre que precisei independente de ser fim de semana. Pelas ideias e sugestões oferecidas para auxiliar e minimizar o trabalho, pelo auxílio na fase de microbiologia e por sempre se preocuparem em manter o laboratório que eu utilizava limpo e organizado.

Ao meu noivo, Sergio Rocha Gomes, pelo apoio, carinho, por me levar e buscar todos os dias a faculdade, por se preocupar em providenciar tudo que precisei, sem objeção, por estar sempre presente me erguendo nos momentos em que eu mais precisei (e você sabe que não foram poucos), mas principalmente, pela sua paciência, pelo seu amor gratuito, belo e valioso. Não há neste mundo nada que pague tudo isso!

Às minhas queridas amigas Mirtza, Maria Izabel e Ana Paula Stort pela verdadeira amizade, pelo apoio nos momentos difíceis e alegria nas horas felizes, por serem conselheiras e psicólogas, pela ajuda nas análises, correções de textos de formulações, inúmeras caronas, companhia nos cafés e almoços e pelas inúmeras vezes em que nos fizemos companhia ao sairmos tarde da noite dos laboratórios e quando trabalhamos nos fins de semana e feriados.

Aos alunos Júlie Evany dos Santos, Pedro Paulo Palomino Lúcio, Gustavo Henrique F. Faria, Gerlane Ataídes e Aryane Nakashima, pela amizade, dicas e ajuda nas análises dos filmes.

Aos colegas do mestrado, Divino Ribeiro Machado Júnior, Taís Cristina Capra, Priscylla Paulina Ferreira e aos demais, pelos dois anos de convivência e apoio durante a elaboração dos nossos projetos.

A todos que contribuíram para a realização deste trabalho de alguma forma.

Muito obrigada!

Ainda que eu falasse as línguas dos homens e dos anjos, e não tivesse amor, seria como o metal que soa ou como o sino que tine.

E ainda que tivesse o dom de profecia, e conhecesse todos os mistérios e toda a ciência, e ainda que tivesse toda a fé, de maneira tal que transportasse os montes, e não tivesse amor, nada seria.

E ainda que distribuísse toda a minha fortuna para sustento dos pobres, e ainda que entregasse o meu corpo para ser queimado, e não tivesse amor, nada disso me aproveitaria.

O amor é sofredor, é benigno; o amor não é invejoso; o amor não trata com leviandade, não se ensoberbece.

Não se porta com indecência, não busca os seus interesses, não se irrita, não suspeita mal. Não folga com a injustiça, mais folga com a verdade.

Tudo sofre, tudo crê, tudo espera, tudo suporta.

Coríntios 13:1-7

Dedico este trabalho aos meus pais José Cassiano (in memorian) e Elza Garcia. Ela tudo fez para que eu chegasse até aqui. Ele me fez reflexo do seu caráter e da sua honestidade indiscutível.

DESENVOLVIMENTO DE FILME COMESTÍVEL A BASE DE FÉCULA DE AÇAFRÃO (*Curcuma longa* L.) E LIPÍDIOS

RESUMO

O açafrão (*Curcuma longa* L.) possui diversas alegações científicas de propriedades funcionais tecnológicas, nutricionais, bioativas e farmacêuticas. Assim, buscou-se avaliar a capacidade do amido como base polimérica, aliado a presença da curcumina e sua capacidade antimicrobiana, para formação de filme biodegradável. Objetivou-se com este estudo desenvolver e caracterizar fisicamente filmes biodegradáveis a base de fécula de açafrão em comparação com amido de milho, adicionados de lipídios (cera de carnaúba e óleo de milho), contendo lecitina e glicerol. Em uma primeira etapa, foram realizados ensaios para avaliar o comportamento físico dos filmes diante das interações entre seus componentes. Seguiu-se então para a seleção das variáveis e a definição de suas concentrações para obtenção das soluções filmogênicas: porcentagem de fécula de açafrão e amido de milho (3 % m/m), porcentagem de glicerol (1 a 2,82 % m/m), razão entre cera de carnaúba e ácido graxo (0,10:0,90 a 0,40:0,60 % m/m), porcentagem de lecitina de soja (1 % m/m), velocidade de homogeneização (24.000 rpm), tempo de emulsificação (5 minutos) e temperatura de gelatinização utilizada (85 - 90 °C). Dos componentes utilizados para a obtenção dos filmes considerados melhores no aspecto visual, foram mantidos fixos os seguintes parâmetros: a porcentagem de fécula de açafrão e amido de milho (3 % m/m), a porcentagem de lecitina de soja (1 % m/m) e o binômio tempo (5 minutos) e velocidade de emulsificação (24.000 rpm). Os filmes biodegradáveis foram então produzidos e analisados quanto às propriedades mecânicas, cor, solubilidade e umidade e permeabilidade ao vapor de água. Seis formulações de soluções filmogênicas foram desenvolvidas e suas propriedades físicas foram analisadas frente à razão glicerol:cera de carnaúba, pois estas variáveis, em relação à literatura, apresentam forte influência no comportamento dos filmes biodegradáveis. As formulações foram denominadas neste estudo por razão glicerol:cera de carnaúba 28,2 (3 % de amido de milho ou fécula de açafrão, 1 % de lecitina de soja, 2,82 % de glicerol e 0,10:0,90 de cera de carnaúba:óleo de milho); razão glicerol:cera de carnaúba 6,86 (3 % de amido de milho, 1 % de lecitina de soja, 2,61 % de glicerol e 0,38:0,62 % de cera de carnaúba:óleo de milho); razão glicerol:cera de carnaúba 2,5 (3 % de amido de milho, 1 % de lecitina de soja, 1 % de glicerol e 0,40:0,60 % de cera de carnaúba:óleo de milho); razão glicerol:cera de carnaúba 7,5 (3 % amido de milho ou fécula de açafrão, 1 % de lecitina de soja, 1,5 % glicerol e 0,20:0,80 % de cera de carnaúba:óleo de milho); razão glicerol:cera de carnaúba 6,67 (3 % de fécula de açafrão, 1 % de lecitina de soja, 1 % de glicerol e 0,15:0,85 % de cera de carnaúba:óleo de milho) e razão glicerol:cera de carnaúba 20,1 (3 % de fécula de açafrão, 1 % de lecitina de soja, 2,61 % de glicerol e 0,13:0,87 % de cera de carnaúba:óleo de milho). Neste estudo as razões glicerol:cera de carnaúba foram as variáveis que mais influenciaram o comportamento físico dos filmes. Houve diferença significativa ($p<0,05$) entre todos os filmes, independente da fonte botânica utilizada como base polimérica. A exceção foi observada entre os filmes a base de amido de milho frente ao parâmetro permeabilidade ao vapor de água e entre os filmes produzidos a base de fécula de açafrão frente ao parâmetro solubilidade. Os filmes apresentaram valores condizentes com a literatura em relação aos parâmetros de propriedades mecânicas, sendo que os filmes a base de amido de milho apresentaram valores mais elevados que os de fécula de açafrão.

Palavras-chave: *Curcuma longa* L., amido de milho, filmes biodegradáveis, cera de carnaúba.

DEVELOPMENT OF EDIBLE FILM BASED ON TURMERIC STARCH (*Curcuma longa* L.) AND LIPIDS

ABSTRACT

Turmeric (*Curcuma longa* L.) presents several claims of technological functional properties, nutritional, bioactive and pharmaceutical. In this way, the goal of this work was analyze starch capacity as polymeric basis, allied to curcumin in the starch and antimicrobial activity, to formation of biodegradable film. These studies aimed developing and carry out physical characterization of biodegradable films based on turmeric starch in comparison to corn starch, added with lipids (carnauba wax and corn oil), containing soy lecithin and glycerol. In the first step, tests were performed to analyze physical behavior of films related to interactions among components. Following, selection of variables and fixing concentration of components in order to obtain filmogenic solutions: percentages of turmeric and corn starch (3 % m/m), glycerol (1 up to 2,82 % m/m), ratio of carnauba wax and corn oil (0.10:0.90 up to 0.40:0.60), percentage of soy lecithin (1 % m/m), homogenization velocity (24,000 rpm), emulsification time (5 minutes) and gelatinization temperature (85 – 90 °C). The components used to obtain film were fixed (turmeric and corn starch – 3 % m/m; soy lecithin – 1 % m/m) and both time (5 minutes) and emulsification velocity (24,000 rpm) because having acceptable visual aspects. Biodegradable films were produced by casting method and analyzed under triplicates to mechanical properties, color, solubility, humidity and water vapor permeability. Six formulations of filmogenic solutions were developed considering as variable the ratio of Glycerol: carnauba wax because these components were reported as having great influence on physical behavior of biodegradable films. Film formulations were named as Gli:CC 28.2 (3 % of turmeric or corn starch, 1 % of soy lecithin, 2.82 % of glycerol and 0.10:0.90 as ratio of carnauba wax:corn oil); Gli:CC 6.86 (3 % of turmeric or corn starch, 1 % of soy lecithin, 2.61 % of glycerol and 0.38:0.62 % as ratio of carnauba wax:corn oil); Gli:CC 2.5 (3 % of turmeric or corn starch, 1 % of soy lecithin, 1 % of glycerol and 0.40:0.60 % as ratio of carnauba wax:corn oil); Gli:CC 7.5 (3 % of turmeric or corn starch, 1 % of soy lecithin, 1,5 % glycerol e 0.20:0.80 % as ratio of carnauba wax:corn oil); Gli:CC 6,67 (3 % of turmeric or corn starch, 1 % of soy lecitin, 1 % of glycerol and 0.15:0.85 % as ratio of carnauba wax:corn oil) and Gli:CC 20.1 (3 3 % of turmeric or corn starch, 1 % of soy lecithin, 2.61 % of glycerol and 0.13:0.87 % as ratio of carnauba wax:corn oil). Ratio of carnauba wax:corn oil showed great effect on physical behavior of films. As a general trend, it were observed statistic differences ($p<0.05$) among all films, independent of botanical source of starch used as polymeric basis. The exception of the trend were observed for films based on corn starch for data of water vapor permeability and for films based on turmeric starch for data from solubility. The films showed proximate values reported at literature for parameters of mechanical properties and higher values were observed for films based on corn starch than ones based on turmeric starch.

Key words: *Curcuma longa* L., turmeric starch, biodegradable film, carnauba wax.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Curva característica da relação tensão de tração versus deformação ou força de tração versus alongamento**.** 9
Figura 2 - Anatomia do grão de milho e suas partes. 13
Figura 3 - Estrutura química do glicerol..... 15
Figura 4 - Representação de polímeros e tensoativos na interface óleo - água de uma emulsão, sendo: (A) e (B) polímeros; (C) tensoativos. 16
Figura 5 - Diagrama de fluxo dos ensaios preliminares para determinação e ajustes das formulações frente às características físicas dos filmes pós-secagem. 20
Figura 6 - Diagrama do fluxo de produção e análises físicas para caracterização dos filmes biodegradáveis emulsionados. 21
Figura 7 - Micrografia obtida por microscopia eletrônica de varredura (MEV) mostrando a espessura de duas películas produzidas à base de amido de milho. 29
Figura 8 - Valores médios de solubilidade (% m/m) dos filmes a base de fécula de açafrão (A) e amido de milho (B). 30
Figura 9 - Valores médios de solubilidade (% m/m) dos filmes a base de diferentes fontes botânicas de amido. 32
Figura 10 - Valores médios de umidade (% m/m) dos filmes a base de fécula de açafrão (A) e amido de milho (B). 33
Figura 11 - Valores médios de umidade (% m/m) dos filmes a base de diferentes fontes botânicas de amido. 34
Figura 12 - Valores médios de permeabilidade ao vapor de água ($g.mm.h^{-1}.m^{-2}.kPa^{-1}$) dos filmes a base de fécula de açafrão (A) e amido de milho (B). 35
Figura 13 - Valores médios de permeabilidade ao vapor de água ($g.mm.h^{-1}.m^{-2}.kPa^{-1}$) dos filmes a base de diferentes fontes botânicas de amido. 38
Figura 14 - Valores médios de tensão máxima na ruptura dos filmes a base de fécula de açafrão. 40
Figura 15 - Valores médios de tensão máxima na ruptura (MPa) dos filmes a base de diferentes fontes botânicas de amido..... 42
Figura 16 - Aparência dos filmes elaborados a base de fécula de açafrão durante o período de ajuste das formulações (ensaios preliminares). 43
Figura 17 - Valores médios de elongação (%) dos filmes a base de fécula de açafrão (A) e amido de milho (B). 44

Figura 18 - Valores médios de elongação na ruptura (%) dos filmes a base de diferentes fontes botânicas de amido. 46
Figura 19 - Valores médios de módulo de elasticidade (MPa) dos filmes a base de fécula de açafrão. 48
Figura 20 - Valores médios de módulo de elasticidade (MPa) dos filmes a base de diferentes fontes botânicas de amido..... 50
Figura 21 - Valores médios de força na perfuração (N) dos filmes a base de fécula de açafrão (A) e amido de milho (B). 51
Figura 22 - Valores médios de força na perfuração (N) dos filmes a base de diferentes fontes botânicas de amido. 53
Figura 23 - Valores médios de deformação na perfuração (mm) dos filmes a base de fécula de açafrão (A) e amido de milho (B)..... 54
Figura 24 - Valores médios de deformação na perfuração (mm) dos filmes a base de diferentes fontes botânicas de amido..... 55
Figura 25 - Valores médios de luminosidade (L*) dos filmes a base de fécula de açafrão (A) e amido de milho (B)..... 56
Figura 26 - Valores médios de luminosidade (L*) dos filmes a base de diferentes fontes botânicas de amido. 58
Figura 27 - Valores médios de opacidade (Y) dos filmes a base de fécula de açafrão (A) e amido de milho (B)..... 59
Figura 28 - Valores médios de opacidade (Y) dos filmes a base de diferentes fontes botânicas de amido. 61
Figura 29 - Valores médios de Croma (*C**) dos filmes a base de fécula de açafrão (A) e amido de milho (B)..... 63
Figura 30 - Valores médios de Croma (*C**) dos filmes a base de diferentes fontes botânicas de amido. 64
Figura 31 - Fotografias de filmes preparados a partir de fécula de açafrão (A, B e C) e amido de milho (D, E e F). 65
Figura 32 - Valores médios de Ângulo hue (h°) dos filmes a base de fécula de açafrão (A) e amido de milho (B)..... 66
Figura 33 - Valores médios de Ângulo hue (h°) dos filmes a base de diferentes fontes botânicas de amido. 67

Figura 34 - Microscopia eletrônica de varredura da superfície dos filmes biodegradáveis a base de amido de milho. Figura A e A' (Gli:CC 28,2); B e B' (Gli:CC 7,5); C e C' (Gli:CC 6,86); D e D' (Gli:CC 2,5).....70
Figura 35 - Microscopia eletrônica de varredura da área de secção transversal dos filmes biodegradáveis a base de amido de milho. Figura A e A' (Gli:CC 28,2); B e B' (Gli:CC 7,5); C e C' (Gli:CC 6,86); D e D' (Gli:CC 2,5). 71
Figura 36 - Modelo de disposição dos discos de filmes sobre o ágar (A), Placa pronta para incubação contendo Ágar BD *Salmonella Shigella* (B). 72
Figura 37 - Atividade antimicrobiana dos filmes produzidos a base de amido de milho e fécula de açafrão. A e B placas inoculadas com *Aspergillus niger* e placas C e D inoculadas com *Salmonella spp*.....73

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Variáveis independentes e concentrações dos componentes da solução filmogênica dos filmes de amido de milho para um estudo univariado com delineamento inteiramente casualizado.....22
Tabela 2 - Variáveis independentes e concentrações dos componentes da solução filmogênica dos filmes de fécula de açafrão para um estudo univariado com delineamento inteiramente casualizado.....22
Tabela 3 - Valores médios de espessura de filmes emulsionados produzidos a base de amido de milho e fécula de açafrão com diferentes razões de Glicerol:Cera de carnaúba (Gli:CC). .28

SUMÁRIO

RESUMO IX
ABSTRACT X
LISTA DE FIGURAS XI
LISTA DE TABELAS XIV
1 INTRODUÇÃO 1
2 REVISÃO DE LITERATURA 2
2.1 – EMBALAGENS 2
2.2 – FILMES COMESTÍVEIS 2
2.2.1 – Agentes Antimicrobianos 3
2.3 – FILMES EMULSIONADOS 4
2.4 – CARACTERÍSTICAS DOS FILMES COMESTÍVEIS 6
2.4.1 Espessura 6
2.4.2 Homogeneidade e Aparência 6
2.4.3 Sabor e Aroma 6
2.4.4 Cor e Opacidade 7
2.5 PROPRIEDADES DOS FILMES COMESTÍVEIS 7
2.5.1 Propriedades de barreira 7
2.5.2 Propriedades mecânicas 8
2.5.3 Solubilidade em água 9
2.5.4 Microestrutura 10
2.6 AMIDO 10
2.6.1 Gelatinização 11
2.6.2 Retrogradação 11
2.6.3 Fécula de açafrão 12
2.6.4 Amido de milho 13
2.7 PLASTIFICANTES 13
2.7.1 Glicerol 14
2.7.2 Lipídios 15
2.7.3 Emulsificantes 15
3 OBJETIVOS 17
3.1 OBJETIVO GERAL 17
3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS 17
4 MATERIAL E MÉTODOS 18
4.1 AMIDO DE MILHO 18

4.2 EXTRAÇÃO DA FÉCULA DE AÇAFRÃO 18
4.2.1 Caracterização da fécula de açafrão 18
4.2.2 Atividade antimicrobiana dos filmes 18
4.3 PRODUÇÃO DOS FILMES BIODEGRADÁVEIS EMULSIONADOS 19
4.3.1 Ensaios Preliminares 19
4.3.2 Etapa de seleção das variáveis 21
4.3.3 Definição das formulações 22
4.3.4 Espessura 23
4.3.5 Opacidade e cor 23
4.3.6 Solubilidade em água 24
4.3.7 Microscopia Eletrônica de Varredura da seção de ruptura e superfície do filme 25
4.3.8 Propriedades Mecânicas 25
4.3.9 Permeabilidade ao Vapor de Água 26
4.4 ANÁLISE ESTATÍSTICA 27
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO 28
5.1 ENSAIOS PRELIMINARES 28
5.2 ESPESSURA 28
5.3 SOLUBILIDADE EM ÁGUA 29
5.3.1 Umidade 32
5.4 PERMEABILIDADE AO VAPOR DE ÁGUA 35
5.5 AVALIAÇÃO FÍSICA DOS FILMES 39
5.5.1 Propriedades Mecânicas 39
5.5.2 Propriedades ópticas 55
5.5.3 Microscopia eletrônica de varredura 68
5.6 AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIMICROBIANA DOS FILMES 72
6 CONCLUSÃO 75
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS 76

1 INTRODUÇÃO

A embalagem tornou-se um instrumento indispensável no processo de fabricação de alimentos. A fim de atender à demanda da indústria de alimentos, houve um notável crescimento no desenvolvimento das embalagens nas últimas décadas. Não obstante, a preocupação com a salubridade e segurança dos alimentos tem aumentado quase que na mesma velocidade. Uma grande preocupação geralmente incide sobre aditivos alimentares, tanto aqueles adicionados intencionalmente aos alimentos quanto aqueles provenientes de migração do material da embalagem ou do equipamento do processamento. Diante dessa problemática, as embalagens biodegradáveis representam uma alternativa aos materiais tradicionais no que diz respeito à reciclagem (LAU, WONG, 2000).

Entre os polímeros naturais, o amido tem se tornado um dos candidatos mais promissores na substituição dos filmes plásticos devido à combinação de preço atrativo, disponibilidade e renovabilidade. Amidos de diferentes fontes botânicas, como milho, trigo, mandioca, inhame, batata, entre outros, vem sendo investigados quanto às suas propriedades filmogênicas (GALDEANO, 2007).

A funcionalidade dos revestimentos comestíveis pode ser expandida por antimicrobianos incorporados para proteger os produtos alimentares de contaminação microbiológica, estender a vida de prateleira e aumentar a segurança (MASSILIA, MELGAR, BELLOSO, 2008).

A curcumina é um composto fenólico derivado da raiz de cúrcuma (*Curcuma longa* L.) (GOTO, 1993). Este composto tem sido utilizado por centenas de anos em países asiáticos como um aditivo alimentar para realçar o sabor e a cor. Também, é atualmente utilizado nas indústrias farmacêuticas e alimentares. Vários estudos têm confirmado as atividades antioxidantes, anti-inflamatórias, antimicrobianas e anticancerígenas da cúrcuma, o que tem atraído muita atenção devido ao seu potencial bioativo fundamental. No entanto, ainda há apenas informações limitadas sobre a utilização da curcumina incorporada a películas de embalagem e revestimentos (NAGHETINI, 2006).

Considerando as diversas propriedades funcionais tecnológicas, bioativas e farmacêuticas do açafrão, buscou-se avaliar a capacidade do amido como base polimérica para formação de filme, aliado a presença da curcumina no amido e sua capacidade antimicrobiana, objetivou-se com este trabalho avaliar as propriedades mecânicas, ópticas, de barreira e microbiológicas de filmes emulsionados biodegradáveis obtidos à base de fécula de açafrão, comparados ao de amido de milho.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 – EMBALAGENS

A embalagem tornou-se um elemento indispensável no processo de fabricação de alimentos. Diferentes tipos de aditivos como antioxidantes, estabilizantes, lubrificantes, anti-estáticos e anti-bloqueadores, têm sido desenvolvidos para melhorar o desempenho dos materiais de embalagens poliméricas. As embalagens tornam os alimentos mais convenientes e dá garantia de maior segurança alimentar no que diz respeito a micro-organismos, alterações biológicas e químicas, que só os alimentos embalados têm e, assim, podem desfrutar de uma vida útil mais longa (LAU, WONG, 2000). Semelhante às embalagens de alimentos, que já nos anos 5000 a.C. existiam na forma de cestas e bolsas confeccionadas com produtos de origem animal e vegetal, além de primitivos recipientes de cerâmica, os filmes comestíveis e revestimentos recentes são o aperfeiçoamento de técnicas aplicadas desde longa data. O revestimento de laranjas e limões frescos com cera para retardar a desidratação foi praticado na China nos séculos XII e XIII. O processo de envolver alimentos em gordura com o intuito de reduzir a perda de umidade foi usado na Inglaterra no século XVI. Na década de 50, emulsões de cera de carnaúba foram desenvolvidas para o revestimento de frutas e vegetais frescos. Mesmo assim, foram nessas últimas décadas que ampliaram-se as pesquisas e a produção de filmes de revestimento para uso na indústria de alimentos, visando melhoria da qualidade e extensão da vida de prateleira de vários tipos de produtos (MAIA, PORTE, SOUZA, 2000).

2.2 – FILMES COMESTÍVEIS

Os filmes comestíveis e revestimentos têm recebido atenção considerável nos últimos anos devido as suas vantagens sobre os filmes sintéticos. A principal vantagem de películas comestíveis sobre sintéticos tradicionais é que elas podem ser consumidas com os produtos embalados. Películas comestíveis são produzidas exclusivamente a partir de materais renováveis, ingredientes alimentares e, por conseguinte, estão previstos para degradar mais prontamente do que os materiais poliméricos (BOURTOOM, 2008). A melhoria da soma de conhecimento sobre filmes comestíveis e revestimentos, adquiridas através de pesquisa e desenvolvimento de produtos, bem como os avanços na ciência dos materiais e tecnologia de processamento, tem ocorrido. O potencial de filmes comestíveis para controlar a transferência

de água, melhorar a qualidade dos alimentos e aumentar a vida de prateleira tem recebido crescente atenção dos pesquisadores e da indústria (KROCHTA, 2002). No entanto, a busca por novas fontes renováveis, materiais provenientes de fontes naturais, é uma tarefa importante quando novas funcionalidades são procuradas, e (ou) novos usos para materiais menos nobres devem ser aplicados por razões econômicas e ambientais (SOUZA, 2010). Durante as décadas de 70 e 80, estudaram-se os efeitos da incorporação de amidos nas propriedades funcionais de materiais sintéticos, em especial, de embalagens, de modo a torná-las mais degradáveis. Entretanto, apesar de declarados "biodegradáveis", o teor de amido nesses materiais era pequeno, sendo o único componente assimilável pelos micro-organismos. Na realidade, o que se produziram foram materiais desintegráveis, sem efetivamente resolver o problema, uma vez que os fragmentos continuavam a se acumular no ambiente. Os materiais biodegradáveis devem manter-se estáveis durante seu processamento, armazenamento e uso; e devem ser devolvidos no meio ambiente, quando seu uso já não for mais necessário (SAKANAKA, 2007).

Estudos têm revelado, entre os polímeros naturais, o amido como um dos candidatos mais promissores devido à combinação de preço atrativo, disponibilidade e renovabilidade. Amidos de diferentes fontes botânicas, como milho, trigo, mandioca, inhame, batata, entre outros, vem sendo investigados quanto suas propriedades filmogênicas (GALDEANO, 2007).

Revestimentos estão sendo utilizados comercialmente para reduzir a perda de umidade, evitar danos físicos, melhorar a aparência do produto e transportar ingredientes alimentares, incluindo agentes anti-escurecimento, corantes, aromas, nutrientes, especiarias e antimicrobianos. Portanto, o uso de revestimentos comestíveis em uma vasta gama de produtos alimentares, recebe um grande interesse por parte da indústria alimentar (MASSILIA, MELGAR, BELLOSO, 2008).

2.2.1 – Agentes Antimicrobianos

Uma das principais fontes de investigação na busca por novas substâncias com potencial antimicrobiano são as espécies vegetais, visto que possuem como principal mecanismo de defesa de seus predadores (fungos, bactérias, vírus, parasitas, insetos, moluscos e animais superiores) a produção de compostos originados das vias metabólicas secundárias das plantas (LIMA, 2001).

Os antimicrobianos naturais constituem, cada vez mais, uma nova forma de garantir alimentação segura, mantendo inalterada a qualidade dos alimentos. Antimicrobianos são definidos como substâncias químicas que inibem o crescimento microbiano, sendo denominados bacteriostáticos, e os que destroem os micro-organismos, chamados bactericidas.

Esses agentes podem ser produzidos partindo-se de outros micro-organismos, como bactérias e fungos, obtidos de plantas ou também podem ser parcialmente sintetizados (SILVA, 1999).

Dorman e Deans (2000) sugerem que a atividade antimicrobiana se dá pelo rompimento das paredes celulares das bactérias que ocorre devido ao caráter lipofílico dos extratos que se acumulam nas membranas. Atualmente, existem vários métodos para avaliar a atividade antibacteriana e antifúngica dos extratos vegetais. Os mais conhecidos incluem método de difusão em ágar, método de macro diluição e micro diluição. Para determinar a CMI (Concentração Mínima Inibitória) ou a Concentração Mínima Bactericida (CMB) de extratos ativos de plantas, tem-se utilizado um método sensível de micro diluição desenvolvido por Eloff em 1998 (OSTROSKY et al., 2008).

Meena e Vijay (1994) estudaram a atividade antimicrobiana de óleos essenciais de condimentos sobre uma série de microrganismos, utilizando o método de difusão em disco de papel.

O teste de difusão em ágar, também chamado de difusão em placas, é um método físico, no qual um micro-organismo é testado contra uma substância biologicamente ativa em meio de cultura sólido e relaciona o tamanho da zona de inibição de crescimento do micro-organismo com a concentração da substância ensaiada (PINTO; KANEKO; OHARA, 2003).

O teste de difusão em disco é aceito pelo FDA (*Food and Drug Administration*) e estabelecido como padrão pelo NCCLS (*National Committe for Clinical Laboratory Standards*) (BARRY; THORNSBERRY, 1991).

O método de disco-difusão foi idealizado por Bauer et al. (1966) e, desde então, é um dos métodos mais utilizados nos laboratórios de microbiologia no Brasil. O princípio deste método baseia-se na difusão, através do ágar, de um antimicrobiano impregnado em disco de papel-filtro. A difusão do antimicrobiano leva à formação de um halo de inibição do crescimento bacteriano, cujo diâmetro é inversamente proporcional à concentração inibitória mínima (MIC) (JORGENSEN; TURNIDGE; WASHINGTON, 1999).

O "impacto antimicrobiano" (AI) é um novo termo que combina os efeitos da concentração inibitória mínima (MIC) e da quantidade do agente antimicrobiano de uma substância (LIU; YANG, 2012).

2.3 – FILMES EMULSIONADOS

Filmes emulsionados são caracterizados pela presença de lipídios na matriz contínua e são obtidos através de uma homogeneização do lipídio na solução filmogênica, formando uma

emulsão (SHERWIN; SMITH; FULCHER, 1998). Os lipídios são utilizados devido ao seu caráter hidrofóbico e às suas propriedades físico-químicas. Assim, a estrutura química, o grau de saturação, o estado físico (sólido ou líquido), o tamanho da cadeia e a dimensão dos cristais, determinam o grau de eficiência na interação da partícula lipídica com os outros componentes do filme, como proteínas e polissacarídeos (GALLO et al., 2000; McHUGH, 2000; CALLEGARIN et al., 1997; GONTARD et al., 1994 a).

A natureza química dos lipídios modifica as propriedades dos filmes biodegradáveis, como o comprimento da cadeia carbônica. A polaridade afeta a incorporação dos componentes hidrofóbicos na solução filmogênica, de modo que, quanto maior o número de carbonos na estrutura lipídica, mais difícil será a incorporação dos compostos lipídicos na solução proteica (MORILLON et al., 2002). Alguns autores investigaram o efeito da adição de ácidos graxos com tamanhos de cadeias diferentes nos filmes a base de metilcelulose, onde os filmes emulsionados contendo ácido araquídico (22C) possuem maior permeabilidade ao vapor d'água (PVA) que os filmes contendo ácidos palmítico (16C) ou esteárico (18C). Este efeito da PVA pode ser explicado pelo fato de que a cadeia longa do lipídio induz a formação de uma estrutura mais heterogênea na rede polimérica, induzindo a maior passagem do vapor de água através do filme (MORILLON et al., 2002).

Ácidos graxos insaturados são menos eficientes no controle de migração de umidade, por serem mais polares que os lipídios saturados (FERREIRA, 2006).

A adição de componentes lipídicos em concentrações superiores (cerca de 20 %) levou ao aumento da transferência de vapor de água em filmes de glúten de trigo. Segundo Gontard et al. (1994 a), a distribuição dos lipídios na matriz estrutural pode ter sido prejudicada, formando-se zonas com maior concentração do componente apolar, que por sua vez podem ter proporcionado o aparecimento de rachaduras e canais preferenciais, através dos quais o vapor de água difundiu-se na estrutura dos filmes.

As forças intermoleculares de repulsão entre as substâncias hidrofóbicas e hidrofílicas nos filmes emulsionados dificultam a inclusão dos glóbulos de lipídios na estrutura filmogênica, apresentando heterogeneidade na distribuição e no tamanho dos componentes hidrofóbicos. Devido a esta dificuldade, os sistemas emulsionados são instáveis e a adição de agentes emulsificantes ou surfactantes é necessária para melhorar esta estabilidade (FERREIRA, 2006). Nos filmes biodegradáveis emulsionados, elaborados a partir de proteínas ou polissacarídeos e um lipídio, suas propriedades mecânicas e de barreira são afetadas por vários fatores, como a velocidade de agitação, a temperatura, a possibilidade de formação de espuma na etapa de

preparo da emulsão, causando alterações no diâmetro, na homogeneidade e na distribuição e inclusão dos glóbulos de lipídios na matriz proteica (GALLO et al., 2000).

2.4 – CARACTERÍSTICAS DOS FILMES COMESTÍVEIS

Diversas características físicas de filmes comestíveis estão envolvidas no parâmetro de qualidade, como a espessura, homogeneidade, sabor, aroma, cor e opacidade.

2.4.1 Espessura

A espessura do filme é definida segundo as necessidades de utilização como embalagem, considerando-se a natureza, o volume e o peso do alimento a ser embalado e as condições de armazenamento. O controle da espessura é importante para sua uniformidade, repetitividade das medidas de suas propriedades funcionais e validade das comparações entre as propriedades dos filmes biodegradáveis (GENNADIOS; WELLER; TESTIN, 1993). Uma não uniformidade na espessura do filme produzido pode acarretar problemas mecânicos e de conservação. A espessura deve ser fixada de acordo com sua utilização final e também com o tipo de alimento a ser embalado (SARMENTO, 1999). Cuq et al. (1996) observaram um aumento linear da resistência mecânica dos filmes biodegradáveis com o aumento da espessura. Segundo Park e Chinnan (1995), a permeabilidade ao vapor de água, ao oxigênio e ao gás carbônico aumentavam conforme a espessura dos filmes diminuía.

2.4.2 Homogeneidade e Aparência

A homogeneidade está relacionada com a aparência do filme e pode ser avaliada por observações visuais e tácteis. Após o processo de secagem, os filmes biodegradáveis devem apresentar uma superfície homogênea e contínua, com ausência de partículas insolúveis, rupturas, poros abertos e zonas de opacidade ou de cores diferenciadas (CARVALHO, 1997).

2.4.3 Sabor e Aroma

Em certos casos pode haver interesse tecnológico em adicionar componentes que promovam sabor e/ou aroma nos filmes biodegradáveis que são aplicados em alimentos. Filmes a base de hidrocoloides apresentam geralmente características sensoriais mais neutras que os formados de lipídios ou derivados, os quais podem apresentar sabor residual (GONTARD; GUILBERT, 1996), podendo alterar as características originais de um produto alimentício.

2.4.4 Cor e Opacidade

Os filmes devem apresentar opacidade e coloração atrativas e não devem sofrer alteração de cor com o tempo de armazenamento, para não prejudicar a aceitação do produto acondicionado. A transparência dos filmes e coberturas comestíveis pode ser avaliada pela opacidade que influencia o potencial de aplicação dos filmes biodegradáveis, uma vez que está relacionada com a aceitabilidade. O uso de material lipídico, como cera de carnaúba ou cera de abelha deve ser limitado (GONTARD et al., 1994 a), pois sua adição muda a aparência dos filmes de hidrocoloides, que se tornam mais opacos (KAMPER; FENNEMA, 1984). Gallo et al. (2000) observaram que filmes emulsionados de metilcelulose com cera de parafina eram cinco vezes menos transparentes que o mesmo filme sem a adição do lipídio.

2.5 PROPRIEDADES DOS FILMES COMESTÍVEIS

As propriedades de barreira são aspectos de grande importância para os filmes e coberturas comestíveis, que podem atuar como barreira ao vapor de água e aos gases, solutos, óleos, gorduras e aromas. Outro aspecto a ser considerado, o teor de umidade, é um fator crítico e está vinculado à manutenção da aparência, controle microbiano e de textura e consistência do produto. O conhecimento de todas essas propriedades é importante para determinar a possível aplicação dos filmes comestíveis e biodegradáveis como materiais de embalagem.

2.5.1 Propriedades de barreira

As propriedades de barreira dos filmes comestíveis dependem do tipo de produto alimentício que será coberto ou embalado (DEBEAUFORT; QUEZADA-GALLO; VOILLEY, 1998). A migração de vapor de água é um dos principais fatores de alteração da qualidade sensorial e da estabilidade da estocagem (GONTARD; GUILBERT, 1994 b). A permeabilidade dos filmes é a medida obtida através da passagem de um permeante de um lado do filme para outro quando ambos são expostos a diferentes concentrações de permeante em um determinado tempo, sendo importante estabelecer a temperatura, umidade relativa, espessura e diferença de pressão parcial. O ganho de peso de uma célula utilizada para a determinação da permeabilidade ao vapor de água é registrado a partir da passagem de vapor de água através do filme, onde a umidade relativa é maior, para aquele onde a umidade é menor.

A permeabilidade de gases e vapores em filmes comestíveis pode ocorrer por dois mecanismos: difusão capilar e difusão molecular. A difusão capilar é dominante em materiais porosos ou com alguma imperfeição. A difusão molecular envolve a solubilidade do gás

permeante no filme, difusão através do filme e dessorção do outro lado do filme. O processo de difusão em sistema polímero/solvente depende do tamanho, da natureza química, da configuração e da polaridade da molécula penetrante. Os fatores que afetam os movimentos das cadeias de polímeros incluem forças de atração entre cadeias como pontes de hidrogênio e interações tipo Van der Waals, grau de interação molecular e taxa de cristalização (KESTER; FENNEMA, 1986).

2.5.2 Propriedades mecânicas

Tensão na ruptura e elongação são propriedades mecânicas apresentadas por um filme comestível. A tensão na ruptura é a máxima tensão suportada pelo filme até o momento de sua ruptura. A elongação é a medida de maleabilidade do filme e pode ser considerada como uma característica que define a habilidade do filme em deformar antes de ocorrer à ruptura (FERREIRA, 2006).

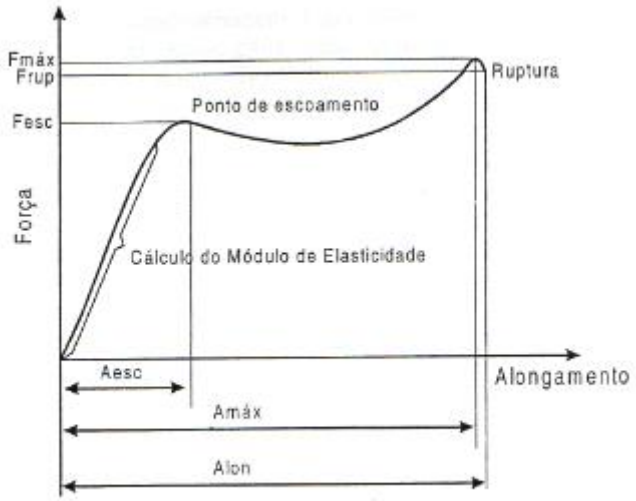
As propriedades mecânicas dos filmes ou coberturas dependem da natureza do material filmogênico utilizado, bem como da coesão estrutural deste. Em filmes comestíveis a base de proteína, o grau de coesão dependerá da aptidão da proteína para formarem fortes e/ou numerosas ligações a nível molecular, das interações entre as proteínas e os demais componentes (solvente, plastificantes, lipídios e outros aditivos dispersos no meio da matriz); do processo de obtenção e do processo de eliminação do solvente (secagem) (CHAMBI, 2004).

Filmes comestíveis preparados à base de hidrocoloides possuem elevada resistência, enquanto os filmes de lipídios caracterizam-se por apresentarem baixa resistência mecânica (KESTER; FENNEMA, 1986). Alguns lipídios, como acetoglicerídios, ácidos graxos e monoglicerídios são utilizados para aumentar a flexibilidade dos filmes poliméricos, pois provocam uma diminuição das forças moleculares entre as cadeias poliméricas adjacentes. A desvantagem é que a adição de material hidrofóbico aos filmes aumenta sua permeabilidade a gases (CALLEGARIN et al., 1997).

As propriedades de tração são úteis para a identificação e caracterização de filmes flexíveis, com aplicação no desenvolvimento, na especificação e na avaliação da qualidade destes materiais. O ensaio envolve a separação, a uma velocidade constante, de duas garras que prendem as extremidades de um corpo-de-prova, registrando-se ao longo do ensaio a força ou a resistência que o material oferece a deformação (alongamento) (SARANTÓPOULOS et al., 2002).

A Figura 1 apresenta uma curva característica da relação tensão de tração *versus* deformação. A deformação é o alongamento relativo do corpo-de-prova em relação a seu

comprimento original. Observa-se que, inicialmente, o material oferece resistência crescente à solicitação de tração, a qual provoca seu alongamento. A partir de certo ponto, o aumento de resistência passa a ser menor para um mesmo aumento de deformação até o ponto de escoamento (*yield point*), a partir do qual é possível alongar o filme sem que este responda com um aumento de resistência. Continuando o alongamento, o material resiste até que ocorre sua ruptura (SARANTÓPOULOS et al., 2002).



$F_{máx}$ = força máxima
F_{rup} = força na ruptura
F_{esc} = força no ponto de escoamento
Alon = alongamento no ponto de ruptura
$A_{máx}$ = alongamento na máxima força
A_{esc} = alongamento no ponto de escoamento

Figura 1 - Curva característica da relação tensão de tração versus deformação ou força de tração versus alongamento**.**
FONTE: SARANTÓPOULOS et al. (2002).

2.5.3 Solubilidade em água

Segundo Gontard, Guilbert e Cuq (1992), a solubilidade em água é uma importante propriedade dos filmes comestíveis, tanto nas suas aplicações, como na proteção dos alimentos onde a atividade de água é alta, ou ainda quando o filme entra em contato com a água durante o processamento do alimento embalado. A solubilidade, além disso, também influencia a propriedade de barreira ao vapor de água dos filmes. Para se obter baixa permeabilidade ao vapor de água (dentro de uma grande faixa de umidade relativa), torna-se necessário a utilização de material insolúvel ou pouco solúvel em água (SMAILI, 2001).

2.5.4 Microestrutura

A caracterização microscópica dos filmes é importante quando uma melhor compreensão do comportamento do filme é desejada. A visualização a partir da microscopia eletrônica de varredura permite identificação da incorporação dos materiais formando uma estrutura homogênea ou, ainda, a separação dos mesmos originando uma estrutura heterogênea (FERREIRA, 2006). Yang e Paulson (2000) verificaram um aumento da irregularidade da superfície dos filmes de gelana com a adição da blenda de ácidos esteárico e palmítico.

2.6 AMIDO

O amido é constituído por dois tipos de polímeros, a amilose e a amilopectina. A amilose é um polímero linear com unidades de D-glicopiranose ligadas por ligações α (1-4). A amilopectina é altamente ramificada, com unidades de D-glicopiranose ligadas em α (1-4) e α (1-6) (PARKER, RING, 2001).

O amido está armazenado sob a forma de grânulos, onde as frações (amilose e amilopectina) estão arranjadas na direção radial. A parte linear das moléculas de amilopectina formam estruturas helicoidais duplas, estabilizadas por ligações de hidrogênio, dando origem às regiões cristalinas dos grânulos. A região amorfa é composta pelas cadeias de amilose e pelos pontos de ramificações da amilopectina (MEADOWS, 1998). Essa organização confere aos grânulos um caráter parcialmente cristalino, com graus de cristalinidade que variam de 20 a 45 % (YOUNG, 1984).

Os diferentes tipos de estrutura cristalina nos grânulos de amido são dos tipos A, B, C, V e E (THOMAZ, ATWELL, 1999; vanSOEST, VLIEGENTHART, 1997). As cadeias curtas A da amilopectina estão associadas com cristalinidade tipo A (*monoclinic lattice*), cadeias longas A, com cristalinidade tipo B (*hexagonal lattice*), enquanto comprimento intermediário da cadeia A, com cristalinidade tipo C (TANG, WATANATBE, MITSUNAGA, 2002).

Amidos de cereais apresentam estruturas cristalinas tipo A, com duplas hélices densamente empacotadas na unidade celular. Os tubérculos e cereais com alto teor de amilose produzem padrão tipo B, enquanto que amidos de legumes formam um padrão intermediário (tipo C) que, provavelmente, resulta das mistura dos tipos A e B. Se o amido recristaliza na presença de ácidos graxos ou álcool de cadeia longa, um perfil tipo V é obtido (THIRÉ, SIMAO, ANDRADE, 2003). A estrutura tipo V é atribuída ao complexo onde se forma uma hélice com

um exterior hidrofílico e um interior hidrofóbico contendo moléculas não polares (THOMAZ, ATWELL, 1999).

Os tipos de cristais diferem na densidade de empacotamento e na quantidade de água (THOMAZ, ATWELL, 1999). As estruturas tipo A são densamente empacotadas, com somente 4 moléculas de água na unidade celular, enquanto que a estrutura tipo B é mais aberta, com 36-42 moléculas de água por unidade celular (VANDEPUTTE, DELCOUR, 2004).

Um dos fatores mais importantes para que um amido seja tipo A, B ou C é o seu comprimento médio de cadeia. Amilopectina de amidos do tipo B tem maiores proporções de cadeias mais longas que amidos tipo A (VANDEPUTTE, DELCOUR, 2004).

2.6.1 Gelatinização

Quando uma dispersão de amido é aquecida, os grânulos gradualmente absorvem água, intumescem, perdem sua cristalinidade e produzem pastas viscosas que, ao se resfriarem, formam géis. Além da temperatura de gelatinização, os grânulos altamente intumescidos desintegram, liberando amilose e amilopectina na solução (SANDERSON, 1981; THIRÉ, SIMAO, ANDRADE, 2003). Se o aquecimento continua, a solubilização dos polímeros aumenta até que o grânulo perca sua integridade estrutural, podendo sofrer redução na viscosidade (THOMAZ, ATWELL, 1999).

Uma série de eventos ocorre durante a gelatinização, muitos dos quais são considerados sinônimos deste processo.

Estes incluem intumescimento dos grânulos, perda irreversível da birrefringência, solubilização de α-glucanas e desenvolvimento de viscosidade (ATWELL, HOOD, LINEBACK, 1988; CRUZ, 2000).

A gelatinização não ocorre somente com tratamento térmico na presença de água. Pressão, cisalhamento, solvente (amônia líquida, álcali) e moagem também podem gelatinizar o amido (SOPADE, HALLEY, JUNMING, 2004).

2.6.2 Retrogradação

As moléculas de amilose, em solução, devido à sua linearidade, apresentam a tendência a se orientar paralelamente, aproximando-se o suficiente para que se formem ligações de hidrogênio entre hidroxilas de polímeros adjacentes. Como resultado, a afinidade do polímero por água é reduzida, favorecendo a formação de pastas opacas e filmes resistentes. Este fenômeno de associação intermolecular das cadeias é chamado de retrogradação, que geralmente vem acompanhada de exsudação de umidade, fenômeno denominado sinerese. Em

sua fase inicial, duas ou mais cadeias podem formar uma junção simples, o qual pode desenvolver outras regiões ordenadas e, sob condições favoráveis, uma organização cristalina (SANDERSON, 1981; WURZBURG, 1986; THOMAZ, ATWELL, 1999).

A amilopectina, devido ao tamanho da sua cadeia e à natureza ramificada, não tem grande tendência a se orientar e formar um número significativo de ligações de hidrogênio. Como resultado, forma pastas claras e estáveis e não forma filme resistente como o da amilose (WURZBURG, 1986).

Pode ser dito, portanto, que a retrogradação é o inverso da gelatinização onde o amido é convertido de um estado hidratado e não cristalino a um estado organizado (MEADOWS, 1998).

A retrogradação é governada por três etapas: nucleação, propagação e maturação. A nucleação e propagação são eventos em estado líquido uma vez que requerem mobilidade orientacional das cadeias poliméricas. O processo de recristalização somente pode ocorrer no intervalo de temperatura compreendido entre a temperatura de transição vítrea (T_g) e a temperatura de fusão (T_m) (GALDEANO, 2007).

A cinética de retrogradação exibe uma estreita dependência com a temperatura, sendo que a temperatura ótima para a ocorrência do fenômeno encontra-se próximo a 4 °C (ELIASSON, 2004). Outros fatores que influenciam a velocidade de retrogradação são fonte de amilose, sua concentração e sua massa molar, pH e composição do solvente (DUCKWORTH, 1975).

A retrogradação do amido ocorre em dois processos cineticamente distintos: (1) rápida reassociação da amilose e (2) lenta recristalização das ramificações da amilopectina (BILIADERIS, 1992; PERDON et al., 1999).

2.6.3 Fécula de açafrão

O açafrão (*Curcuma longa*) é um rizoma originário do Sudeste da Ásia e sua utilização como planta condimentar ou especiaria tem sido relatada como iniciada há milênios. O amido não tem sido muito utilizado pela indústria, porque sua extração é considerada como uma atividade secundária. Os produtos principais são a curcumina e o óleo essencial os quais são usados como condimento, corante natural e em aplicações farmacêuticas. Os rizomas são secos e moídos e do pó se extrai 2,5-5 % de óleo essencial, 2-8 % de curcumina e 25 a 70 % de amido (GOTO, 1993). Portanto, devido ao elevado teor de amido e ao fato do processo de extração não interferir na obtenção dos produtos comerciais, torna-se promissor este rizoma como uma matéria-prima para a indústria de amido (LEONEL, CEREDA, 2002).

2.6.4 Amido de milho

O milho é produzido em quase todos os continentes, sendo sua importância econômica caracterizada pelas diversas formas de sua utilização, que vão desde a alimentação animal até a indústria de alta tecnologia, como a produção de filmes e embalagens biodegradáveis. Cerca de 70 % da produção mundial de milho é destinada à alimentação animal, podendo este percentual chegar a 85 %, em países desenvolvidos. Em termos gerais, apenas 15 % de toda a produção mundial destina-se ao consumo humano, de forma direta ou indireta (PAES, 2006).

Os grãos do milho são, geralmente, amarelos ou brancos, podendo apresentar colorações variando desde o preto até o vermelho. O peso individual do grão varia, em média, de 250 a 300 mg e sua composição média em base seca é 72 % de amido, 9,5 % proteínas, 9 % fibra (a maioria resíduo detergente neutro) e 4 % de óleo. Conhecido botanicamente como uma cariopse, o grão de milho é formado por quatro principais estruturas físicas: endosperma, gérmen, pericarpo (casca) e ponta (Figura 2), as quais diferem em composição química e também na organização dentro do grão (PAES, 2006).

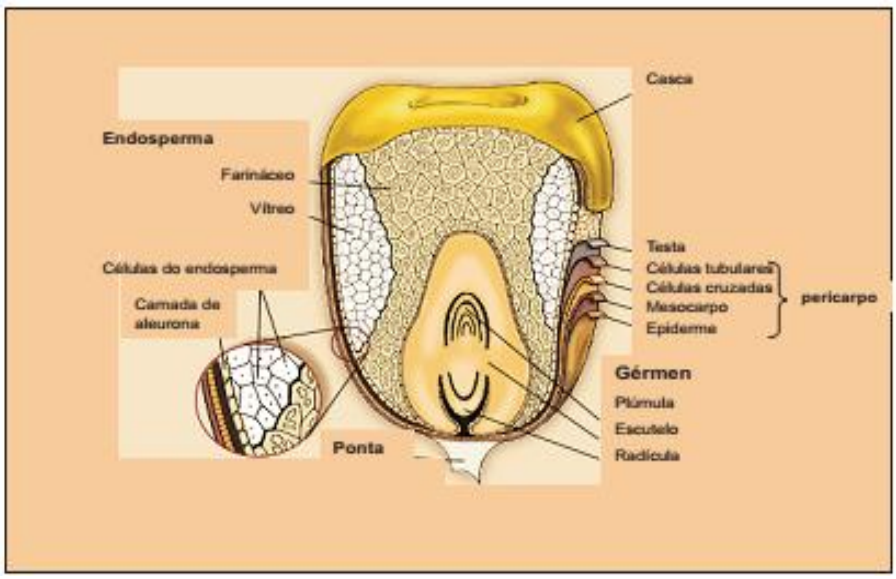


Figura 2 - Anatomia do grão de milho e suas partes.
FONTE: Paes (2006).

2.7 PLASTIFICANTES

Os plastificantes são substâncias que, em sua maioria, apresentam caráter hidrofílico. Pelo fato de serem moléculas pequenas, são facilmente acomodadas entre as cadeias poliméricas devido à habilidade de reduzir a formação das ligações de hidrogênio entre essas cadeias, e de atrair a água para o sistema de proteína plastificado (SOTHORNVIT; KROCHTA,

2000). Desse modo, aumentam a mobilidade das cadeias de polímeros, melhorando a flexibilidade e extensibilidade do filme (GUILBERT; BIQUET, 1989; KESTER; FENNEMA, 1986), evitando quebra ou rompimento destes, durante o manuseio e armazenamento. Os plastificantes são reportados como auxiliadores da formação de ligações cruzadas das cadeias de proteínas do leite como dos caseinatos (BRAULDT, D.; D'APRANO, G.; LACROIX, M., 1997).

Dentre os plastificantes mais comumente usados pode-se encontrar mono, di e oligossacarídios (glicose, mel), os polióis (sorbitol, glicerol, derivados de glicerina e glicóis) e lipídios (ácidos saturados, monoglicerídios e derivados de éster, fosfolipídios e surfactantes). Os surfactantes têm recebido atenção como plastificante em potencial, sendo que o efeito plasticizante desses componentes se baseia na redução das interações via hidrogênio por aumento da repulsão de cargas entre as moléculas de proteínas vizinhas (SAKANAKA, 2002). No entanto, parecem ser ineficientes quando usados sozinhos, mas quando mesclados com outros plastificantes, podem melhorar algumas propriedades dos filmes biodegradáveis por apresentar menor efeito na permeabilidade ao vapor de água, apesar de serem menos efetivos em modular as propriedades mecânicas do que os polióis (FAIRLEY et al., 1996).

Uma característica fundamental do plastificante é a compatibilidade com o polímero e o solvente utilizado, ou seja, devem ser miscíveis, para que não ocorra uma separação de fase e exclusão física do plastificante durante o processo de secagem, ou armazenamento, do filme. Geralmente, a concentração de plastificante usado na elaboração do filme varia de 10 a 60 g.100 g^{-1} de base seca do polímero, dependendo da rigidez desejável no filme (SAKANAKA, 2002).

2.7.1 Glicerol

O glicerol é o plastificante mais amplamente utilizado para melhorar as propriedades mecânicas e transparência dos filmes comestíveis. Os grupos hidroxila presentes no glicerol são responsáveis por interações inter e intramolecular (ligações de hidrogênio) nas cadeias poliméricas, oferecendo filmes com uma estrutura mais flexível (MARAN et al., 2013).

O glicerol ou propano-1,2,3-triol (Figura 3) é um composto orgânico pertencente ao grupo álcool, cuja fórmula química é $C_3H_5(OH)_3$. É líquido à temperatura ambiente (25 °C), higroscópico, inodoro, viscoso, de sabor adocicado e completamente solúvel em água e álcool. Possui peso molecular de 92 g/mol, índice de refração igual a 1,472, densidade de 1,256 g/cm³ e seu ponto de ebulição é 290 °C (MARTIN; RICHTER, 2011). O termo glicerina refere-se ao produto na forma comercial, com pureza acima de 95 %. É reconhecido como seguro para

consumo humano (GRAS) desde 1959, sendo considerado um aditivo alimentício, pertencente à classe dos espessantes, estabilizadores, gelificantes e emulsificantes (CHIUMARELL, 2011).

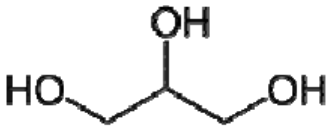


Figura 3 - Estrutura química do glicerol.
FONTE: Martin e Richter (2011).

2.7.2 Lipídios

Os principais constituintes da fase oleosa são os óleos e as gorduras, além destes, são encontrados nas emulsões outros constituintes lipossolúveis, como as vitaminas A, D, E, K, esteróis, ácidos graxos livres, mono e diacilgliceróis (ARAUJO, 2004).

As duas principais alterações que podem ocorrer com os óleos e gorduras são a oxidação e a cristalização (DALGLEISH, 2006).

A cristalização da fase oleosa pode influenciar criticamente na funcionalidade de uma emulsão. Uma cristalização parcial pode iniciar a quebra da camada interfacial das gotículas de óleo, pois com o crescimento dos cristais pode ocorrer a penetração na camada, enfraquecendo a superfície e permitindo um aumento na instabilidade da emulsão (DALGLEISH, 2006).

A oxidação lipídica ocasiona alterações de sabores e odores, além de alterações nutricionais pela degradação de vitaminas e óleos essenciais, e formação de compostos tóxicos (RAMALHO; JORGE, 2006).

A adição de componentes lipídicos provoca uma diminuição considerável na permeabilidade do filme. Esta redução pode estar relacionada com a redução do teor de água da película devido à presença das substâncias hidrofóbicas ou devido a um reforço da matriz proteica estrutural do lipídeo, através do qual as propriedades de barreira são alteradas (ARVANITOYANNIS, GORRIS, 1999).

2.7.3 Emulsificantes

Emulsificantes são substâncias que auxiliam a formação de emulsões. Podem ser tensoativos ou polímeros. Os tensoativos também são conhecidos como surfactantes. Os emulsificantes possuem duas regiões diferentes na mesma molécula: uma região não polar (hidrofóbica) e outra polar (hidrofílica) (Figura 4). No caso dos tensoativos a molécula é dividida em uma cabeça polar, e uma cauda apolar. Alguns polímeros podem atuar como

emulsificantes, pois apresentam regiões polares a apolares distribuídas pela molécula, sendo que de acordo com sua conformação interagem de forma diferente entre as fases de uma emulsão (McCLEMENTS, 1999, MERRYWEATHER et al., 2005; ROBINS, WATSON, WILDE, 2002; SJÖBLOM, 2001; WHITEHURST, 2004).

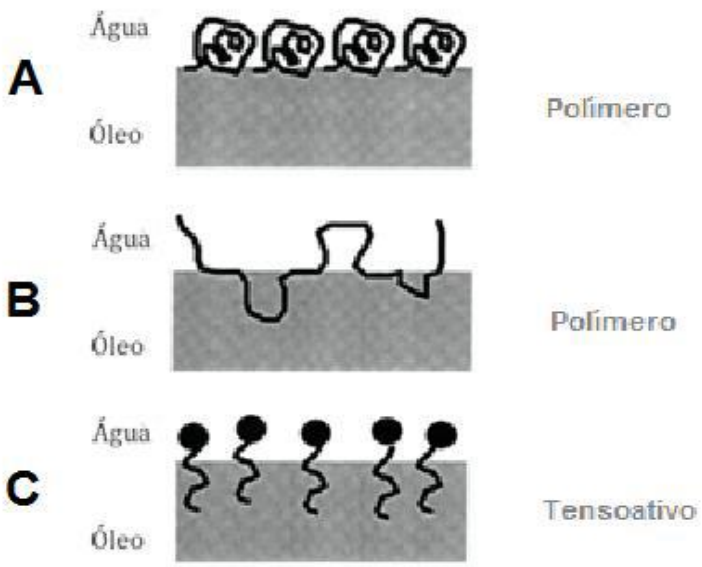


Figura 4 - Representação de polímeros e tensoativos na interface óleo - água de uma emulsão, sendo: (A) e (B) polímeros; (C) tensoativos.
FONTE: McClements (1999).

2.7.3.1 Lecitina

A lecitina é encontrada na gema do ovo e em diferentes óleos como soja, girassol, entre outros. A lecitina é composta por várias substâncias diferentes. A estrutura base da lecitina é composta por ácidos graxos ou hidrogênio, um álcool que é esterificado ao fosfato ou um átomo de hidrogênio. A lecitina é bastante utilizada como emulsificante em diversas emulsões alimentícias, como: chocolates, pães, maionese, entre outros. É solúvel em óleo, formando preferencialmente emulsões A/O (WHITEHURST, 2004).

Os tensoativos podem ser classificados de acordo com a polaridade de sua molécula em não-iônicos, aniônicos, catiônicos e zwiteriônicos. Alguns constituintes da lecitina são exemplo de tensoativos zwiteriônico, ou seja, apresentam um grupo catiônico e um aniônico (WHITEHURST, 2004).

3 OBJETIVOS

3.1 OBJETIVO GERAL

Desenvolver filmes biodegradáveis emulsionados a base de fécula de açafrão e lipídios e compará-los com filmes a base de amido de milho.

3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Desenvolver filmes biodegradáveis emulsionados a base de fécula de açafrão, contendo diferentes razões de Glicerol:Cera de carnaúba e compará-los com os filmes a base de amido de milho;
- Caracterizar os filmes biodegradáveis emulsionados quanto à solubilidade em água, permeabilidade ao vapor de água, cor e opacidade, microscopia eletrônica de varredura e propriedades mecânicas (tração, módulo de elasticidade e perfuração);
- Avaliar e comparar a atividade antimicrobiana dos filmes produzidos a base de fécula de açafrão e de amido de milho em relação aos micro-organismos dos gêneros *Aspergillus niger* e *Salmonella spp* forte contaminantes de alimentos.

4 MATERIAL E MÉTODOS

Os filmes biodegradáveis emulsionados foram obtidos a partir de fécula de açafrão extraída nas dependências laboratoriais da Universidade Federal de Goiás. Os rizomas, utilizados para a extração da fécula, foram cedidos pela Cooperativa dos Produtores de Açafrão de Mara Rosa-GO (Cooperaçafrão).

A Lecitina de Soja utilizada na produção dos filmes, como agente surfactante, foi cedida pela empresa GSA (Gama Sucos e Alimentos).

Foi utilizado óleo de milho comercial adquirido em hipermercado da região metropolitana de Goiânia.

O glicerol utilizado G9012 Sigma-Aldrich foi adquirido junto ao próprio fabricante.

A cera de carnaúba utilizada foi adquirida em comércio popular da região metropolitana de Goiânia.

4.1 AMIDO DE MILHO

O amido de milho utilizado foi gentilmente cedido pela empresa GSA (Gama Sucos e Alimentos) sendo produzido por ADRAM S/A.

4.2 EXTRAÇÃO DA FÉCULA DE AÇAFRÃO

A extração da fécula de açafrão foi realizada de acordo com Sarmento (1999) com adaptações.

4.2.1 Caracterização da fécula de açafrão

A fécula de açafrão foi caracterizada quanto à umidade, proteínas, lipídios e cinzas, teor de curcuminoides e de amilose. Outras análises físicas foram realizadas: microscopia eletrônica de varredura (MEV) e cor.

4.2.2 Atividade antimicrobiana dos filmes

O potencial antimicrobiano dos filmes produzidos a base de fécula de açafrão e amido de milho foi avaliado como descrito por Cao-Hoang et al. (2010), utilizando o método de difusão em discos. As análises foram realizadas em triplicata. Os micro-organismos avaliados foram os gêneros *Aspergillus niger* e *Salmonella spp* muito comumente encontrado nos

alimentos e potencialmente patogênicos. Os resultados das análises de atividade antimicrobiana foram comparados com a Portaria n° 146, de 07 de março de 1996 (BRASIL, 1996).

4.3 PRODUÇÃO DOS FILMES BIODEGRADÁVEIS EMULSIONADOS

Os filmes foram produzidos pelo método *casting*, segundo Martins et al. (2010) e Cerqueira et al. (2009), com adaptações. Soluções filmogênicas aquosas foram preparadas contendo uma concentração fixa de fécula de açafrão (3%) e lecitina (1%) com diferentes concentrações de glicerol (2,82; 2,61; 1,5; 1%), de cera de carnaúba (0,10; 0,128; 0,15; 0,20%) e de óleo de milho (0,90; 0,872; 0,85; 0,80%). As amostras controle se diferiram pela substituição da fécula de açafrão pelo amido de milho que foi utilizado na mesma proporção 3%. Além disso, soluções filmogênicas aquosas de amido de milho, também se diferiram nas proporções utilizadas de cera de carnaúba (0,10; 0,38; 0,40; 0,20%) e de óleo de milho (0,90; 0,62; 0,60; 0,80%). Nestas soluções foram avaliadas a temperatura de gelatinização e o tempo de agitação para completa homogeneização dos componentes em água destilada. Em seguida, as soluções contendo inicialmente glicerol, lecitina, cera de carnaúba, óleo de milho e água destilada foram aquecidas a 85-90°C por 30min em banho-maria em agitador magnético (IKA, modelo RH basic 1, Alemanha) observando a total solubilização de tais componentes, o amido foi adicionado e a temperatura mantida por 10min substituindo-se a agitação magnética pelo equipamento Ultra Turrax (IKA, modelo T18B, Boutersem, Bélgica). As soluções foram degaseificadas a fim de evitar a formação de bolhas na superfície dos filmes durante o processo de secagem. As alíquotas de solução filmogênicas foram dispersas em placas de vidro revestidas com plástico adesivo com dimensões de 20 x 20cm^2, a espessura da solução filmogênica foi controlada pelo volume disperso na superfície de cada placa. A solução filmogênica foi desidratada em estufa com circulação e renovação de ar (Tecnal, modelo TE 394/3, Piracicaba, Brasil) a 55,5°C por 22horas. Os filmes foram retirados das placas de vidro, identificados e acondicionados em recipiente contendo sílica gel a temperatura de 25°C para análises posteriores.

4.3.1 Ensaios Preliminares

A Figura 5 mostra o fluxograma com os ensaios preliminares que foram desenvolvidos para avaliação da interação entre os componentes da solução filmogênica e do comportamento dos filmes, após o processo de secagem. Ao final desta etapa e com base nos resultados visuais e físicos para determinar as variáveis fixas e as dependentes.

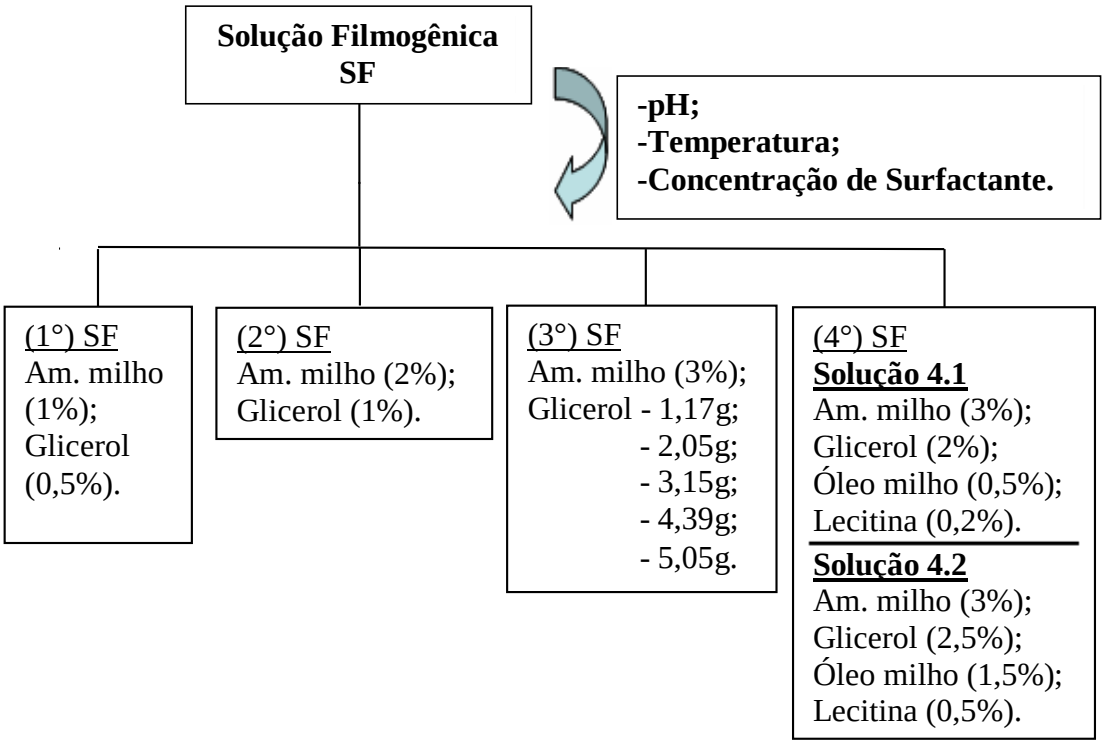


Figura 5 - Diagrama de fluxo dos ensaios preliminares para determinação e ajustes das formulações frente às características físicas dos filmes pós-secagem.

A 1° solução demonstrada no diagrama foi desenvolvida por meio de agitação mecânica durante 20 minutos a uma temperatura ambiente de 22°C. Após este período, o glicerol foi acrescentado promovendo o aquecimento desta solução, ainda sob agitação, até atingir 60°C e manteve-se assim por mais 20 minutos. A solução filmogênica foi vertida em uma placa de Petri de vidro.

A 2° solução foi preparada misturando água destilada e amido de milho. A mistura foi agitada durante 20 minutos até atingir a temperatura de 60°C, após este período, o glicerol foi adicionado mantendo a temperatura durante 20 minutos sob agitação.

A 3° solução foi preparada com água destilada e amido de milho. Diferentes concentrações de glicerol foram utilizadas neste estágio a fim de verificar qual geraria um filme de melhor qualidade no que diz respeito à espessura, opacidade, pegajosidade, integridade e resistência. Estes aspectos foram avaliados de forma empírica (visão e tato).

A solução com 2% de glicerol apresentou-se como a melhor concentração, o filme se soltou com facilidade da placa, apresentou melhor resistência e melhor elasticidade. Os filmes com 3% de glicerol apresentaram-se muito pegajosos e muito elásticos, o que causou perdas durante a sua retirada da placa.

A solução com 4% de glicerol resultou em um filme muito pegajoso, com aspecto emborrachado e frágil. Com a concentração de 5% de glicerol, o filme apresentou-se pegajoso, elástico e emborrachado.

Nesta etapa, concluiu-se que a melhor concentração de glicerol foi em torno de 2% (m/m).

Assim, a 4° solução foi escolhida para o trabalho definitivo, onde água destilada e amido de milho produziram as soluções 4.1 e 4.2, com suas respectivas concentrações de glicerol, óleo de milho e lecitina de soja.

4.3.2 Etapa de seleção das variáveis

A Figura 6 apresenta o diagrama de fluxo das composições das soluções filmogênicas, etapas de produção e sequência das análises físicas para a caracterização dos filmes.

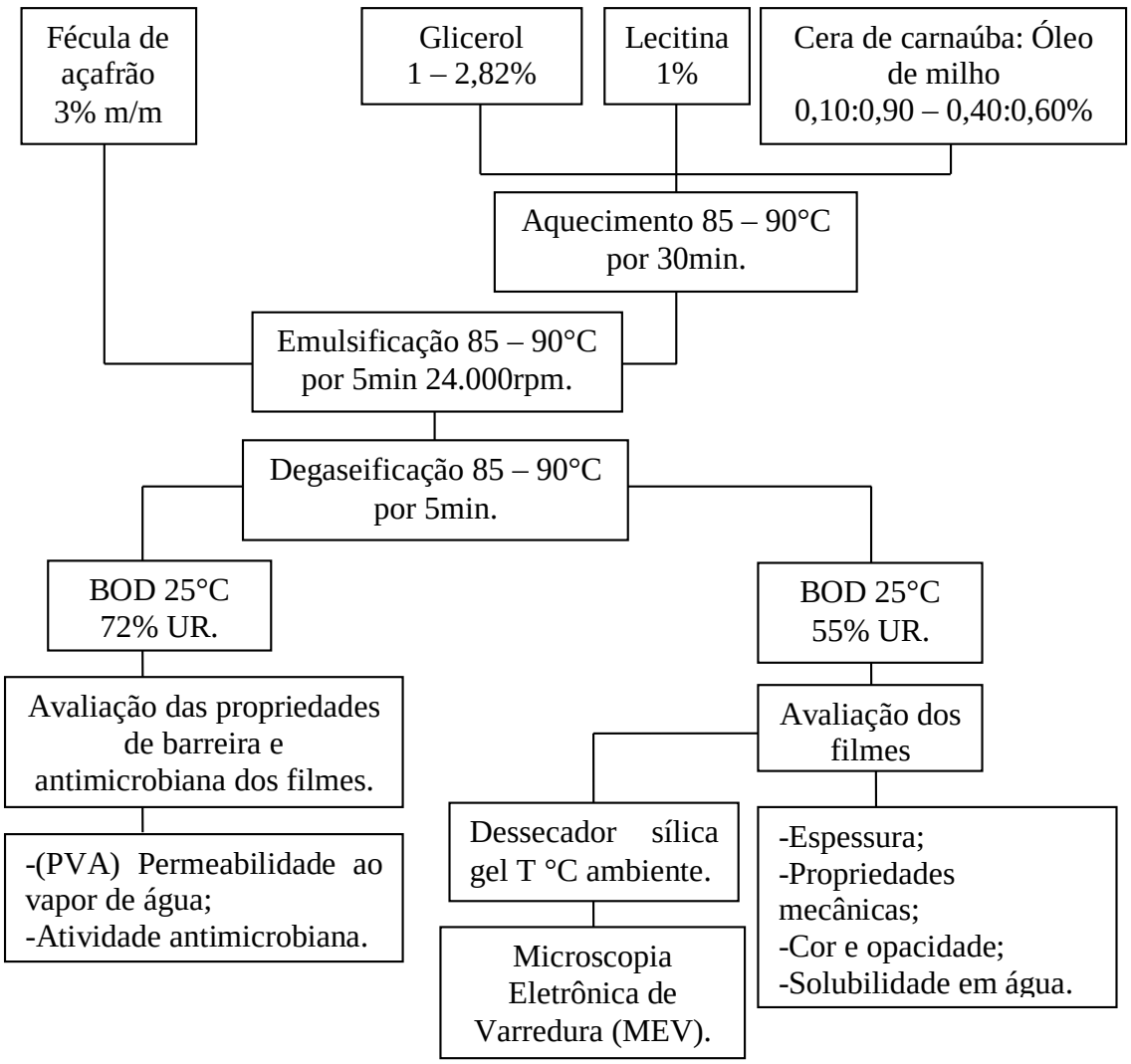


Figura 6 - Diagrama do fluxo de produção e análises físicas para caracterização dos filmes biodegradáveis emulsionados.

4.3.3 Definição das formulações

Ao final da etapa destinada aos ensaios preliminares descritos no item 4.3.1, verificou-se quais variáveis afetaram as respostas estudadas e quais faixas de concentração dos componentes da solução filmogênica resultaram em melhores propriedades de barreira e maior estabilidade dos filmes. As respostas observadas foram: espessura, propriedades mecânicas, cor, solubilidade e permeabilidade ao vapor de água dos filmes formados. As formulações foram validadas e as análises citadas foram repetidas complementando com a microscopia eletrônica de varredura (MEV).

As Tabelas 1 e 2 apresentam os valores das concentrações dos componentes da solução filmogênica utilizadas no desenvolvimento dos filmes de amido de milho e amido de açafrão, respectivamente.

Tabela 1 - Variáveis independentes e concentrações dos componentes da solução filmogênica dos filmes de amido de milho para um estudo univariado com delineamento inteiramente casualizado.

	Formulações			
Variáveis	**1**	**2**	**3**	**4**
Amido de Milho (g/100g de solução)	3,00	3,00	3,00	3,00
Glicerol (g/100g de solução)	2,82	1,50	2,61	1,00
Glicerol (g/100g de AM)	94	50	87	33,3
CA:OM (g/100g de solução)	0,10:0,90	0,20:0,80	0,38:0,62	0,40:0,60
Gli:CC	28,2	7,5	6,86	2,5

Tabela 2 - Variáveis independentes e concentrações dos componentes da solução filmogênica dos filmes de fécula de açafrão para um estudo univariado com delineamento inteiramente casualizado.

	Formulações			
Variáveis	**1**	**2**	**3**	**4**
Fécula de Açafrão (g/100g de solução)	3,00	3,00	3,00	3,00
Glicerol (g/100g de solução)	2,82	2,61	1,50	1,00
Glicerol (g/100g de AM)	94	87	50	33,3
CA:OM (g/100g de solução)	0,10:0,90	0,13:0,87	0,20:0,80	0,15:0,85
Gli:CC	28,2	20,07	7,5	6,67

4.3.3.1 Avaliação das propriedades de barreira das coberturas

As propriedades de barreira à umidade dos filmes bioativos preparados conforme descrito no item 4.3.3, foram avaliadas através do cálculo da taxa de permeabilidade ao vapor

de água (TVA) e do cálculo da permeabilidade ao vapor de água (PVA) de acordo com as metodologias descritas no item 4.3.9.

4.3.3.2. Avaliação óptica, física e mecânica dos filmes

As propriedades ópticas, físicas e mecânicas das formulações descritas nas Tabelas 1 e 2 foram avaliadas através da determinação dos parâmetros de cor (L*, a* e b*), opacidade (*haze*), solubilidade e mecânicas (tensão e elongação na ruptura e módulo de elasticidade) de filmes preparados segundo o item 4.3.

4.3.4 Espessura

A espessura foi obtida através da média dos valores obtidos em seis pontos aleatórios ao longo do filme utilizando um micrômetro (Bestool – Kanon, Japão) com resolução de 0 a 25mm.

4.3.5 Opacidade e cor

A cor de um filme pode ser avaliada tanto por transmitância como por reflectância, dependendo do tipo do material e da transparência da película. O ensaio de transmitância é realizado em filmes transparentes ou translúcidos, resultando em valores de luminosidade L*, coordenadas de cromaticidade (a* e b*) e opacidade (CHIUMARELLI, 2011). Um filme com opacidade elevada é considerado opaco, enquanto valores menores são característicos de filmes transparentes (SANTOS, 2004).

A opacidade e a cor foram avaliadas de acordo com o método HunterLab (1997) por meio de um colorímetro de bancada (*Hunter Associates Laboratory Inc* – Colorquest II, Reston, EUA).

- Opacidade

A opacidade (Y) foi calculada através da razão entre a opacidade da amostra colocada sob um padrão preto (Yb) e a opacidade da amostra colocada sob um padrão branco (Yw) (SOARES, 2012), conforme a Equação 1.

$$Y = \frac{Yb}{Yw} . 100\ \% \qquad (1)$$

- Cor

Os resultados da cor dos filmes foram expressos pelos parâmetros L^*, a^*, b^* com base na norma D 2244-11 da ASTM (ASTM, 2011). A luminosidade ou brilho (L^*) representa quão claro ou escuro é a amostra, variando de preto (0) ao branco (100). Os valores das coordenadas de cromaticidade (a^*) variam do verde (-60) ao vermelho (+60) e os valores de croma (b^*) variam do azul (-60) ao amarelo (+60).

O equipamento passou por calibração inicial utilizando as placas preta e branca. Foram realizadas 9 leituras para cada tratamento desenvolvido com seus respectivos amidos. Os parâmetros a^*, b^* e L^* dos filmes foram determinados sobrepondo-se os filmes sobre um padrão branco.

O cálculo do índice croma (C^*) considerou o atributo quantitativo de cor e está representado pela Equação 2 abaixo. O cálculo do ângulo hue (h^*) em graus, considerando o atributo qualitativo de cor, está representado pela Equação 3 (SOARES, 2012).

$$C^* = (a^{*2} + b^{*2})^{1/2} \quad (2)$$

$$h^* = \tan^{-1}(b^*/a^*) \quad (3)$$

4.3.6 Solubilidade em água

O método utilizado para obter a solubilidade dos filmes em água foi proposto por Gontard et al. (1994a) com adaptações.

As amostras (em triplicata) foram recortadas na forma de discos com 2cm de diâmetro. A massa seca inicial dos filmes foi obtida após secagem em estufa (Olidef cz – EES1B, Ribeirão Preto, Brasil) à temperatura de 105°C por 24 horas. Após a primeira secagem, as amostras foram imersas em recipientes contendo 50mL de água destilada e o sistema foi mantido sob lenta agitação mecânica por um período de 24 horas (25°C) em homogeneizador de soluções (Phoenix – AP 32 – 09076, Araraquara, Brasil). Após este processo, as amostras foram removidas e secas em estufa (Olidef cz – EES1B, Ribeirão Preto, Brasil) novamente a uma temperatura de 105°C por 24 horas determinando a massa de matéria seca que não se dissolveu em água (massa seca final). O percentual de solubilidade dos filmes foi determinado como porcentagem de matéria seca solubilizada em relação à massa inicial (% m/m) (Equação 4).

$$\text{Sol} = \left(\frac{m_i - m_f}{m_i}\right).100\ \% \quad (4)$$

Onde: Sol = solubilidade em água (g/100g de filme), m_i = massa seca inicial da amostra (g), m_f = massa seca final da amostra (g) após solubilização.

4.3.7 Microscopia Eletrônica de Varredura da seção de ruptura e superfície do filme

As amostras foram colocadas em dessecadores sob vácuo com sílica-gel (0% UR) durante 7 dias para eliminar resíduos de umidade, posteriormente, os filmes sofreram uma fratura criogênica realizada pelo congelamento rápido em nitrogênio líquido. As amostras analisadas foram montadas em suporte de alumínio ou "*stubs*" e, em seguida, seguiram para uma câmara metalizadora (Balzers, modelo SCO), onde receberam uma cobertura de ouro. A análise de MEV foi realizada no Laboratório Multiusuário de Microscopia de Alta Resolução (LabMic) do Instituto de Física da Universidade Federal de Goiás (Goiânia/GO) (SOARES, 2012). Estas análises foram realizadas em duplicata.

4.3.8 Propriedades Mecânicas

As propriedades mecânicas dos filmes foram avaliadas através de testes de tração e perfuração utilizando-se um texturômetro (Stable Micro System, TA-XTPlus Texture Analyser, Surrey, Inglaterra), operando de acordo com o método ASTM D 882-10 (ASTM, 2010).

- Em tração

Para os testes de tensão na ruptura, elongação na ruptura e módulo de Elasticidade, amostras de 14cm de comprimento x 1,5cm de largura foram fixadas nas garras do equipamento (SOARES, 2012). A tensão na ruptura foi calculada por meio da Equação 5:

$$\sigma = \frac{F}{A} \tag{5}$$

Onde: σ é a tensão na ruptura (MPa), F é a força (N) na ruptura e A é a área da secção transversal inicial (m^2) (PIRES et al., 2011). As análises foram realizadas em replicatas, contendo em média de 15 a 6 amostras.

- Em perfuração

Para as análises de deformação na ruptura e força máxima na ruptura. As amostras foram cortadas em formato circular (6,5cm de diâmetro), fixadas em uma geometria circular (HDP-FSR, TA Instruments) de mesmo diâmetro para, então, serem perfuradas por uma sonda de

extremidade esférica de 5mm de aço inoxidável (P/5S, TA Instruments). A deformação na ruptura foi calculada por meio da Equação 6:

$$D = \frac{\sqrt{d^2 + l_0^2} - l_0}{l_0} \quad (6)$$

Onde: D é a deformação na ruptura (%); d é a distância penetrada pela sonda (m); e l_0 é o raio da superfície do filme (m) (GONTARD et al.,1994a). Análises em quintuplicata.

4.3.9 Permeabilidade ao Vapor de Água

A permeabilidade ao vapor de água (PVA) foi determinada gravimetricamente de acordo com o método E96/E96M - 10 da ASTM (ASTM, 2011). As amostras dos filmes foram cortadas na forma de discos e seladas com parafina em cápsulas de permeação feitas de tecnil contendo cloreto de cálcio anidro seco em estufa à 200°C. As cápsulas de permeação foram acondicionadas em dessecadores contendo solução de cloreto de magnésio ($MgCl_2$) (umidade relativa de 74,8%), observando a norma E104 – 02 da ASTM (ASTM, 2012). O vapor de água transferido através do filme foi determinado pelo ganho de massa no sistema, sendo as medições realizadas periodicamente em intervalos de 30 minutos durante as primeiras 2h; a cada 2h durante as 8h seguintes e, finalmente, após 24h. Mudanças na massa da cápsula de permeação foram registradas e o ganho de massa (g) foi analisado em um gráfico em função do tempo (h) e, da reta obtida por regressão linear, foi determinado o coeficiente angular e calculada a taxa de permeabilidade ao vapor de água (TVA) (Equação 7).

$$TVA = \frac{g/t}{A} \quad (7)$$

Sendo: TVA a taxa de permeabilidade ao vapor de água ($g.h^{-1}.m^{-2}$); g/t o coeficiente angular da reta ($g.h^{-1}$); A é a área de permeação (m^2).

Em seguida, a permeabilidade ao vapor de água (PVA) foi calculada utilizando-se a Equação 8:

$$PVA = \frac{TVA.x}{\Delta P} \quad (8)$$

Onde: PVA é a permeabilidade ao vapor de água ($g.mm.h^{-1}.m^{-2}.kPa^{-1}$); x é a espessura média do filme (mm); ΔP é a diferença de pressão de vapor do ambiente (kPa) contendo cloreto de

cálcio anidro (0% de UR) e solução saturada de $MgCl_2$ (74,8% de UR) (PIRES et al., 2011; SOARES, 2012).

4.4 ANÁLISE ESTATÍSTICA

O programa ASSISTAT Versão 7.7 beta (pt) foi utilizado para calcular as análises de variância (ANOVA) e o teste de Tukey foi utilizado para determinar diferenças entre as médias com nível de significância de 5%.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 ENSAIOS PRELIMINARES

Os testes preliminares foram realizados para fixar os seguintes parâmetros: concentração de amido de milho e fécula de açafrão, concentração de surfactante (lecitina de soja), espessura, concentração da cera de carnaúba e do óleo de milho.

5.2 ESPESSURA

A espessura média dos filmes biodegradáveis emulsionados está demonstrada na Tabela 3.

Tabela 3 - Valores médios de espessura de filmes emulsionados produzidos a base de amido de milho e fécula de açafrão com diferentes razões de Glicerol:Cera de carnaúba (Gli:CC).

Filmes	**Espessura (mm)**			
A.M.*	**Gli:CC 28,2**	**Gli:CC 7,5**	**Gli:CC 6,86**	**Gli:CC 2,5**
	0,179±0,023 [a]	0,165±0,028 [b]	0,192±0,007 [a]	0,133±0,012 [c]
F.A.**	**Gli:CC 28,2**	**Gli:CC 20,1**	**Gli:CC 7,5**	**Gli:CC 6,67**
	0,190±0,027 [a]	0,174±0,009 [b]	0,144±0,008 [c]	0,127±0,009 [d]

*Amido de Milho, **Fécula de Açafrão. Letras minúsculas diferentes na mesma linha indicam diferença significativa ($p<0,05$) entre os tratamentos para o mesmo tipo de amido.

Segundo Abdullah e Talip (2014), o valor da espessura afeta a permeabilidade, propriedades mecânicas e de transparência das películas. A grande variação apresentada na Tabela 3 se deve as diferentes concentrações dos componentes utilizados na elaboração dos filmes. Além disso, como foi mencionado por Sobral (2000), o controle da espessura dos filmes biodegradáveis é de grande dificuldade, sobretudo nos processos de produção do tipo *casting*.

A Figura 7 apresenta um exemplo da espessura dos filmes produzidos à base de amido de milho obtido em microscopia eletrônica de varredura (MEV).

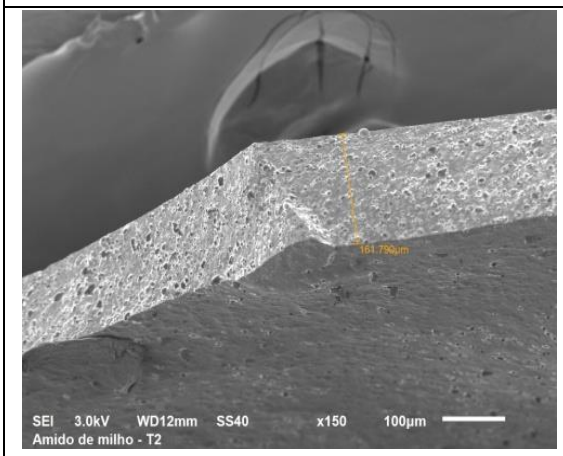
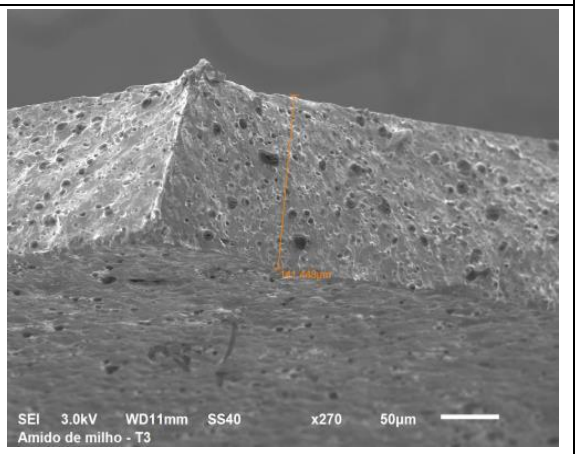
Espessura Gli:CC 7,5	Espessura Gli:CC 2,5
	

Figura 7 - Micrografia obtida por microscopia eletrônica de varredura (MEV) mostrando a espessura de duas películas produzidas à base de amido de milho.

5.3 SOLUBILIDADE EM ÁGUA

A solubilidade em água (Sol) dos filmes está relacionada diretamente com as interações intermoleculares entre seus componentes, de acordo com sua estrutura e suas características químicas (hidrofilicidade e hidrofobicidade) entre outras (FERREIRA, 2006). O uso de filmes e coberturas comestíveis como camadas protetoras em alimentos, especialmente em produtos de alta atividade de água, exige que esses materiais sejam resistentes à água (KOWALCZYK; BARANIAK, 2011).

Analisando a solubilidade em água dos filmes a base de fécula de açafrão (Figura 8A) produzidos com diferentes proporções de glicerol:cera de carnaúba, observa-se uma variação de 17,94 a 23,24%, já para os filmes a base de amido de milho (Figura 8B) observa-se uma variação, em suas diferentes proporções de glicerol:cera de carnaúba, variando entre 12,84 a 15,63%.

A Figura 8A demonstra que a solubilidade dos filmes produzidos a base de fécula de açafrão não foi afetada significativamente ($p<0,05$) pelos diferentes tratamentos aplicados.

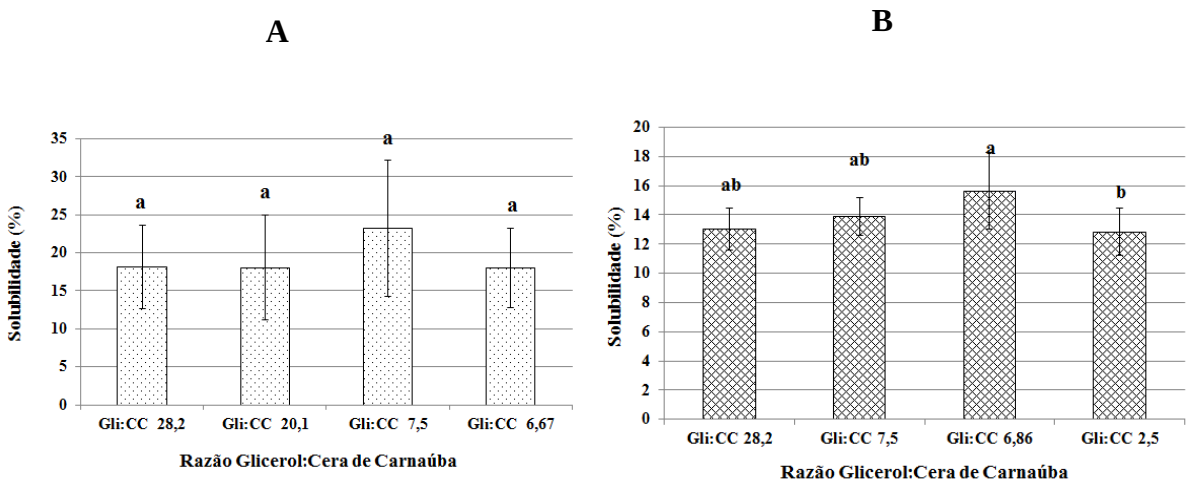


Figura 8 - Valores médios de solubilidade (% m/m) dos filmes a base de fécula de açafrão (A) e amido de milho (B).

Letras minúsculas indicam diferença significativa ($p<0,05$) entre os tratamentos em função da razão Glicerol:Cera de Carnaúba.

A Figura 8B apresenta os valores médios de solubilidade para os filmes a base de amido de milho. Percebe-se que as razões Gli:CC 28,2 e Gli:CC 7,5 não apresentaram diferenças significativas ($p<0,05$) entre si, nem em relação às razões Gli:CC 6,86 e Gli:CC 2,5. Apenas as razões Gli:CC 6,86 e Gli:CC 2,5 apresentaram diferenças entre si.

Apesar da grande variação da quantidade de glicerol em suas formulações, não foram observadas grandes diferenças nos valores de solubilidade. Isto pode ser explicado pela interação entre a fécula e o glicerol que pode ter resultado em filmes mais solúveis em água, uma vez que estes componentes são hidrofílicos. Segundo Matta Jr. et al. (2011), a adição de plastificante, em particular o glicerol, tem uma grande influência sobre a solubilidade de filmes de amido, devido ao seu caráter hidrofílico. O glicerol interage com a matriz do filme aumentando o espaço livre entre as cadeias, facilitando a entrada da água no filme e, consequentemente, aumentado à solubilidade. Além disso, outro fator que pode ter corroborado para este leve aumento da solubilidade é a diferença de espessura encontrada para estes filmes. Em média foram encontrados os seguintes valores: 0,179µm para Gli:CC 28,2 e 0,165µm para Gli:CC 7,5 (Tabela 3) onde a segunda formulação sendo menos espessa sofreu mais na presença da água durante o teste. Tongdeesoontorn et al. (2011) reportaram que filmes elaborados com 5% (m/v) de fécula de mandioca e 1,5% de glicerol (m/v) apresentaram solubilidade igual a 73% (m/m).

As razões Gli:CC 6,86 e Gli:CC 2,5 apresentaram comportamentos semelhantes aos demais estudos pesquisados (Figura 8B), demonstrando que a redução da quantidade de glicerol ocorrida na formulação Gli:CC 2,5, resultou em películas menos solúveis. Araujo-Farro et al. (2010) também observaram o efeito positivo do glicerol sobre filmes à base de quinoa, onde maiores concentrações do plasticizante promoveram películas mais solúveis. Além disso, a presença da cera de carnaúba auxiliou para que houvesse diferença significativa entre as duas razões citadas. A razão Gli:CC 2,5 possui a maior quantidade de cera de carnaúba frente a todas as outras formulações (0,40) o aumento na quantidade de cera de carnaúba promove filmes com menor umidade, uma vez que a cera de carnaúba é muito hidrofóbica (CHIUMARELLI, 2011).

A Figura 9 mostra que dentre as diferentes razões (Gli:CC) para a fécula de açafrão, não houve diferença significativa para os resultados apresentados ($p<0,05$). Já quando se analisa as diferenças entre as fontes botânicas, para razões iguais (Gli:CC 28,2 e Gli:CC 7,5), verificou-se que há diferença significativa. Isto está relacionado à concentração de óleo que provavelmente interferiu no arranjo das cadeias poliméricas e das ligações de hidrogênio promovendo menor interação entre as moléculas de amido. Esta característica está mais evidente para os filmes elaborados a partir de fécula de açafrão onde, para duas proporções estudadas, mostraram uma solubilidade maior (Gli:CC 28,2 – 18,17% (m/m) e Gli:CC 7,5 - 23,24% (m/m)) do que a dos filmes elaborados a partir de amido de milho (Gli:CC 28,2 – 13,02% (m/m) e Gli:CC 7,5 - 13,88% (m/m)).

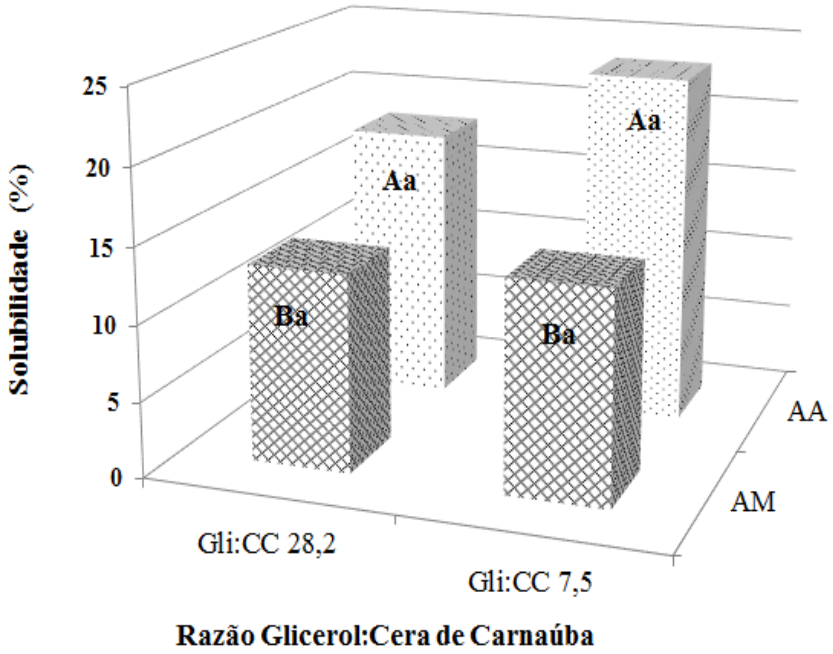


Figura 9 - Valores médios de solubilidade (%m/m) dos filmes a base de diferentes fontes botânicas de amido.

Letras minúsculas indicam diferença significativa ($p<0,05$) entre os tratamentos para o mesmo tipo de amido ou fécula. Letras maiúsculas indicam diferença significativa ($p<0,05$) entre os tratamentos Gli:CC 28,2 e Gli:CC 7,5 para os diferentes tipos de fontes botânicas.

A fécula de açafrão possui em sua composição o óleo resina e a curcumina, tais compostos associados aos demais componentes lipídicos inseridos na emulsão, corroboraram para o aumento da solubilidade destes filmes quando comparados aos filmes à base de amido de milho. Resultado similar foi encontrado em filmes à base de amido de sagu e alginato, onde a incorporação de óleo de capim limão na concentração 0,4% provocou aumento significativo (12,5% m/m) na solubilidade do filme em relação ao controle (MAIZURA et al., 2007).

5.3.1 Umidade

A umidade dos filmes variou de 16,15 a 34,92% (m/m) para os filmes a base de fécula de açafrão (Figura 10A) e de 15,49 a 36,20% (m/m) para os filmes a base de amido de milho (Figura 10B). Diferente do que se observou para a resposta solubilidade, as películas apresentaram maiores valores de umidade quando na formulação continha maior quantidade de glicerol.

Observou-se que as formulações Gli:CC 28,2 e Gli:CC 20,1 são as que apresentam em sua formulação as maiores quantidades de glicerol e por isso não apresentaram diferença significativa ($p<0,05$). Para as formulações Gli:CC 7,5 e Gli:CC 6,67, também estatisticamente

iguais (p<0,05), apesar da diminuição gradativa de glicerol. Já a ausência de diferença estatística pode ter ocorrido, devido a presença de uma maior quantidade de cera de carnaúba presente na formulação Gli:CC 7,5, que apesar de apresentar 0,5% a mais de glicerol em sua composição, apresentava 0,20g de cera de carnaúba o que provavelmente diminuiu a interação das moléculas hidrofílicas desta película. Segundo Kowalczyk e Baraniak (2011), o aumento da concentração de glicerol em filmes de proteínas isoladas de ervilha promoveu maiores valores de umidade nas películas, uma vez que as moléculas de glicerol possuem elevada hidrofilicidade, favorecendo a adsorção de moléculas de água. A concentração de glicerol para os filmes produzidos a base de fécula de açafrão (Figura 10A) apresentaram comportamento condizente com a literatura.

No presente estudo, observa-se que acréscimos gradativos nas concentrações de glicerol, aumentaram a umidade das películas de maneira significativa da mesma forma que outros estudos relataram. Observou-se também que, concentrações de cera de carnaúba e a espessura das películas, contribuíram para os diferentes comportamentos apresentados. McHugh; Avena-Bustillos; Krochta (1993) observaram que, tal como a espessura da película aumenta, há também um aumento da resistência à transferência de massa através dele o que também pode favorecer um aumento relativo da umidade.

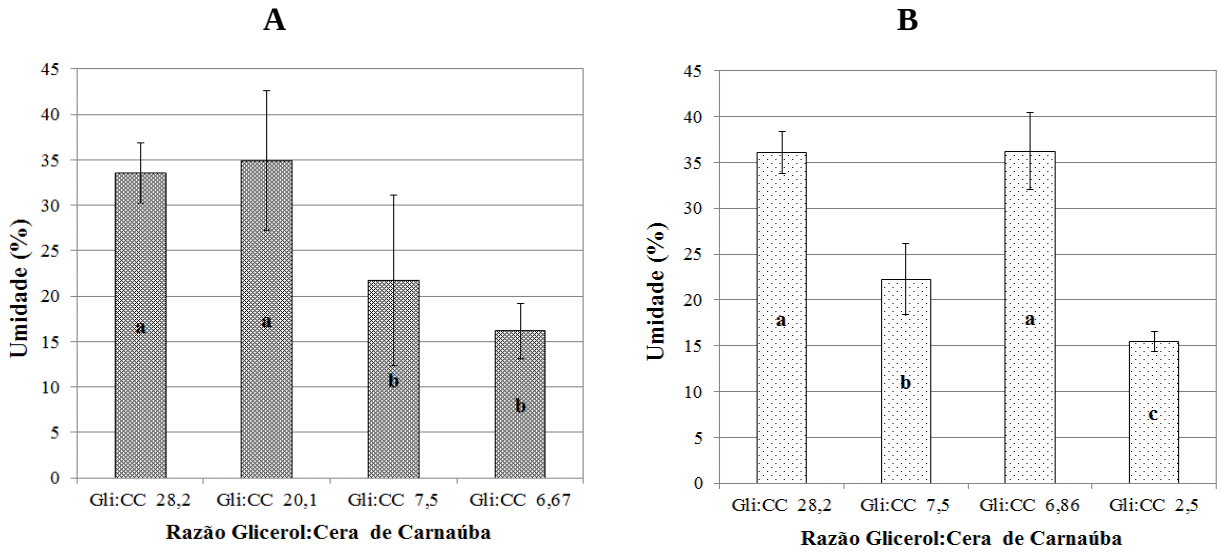


Figura 10 - Valores médios de umidade (% m/m) dos filmes a base de fécula de açafrão (A) e amido de milho (B).

Letras minúsculas indicam diferença significativa (p<0,05) entre os tratamentos em função da razão Glicerol:Cera de Carnaúba.

A Figura 10B apresenta a umidade dos filmes produzidos à base de amido de milho. Verifica-se que o glicerol exerceu maior influência sobre a umidade dos filmes. Para as películas com concentração de glicerol (Gli:CC 28,2 e Gli:CC 6,86) acima de 2,5% apresentaram películas mais úmidas. Neste caso observou-se também, que nem a quantidade de cera de carnaúba nem a espessura influenciam os resultados. Com a diminuição gradativa das concentrações de glicerol, foi observada uma diminuição gradativa da umidade das películas, podendo isso ser observado quando se compara às formulações Gli:CC 7,5 (3% amido de milho; 1,5% de glicerol e 0,20:0,80% cera de carnaúba:óleo de milho) e Gli:CC 2,5 (3% amido de milho; 1% de glicerol e 0,40:0,60 de cera de carnaúba:óleo de milho).

A Figura 11 demonstra que os valores obtidos para a formulação Gli:CC 28,2 em filmes a base de amido de milho estão 63% acima dos valores obtidos para a formulação Gli:CC 7,5 para o filme de mesma matriz polimérica.

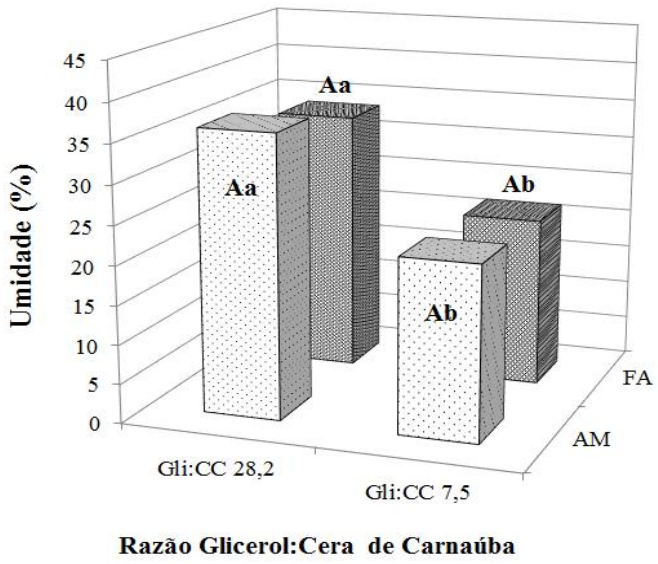


Figura 11 - Valores médios de umidade (% m/m) dos filmes a base de diferentes fontes botânicas de amido.

Letras minúsculas indicam diferença significativa ($p<0,05$) entre os tratamentos para o mesmo tipo de amido ou fécula. Letras maiúsculas indicam diferença significativa ($p<0,05$) entre os tratamentos Gli:CC 28,2 e Gli:CC 7,5 para os diferentes tipos de fontes botânicas.

Avaliando os filmes produzidos a base de fécula de açafrão, a diferença é maior 65% entre as duas formulações. E quando se avalia as duas formulações frente às diferentes fontes botânicas, percebe-se que há um aumento na umidade de 63% entre as formulações Gli:CC 28,2

e Gli:CC 7,5. Apesar disso, destaca-se que as películas do presente estudo apresentaram valores de umidade maiores quando comparados aos filmes descritos na literatura (entre 10 e 20%). Entretanto, valores de umidade abaixo de 30% foram considerados satisfatórios, uma vez que foram utilizados componentes com grande afinidade a água como a fécula de açafrão, o amido de milho e o glicerol (CHIUMARELLI, 2011).

5.4 PERMEABILIDADE AO VAPOR DE ÁGUA

A permeabilidade ao vapor de água (PVA) é uma propriedade importante para a aplicação dos filmes, uma vez que por meio dela, pode-se fazer a escolha do tipo de produto a ser acondicionado (SOARES, 2012). Resultados de permeabilidade ao vapor de água podem ser úteis para entender os possíveis mecanismos de transferência de massa e soluto e interações polímero em filmes comestíveis (MORILLON et al., 2000).

Ao analisar os diferentes tratamentos, variações da razão glicerol:cera de carnaúba, das películas produzidas a partir de amido de milho (Figura 12B) verifica-se que não houve diferença estatística significativa ($p<0,05$) entre eles. Já para as películas produzidas à base de fécula de açafrão (Figura 12A), houve diferença significativa ($p<0,05$) entre os diferentes tratamentos.

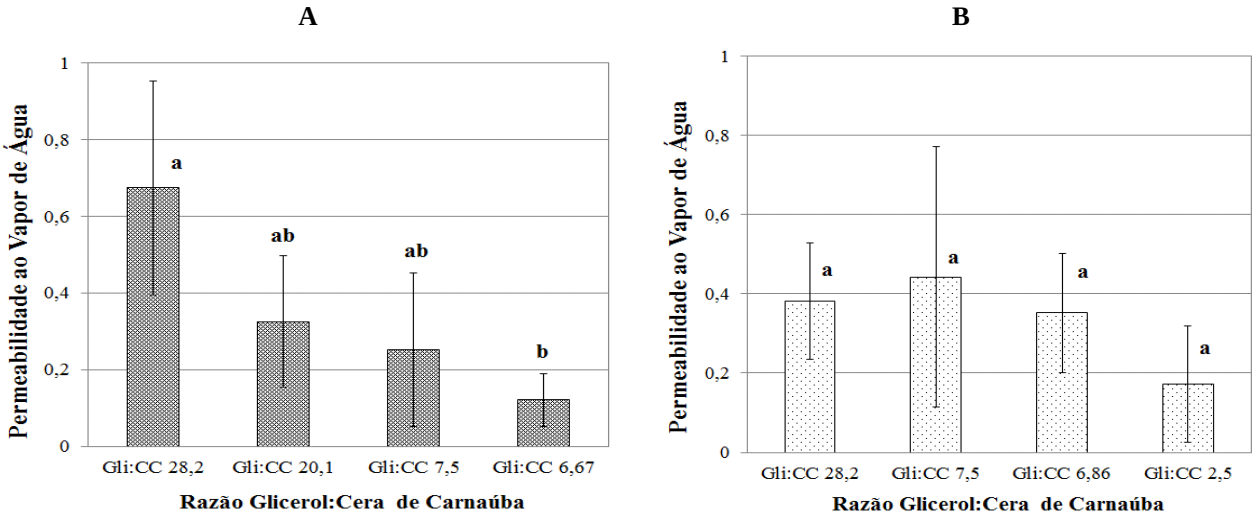


Figura 12 - Valores médios de permeabilidade ao vapor de água ($g.mm.h^{-1}.m^{-2}.kPa^{-1}$) dos filmes a base de fécula de açafrão (A) e amido de milho (B).

Letras minúsculas indicam diferença significativa ($p<0,05$) entre os tratamentos em função da razão Glicerol:Cera de Carnaúba.

Pode-se explicar a diferença de comportamento para os amidos de diferentes fontes botânicas analisando os gráficos individualmente. Verificou-se que para as películas a base de fécula de açafrão (Figura 12A), a razão glicerol:cera de carnaúba apresentou efeito positivo sobre a resposta, isto é, a diminuição na quantidade de glicerol e o aumento na quantidade de cera, implicou maior resistência das coberturas ao vapor de água. Segundo Rhim e Shellhammer (2005), as ceras naturais e sintéticas apresentam alta hidrofobicidade, pois são formadas por ésteres de cadeia longa, fazendo com que a molécula não possua ou apresente apenas uma parte hidrofílica muito pequena que não interage facilmente com a água. Isso torna as ceras barreiras mais eficientes à transferência de vapor de água. Tapia-Blácido et al. (2007) observaram que a distribuição homogênea de lipídios em filme à base de farinha de amaranto criou áreas hidrofóbicas contínuas, evitando a difusão de vapor de água.

Observando a Figura 12A os tratamentos Gli:CC 7,5 e Gli:CC 6,67 nota-se que estas demonstraram ser mais efetivas frente ao parâmetro avaliado com resultados respectivamente menores de PVA. Este comportamento pode ser atribuído à diminuição da concentração de glicerol na formulação e as maiores proporções de cera de carnaúba quando comparados com os demais tratamentos (Gli:CC 28,2 e Gli:CC 20,1). Porém, vale ainda ressaltar que, apesar do tratamento Gli:CC 7,5 ter a maior concentração de cera de carnaúba dentre todas as formulações, esta apresentou tendência de maior valor de PVA em relação ao tratamento Gli:CC 6,67, indicando que a concentração de glicerol foi a variável que mais afetou os resultados da análise para as películas à base de fécula de açafrão.

Martelli et al. (2006) estudando filmes a base de queratina extraída de penas de galinha constatou que filmes plastificados mostraram maior permeabilidade que os sem plastificante. De acordo com os autores, em filmes onde não há problemas de integridade, a presença do plastificante aumentando a permeabilidade se deve às modificações estruturais na rede de amido, tornando-a menos densa (devido ao aumento da mobilidade polimérica e do volume livre), aliada à característica hidrofílica do plastificante, que é favorável à sorção de moléculas de água. O uso de glicerol gerando filmes com maiores PVA foi também observado por Talja et al. (2007) e Zhang e Han (2006) estudando filmes de amido de batata e amido de ervilha, respectivamente.

Verifica-se pelos resultados apresentados na Figura14B, que não há diferença estatística ($p<0,05$) em função da razão Glicerol:Cera de Carnaúba para os valores de permeabilidade ao vapor de água dos filmes produzidos a base de amido de milho. Desta forma, percebe-se que para os filmes produzidos à base de amido de milho o comportamento foi o inverso daquele apontado pelos demais autores na literatura.

Diante do exposto no presente estudo, verifica-se que segundo a lei de Fick, a permeabilidade deveria ser inversamente proporcional à espessura. Filmes sintéticos demonstram este comportamento fickiano. O desvio do comportamento ideal indica que filmes amiláceos apresentam uma afinidade pela água, o qual não é considerado na lei da difusão mássica (GALDEANO, 2007).

A Tabela 3 demonstra que há diferença significativa ($p<0,05$) entre os valores médios de espessura para os tratamentos destacados, verifica-se que o tratamento Gli:CC 7,5 apresenta valor médio de espessura inferior (0,165µm) aos tratamentos Gli:CC 28,2 (0,179µm) e Gli:CC 6,86 (0,192µm). McHugh; Avena-Bustillos e Krochta (1993) observaram que, quando a espessura aumenta, o filme fornece uma resistência aumentada para a transferência de massa através dele; consequentemente, a pressão parcial de vapor no equilíbrio, à superfície interna do filme, aumenta.

Percebe-se assim, que a espessura e a cera de carnaúba foram as variáveis primordiais no estudo da permeabilidade ao vapor de água para os filmes a base de amido de milho, pois Gli:CC 7,5 foi mais permeável frente aos demais tratamentos devido à espessura média da película. Já as formulações Gli:CC 28,2, Gli:CC 6,86 e Gli:CC 2,5 apresentaram alta espessura; alta espessura e alto teor de cera e baixa espessura porém, baixo teor de glicerol e alto teor de cera de carnaúba respectivamente, o que resultou a estes tratamentos películas mais protetoras.

Outra avaliação realizada foi a análise do comportamento dos tratamentos Gli:CC 7,5 e Gli:CC 28,2 produzidos a partir de diferentes fontes botânicas de amido, (Figura 13). Inicialmente percebe-se que não há diferença estatística ($p<0,05$) entre os tratamentos.

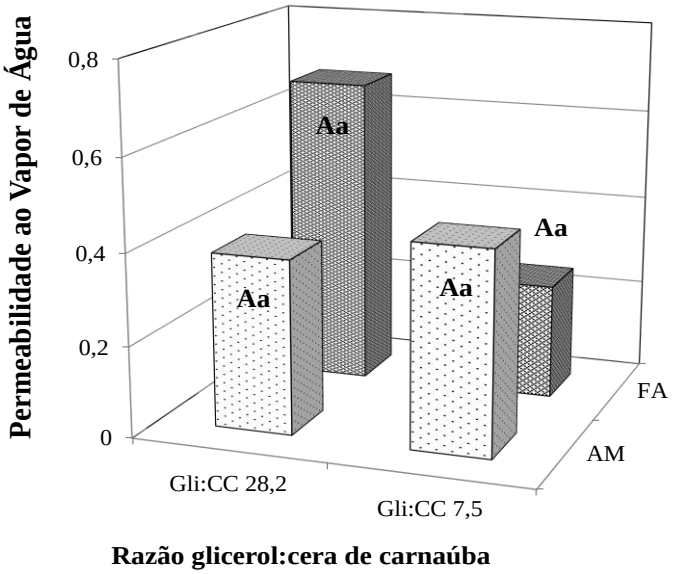


Figura 13 - Valores médios de permeabilidade ao vapor de água (g.mm.h^{-1}.m^{-2}.kPa^{-1}) dos filmes a base de diferentes fontes botânicas de amido.

Letras minúsculas indicam diferença significativa ($p<0,05$) entre os tratamentos para o mesmo tipo de amido ou fécula. Letras maiúsculas indicam diferença significativa ($p<0,05$) entre os tratamentos Gli:CC 28,2 e Gli:CC 7,5 para os diferentes tipos de fontes botânicas.

Ao observar a Figura 13, nota-se que o tratamento Gli:CC 28,2 apresentou um valor médio de PVA maior para as películas produzidas à base de fécula de açafrão (0,674g.mm.m^{-2}.h^{-1}.kPa^{-1}), do que para as películas produzidas à base de amido de milho, que apresentaram um valor médio 43% inferior para tal parâmetro (0,381g.mm.m^{-2}.h^{-1}.kPa^{-1}). Tal situação pode ser explicada pelas diferentes interações dos lipídios com o amido e a fécula, tanto aqueles presentes na fécula de açafrão (resíduos de óleo resina e curcumina) como os que foram adicionados às formulações (cera de carnaúba e óleo de milho), criando regiões hidrofóbicas que impediram a difusão da água (ou não) através do filme. Portanto, apesar da análise resultar em valores de PVA tão distantes no tratamento citado (Gli:CC 28,2), pode-se afirmar que as características hidrofóbicas dos lipídios, permitiram obter películas com menor permeabilidade ao vapor de água do que outros biofilmes de amido relatados na literatura.

García, Martino e Zaritzky (2000), relataram valores de permeabilidade para filmes de amido de milho, com conteúdos de amilose de 25 e 65%, em torno de 0,691g.mm.h^{-1}.m^{-2}.kPa^{-1} e 0,634g.mm.h^{-1}.m^{-2}.kPa^{-1}, respectivamente, utilizando óleo de girassol. Entretanto esses filmes, elaborados sem adição de lipídeos, apresentaram valores em torno de 0,925g.mm.h^{-1}.m^{-2}.kPa^{-1} e 0,673g.mm.h^{-1}.m^{-2}.kPa^{-1}, respectivamente. Além dos lipídios, outra variável que

provavelmente influenciou tais resultados foi o glicerol, visto que, este componente afeta significativamente a PVA das películas. De acordo com Martelli et al., (2006) o glicerol, por seu tamanho, penetra facilmente na estrutura do filme e, pela presença de uma hidroxila em cada carbono, rende um filme muito hidrofílico, o que resulta em um material com maior PVA.

A fécula de açafrão com sua forte natureza higroscópica em conjunto com a influência do glicerol, provavelmente durante o processo de permeação da matriz do filme, expostos para o lado de alta umidade, absorveu água suficiente para que a taxa de dessorção tornasse a PVA independente da resistência relatada oferecida pela espessura (BERTUZZI et al. 2007). Isso fica constatado quando se analisa o tratamento Gli:CC 7,5, que para as suas formulações, tanto a base de amido de milho quanto a base de fécula de açafrão, a espessura média foi em torno de (0,165µm) e (0,144µm) respectivamente. Nota-se que, mesmo apresentando uma espessura maior a película produzida à base de amido de milho foi mais permeável do que a película produzida à base de fécula de açafrão para este mesmo tratamento.

Mais uma vez pode-se inferir que, tais comportamentos derivam das diferentes interações glicerol, amido ou fécula e lipídios ressaltando que para o parâmetro permeabilidade ao vapor de água, películas produzidas com concentrações inferiores a 1,5% de glicerol e concentrações lipídicas em torno de 0,15 a 0,85%, levando em consideração a composição natural da matriz polimérica, garantem películas mais protetoras.

5.5 AVALIAÇÃO FÍSICA DOS FILMES

5.5.1 Propriedades Mecânicas

As propriedades mecânicas dependem fortemente dos constituintes da formulação (macromolécula, solvente, plastificante, ajustador de pH) e do processo de obtenção. Dentro da formulação, o teor de plastificante, é um importante fator capaz de alterar o perfil de propriedades mecânicas de um filme de amido. Filmes de amido sem plastificantes são resistentes e elásticos e, à medida que se aumenta o teor de plastificante, estes materiais se tornam mais flexíveis e deformáveis (MALI et al., 2004, 2005 b). Os plastificantes atuam diminuindo as forças intermoleculares entre as cadeias de amido, provocando redução da temperatura de transição vítrea e, de modo geral, a resistência cai e a flexibilidade aumenta com o incremento da concentração do plastificante (BILIADERIS, 1992).

As propriedades mecânicas de filmes de amido podem ser medidas através de testes de perfuração, tração e relaxação. As propriedades de tração são as mais relatadas e expressam a resistência do material ao alongamento e ao rompimento, quando submetido à tração (MALI;

GROSSMANN; YAMASHITA, 2010). De acordo com Oliveira et al. (1996), as metodologias de análise das propriedades mecânicas se baseiam nas normas da ASTM: 882-10 (ASTM D-882-10, 2010), que se aplica à determinação das propriedades de tração de filmes com espessura inferior a 1mm e a 638-93 (ASTM D-638-93, 1993), para filmes com espessura igual ou superior a 1mm. Dentre as propriedades de tração mais estudadas estão a resistência máxima à tração (tensão máxima na ruptura), a elongação na ruptura e o módulo de elasticidade.

5.5.1.1 Tensão máxima na ruptura

As respostas obtidas em um ensaio de tração expressam a resistência do material à deformação por alongamento quando submetido à aplicação de forças em direções opostas (CHIUMARELLI, 2011). Santos (2004) define tensão máxima na ruptura como a resistência máxima oferecida pelo material quando submetido à tração, relacionando a força aplicada e a área transversal inicial do corpo de prova.

Analisando os diferentes tratamentos, razão glicerol:cera de carnaúba, das películas produzidas a partir de diferentes fontes botânicas (Figura 14A e B), verifica-se que houve diferença significativa ($p<0,05$) para todas as formulações propostas.

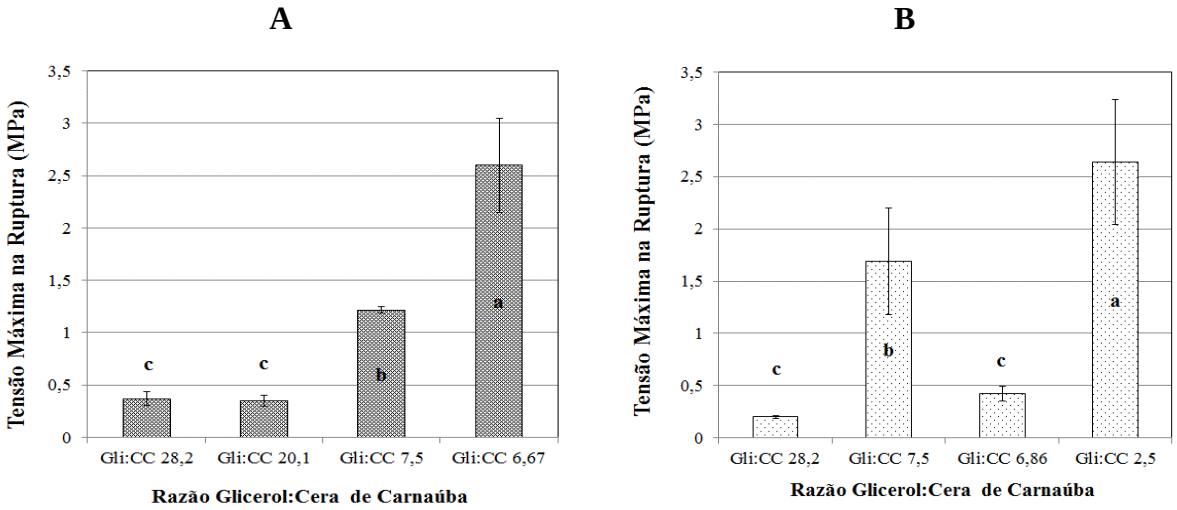


Figura 14 - Valores médios de tensão máxima na ruptura dos filmes a base de fécula de açafrão. Letras minúsculas indicam diferença significativa ($p<0,05$) entre os tratamentos em função da razão Glicerol:Cera de Carnaúba.

A Figura 14A apresenta os valores médios de tensão máxima na ruptura para os filmes produzidos a base de fécula de açafrão. A tensão máxima na ruptura destes filmes variou de 0,35 a 2,60MPa. Ainda observando a Figura 14A, percebe-se que houve diferença significativa

($p<0,05$) entre todas as formulações. Observou-se também, que os menores valores de tensão foram obtidos nos ensaios com maior concentração de glicerol (Gli:CC 28,2 - 2,82% e Gli:CC 20,1 - 2,61%), o que resultou em películas mais frágeis. Por outro lado, os maiores valores para esta resposta foram obtidos nos ensaios com concentrações inferiores de glicerol (Gli:CC 7,5 - 1,50% e Gli:CC 6,67 - 1,00%), desta forma, verificou-se que a variável glicerol foi estatisticamente significativa sobre a tensão ($p<0,05$), o aumento da concentração de glicerol resultou em menores valores de tensão nas referidas películas. De acordo com Sothornvit e Krochta (2001), o glicerol tem baixo peso molecular e é mais higroscópico, o que aumenta a sua eficácia como plasticizante, sendo utilizado em biofilmes e coberturas para aumentar a flexibilidade dos mesmos, elevando os valores de elongação, mas reduzindo os de tensão (DIAS et al., 2010; AL-HASSAN; NORZIAH, 2011).

A Figura 14B apresenta os valores médios de tensão na ruptura para os filmes produzidos a base de amido de milho. Estes filmes apresentaram valores de tensão máxima na ruptura variando entre 0,20 a 2,64MPa. As películas a base de amido de milho apresentaram comportamento semelhante ao observado na Figura 14A. As películas que continham em sua formulação maiores concentrações de glicerol (Gli:CC 28,2 e Gli:CC 6,86, contendo respectivamente 2,82 e 2,61% de glicerol) apresentaram os menores valores de tensão (0,20 e 0,42MPa respectivamente). Já as películas Gli:CC 7,5 e Gli:CC 2,5, contendo respectivamente 1,5 e 1% de glicerol em suas formulações, apresentaram os maiores valores de tensão (1,69 e 2,64MPa respectivamente). Nota-se que a película Gli:CC 2,5 produzida a partir de amido de milho foi a mais resistente frente ao parâmetro analisado. Isso provavelmente se deve ao baixo teor de glicerol associado a valores altos de lipídios compondo esta formulação (Tabela 1) o que contraria alguns autores. Por exemplo, Rhim e Shelhammer (2005) afirmaram em seu estudo que este tipo de biofilme apresenta ótima barreira à umidade, porém é quebradiço e pouco flexível. Para Bourbon et al. (2011), a incorporação de outros componentes a filmes à base de polissacarídeos provavelmente enfraquece as interações entre as moléculas do biopolímero, levando a uma ruptura da estrutura tridimensional da película.

A Figura 15 demonstra o comportamento das seguintes formulações Gli:CC 28,2 e Gli:CC 7,5 a base de diferentes fontes botânicas frente ao parâmetro tensão máxima na ruptura.

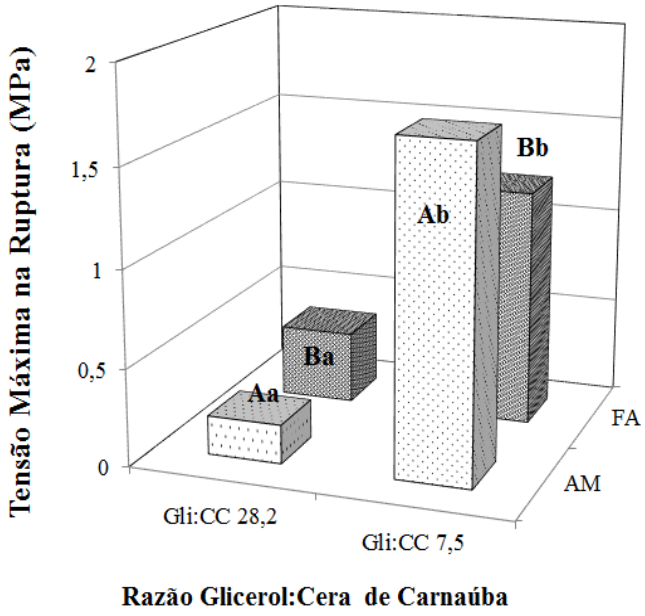


Figura 15 - Valores médios de tensão máxima na ruptura (MPa) dos filmes a base de diferentes fontes botânicas de amido.

Letras minúsculas indicam diferença significativa ($p<0,05$) entre os tratamentos para o mesmo tipo de amido ou fécula. Letras maiúsculas indicam diferença significativa ($p<0,05$) entre os tratamentos Gli:CC 28,2 e Gli:CC 7,5 para os diferentes tipos de fontes botânicas.

Verifica-se que a formulação Gli:CC 7,5 apresentou maiores valores de tensão, tanto para as películas produzidas a base de amido de milho (1,69MPa) quanto para as películas produzidas a base de fécula de açafrão (1,22MPa). Os menores valores apresentados na figura 15, pertencem à formulação Gli:CC 28,2 onde temos 0,37 e 0,20MPa para películas produzidas a base de fécula de açafrão e amido de milho respectivamente.

De acordo com Krogars et al. (2003a), que estudaram filmes de amido de milho usando a combinação de glicerol e sorbitol, relataram que houve uma melhor estabilidade destes filmes quando comparado ao uso dos plastificantes isolados. Relataram ainda que, a combinação de diferentes tamanhos moleculares parece induzir mais interações entre os componentes e, portanto, manter o plastificante ligado, impedindo sua migração dando a este filme uma melhor rigidez.

O teor de cera adicionado a cada uma das formulações (Gli:CC 28,2 e Gli:CC 7,5) também pode ter contribuído para os diferentes valores apresentados na Figura 19. Segundo Perez-Gago e Krochta (2001) que estudaram filmes emulsionados de proteína do soro do leite e cera de abelha, o aumento do conteúdo de cera de abelha de 20 para 60% reduziu a tensão na ruptura, devido a um aumento na imobilização da proteína na interface da partícula da cera de

abelha e a redução do tamanho de partícula. Contrariamente Talens e Krochta (2005) em filmes emulsionados de proteína do soro e cera de carnaúba observaram um aumento da tensão na ruptura com o aumento do conteúdo de cera, onde os filmes compostos contendo cera de carnaúba apresentaram valor superior à tensão na ruptura para as concentrações de 1% de cera (3,1 ± 0,1MPa) e para 1,5% de cera (4,8 ±1,0MPa).

Vale ressaltar que, além das variáveis glicerol e cera de carnaúba, existem outros compostos intrínsecos à fécula de açafrão que exerceram influência nos resultados, tais compostos apresentam características lipídicas como já foi reportado em outro momento no presente estudo. Estes componentes (óleo-resina e curcumina) influenciaram tanto nos resultados quanto no aspecto visual do filme que apresentou uma superfície aglomerada, além de uma película muito quebradiça e oleosa (Figura 16). Isso corrobora com os dados apresentados pelos estudos já citados bem como, com a diferença nos resultados do presente estudo, quando se avaliou películas produzidas a partir de formulações idênticas utilizando como base polimérica diferentes fontes botânicas (Figura 15). Infere-se assim, que as películas provenientes da fécula de açafrão foram mais susceptíveis negativamente à variável lipídica do que ao glicerol o que resultou em películas mais frágeis.

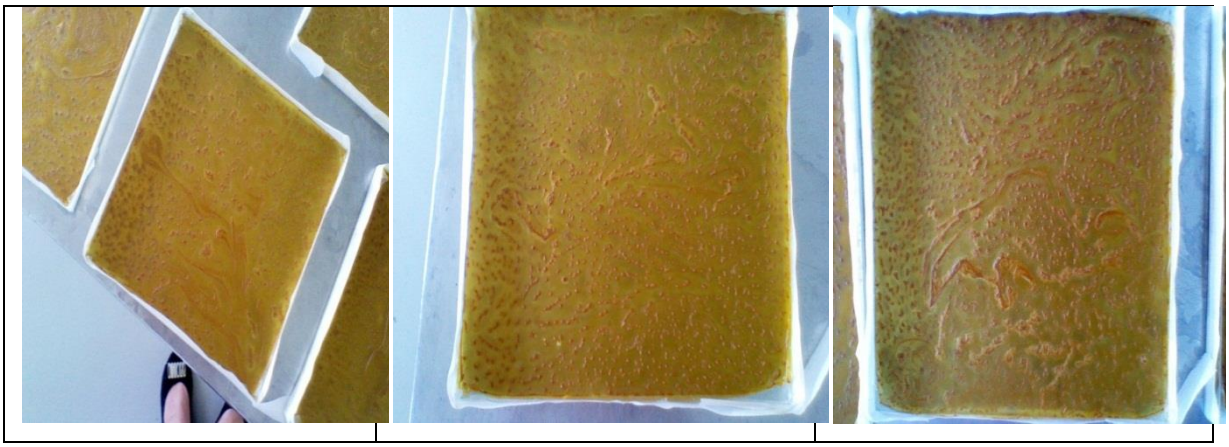


Figura 16 - Aparência dos filmes elaborados a base de fécula de açafrão durante o período de ajuste das formulações (ensaios preliminares).

5.5.1.2 Elongação na ruptura

A elongação é expressa como relação entre o comprimento da amostra no momento da ruptura e seu comprimento inicial, podendo ser fortemente influenciada pela concentração de plasticizante utilizada na elaboração dos filmes (GUILBERT; GONTARD, 2005).

Analisando os diferentes tratamentos, razão glicerol:cera de carnaúba, das películas produzidas a partir de diferentes fontes botânicas (Figura 17A e B), verificou-se que houve

diferença significativa ($p<0,05$) para todas as formulações propostas. Destaca-se que a elongação na ruptura dos filmes elaborados a base de fécula de açafrão (Figura 17A) e amido de milho (Figura 17B) variou de 5,64 a 15,25% e de 2,14 a 24,84% respectivamente. Segundo Ferreira (2006), as propriedades mecânicas dos filmes estão intimamente relacionadas com as condições da emulsão filmogênica, a distribuição e tamanho dos glóbulos de lipídios que afetam a rede polimérica, afetando assim a elongação dos filmes. Ainda pelos resultados apresentados na Figura 17, observa-se que os menores valores de elongação foram obtidos nos tratamentos com menores concentrações de glicerol para os filmes produzidos a base de amido de milho (Figura 17B) e para os filmes produzidos a base de fécula de açafrão (Figura 17A), os menores valores de elongação foram obtidos nos tratamentos com maiores concentrações de glicerol.

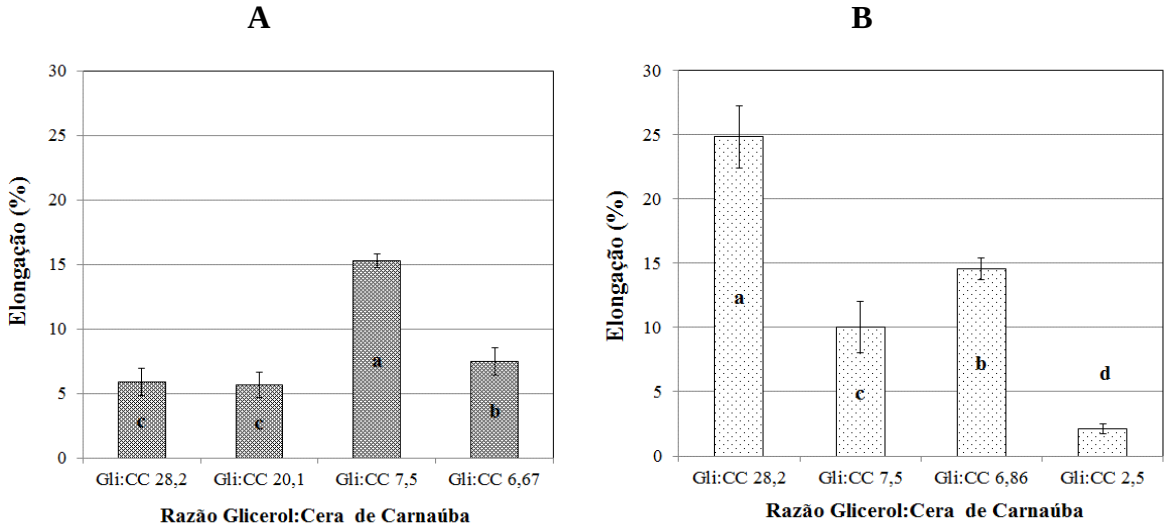


Figura 17 - Valores médios de elongação (%) dos filmes a base de fécula de açafrão (A) e amido de milho (B).

Letras minúsculas indicam diferença significativa ($p<0,05$) entre os tratamentos em função da razão Glicerol:Cera de Carnaúba.

A Figura 17A mostra o comportamento dos filmes produzidos à base de fécula de açafrão frente ao parâmetro elongação na ruptura (%). Observa-se que o baixo valor de elongação pertence àquelas formulações com quantidades consideráveis de glicerol (Gli:CC 28,2 e Gli:CC 20,1 contendo 2,82 e 2,61% de glicerol respectivamente) isso pode ser explicado, pelos resíduos de componentes lipídicos (óleo-resina e curcumina) presentes na fécula tal como foi reportado na tensão na ruptura. O lipídio pode ter evitado a alta sorção de água nos filmes o que diminui a mobilidade entre as cadeias poliméricas deixando o filme menos elástico. Entretanto, o efeito negativo do glicerol nestas formulações também deve ser ressaltado, visto

que, o aumento desta variável deveria gerar películas mais elásticas o que não ocorreu, possivelmente devido à má interação entre plasticizante, o óleo de milho e a cera de carnaúba. Além disso, a quantidade de lipídios utilizados nos referidos tratamentos pareceu ser incapaz de formar uma matriz contínua e coesa devido ao tamanho da sua cadeia carbônica, o que contribuiu para uma maior interação com a cera, a qual já possui uma cadeia carbônica muito longa. Essa maior interação restringe a mobilidade dos ácidos graxos na matriz polimérica e diminui a ação do glicerol, tornando os filmes mais rígidos.

Debeaufort, Quezada-Gallo e Voilley (1995) analisaram as propriedades mecânicas dos filmes emulsionados de metilcelulose e cera de parafina. Estes autores verificaram que as propriedades mecânicas dos filmes são influenciadas pela homogeneidade da emulsão, tamanho e distribuição dos glóbulos de lipídios dentro do filme e para que a rede polimérica dos filmes se organize de forma homogênea e contínua é necessário que o surfactante adicionado à emulsão esteja em condições favoráveis para agir, incluindo a temperatura e o pH adequados. Tal estudo pode explicar o motivo pelo qual as películas produzidas à base de fécula de açafrão apresentaram comportamentos tão distintos dos demais estudados. Neste polímero, as películas mais elásticas são as que apresentaram menores concentrações de glicerol e maiores concentrações de cera de carnaúba (Gli:CC 7,5 – 1,5% de glicerol e 0,20% de cera e Gli:CC 6,67 – 1% de glicerol e 0,15% de cera). Pode-se inferir que há uma possibilidade de melhoria na elongação destas películas se houver um aumento na quantidade de surfactante utilizado já que este, no referido estudo, é uma variável de concentração fixa (lecitina de soja 1%).

A Figura 17B demonstra o comportamento dos filmes produzidos à base de amido de milho. Diferentemente dos resultados para as películas produzidas a base de fécula de açafrão, observa-se um comportamento condizente com aqueles encontrados na literatura. Pode-se justificar tal comportamento relatando a concentração da variável glicerol, que para estas películas, apresentou efeito positivo. Que foi observado nos tratamentos com maiores concentrações de glicerol (Gli:CC 28,2 – 2,82% de glicerol e Gli:CC 6,86 – 2,61% de glicerol), pois o glicerol age diminuindo a atração intermolecular das cadeias do polissacarídeo, aumentando a mobilidade do biopolímero e, consequentemente, o alongamento dos filmes (BOURBON et al., 2011). Além disso, segundo Piermaria et al. (2011), o glicerol afetou drasticamente as propriedades mecânicas de filmes à base de kefir, colônia de micro-organismos simbióticos imersa em uma matriz composta de polissacarídeos e proteínas, aumentando a elongação na ruptura, a qual atingiu valores 62 vezes superiores aos obtidos para o filme sem plasticizante.

Este aumento da elongação para os filmes a base de amido de milho com altas concentrações de glicerol (Gli:CC 28,2 e Gli:CC 6,86) pode ser justificado pela higroscopicidade do amido e do plastificante que ganham água para alcançar o equilíbrio com o ambiente. A plastificação possibilita maior mobilidade das cadeias e menor interação molecular, resultando em aumento do espaçamento entre as cadeias poliméricas, melhorando o deslizamento e aumentando a elongação (LAWTON, 1996; MALI et al.,2005b).

A Figura 18 demonstra o comportamento de películas distintas frente à utilização de diferentes matrizes poliméricas.

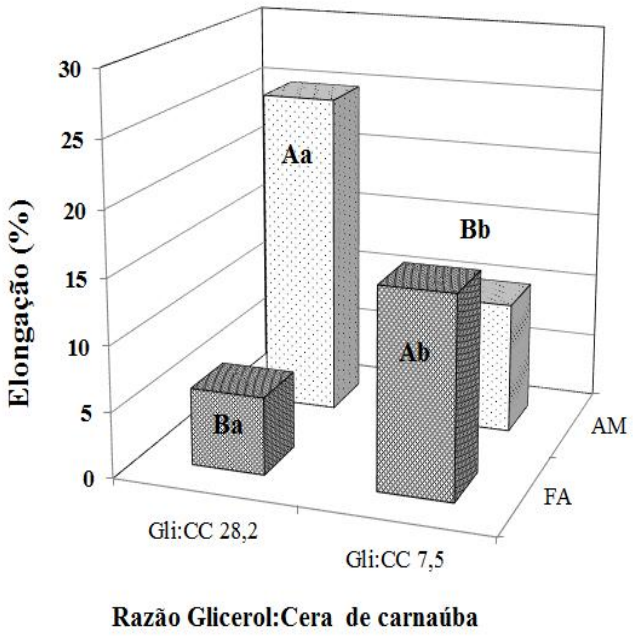


Figura 18 - Valores médios de elongação na ruptura (%) dos filmes a base de diferentes fontes botânicas de amido.

Letras minúsculas indicam diferença significativa ($p<0,05$) entre os tratamentos para o mesmo tipo de amido ou fécula. Letras maiúsculas indicam diferença significativa ($p<0,05$) entre os tratamentos Gli:CC 28,2 e Gli:CC 7,5 para os diferentes tipos de fontes botânicas.

Nesta Figura, evidencia-se os comportamentos das películas demonstrando que a variável glicerol foi mais determinante para as películas produzidas a base de amido de milho e que a variável lipídica foi mais determinante para as películas a base de fécula de açafrão. Shellhammer e Krochta (1997) observaram um aumento na elongação dos filmes de proteínas do soro do leite com o aumento da concentração de lipídios devido o efeito plastificante do lipídio; este mesmo comportamento foi também verificado por Fakhouri (2002), Yang e Paulson (2000), Batista (2004), Bertan (2003), entre outros. Por outro lado, Peroval et al. 2002

observaram uma diminuição da elongação ao incorporar ácidos graxos aos filmes de arabinoxilana, devido ao fato de que alguns lipídios parecem ser incapazes de formar uma matriz contínua e coesa, causando menor elongação.

Esse duplo efeito devido à adição de lipídios nos filmes hidrofílicos já foi anteriormente relatado na literatura por Yang e Paulson (2000) que observaram a redução da tensão na ruptura e da elongação com o aumento da concentração da blenda de esteárico-palmítico nos filmes de gelana. Contrariamente, Bertan (2003) observou que o aumento da concentração de breu nos filmes à base de gelatina provocou diminuição da tensão na ruptura e a elongação aumentou e o mesmo comportamento foi observado com a adição do ácido láurico.

5.5.1.3 Modulo de Elasticidade (MPa)

Módulo elástico ou de Young é a medida da rigidez dos filmes; quanto maior o módulo de Young, maior a rigidez do material (GALDEANO, 2007). Segundo Chiumarelli (2011), o módulo de elasticidade, ou módulo de Young é a razão entre a tensão e a deformação de uma amostra, sendo calculado através da inclinação da curva tensão-deformação obtida em um ensaio de tração. Materiais rígidos, como metais e materiais fibrosos têm um módulo de elasticidade elevado, enquanto elastômeros têm valores baixos, e os plásticos apresentam valores intermediários.

Observando os resultados expostos na Figura 19 verifica-se que há diferença significativa ($p<0,05$) entre alguns tratamentos descritos na razão glicerol:cera de carnaúba para os filmes produzidos com diferentes fontes botânicas. O módulo de elasticidade para os filmes produzidos a base de fécula de açafrão (Figura 19A) variaram de 64,98 a 655,00MPa e para os filmes produzidos a base de amido de milho (Figura 19B) a variação foi maior, de 24,51 a 2597,96MPa.

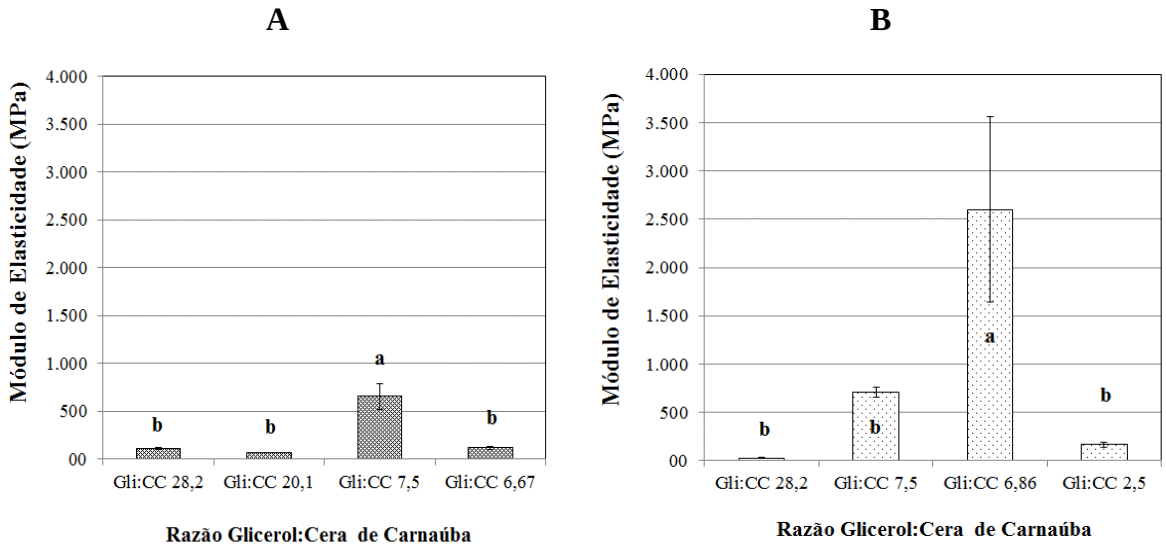


Figura 19 - Valores médios de módulo de elasticidade (MPa) dos filmes a base de fécula de açafrão.

Letras minúsculas indicam diferença significativa ($p<0,05$) entre os tratamentos em função da razão Glicerol:Cera de Carnaúba.

A Figura 19A demonstra o comportamento dos filmes produzidos a base de fécula de açafrão frente ao parâmetro avaliado. Observa-se que as películas que apresentaram os maiores valores para o módulo de elasticidade (MPa) foram as películas com menor concentração de glicerol em suas formulações. Estas películas são Gli:CC 7,5 e Gli:CC 6,67 com 655,00 e 118,60MPa, respectivamente. Nota-se que a película Gli:CC 7,5 apesar do alto resultado frente ao parâmetro analisado, não é a película com menor concentração de glicerol em sua formulação. Esta película contém 1,5% desta variável, porém é a película com maior concentração de cera em sua formulação (0,20%). Ojagh et al. (2010) verificaram que a adição de óleo essencial de canela em filmes de quitosana aumentou significativamente a tensão na ruptura e o módulo de elasticidade dos filmes e, de acordo com estes autores, a forte interação entre polímero e lipídios produziu um efeito reticulante, que diminuiu o volume livre e a mobilidade molecular do polímero.

Além disso, pode-se destacar que esta película apresentou, em relação as demais, o valor de pH mais alto 6,20. Segundo Maniglia et al. (2014) em seu estudo sobre o desenvolvimento de filmes comestíveis bioativos a partir de resíduos de extração de cúrcuma, constatou que os valores mais elevados de pH (pH>8,5) proporcionou valores máximos de módulo de elasticidade. Esses autores afirmam que em pH alto (meio alcalino), as proteínas de açafrão

podem ter atingido máxima dissolução e assim ter sofrido algumas alterações de conformação, o que afetou as propriedades mecânicas dos filmes.

Infere-se diante dos resultados, que para estas películas as variáveis glicerol e lipídios interagiram sinergicamente, visto que, menores concentrações de glicerol (entre 1,5% e 1%) e maiores concentrações de cera de carnaúba (entre 0,15 e 0,20%) produziram filmes com maiores módulos de elasticidade, indicando que estas películas são mais rígidas.

Para os filmes a base de amido de milho (Figura 19B), observa-se um comportamento diferenciado àquele discutido anteriormente. Os valores obtidos para o referido parâmetro avaliado variou significativamente indo de 24,51 a 2597,96MPa. Nota-se que o valor mais elevado pertence ao tratamento com composição intermediária de glicerol (2,61%) e cera de carnaúba (0,38%) Gli:CC 6,86, seguido pelo tratamento Gli:CC 7,5 com 1,5% de glicerol e 0,20% de cera de carnaúba em sua composição.

Vários autores relatam que a grande concentração de lipídios provoca a separação da fase lipídica, reduzindo as propriedades mecânicas dos filmes. Tapia-Blácido (2006) relatou que alta concentração de lipídios em filmes de farinha de amaranto promoveu redução do módulo de elasticidade, da elongação e da tensão na ruptura. Segundo Jiménez et al. (2010), a adição de ácidos graxos em filmes à base de hidroxipropil-metilcelulose provocou uma diminuição significativa no módulo de elasticidade, na resistência à ruptura e na deformação, devido à descontinuidade na matriz polimérica do filme após a secagem. Este comportamento também foi observado por Sánchez-González et al. (2009) em filmes de óleo essencial de melaleuca e Vargas et al. (2009) em filmes de quitosana e ácido oléico. Porém, Han et al. (2006) observaram que a adição de emulsão de cera de abelha em filmes de amido de ervilha reduziu a tensão e a elongação e aumentou o módulo de elasticidade, o que também foi verificado parcialmente no presente estudo.

Ao comparar os tratamentos Gli:CC 28,2 e Gli:CC 7,5 produzidas a partir de diferentes fontes botânicas (Figura 20), pode-se inferir que a variável mais significativa foi o glicerol. Nota-se que os valores mais elevados estão dispostos para o tratamento Gli:CC 7,5 que tem em sua composição menor teor de plasticizante (glicerol), porém maior quantidade de cera de carnaúba frente aos dois tratamentos. Isto pode ter proporcionado a esta película uma maior rigidez frente ao outro tratamento Gli:CC 28,2 que continha em sua formulação 2,82% do mesmo plastificante.

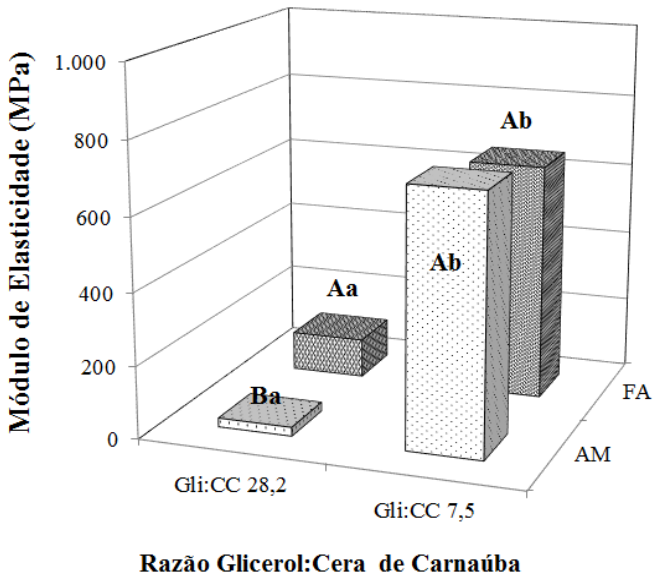


Figura 20 - Valores médios de módulo de elasticidade (MPa) dos filmes a base de diferentes fontes botânicas de amido.

Letras minúsculas indicam diferença significativa ($p<0,05$) entre os tratamentos para o mesmo tipo de amido ou fécula. Letras maiúsculas indicam diferença significativa ($p<0,05$) entre os tratamentos Gli:CC 28,2 e Gli:CC 7,5 para os diferentes tipos de fontes botânicas.

5.5.1.4 Perfuração

A resistência à perfuração é um parâmetro de qualidade para materiais utilizados no acondicionamento de produtos com pontas ou outros tipos de protuberâncias que possam danificar a embalagem (SARANTÓPOULOS et al., 2002). As propriedades de perfuração analisadas para as diferentes películas produzidas foram força na perfuração (N) e deformação na perfuração (mm) e os resultados estão apresentados nas Figuras 21, 22, 23 e 24.

As propriedades mecânicas de força e deformação máximas na ruptura em ensaios de perfuração foram influenciadas pelo conteúdo de glicerol ($p<0,05$). No entanto, este efeito foi negativo para a força na ruptura no caso dos filmes produzidos a base de fécula de açafrão, o que significa dizer que, quanto maior o teor de plastificante menor será a força aplicada na deformação. Por outro lado, foi positivo para a deformação em ambos os filmes, tanto aqueles produzidos a base de fécula de açafrão quanto àqueles produzidos a base de amido de milho, ou seja, quanto maior o teor de glicerol, maior será a deformação na aplicação da força. A força na ruptura não apresenta influência das interações binárias. Pode-se observar ainda, em todos os gráficos apresentados (Figuras 21 e 22), uma tendência da força na ruptura ser máxima quanto menor for o conteúdo de glicerol e maior o de cera de carnaúba, e da deformação na

ruptura ser máxima para maiores teores de glicerol. No que diz respeito à deformação na ruptura (Figuras 23 e 24), este parâmetro foi quase que, exclusivamente, afetado pelo teor de glicerol.

O decréscimo da força na ruptura e o aumento da deformação com o aumento do teor de plastificante (glicerol) são comportamentos típicos dos filmes biopoliméricos (FENNEMA; DONHOWE; KESTER, 1994; MONTERREY; SOBRAL, 1999, MCHUGH; KROTCHA, 1994).

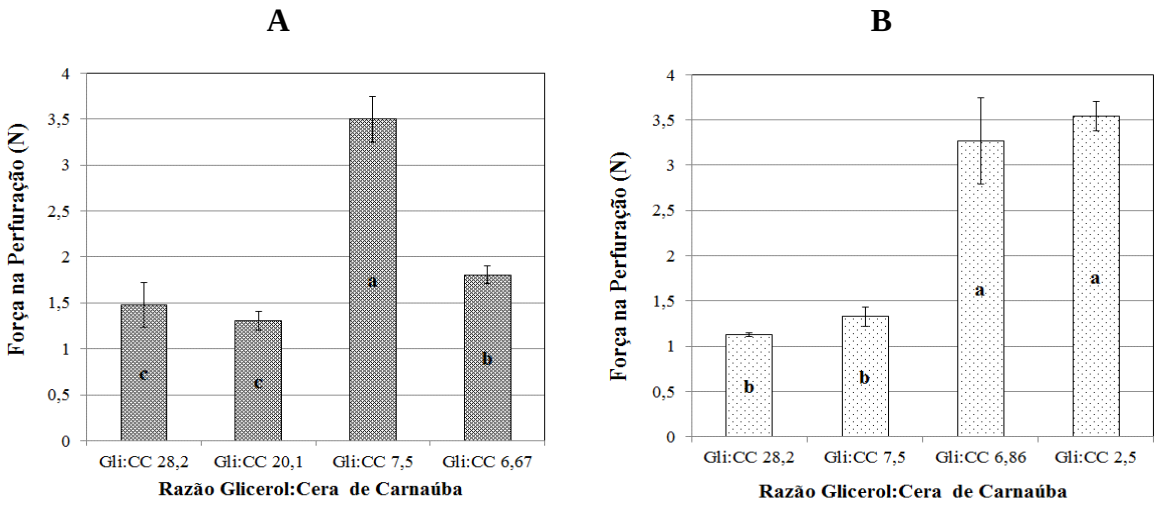


Figura 21 - Valores médios de força na perfuração (N) dos filmes a base de fécula de açafrão (A) e amido de milho (B).

Letras minúsculas indicam diferença significativa ($p<0,05$) entre os tratamentos em função da razão Glicerol:Cera de Carnaúba.

Observando a Figura 21A verifica-se que o valor de maior elevação e aquele representado pelos resultados obtidos pela análise da película Gli:CC 7,5. Tal película apresenta em sua formulação uma concentração intermediária de glicerol (1,5%), porém vale ressaltar que a proporção lipídica, principalmente representada pela cera de carnaúba (0,20%), é a maior frente às demais películas deste teste. Este componente, tal como já defendido em outros momentos no presente estudo, afeta a mobilidade das moléculas poliméricas e pode, ter corroborado para um comportamento mais rígido. Este resultado auxilia na análise para as demais películas produzidas a base de fécula de açafrão, onde se observa que o segundo maior pico vem representado pelo tratamento que apresenta a menor concentração de glicerol (1%) e a segunda maior concentração de cera de carnaúba (0,15%) Gli:CC 6,67. Os outros tratamentos Gli:CC 28,2 e Gli:CC 20,1, seguiram demonstrando comportamentos de acordo com aqueles encontrados na literatura.

Segundo Araujo-Farro (2008), em seu estudo sobre o Desenvolvimento de filmes biodegradáveis a partir de derivados do grão de quinoa (*Chenopodium quinoa* Willdenow) variedade "Real", a autora constatou que os valores máximos da resposta força na ruptura estavam na região definida pelos menores teores de concentração de glicerol e menores níveis de pH.

Observando a Figura 21B, tem-se o melhor resultado para os valores obtidos no tratamento Gli:CC 2,5, que traz em sua composição a menor proporção de glicerol (1%) frente aos demais tratamentos, além disso, este tratamento é o que apresenta a maior quantidade de cera de carnaúba em sua composição (0,40%) o que colabora para uma película mais rígida devido a dificuldade de mobilidade molecular causada por este lipídio como já foi reportado anteriormente. Com relação às películas produzidas à base de amido de milho, verifica-se que o segundo melhor tratamento para este parâmetro analisado foi o Gli:CC 6,86. Tal tratamento apesar de apresentar em sua composição uma quantidade considerável de glicerol (2,61%) é a película com a segunda maior concentração de cera de carnaúba (0,38%) o que pode ter colaborado para obtenção de resultados tão expressíveis. Infere-se desta forma a análise dos resultados descritos na Figura 21B, pois quando se observa os demais tratamentos uma película chama atenção pela composição de glicerol (1,5%) em sua formulação: Gli:CC 7,5. Nota-se que esta película apresentou valor inferior de força na perfuração em relação ao tratamento Gli:CC 6,86, que como já foi descrito, tem em sua composição uma quantidade considerável da variável glicerol. Sendo assim, a variável cera de carnaúba presente no tratamento Gli:CC 7,5 provavelmente foi o componente responsável pelo desempenho inferior desta película frente a película Gli:CC 6,86.

A Figura 22 trata sobre os resultados obtidos para duas películas frente às diferentes fontes botânicas utilizadas. Diante do exposto, verifica-se que os melhores resultados obtidos de força na perfuração estão para aquelas películas produzidas a partir de fécula de açafrão (Gli:CC 7,5 – 3,5N e Gli:CC 28,2 – 1,48N). Já para as películas produzidas a partir de amido de milho, encontram-se os valores inferiores a 1,4N (Gli:CC 7,5 – 1,33N e Gli:CC 28,2 - 1,13N). As películas produzidas a base de fécula de açafrão podem ter apresentado um melhor desempenho frente às películas produzidas a base de amido de milho devido a melhor interação entre os componentes lipídicos e a matriz polimérica. Tal como já foi relatado no presente estudo, os lipídios têm o poder de formar uma matriz coesa e contínua nos filmes, ora melhorando as propriedades mecânicas, ora favorecendo a capacidade de formar barreiras.

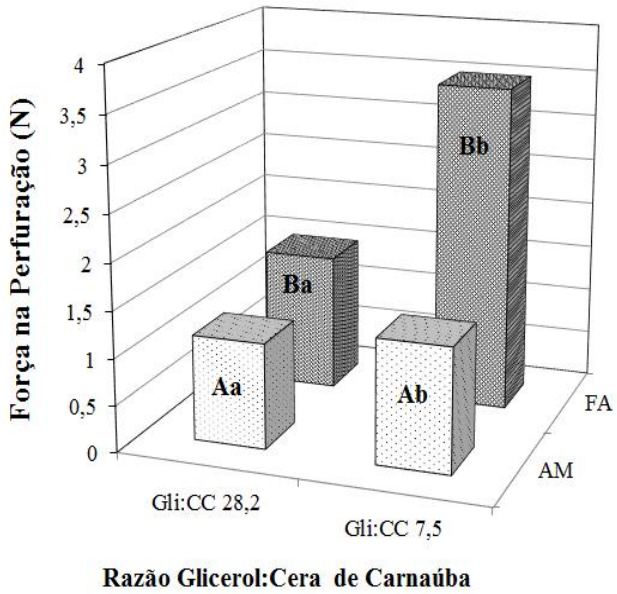


Figura 22 - Valores médios de força na perfuração (N) dos filmes a base de diferentes fontes botânicas de amido.

Letras minúsculas indicam diferença significativa ($p<0,05$) entre os tratamentos para o mesmo tipo de amido ou fécula. Letras maiúsculas indicam diferença significativa ($p<0,05$) entre os tratamentos Gli:CC 28,2 e Gli:CC 7,5 para os diferentes tipos de fontes botânicas.

A Figura 23A trata dos valores médios obtidos pela análise de deformação na ruptura (mm) para os filmes produzidos a base de fécula de açafrão. Observa-se que para o parâmetro analisado, a variável glicerol foi a de maior importância na obtenção dos maiores resultados. Isso fica bem representado quando se observa na Figura 23A onde o tratamento Gli:CC 28,2 (com maior proporção de glicerol em sua formulação) foi o que apresentou o maior valor na deformação 13,30mm. Os demais tratamentos seguiram com pequenas variações, porém não houve diferença significativa ($p<0,05$) entre eles. Isto pode ser explicado pela atuação da cera de carnaúba nestas películas, onde as proporções empregadas foram mais altas do que aquela presente no tratamento citado (Gli:CC 28,2) o que provavelmente determinou estes resultados.

Mali et al. (2005a) ao estudar filmes de amido de inhame com acréscimo de glicerol nas relações (amido:glicerol m/m) de 3,3:1,3; 4,0:1,3 e 3,3:2,0, relataram que apenas a concentração de glicerol influenciou na deformação do filme na perfuração. Os autores explicam que o acréscimo de glicerol pode alterar a estrutura da rede de amido, tornando os filmes menos densos e facilitando a mobilidade das cadeias do polímero.

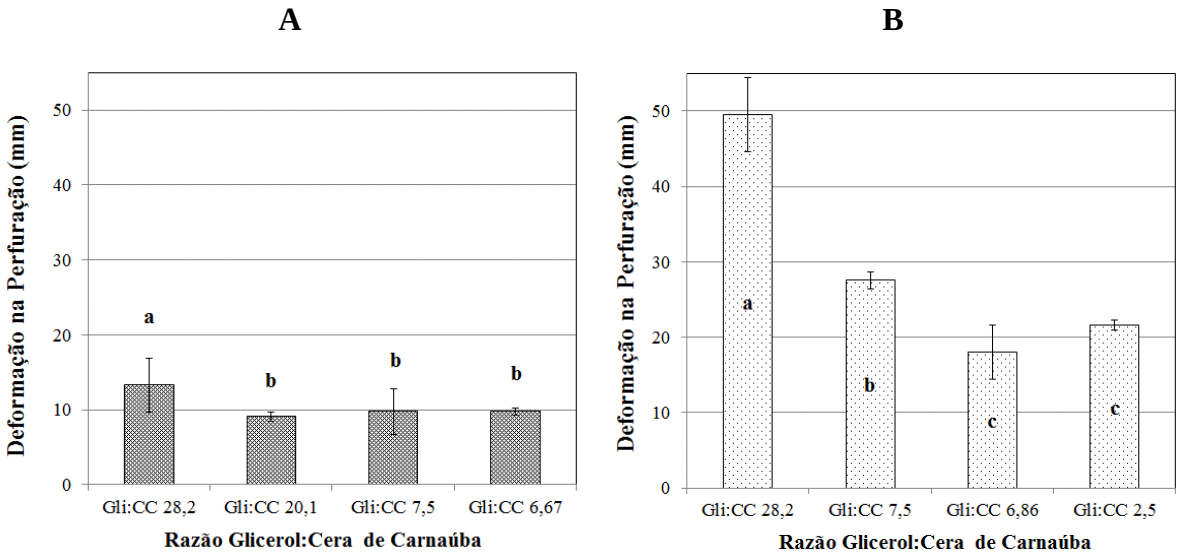


Figura 23 - Valores médios de deformação na perfuração (mm) dos filmes a base de fécula de açafrão (A) e amido de milho (B).

Letras minúsculas indicam diferença significativa ($p<0,05$) entre os tratamentos em função da razão Glicerol:Cera de Carnaúba.

Tal como foi discutido para as películas produzidas a base de fécula de açafrão (Figura 23A), as películas produzidas à base de amido de milho (Figura 23B) também sofreram uma forte influência da variável glicerol e uma pequena influência da variável cera de carnaúba. Observando a Figura 23B, verifica-se que o valor mais elevado pertence ao tratamento Gli:CC 28,2, este tratamento, apresenta em sua formulação a maior concentração de glicerol o que colaborou para que esta película alcançasse o valor de 49,50mm na análise de deformação na perfuração. Para os demais tratamentos, observa-se que o segundo maior valor para a deformação na perfuração foi obtido pela película Gli:CC 7,5, seguido pelas películas Gli:CC 2,5 e Gli:CC 6,86. Pode-se observar que para estes tratamentos a variável glicerol sofreu influência negativa dos componentes lipídicos, principalmente da cera de carnaúba que ora aumentou os valores de deformação (Gli:CC 7,5 e Gli:CC 2,5), ora diminuiu estes valores em uma película com valor considerável de glicerol (Gli:CC 6,86 – 2,61%).

A Figura 24 demonstra os valores médios de deformação para películas produzidas com diferentes fontes botânicas.

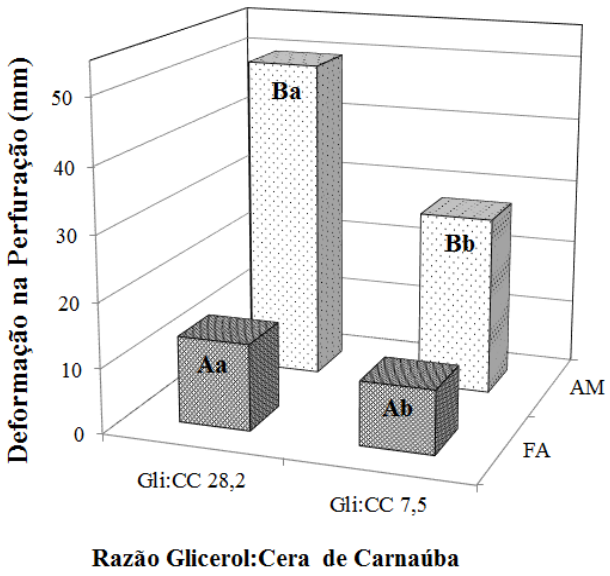


Figura 24 - Valores médios de deformação na perfuração (mm) dos filmes a base de diferentes fontes botânicas de amido.

Letras minúsculas indicam diferença significativa ($p<0,05$) entre os tratamentos para o mesmo tipo de amido ou fécula. Letras maiúsculas indicam diferença significativa ($p<0,05$) entre os tratamentos Gli:CC 28,2 e Gli:CC 7,5 para os diferentes tipos de fontes botânicas.

Na Figura 24 verifica-se que diferentemente do que se observou para a força na perfuração, as películas produzidas a base de fécula apresentaram valores inferiores àqueles demonstrados para as películas a base de amido de milho. Tal comportamento pode ser explicado pela interação entre lipídios (intrínsecos à fécula e adicionados), glicerol e fécula. A utilização de plasticizante tende a aumentar a deformação devido à interferência destes entre as cadeias poliméricas, facilitando o deslizamento e resultando em maior flexibilidade. Os lipídios podem formar cristais durante o processo de secagem e isso tem forte influência sobre a flexibilidade dos filmes (GARCIA; MARTINO; ZARITZKY, 2000).

5.5.2 Propriedades ópticas

5.5.2.1 Cor

A aparência externa de uma embalagem que protege qualquer alimento exerce um forte impacto e uma influência na opinião e aceitação do consumidor, com relação à qualidade desse produto (ARAUJO-FARRO, 2008). Sendo assim, a avaliação das propriedades ópticas de

filmes biodegradáveis se faz necessária e são dependentes da formulação e do processo de formação das películas.

5.5.2.1.1 Luminosidade (L*)

A Figura 25A mostra os valores médios de luminosidade (L*) das películas produzidas à base de fécula de açafrão. Os valores de luminosidade (L*) podem variar de 0 a 100, indicando respectivamente, preto a branco. No caso dos filmes a base de fécula de açafrão, os valores variaram de 56,12 (Gli:CC 7,5 – 1,5% de glicerol e 0,20% de cera de carnaúba) a 58,39 (Gli:CC 20,1 – 2,61% de glicerol e 0,13% de cera de carnaúba). Como estes valores estão distantes de 100, indicam que os filmes apresentam luminosidade (L*) mais distante do branco, ou seja, são mais escuros. Embora a variação deste parâmetro tenha sido pequena entre as películas produzidas a base de fécula de açafrão, observa-se que o menor valor encontrado foi para o tratamento Gli:CC 7,5 que apresenta em sua formulação a maior concentração de cera de carnaúba comparado as demais películas. Tal componente interfere reduzindo a mobilidade das moléculas na matriz polimérica o que pode ter interferido principalmente na retenção dos pigmentos de cúrcuma ainda presentes na fécula. Nota-se que Gli:CC 20,1 contendo em sua formulação 2,61% de glicerol foi o tratamento com o maior valor para este parâmetro avaliado, seguido pela película Gli:CC 6,67 (1,0% de glicerol) e Gli:CC 28,2 (com 2,82% de glicerol).

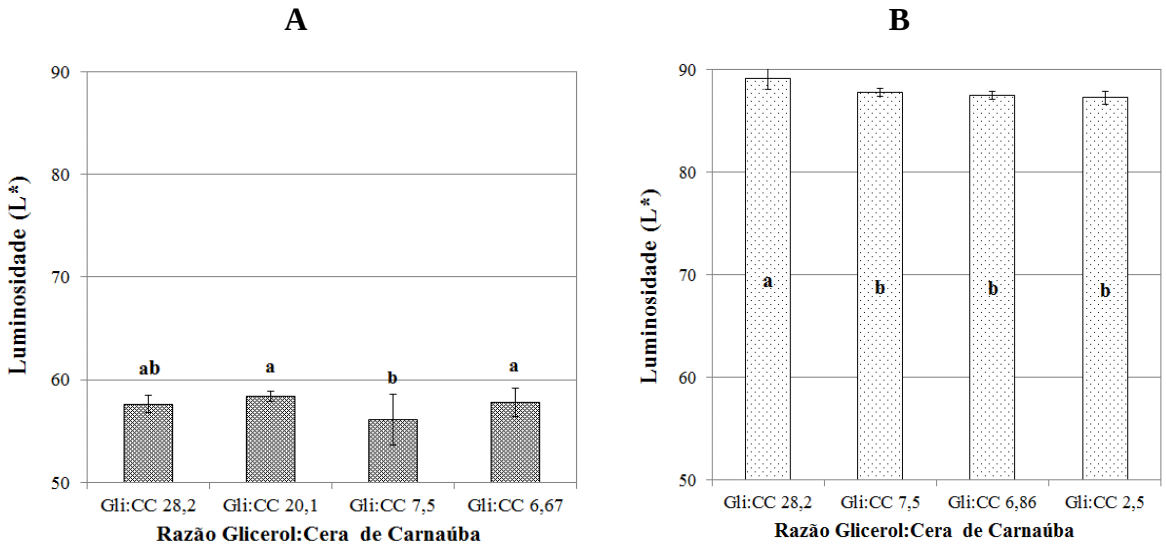


Figura 25 - Valores médios de luminosidade (L*) dos filmes a base de fécula de açafrão (A) e amido de milho (B).

Letras minúsculas indicam diferença significativa ($p<0,05$) entre os tratamentos em função da razão Glicerol:Cera de Carnaúba.

A Figura 25B demonstra os valores médios de luminosidade (L*) obtidos pelos filmes produzidos a base de amido de milho que variou de 89,18 (Gli:CC 28,2) a 87,27 (Gli:CC 2,5). Tais valores, diferentemente dos valores expressos para os filmes produzidos a base de fécula de açafrão discutido anteriormente, encontram-se mais próximos de 100 indicando que estes filmes apresentam luminosidade (L*) mais próxima do branco, sendo caracterizados como películas mais claras. Outro fator importante, e que também não diferiu do que foi discutido para a fécula, foi o teor de glicerol afetando os valores obtidos para este parâmetro. Observa-se que o maior valor de luminosidade (L*) encontrado foi o do tratamento Gli:CC 28,2 que é a película com maior quantidade de glicerol (2,82%), as demais películas seguiram apresentando pequenas variações, porém sem diferença significativa ($p<0,05$) entre elas.

Infere-se que, para os filmes produzidos a base de amido de milho, o aumento na concentração de glicerol favoreceu os valores de luminosidade (L*) o que caracteriza películas que tendem a ser mais claras com o aumento desta variável.

A Figura 26 resume as diferenças existentes entre dois tratamentos frente às diferentes fontes botânicas utilizadas. Fica fácil entender as diferenças existentes entre os tratamentos propostos quando se observa o comportamento das mesmas produzidas com diferentes fontes botânicas. Nota-se que filmes produzidos a base de amido de milho, independente dos demais componentes utilizados na composição da película, apresentaram valores mais elevados para o parâmetro observado. Já os filmes produzidos a base de fécula de açafrão apresentaram valores inferiores e podem ser destacadas como películas que tendem a ser mais escuras como já era esperado.

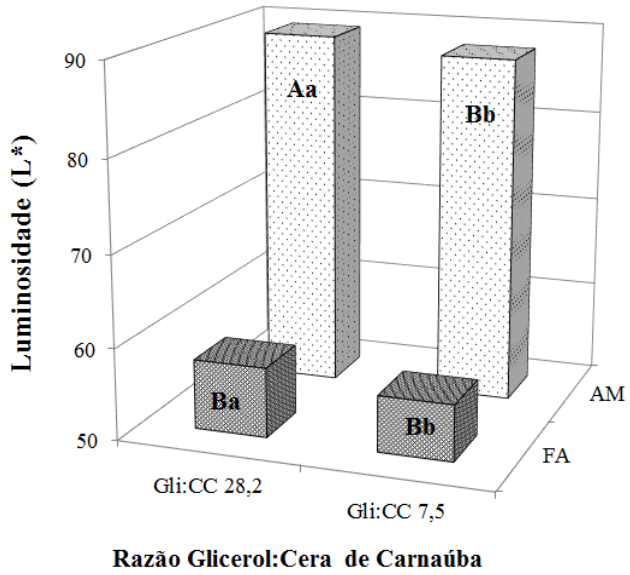


Figura 26 - Valores médios de luminosidade (L*) dos filmes a base de diferentes fontes botânicas de amido.

Letras minúsculas indicam diferença significativa ($p<0,05$) entre os tratamentos para o mesmo tipo de amido ou fécula. Letras maiúsculas indicam diferença significativa ($p<0,05$) entre os tratamentos Gli:CC 28,2 e Gli:CC 7,5 para os diferentes tipos de fontes botânicas.

5.5.2.1.2 Opacidade (Y)

A opacidade dos filmes produzidos a base de fécula de açafrão variou de 19,74 a 24,96% enquanto que para os filmes a base de amido de milho a variação foi de 10,07 a 16,42%. Observou-se que os valores obtidos na avaliação deste parâmetro, para ambas as películas, foram influenciados pelas variáveis glicerol e cera de carnaúba. Amostras com maior concentração de cera de carnaúba para a fécula de açafrão, tais como Gli:CC 7,5 (0,20% de cera) e Gli:CC 6,67 (0,15% de cera) apresentaram os maiores valores de opacidade (Y). Assim como foi demonstrado nas películas produzidas a base de amido de milho onde Gli:CC 6,86 (0,38% de cera) apresentou o maior valor para o parâmetro avaliado. Estes resultados podem estar relacionados ao fato destes tratamentos mostrarem grande instabilidade, o que resultou em filmes com distribuição irregular dos lipídios.

A Figura 27A demonstra o comportamento das películas produzidas à base de fécula de açafrão. Nota-se que o pico de maior elevação é aquele que representa o tratamento Gli:CC 6,67 (1,00% de glicerol e 0,15% de cera de carnaúba) seguido pelo tratamento Gli:CC 7,5 (1,5% de glicerol e 0,20% de cera de carnaúba). Como já foi reportado anteriormente, o glicerol atua aumentando a mobilidade das moléculas presentes no sistema, desta forma observou que os

picos da referida figura tem sua altura reduzida à medida que representam tratamentos com quantidades mais elevadas de glicerol.

De acordo com García et al. (2009), materiais lipídicos podem migrar para a superfície do filme ou cobertura, dependendo de sua microestrutura, afetando as propriedades ópticas da película. Chana-Thaworn, Chanthachum e Wittaya (2011) observaram que filmes de hidroxipropil metilcelulose menos transparentes foram obtidos quando uma maior concentração de extrato de madeira Kiam foi incorporada à película.

Bonilla et al. (2011) verificaram que a adição de óleo de manjericão em filmes à base de quitosana reduziu o brilho e a transparência das películas. Ghanbarzadeh e Almasi (2011) reportaram que a incorporação de ácido oleico em filmes de carboximetil celulose aumentou a opacidade das películas. Segundo os autores, este efeito pode ser atribuído à coalescência das gotículas lipídicas e à cremeação durante a secagem do filme. Tapia-Blácido et al. (2007) observaram que filmes à base de amaranto com maior concentração de lipídios também se apresentaram opacos.

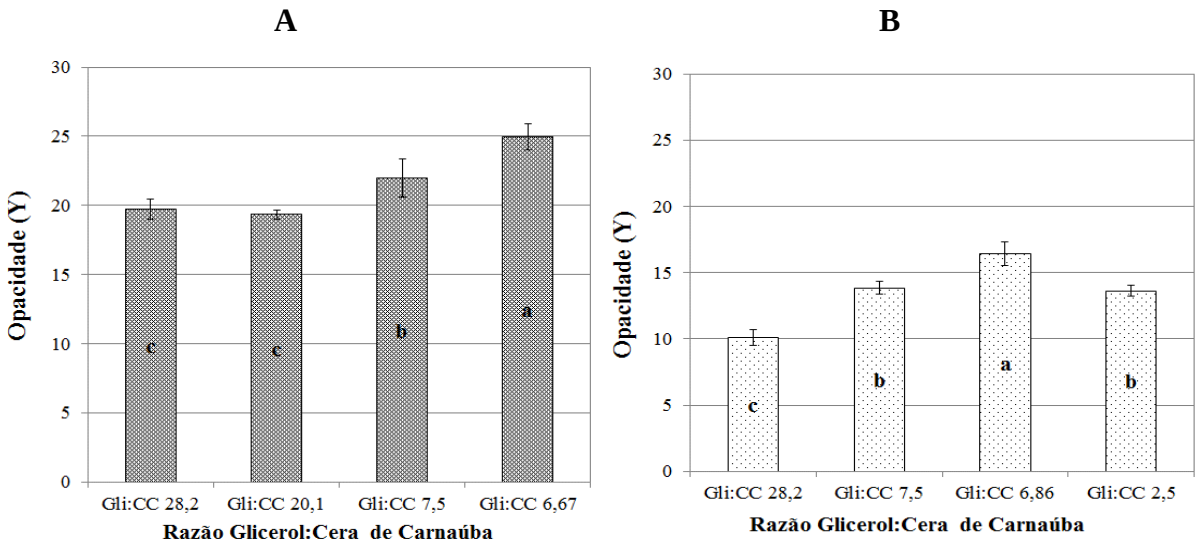


Figura 27 - Valores médios de opacidade (Y) dos filmes a base de fécula de açafrão (A) e amido de milho (B).

Letras minúsculas indicam diferença significativa ($p<0,05$) entre os tratamentos em função da razão Glicerol:Cera de Carnaúba.

A Figura 27B mostra os valores médios para o parâmetro opacidade (Y) das películas produzidas à base de amido de milho. Observa-se que há diferença significativa ($p<0,05$) entre todos os tratamentos analisados sendo que o maior pico representado na figura, pertence ao

tratamento Gli:CC 6,86 (16,42%). Dados de literatura afirmam que o aumento das concentrações de glicerol promove uma diminuição das médias de transparência dos diversos filmes produzidos e analisados por diversos autores. Esse resultado não condiz com o presente estudo para as películas produzidas a base de amido de milho, que tem a película mais opaca representada pelo tratamento com concentração relativamente elevada de glicerol em sua composição (2,61%). Infere-se que a maior instabilidade dos sistemas, faz com que haja regiões do filme com grande aglomeração do componente lipídico e outras áreas contendo apenas polissacarídeo e glicerol.

Segundo Matta Jr. (2009), o uso de plastificantes deixa a estrutura da rede mais flexível e os filmes mais opacos. Este fato foi comprovado por outros autores como Bertuzzi; Armada; Gottifredi (2007) ao estudarem filmes de amido de milho de alto teor de amilose com acréscimos de 0 a 60% de glicerol. Concentrações acima de 15% de glicerol neste trabalho acarretaram mudanças estruturais aumentando a mobilidade das cadeias. Após a adição de 30% do plastificante houve aumento da umidade na rede aumentando assim a quantidade de água, reduzindo as forças intermoleculares da matriz da rede de amido, diminuindo a transparência ou desenvolvendo a opacidade no filme.

Filmes de amido de milho modificados (acetilado, ligação cruzada, acetilado hidroxipropilados e modificados por ácido) com acréscimo de glicerol (de 0 a 5g.100 g^{-1}) na suspensão filmogênica apresentaram redução de transparência, comportamento este mais evidenciado com acréscimos acima de 2,5g do plastificante (LOPEZ; GARCIA; ZARITZKY, 2008).

A Figura 28 demonstra o comportamento de dois tratamentos distintos (Gli:CC 28,2 e Gli:CC 7,5).

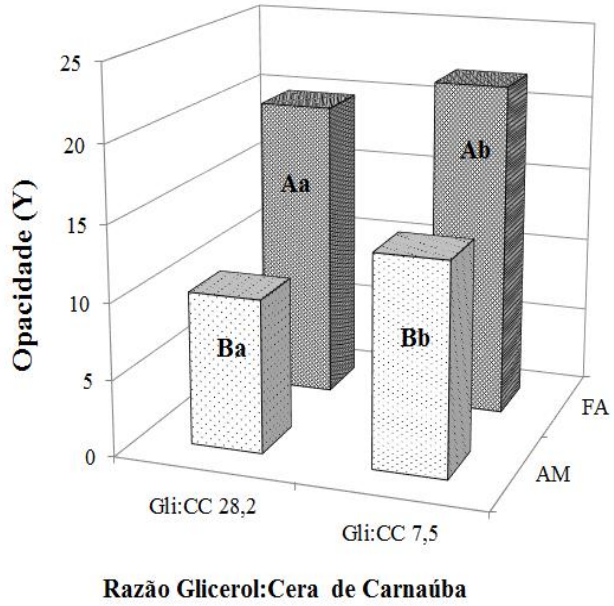


Figura 28 - Valores médios de opacidade (Y) dos filmes a base de diferentes fontes botânicas de amido.

Letras minúsculas indicam diferença significativa ($p<0,05$) entre os tratamentos para o mesmo tipo de amido ou fécula. Letras maiúsculas indicam diferença significativa ($p<0,05$) entre os tratamentos Gli:CC 28,2 e Gli:CC 7,5 para os diferentes tipos de fontes botânicas.

As variáveis glicerol e cera de carnaúba foram determinantes nos picos apresentados, além disso, a fonte botânica de amido e fécula também atuou nesta determinação. Isso fica evidente quando se observa que para o tratamento Gli:CC 28,2 os picos apresentaram-se mais baixos, provavelmente pela atuação do glicerol, que representa 2,82% da composição desta película além dos 0,10% de cera de carnaúba. Já para a película Gli:CC 7,5, a concentração da variável glicerol é de 1,5% além da cera de carnaúba representando 0,20% da sua composição. Tal como já foi discutido anteriormente, a variável glicerol, quando utilizada em concentrações mais elevadas, resultam em películas menos opacas, porém, ainda em uma observação global, percebe-se que para as películas produzidas a base de fécula de açafrão tal afirmação se faz condizente, já para as películas a base de amido de milho a variável cera de carnaúba foi mais determinante. Películas com maiores concentrações de cera de carnaúba apresentaram-se mais opacas independente da concentração de glicerol, reiterando a informação de que há uma maior instabilidade nestes sistemas o que provavelmente promoveu uma aglomeração do componente lipídico.

Nota-se que películas produzidas à base de fécula de açafrão apresentaram valores mais elevados para o parâmetro observado, caracterizando que estas películas tendem a ser mais opacas.

5.5.2.1.3 Índices Croma (*C) e ângulo hue (*h*°)**

Os índices croma e hue relacionam os valores de *a** e *b** para melhor avaliação dos resultados (SOARES, 2012). O índice croma variou entre 46,93 a 51,84 para os filmes a base de fécula de açafrão e entre 3,10 a 4,51 para os filmes a base de amido de milho.

A Figura 29A demonstra o comportamento dos filmes produzidos à base de fécula de açafrão frente ao parâmetro avaliado Croma (*C**). Quanto maior o valor de Croma maior a intensidade da cor da película avaliada, resultando em películas que apresentam cores mais vívidas. A película com maior valor de Croma (*C**) é aquela representada pelo tratamento Gli:CC 20,1 (51,84), tal película apresenta em sua composição 2,61% de glicerol e 0,13% de cera de carnaúba. Ainda observando os picos representados pela Figura 29, o próximo tratamento com alto valor de Croma (*C**) é o tratamento Gli:CC 28,2 (50,56) que apresenta em sua composição uma quantidade elevada de glicerol (2,82%) e baixa concentração de cera de carnaúba (0,10%). Segundo alguns autores e, tal como já foi discutido para o parâmetro opacidade (Y), elevadas concentrações de glicerol e lipídios afetam diretamente os parâmetros ópticos destas estruturas.

Segundo Chiumarelli (2011), esse comportamento pode ser explicado pelo fato de que os ensaios com menores quantidades de cera apresentaram menores tamanhos de partícula e, portanto, houve uma distribuição mais homogênea dos lipídios na película, resultando em uma coloração mais uniforme e amarelada. Assim como observado para a resposta opacidade, filmes com maiores quantidades de cera apresentaram maior instabilidade, fazendo com que houvesse regiões da película com grande aglomeração do componente lipídico e outras áreas contendo apenas polissacarídeos e glicerol.

Vale ressaltar que esta alta intensidade de cor demonstrada pelo tratamento Gli:CC 20,1 é altamente desejável nos produtos alimentícios. Segundo Granato (2009), a cor é a primeira característica que os consumidores avaliam antes de seu consumo e é comprovado que produtos alimentícios com maior intensidade de cor são os preferidos pelos consumidores.

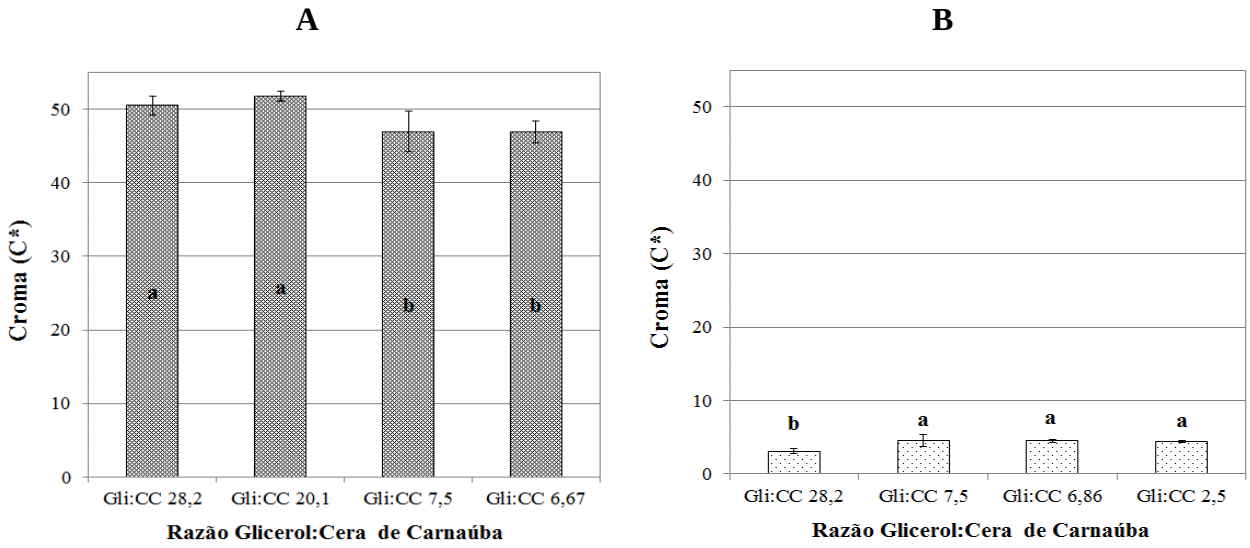


Figura 29 - Valores médios de Croma (*C**) dos filmes a base de fécula de açafrão (A) e amido de milho (B).

Letras minúsculas indicam diferença significativa ($p<0,05$) entre os tratamentos em função da razão Glicerol:Cera de Carnaúba.

Ao contrário do que ocorreu com os filmes a base de fécula de açafrão, para os filmes a base de amido de milho os maiores valores de Croma (*C**) pertencem aos tratamentos com concentrações mais baixas de glicerol e concentrações crescentes de cera de carnaúba (Gli:CC 7,5; Gli:CC 6,86 e Gli:CC 2,5), observa-se ainda que não existe diferença significativa ($p<0,05$) entre os tratamentos citados. O tratamento que apresentou quantidade inferior nos valores de Croma (*C**) foi o tratamento Gli:CC 28,2 que é a película composta pela maior quantidade de glicerol em sua composição. Infere-se que esta variável atue colaborando para uma diminuição na intensidade da cor, pois, o uso de plastificantes deixa a estrutura da rede mais flexível e os filmes mais opacos e com menor intensidade de cor.

A Figura 30 expressa o comportamento de duas películas distintas produzidas com as diferentes fontes botânicas relatadas neste estudo. O aspecto visual (intensidade de cor) é bastante influenciado pelas fontes botânicas de amido utilizadas na produção das películas. Percebe-se que as variáveis (glicerol e cera de carnaúba), não apresentaram grande influência. Nota-se que as películas produzidas à base de fécula de açafrão apresentaram maiores valores de Croma (*C**) e assim, infere-se que estas películas têm sua cor mais intensa do que as películas produzidas à base de amido de milho que apresentaram valores 47% menores para o parâmetro avaliado.

Vale ressaltar que esta diferença na intensidade das referidas películas já era esperada, visto que, as películas produzidas à base de fécula de açafrão apresentam resíduos de óleo resina, curcumina e outros extratos pertencentes ao rizoma de cúrcuma responsável pela coloração amarelada (Figura 31).

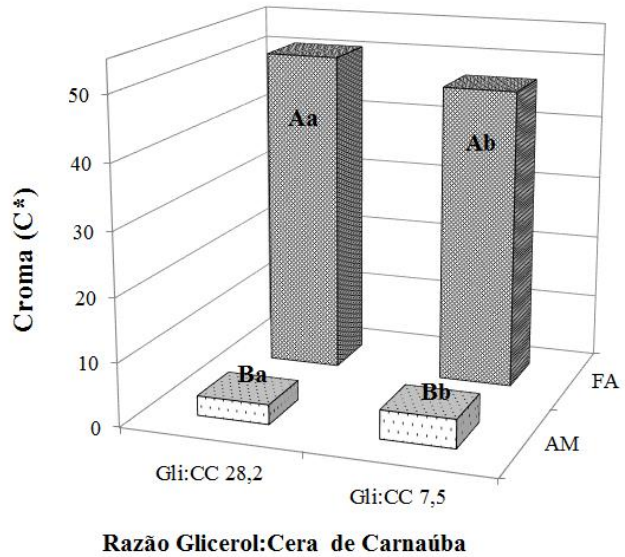
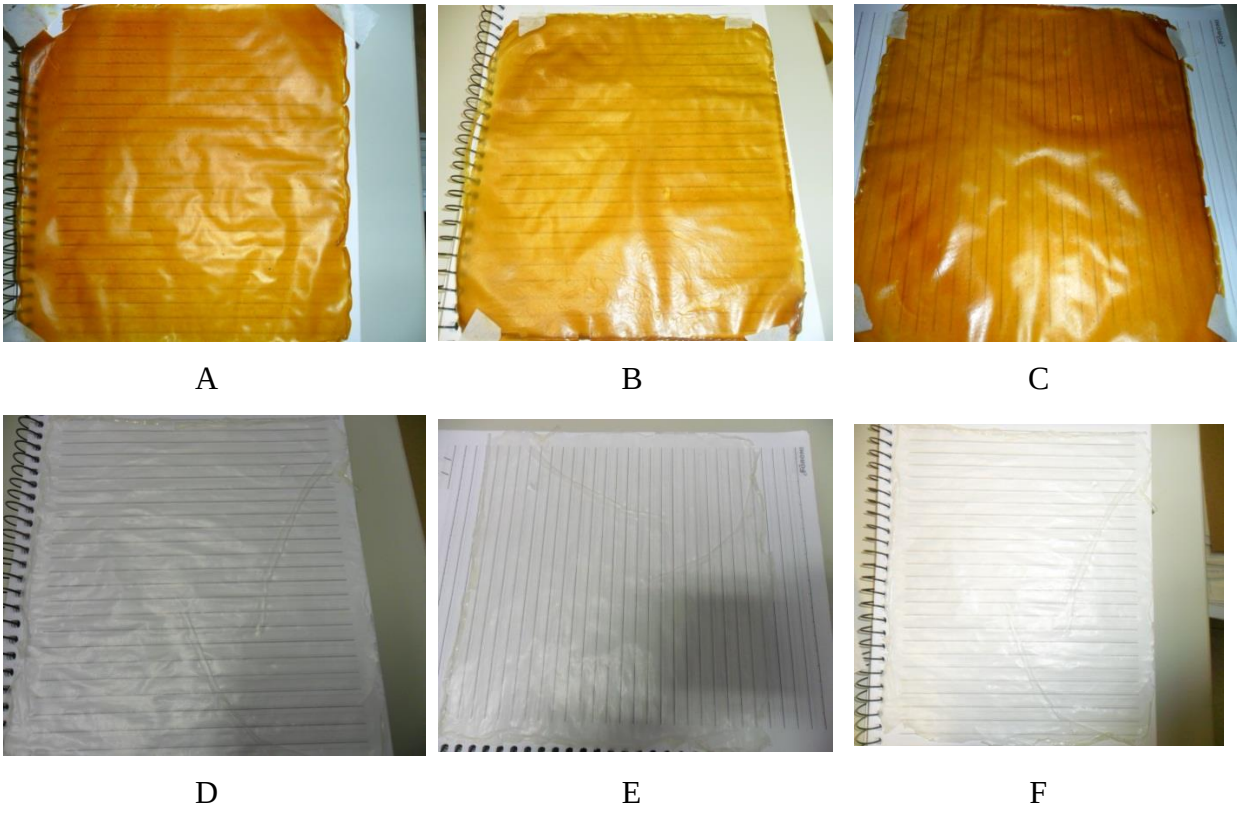


Figura 30 - Valores médios de Croma (*C**) dos filmes a base de diferentes fontes botânicas de amido.

Letras minúsculas indicam diferença significativa ($p<0,05$) entre os tratamentos para o mesmo tipo de amido ou fécula. Letras maiúsculas indicam diferença significativa ($p<0,05$) entre os tratamentos Gli:CC 28,2 e Gli:CC 7,5 para os diferentes tipos de fontes botânicas.



A B C

D E F

Figura 31 - Fotografias de filmes preparados a partir de fécula de açafrão (A, B e C) e amido de milho (D, E e F).

Os valores de ângulo hue segundo a sequência CIELAB hue (McGUIRE, 1992), define a cor vermelha como 0ºh, amarelo como 90°h, verde como 180°h e azul como 270°h. As películas produzidas à base de fécula de açafrão apresentaram ângulos variando entre 66 a 70°, resultando em filmes com variação de cor entre laranja e amarelo laranja. Observando a Figura 32A, os tratamentos Gli:CC 28,2 e Gli:CC 20,1 foram os que apresentaram maiores valores para o ângulo hue 69 e 70° respectivamente. Infere-se que a alta concentração de glicerol destas películas pode ter facilitado a difusão dos pigmentos curcuminoides presentes no amido, entre eles o óleo resina que provavelmente foi o componente que mais contribuiu na coloração amarelada.

Takeuchi (2012), em seu estudo sobre a caracterização antimicrobiana de componentes do açafrão e elaboração de filmes ativos com montimorilonita e óleo resina de açafrão, relatou que os filmes apresentaram coloração amarelada à medida que se acrescentou óleo resina às películas, isto resultou em ângulos hue próximos a 90°.

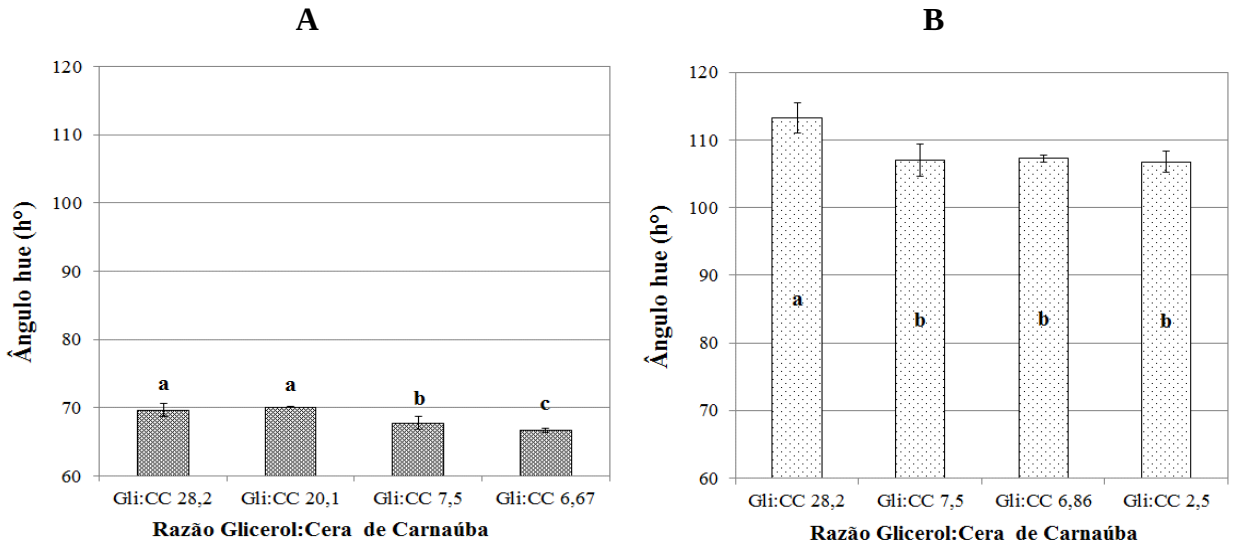


Figura 32 - Valores médios de Ângulo hue (h°) dos filmes a base de fécula de açafrão (A) e amido de milho (B).

Letras minúsculas indicam diferença significativa ($p<0,05$) entre os tratamentos em função da razão Glicerol:Cera de Carnaúba.

Ao observar as películas produzidas à base de amido de milho (Figura 32B), observa-se que o valor mais alto obtido para o parâmetro analisado, pertence à película com maior concentração de glicerol e menor concentração de cera de carnaúba (Gli:CC 28,2 – 2,82% de glicerol / 0,10% de cera de carnaúba). Nota-se Figura 32B que este tratamento apresentou o pico mais elevado e diferença significativa ($p<0,05$) frente aos demais tratamentos analisados (Ângulo hue – 113,26°). Entende-se assim que o glicerol, neste caso, apresentou efeito positivo enquanto a cera de carnaúba apresentou efeito negativo sobre as películas analisadas. Esta diferença provavelmente se deve ao tamanho das partículas de cera que cada tratamento apresenta. Para as películas Gli:CC 7,5; Gli:CC 6,86 e Gli:CC 2,5, que têm concentrações mais elevadas de cera de carnaúba em suas composições, o tamanho das partículas provavelmente ficaram maiores e portanto, ocorreu uma distribuição menos homogênea dos lipídios na película, o que tendeu a tons amarelo esverdeado.

Ainda pode-se inferir que a coloração obtida sofreu influência de pigmentos presentes na cera de carnaúba que foi utilizada neste estudo em sua forma bruta sem passar por processos de purificação. Du et al. (2009) observaram que a adição de óleo essencial de pimenta, canela ou cravo em filmes elaborados com purê de maçã reduziu o valor da coordenada a*. Os autores relataram que os lipídios tendem a formar emulsões levemente esverdeadas, o que reduz o valor

de a*, comportamento também verificado por Wang et al. (2010) em filmes de purê de cenoura com óleo essencial de orégano

A Figura 33 demonstra o comportamento de dois tratamentos distintos. Um deles representa o tratamento com maior concentração de glicerol e a menor concentração de cera de carnaúba (Gli:CC 28,2 – 2,82% de glicerol e 0,10% de cera de carnaúba). Já o outro tratamento contém em sua composição valores intermediários de glicerol e de cera de carnaúba (Gli:CC 7,5 – 1,5% de glicerol e 0,20% de cera de carnaúba) produzidos com diferentes fontes botânicas.

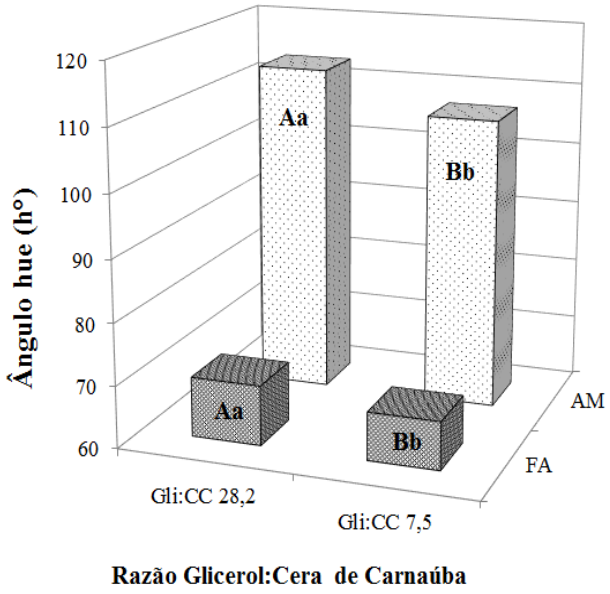


Figura 33 - Valores médios de Ângulo hue (h°) dos filmes a base de diferentes fontes botânicas de amido.

Letras minúsculas indicam diferença significativa ($p<0,05$) entre os tratamentos para o mesmo tipo de amido ou fécula. Letras maiúsculas indicam diferença significativa ($p<0,05$) entre os tratamentos Gli:CC 28,2 e Gli:CC 7,5 para os diferentes tipos de fontes botânicas.

Nota-se que os valores mais elevados para a avaliação do Ângulo hue (h°) estão demonstrados pelo tratamento Gli:CC 28,2. O tratamento Gli:CC 7,5 apresentou picos inferiores, além disso, a fonte botânica influenciou muito nos resultados. Observa-se que os maiores ângulos foram obtidos para as películas produzidas a base de amido de milho, ao passo que, as películas produzidas à base de fécula de açafrão, demonstraram ângulos reduzidos tendendo a tons mais amarelados.

5.5.3 Microscopia eletrônica de varredura

A microestrutura dos filmes produzidos a base de amido de milho foi analisada utilizando a técnica de microscopia eletrônica de varredura (MEV). As Figuras 34 e 35 apresentam as microsgrafias da superfície e da seção transversal dos filmes, respectivamente. A microestrutura foi analisada qualitativamente, visando verificar as características promovidas pelas diferentes concentrações de amido de milho, glicerol, cera de carnaúba e óleo de milho. Segundo Jiménez et al. (2010), a evaporação do solvente provoca alterações nas concentrações dos componentes e na viscosidade da fase líquida da emulsão, o que leva a agregação de lipídios e a cremeação, afetando assim a estrutura interna e a superfície do filme e, consequentemente, suas propriedades de barreira, mecânica e ópticas, o que torna interessante a análise da microestrutura das películas.

O filme do tratamento Gli:CC 28,2 apresentou descontinuidade da matriz, com uma superfície irregular, presença de poros e aglomeração de componente lipídico, indicada pelas setas nas micrografias (Figura 34 (A e A')). Entretanto, apesar da seção transversal do filme mostrar uma estrutura menos coesa, com redes poliméricas apresentando poros e com presença de aglomerados lipídicos (Figura 35 (A e A')) a microestrutura da seção transversal desta formulação corrobora com os resultados obtidos na determinação das propriedades mecânicas e de barreira dos filmes: a rede polimérica promoveu uma barreira com certa eficiência a gases, mas a presença de lipídios aglomerados reduziu a resistência mecânica, porém aumentou a flexibilidade das películas.

O tratamento Gli:CC 7,5 originou filmes com superfície mais coesa e regular, porém com presença de poros (Figura 34 (B e B')). A seção transversal do filme apresentou uma rede polimérica mais densa e fechada que a observada na seção transversal do tratamento Gli:CC 28,2 (Figura 35 (B e B')).

A superfície dos filmes elaborados com o tratamento Gli:CC 6,86 apresentaram grande regularidade, não há presença de poros ou acúmulo de lipídios (Figura 34 (C e C')). Esta regularidade da superfície somada à coesão e organização da matriz polimérica, tal como demonstrado na seção transversal desses filmes (Figura 35 (C e C')), resultou em valores razoáveis para a propriedade de barreira avaliada. Ressalta-se a coesão da estrutura polimérica observada em relação aos demais tratamentos analisados, subentendendo-se que a alta concentração de glicerol além da grande concentração de cera de carnaúba utilizados neste tratamento, promoveram filmes com baixa tensão na ruptura, alto módulo de elasticidade e boa elongação.

O tratamento Gli:CC 2,5 promoveu filmes com superfície mais densa e regular, com lipídios bem distribuídos, sem rachaduras e poros (Figura 34 (D e D')), o que contribuiu para que as propriedades de barreira desta película fossem satisfatórias. A seção transversal apresentou estrutura densa e coesa, com boa distribuição de lipídios (Figura 35 (D e D')). Segundo Tápia-Blácido (2006), características como as observadas nos filmes do referido tratamento resultam em filmes com maior tensão na ruptura.

Auras, Arroyo e Selke (2009) relataram que a microestrutura de filmes de fécula de mandioca, glicerol e cera de abelha apresentou gotas de material lipídico na superfície da película, sendo menos homogênea que os filmes sem adição de cera. Os autores observaram que a adição de glicerol promoveu uma rede polimérica mais compacta sem poros ou rachaduras. Bonilla et al. (2011) verificaram que filmes de quitosana com óleo essencial de manjericão apresentaram interrupções na matriz polimérica devido às gotículas lipídicas, uma vez que o maior contato molecular entre o polissacarídeo e os compostos lipídicos pode enfraquecer as forças de agregação da cadeia polimérica, tornando a matriz menos densa.

Jiménez et al. (2010) observaram que a adição de ácido esteárico ou oleico em filmes de hidroxipropil metilcelulose não promoveu estrutura em camadas como verificado para películas com ácido láurico, mirístico e palmítico. Segundo os autores, os filmes com ácido esteárico ou oleico apresentaram lipídios bem distribuídos na matriz polimérica e superfície homogênea. Kokoszka et al. (2010) verificaram que os filmes de proteínas do soro de leite preparados com óleo de canola mostraram descontinuidades estruturais, devido à imiscibilidade dos componentes. O fato de não usarem emulsificante causou uma maior desestabilização da emulsão durante a secagem, favorecendo a migração do óleo para a superfície, o que tende a formar uma película tipo bicamada.

O microscópio utilizado nesta análise utiliza alto vácuo no processo de obtenção das micrografias, isto impossibilitou a realização da mesma análise para os filmes produzidos a base de fécula de açafrão devido à liberação constante do óleo resina ainda presente na estrutura polimérica dos filmes.

Gli:CC 28,2	Gli:CC 7,5	Gli:CC 6,86	Gli:CC 2,5

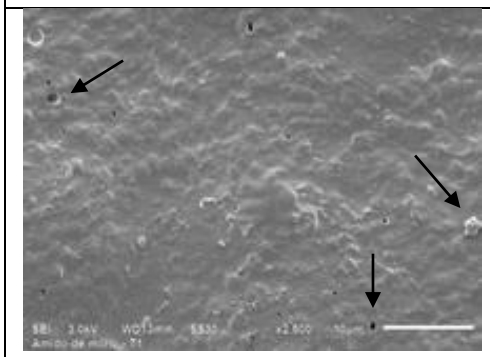
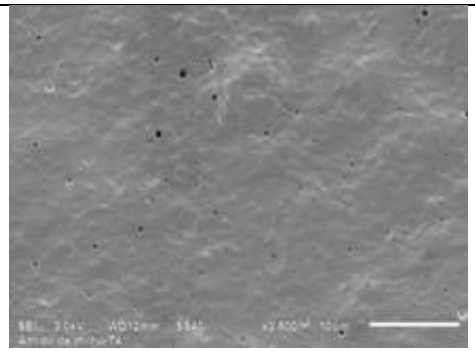
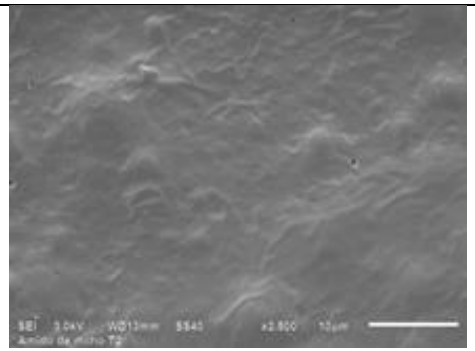
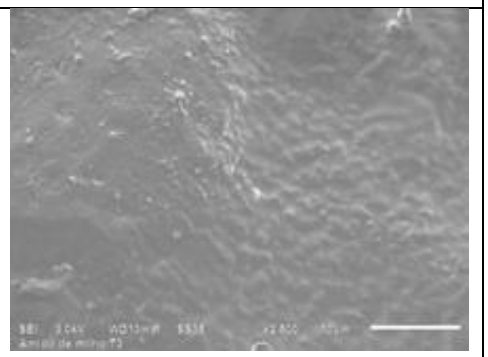

			

Figura A – 2.500x	Figura B – 2.500x	Figura C – 2.500x	Figura D – 2.500x

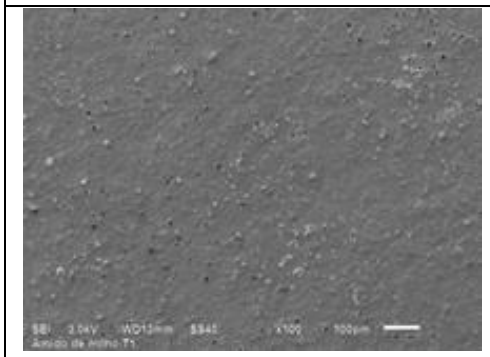
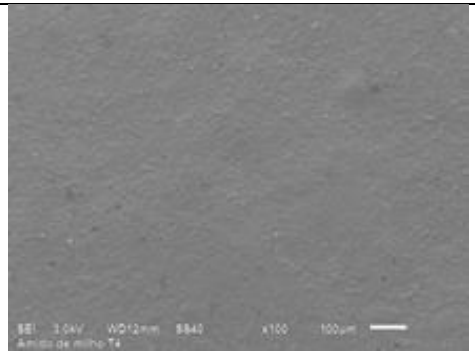
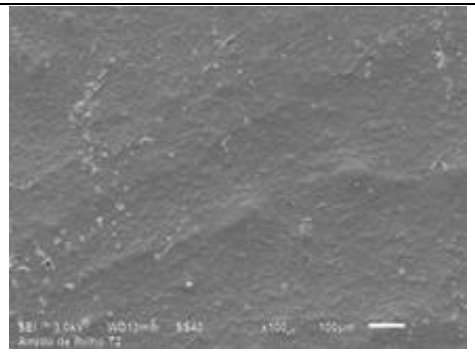
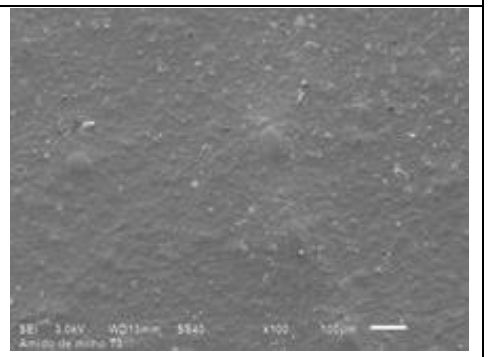

			

Figura A’- 100x	Figura B’- 100x	Figura C’- 100x	Figura D’- 100x

Figura 34 - Microscopia eletrônica de varredura da superfície dos filmes biodegradáveis a base de amido de milho. Figura A e A' (Gli:CC 28,2); B e B' (Gli:CC 7,5); C e C' (Gli:CC 6,86); D e D' (Gli:CC 2,5).

Barra de escala para aumento de 2.500 vezes = 10µm e barra de escala para aumento de 100 vezes = 100µm. Gli:CC 28,2 = 3,00% AM; 2,82% GLI; 0,10:0,90% CC:OM; Gli:CC 7,5 = 3,00% AM; 1,5% GLI; 0,20:0,80% CC:OM; Gli:CC 6,86 = 3,00% AM; 2,61% GLI; 0,38:0,62% CC:OM; Gli:CC 2,5 = 3,00% AM; 1,00% GLI; 0,40:0,60% CC:OM.

Gli:CC 28,2	Gli:CC 7,5	Gli:CC 6,86	Gli:CC 2,5

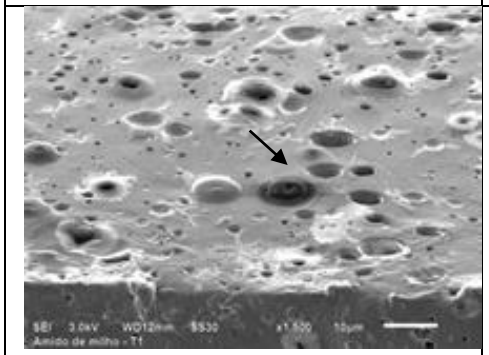
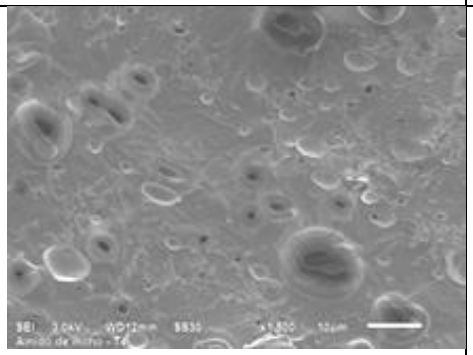
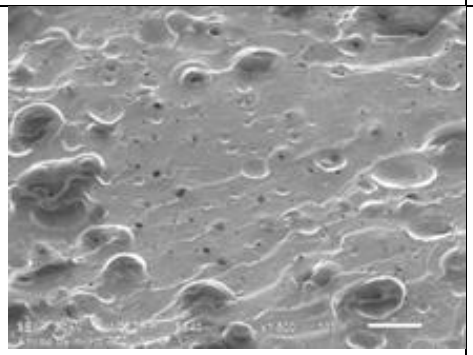
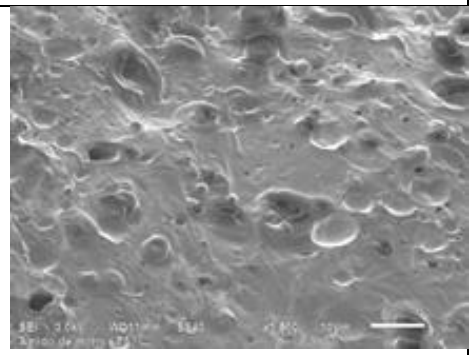

			

Figura A – 1.500x	Figura B – 1.500x	Figura C – 1.500x	Figura D – 1.500x

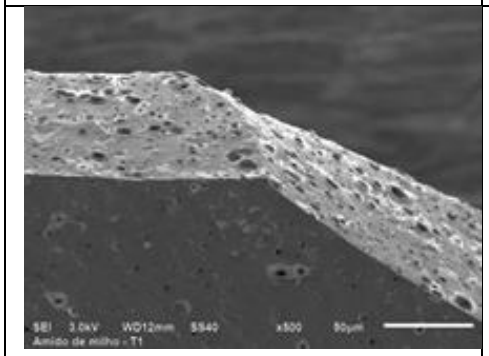
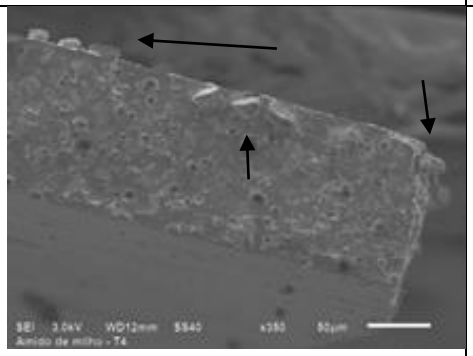
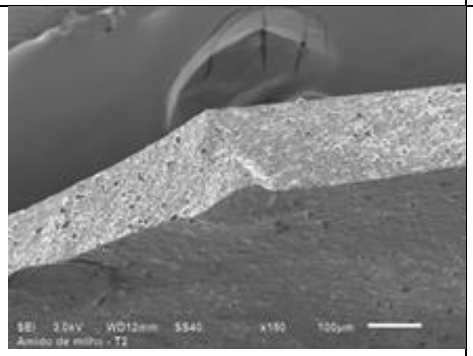
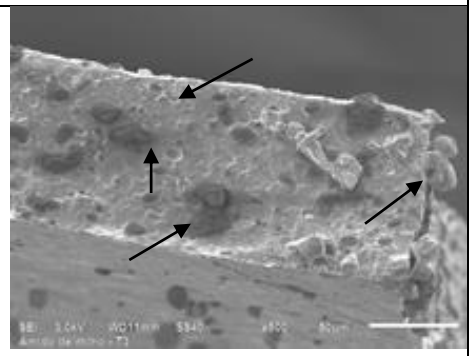

			

Figura A’- 500x	Figura B’- 350x	Figura C’- 150x	Figura D’- 500x

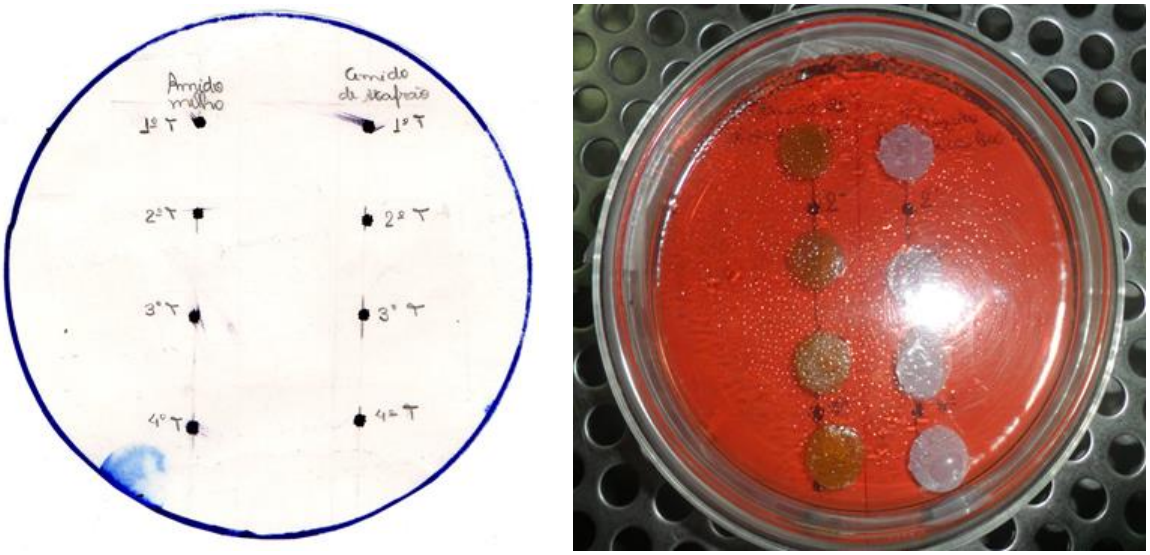
Figura 35 - Microscopia eletrônica de varredura da área de secção transversal dos filmes biodegradáveis a base de amido de milho. Figura A e A' (Gli:CC 28,2); B e B' (Gli:CC 7,5); C e C' (Gli:CC 6,86); D e D' (Gli:CC 2,5).

Barra de escala para aumento de 1.500 vezes = 10µm e barra de escala para aumento de 500 e 350 vezes = 50µm; 150 vezes = 100µm. Gli:CC 28,2 = 3,00% AM; 2,82% GLI; 0,10:0,90% CC:OM; Gli:CC 7,5 = 3,00% AM; 1,5% GLI; 0,20:0,80% CC:OM; Gli:CC 6,86 = 3,00% AM; 2,61% GLI; 0,38:0,62% CC:OM; Gli:CC 2,5 = 3,00% AM; 1,00% GLI; 0,40:0,60% CC:OM.

5.6 AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIMICROBIANA DOS FILMES

O açafrão (*Curcuma longa* L.) é amplamente utilizado como corante natural e condimento, sendo também utilizado como agente terapêutico nos programas de saúde da Índia. Os extratos da cúrcuma demonstram efeitos anti-inflamatórios em estudos de inflamação induzida (PEREIRA e STRINGHETA, 1998). Além disso, ambas atividades antimicrobiana e antiprotozoária foram demonstradas pelos extratos da cúrcuma e seus componentes inibindo o crescimento da maioria dos organismos em colecistites. Enquanto os curcuminóides foram bacteriostáticos contra *Staphylococcus*. Os óleos essenciais apresentaram atividade bactericida e fungistática. O extrato alcoólico exibiu atividade antiprotozoária e antimicrobiana (LUTOMSKI, KEDZIA e DEBSKA, 1974; RAMPRASAD e SIRSI, 1994).

Os filmes foram avaliados qualitativamente quanto a sua atividade antimicrobiana contra *Aspergillus niger* e *Salmonella spp* comumente encontrados em alimentos e extremamente patogênicos (BRASIL, 1996). Os discos foram dispostos na placa contendo o respectivo meio de crescimento para cada micro-organismo seguindo um modelo de disposição para cada tratamento (Figura 36).



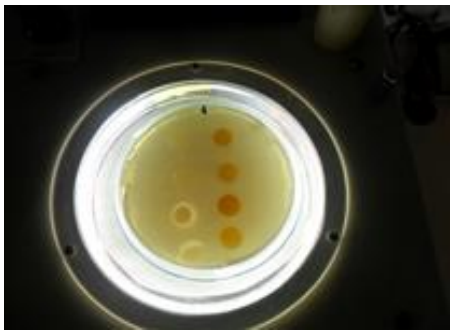
A – Modelo utilizado sob a placa para a disposição dos discos de filmes

B – Placa pronta para incubação em BOD a 35°C

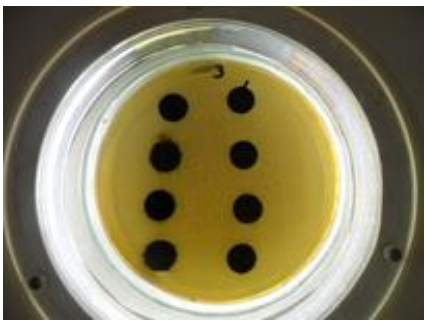
Figura 36 - Modelo de disposição dos discos de filmes sobre o ágar (A), Placa pronta para incubação contendo Ágar BD *Salmonella Shigella* (B).

Além de Ágar BD *Salmonella Shigella* mostrado na Figura 36, foi utilizado no presente estudo Ágar Mueller Hinton para favorecer o crescimento de *Aspergillus niger*.

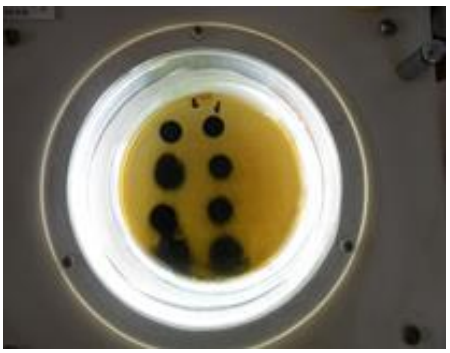
A organização dos discos seguiu o mesmo parâmetro demonstrado na Figura 37, porém não foi observada atividade antimicrobiana contra os micro-organismos propostos tal como demonstrado na Figura 38. O crescimento dos micro-organismos em alguns casos se deu de maneira inversa, ou seja, utilizaram os filmes ao invés do ágar para crescer.



A – Filmes contra *Aspergillus niger* em primeiro dia de incubação



B – Aspecto dos filmes contra *Aspergillus niger* após 24 h de incubação a 28°C em BOD



C – Aspecto dos filmes contra *Salmonella spp* após 24h de incubação a 35°C em BOD

D – Aspecto dos filmes contra *Salmonella spp* após 48h de incubação a 35°C em BOD

Figura 37 - Atividade antimicrobiana dos filmes produzidos a base de amido de milho e fécula de açafrão. A e B placas inoculadas com *Aspergillus niger* e placas C e D inoculadas com *Salmonella spp*.

Filmes a base de amido de milho dispostos à esquerda na placa e filmes a base de fécula de açafrão dispostos à direita na placa.

Em outros estudos encontrados na literatura observou-se que a maior parte dos autores trabalhou com aditivação dos filmes com óleos essenciais ou extratos alcoólicos das diversas fontes botânicas estudadas.

Pranoto, Salokhe e Rakshit (2005) estudaram filmes à base de alginato aditivados com óleo de alho. Tais filmes apresentaram efeito inibitório sobre a bactéria testada a partir da concentração de 0,2% do aditivo na solução filmogênica, com diâmetro de inibição de 20,1mm, considerando que o filme apresentava 17mm de diâmetro.

6 CONCLUSÃO

Durante a fase compreendida pelos testes preliminares, seis tratamentos foram escolhidos e seguiram para avaliação. As análises mostraram que das três variáveis (glicerol, cera de carnaúba e óleo de milho) presentes na composição destes tratamentos, duas delas (glicerol e cera de carnaúba) tiveram papel fundamental no comportamento destes tratamentos frente aos parâmetros analisados.

Desta forma destaca-se que tratamentos com menores proporções de glicerol e proporções altas a intermediária de cera de carnaúba apresentaram melhores propriedades de barreira ao vapor de água. Houve uma exceção no caso das películas produzidas a base de amido de milho, onde o tratamento Gli:CC 6,86 (3% de amido de milho; 2,61% de glicerol; 0,38:0,62% de cerda de carnaúba:óleo de milho) se destacou mesmo apresentando uma concentração elevada de glicerol em sua composição.

Em relação à avaliação das propriedades mecânicas, de um modo geral as películas produzidas apresentaram boas propriedades mecânicas. No caso dos filmes produzidos a base de fécula de açafrão houve maior destaque para as películas provenientes dos tratamentos com baixas concentrações de glicerol e concentrações altas de cera de carnaúba. Os filmes produzidos a base de amido de milho demonstrou um balanceamento na influência de atuação das duas variáveis frente aos parâmetros analisados.

Com base nos resultados obtidos neste estudo, ressalta-se que as películas desenvolvidas apresentam potencial para serem utilizadas como proteção para alimentos.

A complementação deste estudo promovendo a aditivação das películas produzidas à base de fécula de açafrão com seu óleo-resina, provavelmente melhorarão a sua atividade antimicrobiana tornando-as embalagens possivelmente mais seguras. Além disso, se faz necessário o estudo mais aprofundado desta fonte botânica informando sobre suas inúmeras potencialidades tal como esta demonstrada no presente estudo.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABDULLAH, K.; TALIP, K. Characterization of a new biodegradable edible film made from salep glucomannan. **Carbohydrate Polymers**, v.104, p.50-58, 2014.

AL-HASSAN, A. A.; NORZIAH, M. H. Starch-gelatin edible films: water vapor permeability and mechanical properties as affected by plasticizers. **Food Hydrocolloids**, Amsterdam, 2011

AMERICAN SOCIETY FOR TESTING AND MATERIALS-ASTM. Standard Test Methods for Tensile Properties of Thin Plastic Sheeting – ASTM D882-10. Philadelphia, PA (USA): American Society for Testing and Materials. 2010.

AMERICAN SOCIETY FOR TESTING AND MATERIALS-ASTM. Standard Test Methods for Tensile Properties of Plastic (metric) – ASTM D638-93. Philadelphia, PA (USA): American Society for Testing and Materials. 1993.

AMERICAN SOCIETY FOR TESTING AND MATERIALS-ASTM. Standard Practice for Calculation of Color Tolerances and Color Differences from Instrumentally Measured Color Cordinates – ASTM D2244-11. Philadelphia, PA (USA): American Society for Testing and Materials. 2011.

AMERICAN SOCIETY FOR TESTING AND MATERIALS – ASTM. Standard Test Methods for Water Vapor Transmission of Materials – ASTM E96/E96M – 10. Philadelphia, PA (USA): American Society for Testing and Materials. 2011.

AMERICAN SOCIETY FOR TESTING AND MATERIALS – ASTM. Standard Practice for Maintaining Constant Relative Humidity by Means of Aqueous Solutions – ASTM E104 - 02. Philadelphia, PA (USA): American Society for Testing and Materials. 2012.

ARAUJO-FARRO, P. C. **Desenvolvimento de filmes biodegradáveis a partir de derivados do grão de quinoa (*Chenopodium quinoa* Willdenow) variedade "Real"**. 2008. 320f. Tese (Doutorado em Engenharia de Alimentos) – Universidade Estadual de Campinas, Faculdade de Engenharia de Alimentos, Campinas, 2008.

ARAUJO-FARRO, P. C.; PODADERA, G.; SOBRAL, P. J. A; MENEGALLI, F. C. Development of films based on quinoa (*Chenopodium quinoa*, Willdenow) starch. **Carbohydrate Polymers**, Amsterdam, v.81, n.4, p.839-848, 2010.

ARAUJO, J. M. A. **Química de Alimentos: Teoria e Prática**. 3. ed. Viçosa: UFV, 2004.

ARVANITYANNIS, I.; GORRIS, L.G.M. **Edible and biodegradable polymeric materials for Food packaging or coatings.** In: Chapter 21 – Edible and biodegradable polymeric materials. Boca Raton: CRC, 1999. p.08.

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. 1996. Determinação de Curcumina na Cúrcuma, ABNT-NB 03922, Rio de Janeiro.

ATWELL, W.A.; HOOD, L.F.; LINEBACK, D.R. The terminology and methodology associated which basic starch phenomena. **Cereal Foods World**, v.33, n.3, p.306-311, 1988.

AURAS, R.; ARROYO, B.; SELKE, S. Production and Properties of Spin-Coated Cassava Starch-Glycerol-Beeswax Films. **Starch/Stärke**, Weinheim, v.61, n.8, p.463-471, 2009.

BARRY, A. L.; THORNSBERRY, C. Susceptibility tests: Diffusion Test Procedures. In: BALOWS, A.; HAUSER, W. J.; HERMANN, K. L.; ISENBERG, H. D.; SHAMODY, H. J. 1991. **Manual of clinical microbiology.** 5.ed. Washington, DC: American Society for Microbiology, p.1117-1125, 1991.

BATISTA, J. A. **Desenvolvimento, caracterização e aplicação de biofilmes a base de pectina, gelatina e ácidos graxos em bananas e sementes de brócolos**. 2004. 157f. Dissertação (Mestrado em Alimentos e Nutrição) - Universidade Estadual de Campinas, Faculdade de Engenharia de Alimentos, Campinas, 2004.

BAUER, A.W. KIRB, W. M.; SHERRIS, J. C.; TURCK, M. Antibiotic susceptibility testing by a standardized single disk method. **American Journal of Clinical Microbioliology**, n.45, v.4, p.493-6, 1966.

BERTAN, L. C. **Desenvolvimento e caracterização de filmes simples e compostos a base de gelatina, ácidos graxos e breu branco**. 2003. 157f. Dissertação (Mestrado em Alimentos e Nutrição) - Universidade Estadual de Campinas, Faculdade de Engenharia de Alimentos, Campinas, 2003.

BERTUZZI, M. A.; ARMADA, M.; GOTTIFREDI, J. C. Physicochemical characterization of starch based films. **Journal of Food Engineering**. Essex (Reino Unido), v.82, p.17-25, 2007.

BERTUZZI, M. A.; VIDAURRE, E. F. C.; ARMADA, M.; GOTTIFREDI, J. C. Water vapor permeability of edible starch based films. **Journal of Food Engineering**. Amsterdam, v.80, p.972-978, 2007.

BILLIADERIS, C.G. Structures and phase transitions of starch in food systems. **Food Technology**, Chicago, v.46, n.6, p.98-109, 1992.

BODINI, R. B. **Desenvolvimento de materiais poliméricos bioativos à base de gelatina e própolis**. 2011. 86f. Dissertação (Mestrado em Ciências da Engenharia de Alimentos) – Universidade de São Paulo, Pirassununga, 2011.

BONILLA, J.; VARGAS, M.; ATARÉS, L.; CHIRALT, A. Physical properties of chitosan-basil essential oil edible films as affected by oil content and homogenization conditions. In: INTERNATIONAL CONGRESS ON ENGINEERING AND FOOD – ICEF, 11., 2011, Atenas, **Congress Proceedings**, Atenas: ICEF, 2011. Volume II, p. 857-858.

BOURBON, A. I., PINHEIRO, A. C.; CERQUEIRA, M. A.; ROCHA, C. M. R.; AVIDES, M. C.; QUINTAS, M. A. C.; VICENTE, A. A. Physico-chemical characterization of chitosan-based edible films incorporating bioactive compounds of different molecular weight. **Journal of Food Engineering**, Amsterdam, v.106, n.2, p.111-118, 2011.

BOURTOOM, T. Edible films and coatings: Characteristics and properties. **International Food Research Journal**. Canadá, v.15, n.3, p.1-12, 2008.

BRAULDT, D.; D'APRANO, G.; LACROIX, M. Formation of free-standing sterilized edible films from irradiated caseinates. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**. Washington, v.45, p.2964-2969, 1997.

BRASIL. Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento – MAPA, Portaria - n° 146, de 07 de março de 1996. **Diário Oficial da União**, Brasília, DF, 08 de fevereiro de 1996. Disponível em http://www.agricultura.gov.br/legislacao. Acesso em 24 de fevereiro de 2013.

CALLEGARIN, F.; GALLO, J-A. Q.; DEBEAUFORT, F.; VOILLEY, A. Lipids and biopackaging. **Journal of American Oil Chemistry Society**, Champaign, v.74, n.10, p.1183-1192, 1997.

CARVALHO, R. A. **Desenvolvimento e caracterização de biofilmes a base de gelatina.** 1997. 128f. Dissertação (Mestrado em Engenharia de Alimentos) - Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 1997.

CAO-HOANG, L.; GRÉGOIRE, L.; CHAINE, A.; WACHÉ, Y. Importance and efficiency of in-depth antimicrobial activity for the control of listeria development with nisin-incorporated sodium caseinate films. **Food Control**. Holanda, v.21, p.1227-1233, 2010.

CERQUEIRA, M. A.; LIMA, A. M.; SOUZA, B. W. S.; TEIXEIRA, J. A.; MOREIRA, R. A.; VICENTE, A. A. Functional polysaccharides as edible coatings for cheese. **Journal Agricultural and Food Chemistry**. Washington, v.57, n.4, p.1456-1462, 2009.

CHAMBI, H. N. M. **Desenvolvimento de filmes a partir de caseína e gelatina modificadas enzimaticamente com tripsina e transglutaminase.** 2004. 99f. Dissertação (Mestrado em Engenharia de Alimentos) - Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2004.

CHANA-THAWORN, J.; CHANTHACHUM, S.; WITTAYA, T. Properties and antimicrobial activity of edible films incorporated with kiam wood (*Cotyleobium lanceotatum*) extract. **LWT - Food Science and Technology**, Amsterdam, v. 44, n. 1, p. 284-292, 2011.

CHIUMARELLI, M. **Aplicação de coberturas comestíveis à base de fécula de mandioca e cera de carnaúba em maçãs minimamente processadas.** 2011. 281f. Tese (Doutorado em Engenharia de Alimentos) – Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2011.

CRUZ, G.V. **Efecto de la humedad y la temperatura sobre las propiedades mecánicas y de transporte de películas flexibles.** 2000. Tese (Doutorado em Ciência de los Alimentos) - Universidade de Santiago de Queretaro, Queretaro, 2000.

CUQ, B.; GONTARD, N.; CUQ, J. L.; GUILBERT, S. Stability of myofibrilar protein based biopackagings during storage. **Lebensmittel-Wissenschaft and Technology**, London, v. 29, n. 4, p. 344-348, 1996.

DALGLEISH, D. G. Food emulsions - their structures and structure-forming properties. **Food Hydrocolloids.** Oxford, v. 20, n. 4, p. 415-422, 2006.

DEBEAUFORT, F.; QUEZADA-GALLO, J-A; VOLLEY, A. Edible films and coatings tomorrow's packagings: a review. **Critical review in Food Science and Technology**, Oxford, v.30, n.2, p.183-190, 1995.

DEBEAUFORT, F.; QUEZADA-GALLO, J-A.; VOILLEY, A. Edible films and coatings: tomorrow's packagings: a review. **Critical Review in Food Science and Nutrition**, Philadelphia, v.38, n.4, p.299-313, 1998.

DIAS, A. B., MULLER, C. M. O.; LAROTONDA, F. D. S.; LAURINDO, J. B. Biodegradable films based on rice starch and rice flour. **Journal of Cereal Science**, Amsterdam, v.51, n.2, p.213-219, 2010.

DORMAN, H. J. D.; DEANS, S.G. Antimicrobial agents from plants: antibacterial activity of plant volatile oils. **Journal of Applied Microbiology,** v.88, p.308-316, 2000.

DU, W-X; OLSEN, C. W.; AVENA-BUSTILLOS, R. J.; McHUGH, T. H.; FRIEDMAN, M. Effects of allspice, cinnamon, and clove bud essential oils in edible apple films on physical properties and antimicrobial activities. **Journal of Food Science**, Chicago, v.74, n.7, 2009.

DUCKWORTH, R. B. **Water Relations of Foods. Proceedings of an international symposium held in Glasgow** London: Academic Press, 716p, 1975.

ELIASSON, A.C. **Starch in Food: Structure, function and applications.** New York: CRC Press, 605p, 2004.

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. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**. v.44, n.2, p.438-443, 1996.

FAKHOURI, F. M. **Coberturas comestíveis aplicadas na preservação de goiabas in natura (*Psidium guajava* L.).** 2002. 180f. Dissertação (Mestrado em Engenharia de Alimentos) - Universidade Estadual de Campinas, Faculdade de Engenharia de Alimentos, Campinas, 2002.

FENNEMA, O.; DONHOWE, I.G.; KESTER, J. J. Lipid Type and Location of the Relative Humidity Gradient Influence on the Barrier Properties of Lipids to Water Vapor. **Water in foods**. v.22, n.1-4, p.225-239, 1994.

FERREIRA, A. H. **Efeito da adição de surfactantes e do ajuste de pH sobre filmes a base de gelatina, triacetina, ácidos graxos e cera de carnaúba e de cana-de-açúcar**. 2006. 184f. Dissertação (Mestrado em Alimentos e Nutrição) – Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2006.

FROES, L. O. **Emprego das farinhas de quirera de arroz crua e bandinha de feijão extrusada na formulação de misturas para bolo sem glúten**. 2012. 122f. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) – Universidade Federal de Goiás, Goiânia, 2012.

GALDEANO, M. C. **Filmes e laminados biodegradáveis de amido de aveia com diferentes plastificantes, produzidos por casting e extrusão.** 2007. 167f. Tese (Doutorado em Ciência dos Alimentos) – Universidade Estadual de Londrina, Londrina, 2007.

GALLO, J-A. Q.; DEBEAUFORT, F.; CALLEGARIN, F.; VOILLEY, A. Lipid hydrophobicity, physical state and distribution effects on the properties of emulsion-based films. **Journal of Membrane Science**, Amsterdam, v.180, p.37-46, 2000.

GARCÍA, M. A.; MARTINO, M. N.; ZARITZKY, N. E. Lipid addition to improve barrier properties of edible starch-based films and coatings. **Food Chemistry and Toxicology**, v.65, n.6, p.941-947, 2000.

GARCÍA, N. L.; FAMÁ, L.; DUFRESNE, A.; ARANGUREN, M.; GOYANES, S. A comparison between the physico-chemical properties of tuber and cereal starches. **Food Research International**, Amsterdam, v.42, n.8, p.976-982, 2009.

GENNADIOS, A.; WELLER, C. L.; TESTIN, R. F. Modification of physical and barrier properties of dibble wheat gluten-based films. **Cereal Chemistry**, São Paulo, v.70, n.4, p.426-429, 1993.

GENNADIOS, A.; WELLER, C.L.; HANDA, M.A.; FRONING, G.W. Mechanical properties of egg albumen films. **Journal of Food Science**, Chicago, v.61, n.3, p.585-589, 1996.

GHANBARZADEH, B.; ALMASI, H. Physical properties of edible emulsified films based on carboxymethyl cellulose and oleic acid. **International Journal of Biological Macromolecules**, Amsterdam, v.48, n.1, p.44-49, 2011.

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**, Oxford, v.29, p.39-50, 1994 a.

GONTARD, N.; GUILBERT, S. Bio-packaging: technology and properties of edible and/or biodegradable material of agricultural origin. In: **Food packaging and preservation**. Mathouthi, M. ed. Blackie Academic & Professional, Glasgow, p.159-181, 1994 b.

GONTARD, N.; GUILBERT, S. Bio-packaging: Technology and properties of edible and/or biodegradable material of agricultural origin. **Boletim da SBCTA**, v.30, n.1, p.3-15, 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. **Journal of Food Science**, Chicago, v.57, n.1, p.190-200, 1992.

GOTO, R. **Épocas de plantio, adubações fosfatadas e unidades térmicas em cultura de açafrão (*Curcuma longa* L.)**. 1993, 93p. Tese (Doutorado em Agronomia) - Universidade Estadual Paulista (UNESP), Jaboticabal, 1993.

GRANATO, D. **Emulsão de goiaba e soja: caracterização físico-química, cromática, sensorial e de estabilidade**. 2009, 185f. Dissertação (Mestrado em Tecnologia de Alimentos) – Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2009.

GUILBERT, S.; BIQUET, B. Les films et enrobages comestibles. In: G.Bureau; Multon, J.J. **L'emballage des Denrées Alimentaires de Grande Consommation**. Technique et Documentation, Lavoisier, Apria: Paris, p.320-359, 1989.

HAN, J.H., SEO, G. H.; PARK, I. M.; KIM, G. N.; LEE, D. S. Physical and mechanical properties of pea starch edible films containing beeswax emulsions. **Journal of Food Science**, Chicago, v.71, n.5, p.E290-296, 2006.

JIMÉNEZ, A., FABRA, M. J.; TALENS, P.; CHIRALT, A. Effect of lipid self-association on the microstructure and physical properties of hydroxypropyl-methylcellulose edible films containing fatty acids. **Carbohydrate Polymers**, Amsterdam, v.82, n.3, p.585-593, 2010.

JORGENSEN, J.H.; TURNIDGE, J.D.; WASHINGTON, J.A. Antimicrobial susceptibility tests: dilution and disk diffusion methods. In: Murray, R.P. et al. **Manual of Clinical Microbiology.** 7. ed. American Society for Microbiology, Washington DC, p.1526-43, 1999.

KAMPER, S. L.; FENNEMA, O. Water vapor permeability of edible, fatty acid bilayer film. **Journal of Food Science**, Chicago, v.49, p.1482-1485, 1984.

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

KOKOSZKA, S.; DEBEAUFORT, F.; HAMBLETON, A.; LENART, A.; VOILLEY, A. Protein and glycerol contents affect physico-chemical properties of soy protein isolate-based edible films. **Innovative Food Science & Emerging Technologies**, Amsterdam, v.11, n.3, p.503-510, 2010.

KOWALCZYK, D.; BARANIAK, B. Effects of plasticizers, pH and heating of film forming solution on the properties of pea protein isolate films. **Journal of Food Engineering**, Amsterdam, v.105, n.2, p.295-305, 2011.

KROCHTA, J. M. Proteins as raw materials for films and coatings: definitions, current status, and opportunities. In: GENNADIOS, A. **Protein-based films and coating**. New York: CRC Press, p.1-39, cap. 1, 2002.

KROGARS, K.; HEINAMAKI, J.; KARJALAINEN, M.; NISKANEN, A.; LESKELA, M.; YLIRUUSI, J. Enhanced stability of rubbery amylose-rich maize starch films plasticized with a combination of sorbitol and glycerol. **International Journal of Pharmaceutics**, v.251, p.205-208, 2003.

LAU, O. W.; WONG, S.K. Contamination in food packaging material. **Journal of Chromatography A**. USA, v. 882, n.1-2, p.255-270, 2000.

LAWTON, J.W. Effect of starch type on the properties of starch containing films. **Carbohydrate Polymers**, v.29, p.203-208, 1996.

LEONEL, M.; CEREDA, M. P. Caracterização físico-química de algumas tuberosas amiláceas. **Ciência e Tecnologia de Alimentos.** Campinas, v.22, n.1, p.65-69, 2002.

LIMA, E. O. Plantas e suas propriedades antimicrobianas: uma breve análise da história. In: YUNES, R. A.; CALIXTO, J. B. **Plantas medicinais sob a ótica da química medicinal moderna**. Chapecó: Argos, 2001.

LIU, T.; YANG, T. Antimicrobial impact of the components of essential oil of *Litsea cubeba* from Taiwan and antimicrobial activity of the oil in food systems. **International Journal of Food Microbiology**. v.156, p.68-75. 2012.

LÓPEZ, O. V.; GARCIA, M. A.; ZARITZKY, N. E. Film forming capacity of chemically modified corn starches. **Carbohydrate Polymers**. Barking (Londres), v.73, p.573-581, 2008.

LUTOMSKI, J.; KEDZIA, B.; DEBSKA, W. Effect of an alcohol extract and active ingredients from turmeric on bacteria and fungi. **Planta Medica**, v.26, n.1, p.9, 1974.

MAIA L. H., PORTE A., SOUZA V. F. Filmes comestíveis: aspectos gerais, propriedades de barreira a umidade e oxigênio. **Boletim do Centro de Pesquisa e Processamento de Alimentos**. Curitiba, v.18, n.1, p.105-128, 2000.

MAIZURA, M. FAZILAH, M. H.; NORZIAH, M. H.; KARIM, A. A. Antibacterial activity and mechanical properties of partially hydrolyzed sago starch-alginate edible film containing lemongrass oil. **Journal of Food Science**, Chicago, v.72, n.6, p.C324-C330, 2007.

MALI, S.; GROSSMANN, M. V. E.; GARCÍA, M. A.; MARTINO, M. M.; ZARITZKY, N. E. Barrier, mechanical and optical properties of plasticized yam starch films. **Carbohydrate Polymers**, Barking, v.56, n.2, p.129-135, 2004.

MALI, S.; GROSSMANN, M. V. E.; GARCÍA, M. A.; MARTINO, M. M.; ZARITZKY, N. E. Mechanical and thermal properties of yam starch films. **Food Hydrocolloids**, Oxford, v.19, n.1, p.157-164, 2005a.

MALI, S.; SAKANAKA, L.S.; YAMASHITA, F.; GROSSMANN, M.V.E. Water sorption and mechanical properties of cassava starch films and their relation to plasticizing effect. **Carbohydrate Polymers**, v.60, p.283-289, 2005b.

MALI, S; GROSSMANN, M. V. E.; YAMASHITA, F. Starch films: production, properties and potential of utilization. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v.31, n.1, p.137-156, 2010.

MANIGLIA, B. C.; DOMINGOS, J. R.; PAULA, R. L.; TÁPIA-BLÁCIDO, D. R. Development of bioactive edible film from turmeric dye solvent extraction residue. **LWT - Food Science and Technology**, Saint Petersburg, v.56, n.2, p.269-277, 2014.

MATTA JUNIOR, M. D. **Caracterização de biofilmes obtidos a partir do amido de ervilha (*Psium sativum*) associado à goma xantana e glicerol**. 2009. 113f. Dissertação (Mestrado em Ciências e Tecnologia de Alimentos) – Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2009.

MATTA JR, M. D., SARMENTO, S. B. S.; SARANTÓPOULOS, C. I. G. L.; ZOCCHI, S. S. Propriedades de barreira e solubilidade de filmes de amido de ervilha associado com goma xantana e glicerol. **Polímeros**, São Carlos, v.21, n.1, p.67-72, 2011.

MARAN, J. P.; SIVAKUMAR, V.; SRIDHAR, R.; THIRUGNANASAMBANDHAM, K. Development of model for barrier and optical properties of tapioca starch based edible films. **Carbohydrate Polymers.** v.92, p.1335-1347, 2013.

MARTIN, A.; RICHTER, M. Oligomerization of glycerol – a critical review. European 229 **Journal of Lipid Science and Technology**, Weinheim, v.113, n.1, p.100-117, 2011.

MARTINS, J. T., CERQUEIRA, M. A., SOUZA, B. W. S., AVIDES, M. C., VICENTE, A. A. Shelf life extension of ricota cheese using coatings of galactomannas from nonconventional

sources incorporating nisin against *Listeria monocytogenes.* **Journal Agricultural and Food Chemistry**. Washington, v.58, n.3, p.1884-1891, 2010.

MARTELLI, S.M.; MOORE, G.; PAES, S.S.; GANDOLFO, C.; LAURINDO, J.B. Influence of plasticizers on the water sorption isotherms and water vapor permeability of chicken feather keratin films. **Lebensmittel-Wissenschaf und-Technology**, v.39, p.292-301, 2006.

MASSILIA, R. M. R.; MELGAR, J. M.; BELLOSO, O. M. Edible alginate-based coating as carrier of antimicrobials to improve shelf-life and safety of fresh-cut melon. **International Journal of Food Microbiology**, Spain, v.121, n.3, p.313-327, 2008.

McCLEMENTS, D. J. **Food Emulsions: Principles, Practice and Techniques**. New York: CRC Press, 1999.

McGUIRE, R. G. Reporting of Objective Color Measurements. **HortScience**. New York, v.27, n.12, 1992.

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

McHUGH, T. H.; AVENA-BUSTILLOS, R.; KROCHTA, J. M. Hydrophilic edible films: modified procedure for water vapor permeability and explanation of thickness effects. **Journal of Food Science**, Chicago, v.58, n.4, p.899-903, 1993.

McHUGH, T. H. Protein-lipid interactions in edible films and coatings. **Nahrung**, Berlin, v.44, n.3, p.148-151, 2000.

MEADOWS, C. **The effects of ageing on biodegradable starch plastic films**. 1998. 107f. Thesis (Bachelor of Engineering) - The University of Queensland, Austrália, 1998.

MEENA, M. R.; VIJAY SETHI. Antimicrobial activity of essential oils from spices. **Journal of Food Science and Technology,** India, v.31, n.1, p.68-70, 1994.

MERRYWEATHER, L. M. *et al*. **Dictionary of Food Science and Technology**. Oxford: Blackwell Publishing, 2005.

MONTERREY-QUINTERO, E. S.; SOBRAL, P. J. A. Caracterização de propriedades mecânicas e óticas de biofilmes à base de proteínas miofibrilares de tilápia do nilo usando uma metodologia de superfície-resposta. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v.19, n.2, p.294-301, 1999.

MORILLON, V.; DEBEAUFORT, F.; BLOND, G.; VOILLEY, A. Temperature influence on moisture transfer through synthetic films. **Journal of Membrane Science**, n.168, p.223-231, 2000.

MORRILON, V; DEBEAUFORT, F; BLOND, G.; CAPELLE, M; VOILLEY, A. Factors affecting the moisture permeability of lipid-based edible films: a review. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, Dijon, v.42, n.1, p.67-89, 2002.

NAGHETINI, C. C. **Caracterização físico-química e atividade antifúngica dos óleos essenciais da cúrcuma.** 2006. 61f. Dissertação (Mestrado em Ciência de Alimentos) – Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2006.

OJAGH, S. M.; REZAEI, M.; RAZAVI, S. H.; HOSSEINI, S. M. H. Development and evaluation of a novel biodegradable film made from chitosan and cinnamon essential oil with low affinity toward water. **Food Chemistry**, London, v.122, p.161-166, 2010.

OLIVEIRA, L. M.; SARANTÓUPOLOS, C. I. G. L.; CUNHA, D. G.; LEMOS, A. B. **Ensaios para avaliação de embalagens plásticas flexíveis**. Campinas: Centro de Tecnologia de Embalagens, 1996.

OSTROSKY, E. A.; MIZUMOTO, M. K.; LIMA, M. E. L.; KANEKO, T. M.; NISHIKAWA, S. O.; FREITAS, B. R. Métodos para avaliação da atividade antimicrobiana e determinação da concentração mínima inibitória (CMI) de plantas medicinais. **Brazilian Journal of Pharmacognosy,** Curitiba, v. 18, n. 2, p. 301-307, 2008.

PAES, M. C. D. Aspectos físicos, químicos e tecnológicos do grão de milho. **Circular Técnica Embrapa Milho e Sorgo**, 1° ed., Sete Lagoas, v.75, 2006.

PARKER, R.; RING, S.G. Aspects of the physical chemistry of starch. **Journal of Cereal Science,** v.34, p.1-17, 2001.

PARK, H. J.; CHINNAN, M. Gas and water vapor barrier properties of edible films from protein and cellulosic materials. **Journal of Food Engineering**, Oxford, v.25, n.4, p. 497-507, 1995.

PERDON, A. A.; SIEBENMORGEN, R.W.; BUESCHER, R.W; GBUR, E.E. Starch retrogradation and texture of cooked milled rice during storage. **Journal of Food Science,** Chicago, v.64, n.5, p.828-832, 1999.

PEREIRA, A. S.; STRINGHETA, P. C. Considerações sobre a cultura e processamento do açafrão. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v. 16, n. 2, p. 102 – 105, 1998.

PEREZ-GAGO, M. B.; KROCHTA, J. M. Lipid particle size effect on water vapor permeability and mechanical properties of whey protein/ beeswax emulsion films. **Journal Agricultural Food Chemistry**, v.49, p. 996-1002, 2001.

PEROVAL, C.; DEBEAUFORT, F.; DESPRÉ, D.; VOILLEY, A. Edible arabinoxylan-based films. 1. Effects of lipids types on water vapor permeability, film structure, and other physical characteristics. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Washington, v. 50, p. 3977-3983, 2002.

PIERMARIA, J.; ALEJANDRA, B.; PINOTTI, A.; YANTORNO, O.; GARCIA, M. A.; ABRAHAM, A. G. Kefiran films plasticized with sugars and polyols: water vapor barrier and mechanical properties in relation to their microstructure analyzed by ATR/FTIR spectroscopy. **Food Hydrocolloids**, Amsterdam, v. 25, n. 5, p. 1261-1269, 2011.

PINTO, T. J. A.; KANEKO, T. M.; OHARA, M. T. **Controle Biológico de Qualidade de Produtos Farmacêuticos, Correlatos e Cosméticos**. 2.ed. São Paulo: Atheneu Editora, 325 p. 2003.

PIRES, C.; RAMOS, C.; TEIXEIRA, G.; BATISTA, I.; MENDES, R.; NUNES, L.; MARQUES, A. Characterization of biodegradable films prepared with hake proteins and thyme oil. **Journal of Food Engineering**, Oxford, v. 105, p. 422-428, 2011.

PRANOTO, Y; SALOKHE, V. M.; RAKSHIT, S. K. Physical and antibacterial properties of alginate-based edible film incorporated with garlic oil. **Food Research International**, Barking, v. 38, p. 267 – 272, 2005.

RAMALHO, V. C; JORGE, N. Antioxidantes utilizados em óleos, gorduras e alimentos gordurosos. **Química Nova,** São Paulo, v. 29, p. 755-760, 2006.

RAMPRASAD, C.; SIRSI, M. Studies in Indian plants (Curcuma longa L.). – Antibacterial activity of curcumin and the essential oil. **Journal of the Scientific Research Institute**, n. 15, p. 239 - 242, 1994.

RHIM, J. W.; SHELLHAMMER, T. H. Lipid-based edible films and coatings In: HAN, J.H. (Editor). **Innovations in Food Packaging**. Amsterdam: Elsevier Science & Technology Books, Chapter 21, p. 362 – 383, 2005.

ROBINS, M. M; WATSON, A. D; WILDE, P. J. Emulsions – creaming and rheology **Current Opinion in Colloid and Interface Science,** v. 7, n. 5-6, p. 419-425, 2002.

SAKANAKA, L. S. **Estudo das condições de armazenamento sobre as propriedades mecânicas e de barreira de filmes de gelatina reticulada.** 2002. 140f. Dissertação (Mestrado em Engenharia de Alimentos) – Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2002.

SAKANAKA, L. S. **Confecção de filmes biodegradáveis por extrusão de blendas da amido termoplástico e polibutileno succinato co-adibato (PBSA).** 2007. 123f. Tese (Doutorado em Ciência de Alimentos) – Universidade Estadual de Londrina, Londrina, 2007.

SÁNCHEZ-GONZALEZ, L.; VARGAS, M.; GONZÁLEZ-MARTÍNEZ, C.; CHIRALT, A.; CHÁFER, M. Characterization of edible films base on hydroxypropyl methylcellulose and melaleuca essential oil. **Food Hydrocolloids**, Amsterdam, v. 23, n. 8, p. 2102-2109, 2009.

SANDERSON, G.R. Polysaccharides in foods. **Food Technology,** Chicago, v.35, n.7, p.50-57, 83, 1981.

SANTOS, P. V. **Elaboração, Aditivação e Caracterização de Biofilmes à base de Fécula de Mandioca**. 2004. 252p. Tese (Doutorado em Ciência de Alimentos) – Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas. Campinas, 2004.

SARANTÓPOULOS, C. I. G. L.; OLIVEIRA, L. M.; PADULA, M.; COLTRO, L.; ALVES, R. M. V.; GARCIA, E. E. C. **Embalagens Plásticas Flexíveis: Principais Polímeros e Avaliação de Propriedades**, 1° Ed., Campinas: CETEA/ITAL, 2002.

SARMENTO, A. L. S. C. **Elaboração e Caracterização de biofilmes a partir de gelatina reticulada.** 1999. 149f. Dissertação (Mestrado em Engenharia de Alimentos) - Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 1999.

SAUREL, R.; PAJONK, A.; ANDRIEU, J. Modelling of French Emmental cheese water activity during salting and ripening periods. **Journal of Food Engineering**. USA, v. 63, n°. 2, p. 163 – 170, 2004.

SHELLHAMMER, T. H.; KROCHTA, J. M. Whey protein emulsion film performance: effect of lipid type and amount. **Journal of Food Science**, Chicago, v. 62, n. 2, p.390-398, 1997.

SHERWIN, C. P.; SMITH, D. E.; FULCHER, G. Effect of fatty acid type on dispersed phase particle size distribution in emulsion films. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Washington, v. 46, n. 11, p. 4534-4538, 1998.

SILVA, C. H. P. de M. **Bacteriologia, um texto ilustrado.** Teresópolis: Eventos, 1999.

SILVA, F. T. Queijo parmesão. **Embrapa Informação Tecnológica**, Brasília, p. 53 (Agroindústria Familiar), 2005.

SJÖBLOM, J. **Encyclopedic handbook of emulsion technology**. Nova Iorque: CRC Press, 2001.

SMAILI, S. S. Microscopia de fluorescência um novo jeito de olhar as células. **Ciência Hoje**, São Paulo, Abril, p. 67-69, 2001.

SOARES, D.S.B. **Influência do pH e da irradiação em filmes biodegradáveis de proteínas do soro de leite.** 2012. 94f. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) – Universidade Federal de Goiás, Goiânia, 2012.

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

SOPADE, P.A.; HALLEY, P.J.; JUNMING, L.L. Gelatinization of starch in mixtures of sugars. II. Application of differential scanning calorimetry. **Carbohydrate Polymers,** v.58, p.311-321, 2004.

SOTHORNVIT, R.; KROTCHA, J.M. Plasticizer effect on oxygen permeability of β-lactoglobulin films. **Journal Agricultural and Food Chemistry**. Washington, v. 48, n° 9, p. 6298 – 6302, 2000.

SOTHORNVIT, R.; KROCHTA, J. M. Plasticizer effect on mechanical properties of b-lactoglobulin films. **Journal of Food Engineering**, Amsterdam, v. 50, n. 3, p. 149-155, 2001.

SOUZA, B. W. S. **Characterization of new hydrocolloids to be used as food coatings and integration of their application with ohmic heating.** 2010. 181f. Tese (Doutorado em Engenharia Química e Biológica) – Universidade do Minho, Portugal, 2010.

TAKEUCHI, A. P. **Caracterização antimicrobiana de componentes do açafrão (*Curcuma longa* L.) e elaboração de filmes ativos com montimorilonita e óleo resina de açafrão.** 2012. 59f. Dissertação (Mestre em Ciência e Tecnologia de Alimentos) – Universidade Federal de Goiás, Goiânia, 2012.

TALENS, P.; KROCHTA, J. M. Plasticizing effects of beeswax and carnauba wax on tensile and water vapor permeability properties of whey protein films. **Food Engineering and Physical Properties**, Valencia, v.70, n. 3, p. 239-243, 2005.

TALJA, R.A.; HELEN, H.; ROSS, Y.H.; JOUPPILA, K. Effect of various polyols and polyol contents on physical and mechanical properties of potato starch-based films. **Carbohydrate Polymers**, v.67, n.3, p.288-295, 2007.

TANG, H.; WATANATBE, K.; MITSUNAGA, T. Characterization of storage starches from quinoa, barley and adzuki seeds. **Carbohydrate Polymers**, v.49, p.13-22, 2002.

TÁPIA-BLÁCIDO, D. R. **Filmes à base de derivados do amaranto para uso em alimentos**. 2006. 351f. Tese (Doutorado em Engenharia de Alimentos) – Universidade Estadual de Campinas. Campinas, 2006.

TÁPIA-BLÁCIDO, D.; MAURI, A. N.; MANEGALLI, F. C.; SOBRAL, P. J. A.; AÑÓN, M. C. Contribution of the starch, protein, and lipid fractions to the physical, thermal, and structural properties of Amaranth (*Amaranthus caudatus*) flour films. **Journal of Food Science**, Chicago, v. 72, n. 5, p. E293-E300, 2007.

THIRRÉ, R.M.S.M.; SIMAO, R.A.; ANDRADE, C.T. High resolution imaging of the microstructure of maize starch films. **Carbohydrate Polymers,** v.54, p.149-158, 2003.

THOMAZ, D. J.; ATWELL, W. A. **Starches**. St Paul: Eagan press, 1999. WURZBURG, O.B. Cross-linked starches. In: WURZBURG, O.B. **Modified Starches:**
Properties and Uses. Boca Raton: CRC, 1986. p.41-53.

TONGDEESOONTOR, W., et al. Effect of carboxymethyl cellulose concentration on physical properties of biodegradable cassava starch-based films. **Chemistry Central Journal**, London, v. 5, n. 6, p.1-8, 2011.

VANDEPUTTE, G.E.; DELCOUR, J.A. from sucrose to starch granule to starch physical behavior: a focus on rice starch. **Carbohydrate Polymers**, v.58, p.245-266, 2004.

vanSOEST, J.J.G.; VLIEGENTHART, J.F.G. Crystallinity in starch plastics: consequences for material properties. **Trends in Biotechnology,** v.15, n.6, p.208-213, 1997.

VARGAS, M.; ALBORS, A.; CHIRALT, A.; GONZÁLEZ-MARTÍNEZ, C. Characterization of Chitosan-oleic acid composite films. **Food Hydrocolloids**, Amsterdam, v. 23, n. 2, p. 536-547, 2009.

VICENTINI, N.M. **Elaboração e caracterização de filmes comestíveis a base de fécula de mandioca para uso em pós-colheita**. 2003, 198p. Tese (Doutorado em Agronomia/Horticultura) - Faculdade de Ciências Agronômicas da Universidade Estadual Paulista. Botucatu, 2003.

WANG, X.; LIU, H.; WEI, J.; MA, Z. Effects of oregano oil, carvacrol, cinnamaldehyde, and citral on antimicrobial, mechanical and barrier properties of carrot puree films. In: INTERNATIONAL CONFERENCE ON PHOTONICS AND IMAGING FOR AGRICULTURAL ENGINEERING – **PIAGENG**, 2010, Bellingham, Proceedings, Bellingham: SPIE, 2010.Volume 7752, p. 77521D-1 - 77521D-9.

YANG, L.; PAULSON, A. T. Mechanical and water barriers properties of edible gellan film. **Food Research International**, Amsterdan, v. 33, n. 7, p. 563-570, 2000a.

YOUNG, H. Fractionation of starch. In: WHISTLER, R.L.; BeMILLER, J.N.; PASCHALL, E.F. (Ed). **Starch Chemistry and Technology.** 2.ed. Orlando (USA): Academic Press, 1984. p.249-283.

ZACARCHENCO, P.B.; TRENTO, F.K.H.S.; SPADOTI, L.M.; GALINA, D.A.; SILVA-ALVES, A.T. Bolores e leveduras em queijos. **Leite & Derivados**. São Paulo, n° 129, p. 92 – 98, 2011.

ZHANG, Y.; HAN, J.H. Plasticization of pea starch films with monosaccharide and polyols. **Journal of Food Science**, v.71, n.6, p.253-261, 2006.