



UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL  
ESCOLA DE ENGENHARIA  
DEPARTAMENTO DE ENGENHARIA QUÍMICA  
ENG07053 - TRABALHO DE DIPLOMAÇÃO EM  
ENGENHARIA QUÍMICA



## **Produção e caracterização de filmes biodegradáveis de amido de pinhão**

*Autor: Everton Menezes da Silva*

*Orientadores: Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup>. Isabel Cristina Tessaro  
Eng<sup>a</sup> Msc Jordana Corralo Spada*

Porto Alegre, Dezembro de 2011

## Sumário

Resumo .....	iv
Lista de figuras.....	v
Lista de tabelas .....	vi
1 Introdução .....	1
2 Revisão Bibliográfica.....	2
2.1. Embalagens Ativas.....	2
2.1.1. Aplicações de embalagens ativas .....	3
2.1.1.1 Sistemas de atmosfera modificada .....	3
2.1.1.2 Absorção de O <sub>2</sub> .....	4
2.1.1.3 Redução dos níveis de umidade .....	4
2.2 Biofilmes .....	5
2.2.1 Caracterização dos biofilmes .....	7
2.2.1.1 Espessura .....	7
2.2.1.2 Solubilidade .....	7
2.2.1.3 Propriedades mecânicas.....	8
2.2.1.4 Barreira ao vapor de água .....	8
2.2.1.5 Determinação da temperatura de transição vítrea (Tg) .....	9
2.3 Amido.....	11
2.4 Goma Xantana .....	13
2.5 Plastificantes.....	14
2.6 Pinhão .....	15
3 Materiais e Métodos .....	17
3.1 Extração do amido do pinhão.....	17
3.2 Determinação da umidade do amido extraído do pinhão .....	17
3.3 Preparo da solução filmogênica de amido .....	18
3.4 Secagem dos biofilmes .....	18
3.5 Remoção dos biofilmes das placas de Petry.....	19
3.6 Determinação da umidade do biofilme.....	19
3.7 Caracterização do biofilme .....	19

3.7.1 Solubilidade em água .....	19
3.7.2 Calorimetria diferencial de varredura .....	20
3.7.3 Microscopia eletrônica de varredura (MEV) .....	20
3.7.4 Permeabilidade gasosa de ar na planta de permeação de gases .....	20
3.7.5 Gramatura .....	21
3.7.6 Espessura .....	22
3.8 Aplicação dos biofilmes como revestimento de alimentos.....	22
4 Resultados e Discussão.....	23
4.1 Extração do amido do pinhão.....	23
4.2 Determinação do teor de umidade do amido .....	23
4.3 Obtenção do biofilme (secagem e remoção) .....	23
4.4 Determinação do teor de umidade do biofilme.....	24
4.5 Gramatura.....	24
4.6 Solubilidade .....	24
4.7 Espessura .....	25
4.8 Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV).....	25
4.9 Calorimetria diferencial de varredura (DSC) .....	26
4.10 Permeabilidade ao N <sub>2</sub> e CO <sub>2</sub> .....	28
4.11 Testes de revestimentos de alimentos com biofilmes .....	28
5.Conclusões.....	32
6. Referências Bibliográficas.....	33

## Resumo

O presente trabalho aborda a síntese e a caracterização de biofilmes de amido de pinhão. Biofilmes são classificados como embalagens ativas que interagem com o alimento, capazes de conservar suas propriedades nutricionais e aumentar sua vida de prateleira. O amido utilizado foi extraído do pinhão com um tratamento a base de água. Após a extração do amido, o mesmo foi seco em estufa para obtenção da matéria-prima utilizada no preparo das soluções filmogênicas. Além do amido de pinhão, foi utilizado glicerol e goma xantana nas formulações referentes ao preparo dos biofilmes. Os biofilmes foram sintetizados através da secagem adequada das soluções filmogênicas em estufa com convecção de ar forçada a 40°C. Por fim, essas embalagens ativas foram caracterizadas através das técnicas de medição direta por micrômetro (espessura), Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV), permeabilidade a gases (ar), calorimetria diferencial de varredura (DSC) e solubilidade em água. Pela análise dos resultados obtidos através das técnicas de caracterização, foi possível constatar que o biofilme apresentou baixa solubilidade em água ( $18,7 \pm 0,4\%$ ), gramatura de  $0,0245 \pm 0,0008 \text{ g/cm}^2$ , boa resistência e boa flexibilidade e estrutura uniforme e densa com presença de grânulos de amido não gelatinizados que resultaram em diferentes faixas de temperatura de fusão (134,9°C e 185,8°C). Quanto às propriedades de permeabilidade gasosa que estão intimamente ligadas à barreira formada pelo biofilme, elas merecem maiores estudos de otimização para o desenvolvimento de embalagens que atendam todos os parâmetros de qualidade e preservação alimentícia.

Palavras-chave: biofilmes, amido, pinhão, embalagem biodegradável.

## Lista de figuras

Figura 1-Cadeias de A) amilose e B) amilopectina que formam o amido .....	11
Figura 2-Organização das regiões amorfas e cristalinas da molécula de amido.....	12
Figura 3- Gelatinização do amido .....	13
Figura 4- Estrutura molecular da goma xantana .....	13
Figura 5- Molécula de glicerol. Fonte: Chaplin (2009) .....	15
Figura 6- Á esquerda o Pinheiro do Paraná ( <i>Araucaria angustifolia</i> ) e á direita a pinha contendo pinhões. Fonte: Ciflorestas (2010) .....	15
Figura 7- Amido extraído do pinhão.....	18
Figura 8- Secador de alimentos modelo Solab SL 102/100.....	19
Figura 9- Fotografia do sistema de permeação de gases: à esquerda a planta de permeação de gases e à direita o módulo. ....	21
Figura 10- Biofilme na placa de Petry e após remoção da mesma .....	23
Figura 11- Fotomicrografias da superfície do biofilme com aumento de 550x (a), 1000x (b), 1500x (c) e 2500x (d).....	25
Figura 12- Fotomicrografias da seção transversal do biofilme em magnitudes de 500x (a) , 600x (b), 700x (c) e 850(x).....	26
Figura 13 - Termograma mostrando a temperatura de transição vítrea (Tg) e temperatura de fusão (Tf) do biofilme de amido de pinhão. ....	27
Figura 14 - Termograma mostrando a segunda temperatura de fusão (Tf) encontrada para o biofilme de amido de pinhão. ....	28
Figura 15 -Fotografias das maçãs, onde a maçã 1 é revestida pelo biofilme de amido, a maçã 2 pelo filme comercial e a maçã 3 não tem revestimento. ....	29
Figura 16 - Perda de massa da maçãs revestidas com biofilme, filme comercial e controle ao longo do tempo.....	29
Figura 17 - Maçã envolvida por biofilme (a), comparação da maçã revestida com biofilme com a envolvida com filme comercial (b) e comparação entre a maçã com biofilme e a maçã controle (c).....	30
Figura 18- Fotografias das peras revestidas com biofilme (a), controle (b) e com filme comercial (c). ....	31

---

## Lista de tabelas

Tabela 1- Composição físico-química do pinhão cru e cozido.....	16
Tabela 2- Ingredientes e quantidades utilizados na formulação do biofilme.....	18
Tabela 3 – Temperatura de transição vítrea (Tg) e Temperatura de fusão (Tf) das amostras de biofilmes.....	27

## 1 Introdução

Os alimentos, de maneira geral, são altamente perecíveis, e desenvolver formas eficientes, econômicas e não prejudiciais ao meio ambiente para conservá-los são desafios. Algumas técnicas são utilizadas com o intuito de aumentar a vida útil de frutas e hortaliças, entre elas pode-se citar o uso de embalagens com características específicas. Todos os tipos de embalagens são utilizadas com o objetivo de proteger o produto contra perda de massa excessiva pela transpiração, reduzir as trocas gasosas com o meio, diminuindo o seu metabolismo e aumentando a vida útil, assim como evitar danos físicos. Além disso, a indústria alimentícia emprega as embalagens como uma estratégia para reduzir custos e atender às exigências dos consumidores que buscam embalagens modernas, práticas e não poluentes.

O crescimento populacional e econômico, na maioria dos países ocidentais, teve como consequência um aumento enorme na produção de lixo. Dados estatísticos mostram que, no Brasil, são despejados de 240 a 300 mil toneladas diárias de resíduos sólidos urbanos (RSU) no meio ambiente, dos quais cerca de 20 % são plásticos. A produção anual de plásticos é de aproximadamente 2,2 milhões de toneladas, dos quais 40 % são utilizados na indústria de embalagens, cujo destino principal são os aterros sanitários. Para contornar esses problemas estão sendo estudadas alternativas como a reciclagem de produtos constituídos de plásticos e a substituição dos plásticos convencionais por biodegradáveis (Sotero, 2000).

A utilização de plásticos sintéticos possui como principais características o baixo custo, fácil processamento, alta aplicabilidade e durabilidade, sendo essa última característica o fator de maior desvantagem para a sua utilização. Por ser um material hidrofóbico, o plástico não permite a ação microbiana, demorando centenas de anos para ser decomposto. Atualmente, tem-se procurado diferentes tipos de embalagens que protejam os alimentos da forma mais natural possível, sem prejudicar o meio ambiente. Uma das alternativas propostas é a substituição dos derivados de petróleo por novas matérias-primas como o amido, na forma dos denominados biofilmes.

Diante do exposto, o presente trabalho tem como objetivo a elaboração e caracterização de biofilmes a partir do amido de pinhão. Os biofilmes obtidos foram caracterizados em relação as seguintes propriedades: espessura, morfologia, permeabilidade a gases (ar), temperatura de transição vítrea e solubilidade em água. Além disso, foram testados como revestimento de frutas (maçãs e peras).

Fontes de amido como batata, milho e mandioca já foram estudadas na elaboração de biofilmes, porém não existem trabalhos utilizando o amido de pinhão com esse propósito. O pinhão é a semente do Pinheiro do Paraná (*Araucaria angustifolia*), que, hoje, está em risco de extinção e encontra-se sob proteção ambiental. A escolha do pinhão como matéria-prima levou em consideração a quantidade de amido presente nessa semente, assim como a sua importância econômica, cultural e ambiental para o sul do Brasil.

## 2 Revisão Bibliográfica

Neste capítulo são tratados os seguintes tópicos: embalagens ativas e suas aplicações, biofilmes e técnicas de caracterização dos mesmos, constituintes do biofilme (amido, agente plastificante e goma xantana) e o pinhão, matéria-prima do trabalho.

### 2.1. Embalagens Ativas

Embalagem convencional pode ser definida como um recipiente ou envoltura que armazena produtos temporariamente e serve, principalmente, para agrupar unidades de um produto, com vista à sua manipulação, transporte ou armazenamento. Outras funções da embalagem são: proteger o conteúdo, informar sobre as condições de manipulação, exibir os requisitos legais como composição, ingredientes, etc, fazer promoção do produto através de gráficos, barrar contaminações (microbiológicas e químicas) e prevenir a migração de seus próprios componentes para o alimento. (Debeaufort et al, 1998).

Segundo o mesmo autor, as principais embalagens utilizadas são as embalagens metálicas (latas), os frascos de vidro, o papel, o papelão e os plásticos, na forma de garrafas, caixas, potes ou filmes para formação de sacos. Os filmes plásticos têm muitas aplicações em produtos alimentícios, devido ao baixo peso e ao menor custo.

Os sistemas de embalagem ativa, além de apresentarem as características de uma embalagem convencional, acumulam funções adicionais, entre as quais podem ser destacadas: absorver compostos que favorecem a deterioração, liberar compostos que aumentam e monitoram o “*shelf-life*” do alimento, melhorar características sensoriais, evitar deteriorações química e microbiológica e garantir a segurança dos alimentos, inibindo o crescimento de microrganismos patogênicos. (Debeaufort et al, 1998).

Os desenvolvimentos em embalagens ativas que merecem destaque são filmes, revestimentos, sachês antimicrobianos e antioxidantes e filmes aromáticos. Além das embalagens ativas, existem as embalagens inteligentes que também são tecnologias inovadoras que monitoram a qualidade e segurança dos alimentos. Essas embalagens inteligentes são divididas em dois grupos principais: as carregadoras de dados, onde estão inseridos o código de barras e etiquetas por identificação de frequência de rádio (RFID), e as indicadoras, que incluem os sensores de tempo-temperatura, gases, toxinas e microrganismos.

Rooney (1995) define, embalagem ativa é definida como uma embalagem que não apenas separa o alimento do meio ambiente, mas que interage com o alimento para manter suas propriedades. De acordo com Scannel et al. (2000) apud Wurlitzer (2007), embalagem ativa é um conceito inovador que combina avanços em tecnologia



e segurança dos alimentos, embalagens e materiais, em um esforço para melhor atender às demandas de consumidores por alimentos mais frescos e seguros.

A liberação de aditivos por embalagens ativas aumenta a segurança do consumidor, já que esses compostos, ao invés de diretamente adicionados ao alimento, são liberados lentamente, com isso, estão presentes em menor quantidade, e apenas onde sua presença é requerida, a saber, na superfície do produto, onde ocorre a maioria das deteriorações (Gontard, 1997 apud Wurlitzer, 2007). Exemplos de embalagens ativas são aquelas que possuem permeabilidade preferencial; características de compensação de temperatura; sistemas absorvedores de oxigênio, gás carbônico, álcool ou etileno; agentes antimicrobianos incorporados diretamente na matriz da embalagem, liberação controlada de minerais, agentes antimicrobianos, etanol ou antioxidantes ou habilidade de absorção de odores (Rooney, 1995). Muitos métodos físicos e químicos de conservação de alimentos como alta pressão, irradiação, agentes ativos vêm sendo desenvolvidos para estabilizar alimentos, preservando sua qualidade.

O desempenho da embalagem é importante como última etapa do processo de preservação, visto que a mesma tem papel preponderante para a durabilidade do alimento (Debeaufort et al , 1998).

### **2.1.1. Aplicações de embalagens ativas**

#### *2.1.1.1 Sistemas de atmosfera modificada*

Os sistemas com atmosfera modificada consistem basicamente na estocagem de produtos ainda em respiração em ambiente com níveis geralmente reduzidos de O<sub>2</sub> e elevados de CO<sub>2</sub>, em comparação ao ar. A atmosfera modificada reduz as taxas de respiração e de produção de etileno, promovendo um retardamento na deterioração desses produtos como frutas e verduras (Labuza,1996).

Segundo o mesmo autor, a atmosfera modificada pode ser criada por meios ativos ou passivos. Na modificação passiva, a atmosfera é criada por meio da própria respiração do produto dentro da embalagem, até que se atinja um equilíbrio. No caso de uma modificação ativa, a atmosfera é criada inflando-se o espaço livre da embalagem com uma mistura gasosa pré-determinada, ou ainda incorporando de um material, contido em um sachê ou incorporado diretamente à embalagem, capaz de promover alterações na composição gasosa. Em ambos os casos, uma vez que a atmosfera modificada se estabeleça, ela é mantida por um equilíbrio dinâmico entre respiração e permeação.

Os requerimentos de permeabilidade da embalagem variam em função das características do produto a ser acondicionado. Por exemplo, produtos com altas taxas de respiração requerem o uso de embalagens com altas permeabilidades. Tendo em vista que as taxas respiratórias de frutas e hortaliças *in natura* aumentam em função da temperatura, existem sistemas de embalagem ativa planejados para controlar a

permeabilidade de gases para frutas e hortaliças *in natura* em função da temperatura de estocagem. Isso pode ser feito, por exemplo, por meio de poros bloqueados com ceras, que se fundem a uma dada temperatura e são absorvidas pelo material de embalagem (Labuza e Breene, 1989).

#### 2.1.1.2 Absorção de O<sub>2</sub>

Segundo Gontard (1997), a pressão parcial de O<sub>2</sub> tende a diminuir em um sistema de embalagem o que resulta na redução das taxas de metabolismo (no caso de frutas e hortaliças *in natura*), de crescimento de microrganismos aeróbios e de oxidação, aumentando a vida-de-prateleira dos alimentos. Entretanto, existem exceções, por exemplo, quando existe a possibilidade de deterioração por respiração anaeróbia ou crescimento de bactérias anaeróbias.

#### 2.1.1.3 Redução dos níveis de umidade

A água é um dos produtos do metabolismo de carboidratos e gorduras, o que pode acarretar a presença de níveis inadequados de água no interior de um sistema de embalagem. Como consequências, podem ser citados: crescimento microbiano, prejuízo às propriedades de barreira a gases de filmes hidrofílicos e acúmulo de água condensada na superfície de hortaliças. Uma das formas de reduzir os níveis de umidade de um sistema é por meio da incorporação de umectantes (poliálcoois, carboidratos) entre duas camadas de um filme plástico de alta permeabilidade a umidade (Gontard, 1997).

#### 2.1.1.4 Absorção de odores e sabores desagradáveis

Sabores estranhos podem se desenvolver no alimento durante sua estocagem, levando o produto à rejeição pelo consumidor, antes mesmo que sua segurança seja comprometida. Como exemplo, pode-se mencionar os aldeídos resultantes da degradação de peróxidos formados durante a autoxidação de óleos e gorduras. Uma embalagem ativa pode incorporar compostos que interagem com um grupo funcional presente em componentes de sabores estranhos. Um exemplo seria a incorporação de certos ácidos orgânicos, como ácido cítrico, ao material de embalagem, para interagir com aminas resultantes de degradação proteica em pescados, neutralizando seu efeito de sabor (Gontard, 1997).

## 2.2 Biofilmes

Devido ao impacto ambiental das embalagens plásticas nos últimos anos, o interesse em substituir os polímeros sintéticos não biodegradáveis por materiais biodegradáveis tem crescido. Inúmeras pesquisas têm sido feitas, tanto para descobrir novas fontes formadoras de plásticos, como para melhorar as características das embalagens.

Os plásticos biodegradáveis e compostáveis, especialmente os provenientes de fontes naturais renováveis, têm sido um foco de interesse para o desenvolvimento de novas tecnologias que visam, entre outros aspectos, a preservação ambiental e a busca de potenciais alternativas de substituição de plásticos convencionais oriundos de fontes petrolíferas. Nesse contexto, o amido, após a sua conversão em um material termoplástico, tem sido considerado um polímero com alto potencial para estes fins, principalmente no setor de embalagens. Seu perfil atrativo envolve características tais como: baixo custo, alta disponibilidade, renovabilidade e biodegradabilidade (Texeira, 2007). A elaboração de biofilme envolve basicamente três componentes: um agente formador de filme, um solvente e um plastificante.

Os filmes devem apresentar algumas características para atuarem como embalagens de alimentos: boas qualidades sensoriais, boas propriedades de barreira, propriedades mecânicas eficientes, estabilidade microbiológica, físico-química e bioquímica, ausência de componentes tóxicos ou prejudiciais à saúde, tecnologia simples, baixo custo e não poluentes (Debeaufort et al., 1998).

Segundo Sarantópoulos, Oliveira e Canavesi (2001), as propriedades de barreira para filmes flexíveis a serem aplicados em alimentos são variáveis, por exemplo, alta permeabilidade ao oxigênio é desejada para filmes utilizados no acondicionamento de carnes vermelhas frescas, uma vez que o oxigênio permite a formação de oximioglobina, pigmento responsável pela cor característica do produto. Já em alimentos ricos em lipídeos, deseja-se baixa permeabilidade ao oxigênio, a fim de evitar a formação de radicais livres e desenvolvimento de ranço.

Além do oxigênio, pode-se citar o vapor de água como outro parâmetro importante, visto que em alimentos com baixa umidade, deseja-se embalagens com baixa permeabilidade ao vapor de água. Essa característica é almejada a fim de evitar o ganho de umidade que favorece a formação de grumos e o crescimento microbiano, além de diminuir a crocância de alimentos em que essa característica é desejável.

Os biofilmes elaborados com amido, apesar de apresentarem muitas vantagens, também apresentam algumas restrições. As interações desses filmes com a água representam uma séria limitação tecnológica à sua comercialização, uma vez que as propriedades dos filmes são afetadas pela variação da umidade relativa do ar durante a sua estocagem ou o seu uso (Thiré et al, 2004). Além disso, as fracas propriedades mecânicas destes filmes constituem um dos maiores problemas a serem solucionados (Lourdin et al., 1995).

Os filmes obtidos a partir do amido são conhecidos por exibirem baixa permeabilidade ao oxigênio. Para polímeros sintéticos, um aumento na sua cristalinidade ocasiona um aumento das propriedades de barreira do material, que também pode ocorrer para os filmes de amido (Rindlav et al., 1997).

Os biofilmes podem ser utilizados como revestimentos que são aplicados sobre a superfície do alimento ou entre os componentes, visando a redução na perda de vapor de água, oxigênio, migração de lipídios e aroma ou para estabilizar os gradientes de atividade de água e assim manter as diferentes propriedades de textura (Giancone et al., 2008).

O mecanismo de formação de biofilmes de amido depende da concentração de sólidos e do teor de amilose. Geralmente a formação de filmes ocorre pela agregação e empacotamento dos grânulos de amido intumescidos de uma dispersão com concentração relativamente elevada de sólidos. A transição de espiral para hélice e a agregação das duplas hélices também atuam na formação de filmes a partir de soluções diluídas de amido. Além disso, o teor de amilose mostra efeitos significativos no momento e na extensão em que as duplas hélices se formam e se agregam. A solução de amilose resulta em maior formação de helicóides e agregação.

Em resumo, a formação de filmes a partir de soluções diluídas de amido segue a ordem de formação de helicóides, agregação ou gelificação e reorganização dos agregados, sendo o início primariamente dirigido pelo resfriamento e o segundo pela desidratação (Liu e Han, 2005).

Inúmeras pesquisas em todo o mundo têm mostrado o potencial do uso dos revestimentos incorporados com agentes ativos na manutenção e prolongamento da vida útil de alimentos, sendo eles de origem vegetal ou animal. Oussalah et al. (2004) estudaram o efeito antioxidante de filmes comestíveis à base de proteína do leite. A oxidação lipídica da carne foi avaliada por meio do teste do ácido tiobarbitúrico (TBA), e os resultados demonstraram que os filmes de orégano estabilizaram a oxidação nas amostras testadas.

Min e Krochta (2007) desenvolveram uma película de recobrimento à base de proteína do soro contendo ácido ascórbico para controle da oxidação em amendoim. Os resultados demonstraram que o recobrimento retardou significativamente a oxidação lipídica em amendoins.

Sathivel (2005) avaliou o efeito da aplicação de revestimentos de quitosana (1 e 2 %) na conservação de filés de salmão. Para tanto, os mesmos foram mantidos congelados (-20°C) durante três meses. Os autores verificaram que, em comparação com o tratamento controle, houve diminuição significativa da perda de massa e da oxidação lipídica dos filés.

## 2.2.1 Caracterização dos biofilmes

Os biofilmes são, geralmente, caracterizados quanto à sua espessura, solubilidade, propriedades mecânicas e térmicas, e permeabilidade ao vapor d'água e gases.

### 2.2.1.1 Espessura

A espessura é definida como a distância entre as duas superfícies principais do material, sendo considerada um parâmetro importante para filmes plásticos mono ou multicamadas. Conhecendo-se a espessura, é possível obter informações sobre a resistência mecânica e as propriedades de barreira a gases e ao vapor de água do material, bem como fazer estimativas sobre a vida útil de alimentos acondicionados nestes materiais. Por meio da determinação da espessura é possível avaliar a homogeneidade de um filme quanto a este parâmetro. Variações na espessura de um material acarretam problemas no seu desempenho mecânico e flutuações nas propriedades de barreiras (Cetea, 1996).

Segundo Sobral (1999), nos processos de produção do tipo *casting*, onde ocorre a secagem por evaporação de solvente, o controle da espessura dos filmes se torna mais difícil quando se trabalha com solução filmogênica viscosa, devido à dificuldade de espalhar esse material.

### 2.2.1.2 Solubilidade

A afinidade pela água é uma importante propriedade dos filmes de amido. Dependendo da sua aplicação pode requerer insolubilidade, para proteger a integridade do produto e resistência à água, ou solubilidade no caso de encapsulação de alimento ou de aditivo (Bertuzzi, Vidaurre e Gottifredi, 2007).

De acordo com Muller, Yamashita e Laurindo (2008), a solubilidade é influenciada pelo tipo e pela concentração do plastificante. Esses autores constataram que o glicerol e os grupamentos (-OH) do sorbitol aumentaram os valores de solubilidade do filme. Para o armazenamento é requerida uma baixa solubilidade do filme, porém para alimentos que sofrerão cocção com os filmes, uma solubilidade alta é desejada.

A solubilidade em água direciona a aplicação do biofilme como embalagem de produtos alimentícios. Em alguns casos, a sua total solubilização em água pode ser benéfica, como nos produtos semiprontos destinados ao preparo com cozimento.

Entretanto, quando o alimento é líquido ou aquoso, biofilmes de elevada solubilidade não são indicados (Fakhouri et al., 2007).

### 2.2.1.3 Propriedades mecânicas

Segundo Sarantópoulos et al. (2002), as propriedades mecânicas de filmes flexíveis estão associadas com o desempenho mecânico desses materiais nos equipamentos de conversão, nas máquinas de acondicionamento e frente às inúmeras solicitações dos ambientes de estocagem e distribuição. Em filmes flexíveis de monocamadas, as propriedades mecânicas dependem da espessura, das características inerentes ao material plástico e do processo de fabricação do plástico. As propriedades dos polímeros são funções da estrutura química do material, da composição de blendas, da aditivação, da estrutura molecular, da densidade, do peso molecular, do grau de cristalinidade em polímeros cristalinos, das temperaturas de transição vítrea e do tipo do copolímero.

O processo de fabricação do filme, por sua vez, determina as propriedades associadas à orientação das moléculas, ao grau de cristalinidade, à homogeneidade da distribuição de espessura do filme, bem como a ocorrência ou não de defeitos superficiais. Resistência à tração, rigidez, propagação do rasgo, resistência ao impacto e à perfuração são características muito influenciadas por todos esses fatores. A capacidade de alongamento de um filme é uma característica do material, que, também, é dependente do estiramento a que o filme foi submetido durante a fabricação (Sarantópoulos et al., 2002). Segundo o mesmo autor, de maneira geral, as propriedades que são influenciadas pela orientação das moléculas na fabricação diferem em relação à direção do filme como, por exemplo, as propriedades de tração e a resistência ao rasgamento.

As propriedades mecânicas dos filmes comestíveis dependem da natureza do material filmogênico utilizado e de sua coesão estrutural, a qual está relacionada com a aptidão do polímero em formar fortes e/ou numerosas ligações em nível molecular entre duas cadeias poliméricas, dificultando assim a sua separação quando submetidas às forças mecânicas. Esta aptidão depende da extensão da cadeia polimérica, da sua geometria, da dispersão do seu peso molecular, da natureza e posição de agrupamentos laterais (Gontard, 1991 apud Vicentine, 2003).

### 2.2.1.4 Barreira ao vapor de água

Muitos produtos alimentícios são suscetíveis à deterioração devido ao ganho de umidade, como os alimentos desidratados e as misturas de pós que empedram ou se aglomeram com o aumento da umidade, ou como os biscoitos, nozes e *snacks* que perdem a crocância quando absorvem a umidade do ambiente. O aumento do teor de

umidade de alguns alimentos pode acarretar outros efeitos indesejáveis como o crescimento de microorganismos, alteração de cor e sabor, perdas nutricionais, etc. Em outros alimentos como carne fresca, queijos, produtos congelados, a perda de umidade deve ser evitada, pois provoca perda de massa ressecamento, alterações de cor e de textura (Cetea, 1996).

Segundo Cetea (1996), para esses alimentos a embalagem deve funcionar como barreira à passagem do vapor de água, de modo a lhes assegurar a estabilidade. Essa característica de barreira da embalagem pode ser avaliada pela taxa de permeabilidade ao vapor de água, definida como a quantidade de água que passa através de uma unidade de área, por unidade de tempo, no estado estacionário, nas condições do ensaio. A permeabilidade do material ao vapor d'água refere-se ao produto do fluxo pela espessura do material de embalagem, dividido pelo gradiente de pressão de vapor entre as superfícies do material.

Permeabilidades de filmes dependem de vários fatores, tais como: a integridade do filme, a relação entre as zonas cristalina e as amorfas, a quantidade de material hidrofílico-hidrofóbico e a mobilidade das cadeias poliméricas. A interação entre o polímero formador do filme, do plastificante ou outros aditivos são fatores igualmente importantes na permeabilidade do filme (García, Martino e Zaritzky, 2000).

A permeabilidade do vapor d'água é baseada na lei de Fick de difusão de massa, por analogia à lei de Fourier para condução de calor e à lei de Ohm para a condução elétrica. Sarantópoulos (2002) mostrou que a solubilidade dos gases em polímeros obedece à lei de Henry e a combinou com a lei de Fick, chegando à expressão atual que relaciona o fluxo com a permeabilidade e com o gradiente de pressão parcial d'água entre os dois lados do filme. Pode-se considerar que o processo de permeação de gases e vapores através dos espaços intermoleculares acontece em três etapas: sorção e solubilização do permeante na superfície do material, difusão do permeante através do material devido à ação de um gradiente de concentração e dessorção e/ou evaporação do permeante na outra face do material.

A permeabilidade depende grandemente da interação entre a matriz polimérica e o gás permeante e das condições ambientais como temperatura e umidade (Garcia, Martino e Zaritzky, 2000). Os resultados de permeabilidade podem ser usados para entender o possível mecanismo de transferência de massa e soluto e a interação polimérica de filmes comestíveis (Bertuzzi, Vildaurre e Gottifredi, 2007).

#### *2.1.1.5 Determinação da temperatura de transição vítrea (T<sub>g</sub>)*

Análise térmica representa um conjunto de técnicas que permite medir as mudanças de uma propriedade física de uma substância e/ou de seus produtos de reação em função da temperatura e do tempo, enquanto a substância é submetida a uma programação controlada de temperatura.

A temperatura de transição vítrea ( $T_g$ ) é o valor máximo da faixa de temperatura que, durante o aquecimento de um material polimérico, permite que as cadeias da fase amorfa adquiram mobilidade. Abaixo da  $T_g$ , o polímero não tem energia interna suficiente para permitir o deslocamento de uma cadeia em relação outra por mudanças conformacionais. Dessa forma ele está no estado vítreo, onde se apresenta duro, rígido e quebradiço. Acima da  $T_g$  as cadeias poliméricas sofrem rotação e movimentos difusionais, estando o polímero no estado elastomérico (Skoog, 2002).

Segundo o mesmo autor a calorimetria diferencial de varredura (DSC) é a técnica que mede temperatura e taxa de calor associados a transições em materiais como uma função do tempo e da temperatura em uma atmosfera controlada. As transições de primeira ordem apresentam variação de entalpia - endotérmica ou exotérmica - e dão origem à formação de picos. As transições de segunda ordem caracterizam-se pela variação de capacidade calorífica porém sem variações de entalpia. Não geram picos nas curvas de DSC, apresentando-se como um deslocamento da linha base.

Principais parâmetros determinados pela calorimetria diferencial de varredura: temperatura de transição vítrea (mudança de linha base), calor específico (mudança de linha base), temperatura de fusão (endotérmico), temperatura de cristalização (exotérmico), oxidação (exotérmico), pureza (endotérmico), cinética de reação (endo e exotérmico) e estabilidade térmica (endo e exotérmico).

A  $T_g$  é o valor máximo da faixa de temperatura que, durante o aquecimento de um material polimérico, permite que as cadeias da fase amorfa adquiram mobilidade. Abaixo da  $T_g$ , o polímero não tem energia interna suficiente para permitir o deslocamento de uma cadeia em relação outra por mudanças conformacionais. Dessa forma ele está no estado vítreo, onde se apresenta duro, rígido e quebradiço. Acima da  $T_g$  as cadeias poliméricas sofrem rotação e movimentos difusionais, estando o polímero no estado elastomérico (Canevarolo, 2002). Trata-se de uma transição reversível e caracterizada por uma mudança na capacidade calorífica ( $C$ ). Em geral, a  $T_g$  depende da história térmica do material, do peso molecular das cadeias poliméricas, da presença de plastificantes, do grau de cristalinidade e da composição da amostra (French, 1984).

As propriedades mecânicas e de barreira dos polímeros estão relacionadas com a  $T_g$ . Dessa forma, o conhecimento da temperatura de transição vítrea dos filmes comestíveis e/ou biodegradáveis ajuda na escolha das melhores condições de armazenamento, sendo esperado que a permeação a gases e ao vapor de água através dos filmes seja maior acima da  $T_g$ , onde as cadeias de polímeros estão em maior movimento (Rogers, 1985).

Conhecendo-se a  $T_g$  do biofilme pode-se prever o comportamento do mesmo com a alteração de temperatura, para aplicações específicas, tanto na faixa de material vítreo ou elastomérico (Skoog, 2002).



### 2.3 Amido

O amido, em seu estado nativo, é insolúvel em água fria, apresentando grânulos parcialmente cristalinos; sua morfologia, composição química e estrutura molecular são características de cada espécie em particular (Bello-Pérez, Montealvo e Acevedo, 2006).

A molécula de amido é constituída por dois tipos de polímeros de glicose, amilose, essencialmente sem ramificações, com ligações  $\alpha$  (1 $\rightarrow$ 4) em cadeia e a amilopectina, que apresenta moléculas unidas por ligações  $\alpha$  (1 $\rightarrow$ 4) em cadeia contínua, e ligações  $\alpha$  (1 $\rightarrow$ 6), formando ramificações (Kortstee et al., 1998), conforme apresentado na Figura 1. O amido deve muito de sua funcionalidade às duas macromoléculas que o compõem, assim como à organização física das mesmas dentro da estrutura granular (Bello-Pérez, Montealvo e Acevedo, 2006).

A maioria dos amidos contém 20-30 % de amilose e 70-80 % de amilopectina, razão que varia com a fonte botânica. O arranjo estrutural destas macromoléculas permite a formação de áreas cristalinas e amorfas nos grânulos. As áreas cristalinas mantêm a estrutura dos grânulos, controlam o seu comportamento na água e os tornam relativamente resistentes ao ataque enzimático e químico (Ciacco e Cruz, 1982; Biliaderis, 1991). Baseado na quantidade de amilose, os amidos podem ser classificados em diferentes grupos: amidos cerosos, que contêm pequenas quantidades de amilose (aproximadamente 1 %), amidos normais, que contêm entre 17 % e 24 % de amilose e amidos de alta amilose com 70 % ou mais deste polímero (Bello-Pérez, Montealvo e Acevedo, 2006).

Neste trabalho o amido utilizado que é derivado do pinhão nativo possui um teor de amilose de aproximadamente 34%.(Cordenunsi et al , 2004)

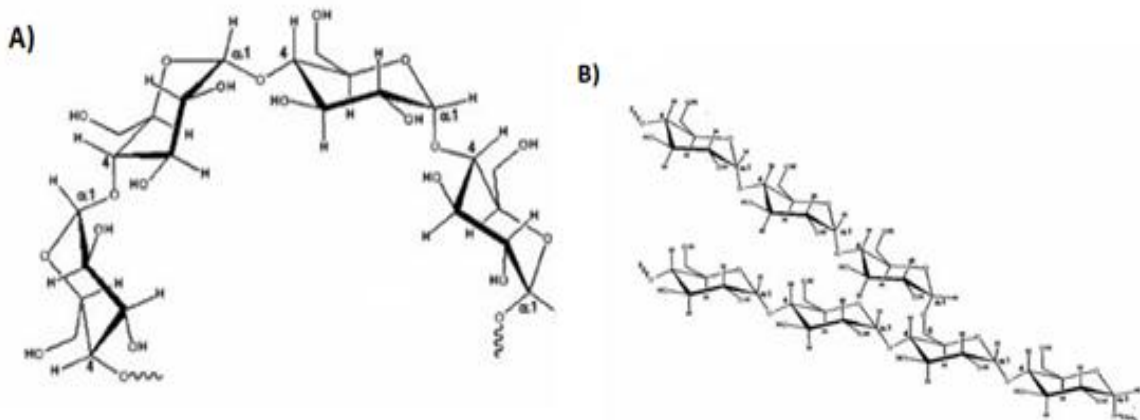


Figura 1-Cadeias de A) amilose e B) amilopectina que formam o amido

Fonte: Bello-Pérez, Montealvo e Acevedo (2006)

O arranjo da amilose e da amilopectina nos grânulos leva à formação de zonas de deposição mais ou menos densas. A região onde se concentra a amilopectina é mais densa ou cristalina, onde sua parte linear é responsável pela origem desta cristalinidade (Figura 2). As áreas amorfas são formadas por cadeias de amilose e ramificações da amilopectina. Grânulos de amido no estado nativo apresentam cristalinidade entre 15 e 45 % (Cereda et al., 2002).

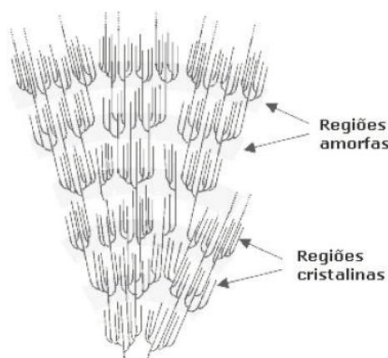


Figura 2-Organização das regiões amorfas e cristalinas da molécula de amido.

Fonte: Pradella (2006) apud Beninca (2008).

A gelatinização do amido está associada ao colapso da ordem das moléculas dentro dos grânulos de amido com mudanças de propriedades concomitantes e irreversíveis, como aumento do tamanho granular, fusão de cristais, perda de birrefringência, desenvolvimento de viscosidade e solubilização do amido. A gelatinização ocorre principalmente na região amorfa do grânulo (no hilo) e segue rapidamente para a periferia (Billiaderis, 1980). Na temperatura de gelatinização, as pontes de hidrogênio entre as cadeias de amilose e amilopectina tornam-se mais fracas e são rompidas, promovendo redução da cristalinidade pela destruição da região cristalina, o que possibilita a entrada de água e faz com que o grânulo se rompa e perca birrefringência (isto é, não se visualiza mais a cruz de malta sob luz polarizada) (Lobo e Silva, 2003).

A Figura 3 mostra o mecanismo de gelatinização do amido, onde (a) são os grânulos de amido feitos de amilose (linear) e amilopectina (ramificada); (b) com a adição de água há uma quebra na cristalinidade da amilose e os grânulos incham; (c) a adição de calor e mais água causam um maior inchamento, a amilose começa a se difundir para fora do grânulo; (d) os grânulos, agora compostos na maior parte por amilopectina, sofrem um colapso e são mantidos em uma matriz de amilose formando um gel (Lai e Kokini, 1991).

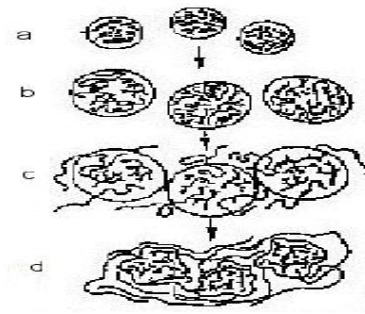


Figura 3- Gelatinização do amido.  
Fonte: Lai e Kokini, (1991).

O fenômeno seguinte à gelatinização denomina-se empastamento, envolve inchamento granular, separação dos componentes granulares moleculares e, eventualmente, total rompimento dos grânulos. Nesta etapa há um aumento na viscosidade da solução, ocorrendo a formação da pasta, constituída de uma fase contínua de amilose solubilizada e/ou moléculas de amilopectina, e uma fase descontínua de grânulos remanescentes (Fennema, 2000).

## 2.4 Goma Xantana

A goma xantana é um heteropolissacarídeo produzido por fermentação aeróbica submersa usando a bactéria *Xanthomonas campestris* em um meio estéril contendo carboidrato. A estrutura primária da molécula é composta por uma cadeia principal de  $\beta$ -D-glicoses unidas por ligações 1-4 com cadeias laterais contendo duas manoses e um ácido glucurônico, conforme apresentado na Figura 4 (Urlacher e Noble, 1992).

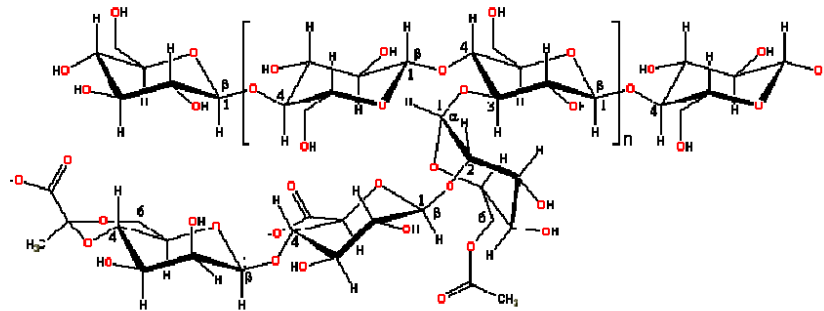


Figura 4- Estrutura molecular da goma xantana  
Fonte: Chaplin (2009)

A goma xantana apresenta elevada viscosidade e pseudoplasticidade, é estável em uma larga faixa de pH, pouco afetada em temperaturas entre 10 e 90 °C (mesmo

na presença de sais), muito resistente à degradação enzimática e compatível com altas concentrações de sais (Urlacher e Noble, 1992).

Dois tipos de associações podem ser propostas para determinar o comportamento da pasta de amido associada ao hidrocolóide: associação com amido intumescido ou com as cadeias de amilose lixiviadas na pasta, e a competição com o amido pela água. Estas associações são altamente dependentes da estrutura da goma (Lee et al., 2002).

Segundo Jokay e Nelson (1967), os amidos com elevados teores de amilose são mais difíceis de serem dispersos em água para formar solução filmogênicas, pois retrogradam em velocidade muito alta. Os plastificantes, assim como a goma xantana, poderiam auxiliar nesta questão, embora por mecanismos diferentes de formação do biofilme.

## 2.5 Plastificantes

Os plastificantes são definidos como substâncias com alto ponto de fusão e baixa volatilidade que, quando adicionados a outro material, provocam mudanças nas suas propriedades físicas, químicas e mecânicas (Mchugh e Khochta, 1994). Os plastificantes alteram a flexibilidade dos filmes devido à habilidade em reduzir as pontes de hidrogênio entre as cadeias dos polímeros e interferir no espaço molecular (Mali e Grossmann, 2003).

Segundo Zhang e Han (2006), durante a gelatinização dos grânulos de amido, as moléculas de amilose e amilopectina são liberadas na solução. As moléculas de amilose e amilopectina liberadas interagem principalmente mediante pontes de hidrogênio. De acordo com Liu e Han (2005), sem plastificantes, a amilose e a amilopectina formariam um filme com uma estrutura bifásica, que teria uma fase rica em amilose e outra fase rica em amilopectina. As interações entre as moléculas de amilose e as da amilopectina podem ser tão fortes, que os filmes de amido tornam-se quebradiços e rígidos. A existência dos plastificantes nos filmes de amido ajuda a interromper a formação de dupla hélice da amilose com fragmentos da amilopectina, reduzindo assim a interação entre a amilose e as moléculas da amilopectina, formando um filme flexível.

O uso do sorbitol e glicerol como plastificantes em filmes de amido de arroz (30% amilose) promoveu homogeneidade, claridade, aspecto liso e menos impurezas insolúveis quando comparados com os filmes sem plastificantes. A maciez e a alongação dos filmes melhoraram com o aumento das concentrações de glicerol e sorbitol, assim como a permeabilidade ao vapor d'água e a permeabilidade ao oxigênio (Laohakunjit e Noomhorm, 2004).

A Figura 5 mostra a molécula de glicerol (1,2,3-propanotriol), um álcool simples, sendo este um dos plastificantes mais utilizados em filmes comestíveis (Laohakunjit e Noomhorm, 2004).

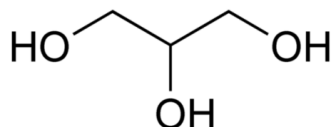


Figura 5- Molécula de glicerol. Fonte: Chaplin (2009)

## 2.6 Pinhão

O pinhão é a semente do Pinheiro do Paraná (*Araucaria angustifolia*), uma fotografia do pinhão está apresentada na Figura 6; o fruto desta árvore é conhecido como pinha e ocorre, comumente, em ramos primários e secundários do pinheiro, porém, nos ramos primários, as pinhas são maiores, sendo que o número médio de pinhões é de 11 a 60; as pinhas produzidas nos ramos secundários são menores, mais arredondadas e com menor número de pinhões (4 a 40 por pinha) (Anselmini, 2005). Os pinhões apresentam casca de cor marrom avermelhada e polpa que corresponde à parte comestível muito dura quando crua, necessitando de um processo de abrandamento da textura para permitir o consumo (Koch e Corrêa, 2002).



Figura 6- À esquerda o Pinheiro do Paraná (*Araucaria angustifolia*) e à direita a pinha contendo pinhões. Fonte: Ciflorestas (2010)

Conforme Cordenunsi et al.(2004), o pinhão é considerado uma fonte de amido, devido à presença de uma alta quantidade (~34%) deste componente, além disso possui um baixo conteúdo de proteínas (~3,57%) e lipídios (~1,26%). Na Tabela 1 está apresentada a composição físico-química do pinhão cru e cozido determinada por esses autores.

**Tabela 1- Composição físico-química do pinhão cru e cozido**

Análise (% b.u. *)	Pinhão cru	Pinhão cozido
Umidade	49,50±0,02	50,35±0,71
Proteína	3,57±0,05	2,31±0,05
Lipídios	1,26±0,07	1,26±0,09
Resíduo mineral fixo	1,60±0,01	1,41±0,02
Amido	36,28±0,11	34,48±0,72
Fibra dietética solúvel	0,63±0,13	0,55±0,18
Fibra dietética insolúvel	4,26±0,20	5,17±0,25
Açúcares solúveis totais	2,43	0,64

\*b.u., base úmida

Fonte: Cordenunsi *et al.* (2004)

### 3 Materiais e Métodos

Neste capítulo estão apresentados os métodos utilizados para a extração do amido de pinhão, síntese do biofilme e sua caracterização com as técnicas de espessura, gramatura, análise térmica (DSC), Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV), permeabilidade ao N<sub>2</sub> e CO<sub>2</sub> e solubilidade. Por fim, serão apresentados os testes de estabilidade em maçãs e peras através do revestimento das mesmas com as soluções filmogênicas.

#### 3.1 Extração do amido do pinhão

Segundo a metodologia de Bello-Pérez, Montealvo e Acevedo (2006) com algumas modificações, para extração do amido de pinhão, a primeira etapa corresponde ao descascamento do mesmo, através da retirada de sua casca e película interna que envolvem o endosperma. Cabe ressaltar que mesmo após o descasque, o endosperma foi lavado para retirada de compostos oxidantes da casca.

Em seguida, o pinhão foi triturado em liquidificador doméstico com adição de água fria (1 kg/1,5 L). O material obtido na trituração foi filtrado através de uma peneira (Mesh Tyler 100) duas vezes; a seguir, o permeado contendo o amido foi deixado em refrigerador (~4°C) para decantação. O amido precipitado foi lavado/decantado três vezes em água fria em intervalos de 50 minutos e para finalizar o processo de obtenção do amido colocou-se o mesmo em uma estufa (Tecnal, modelo TE-381, Brasil) por 24 horas a 40°C.

#### 3.2 Determinação da umidade do amido extraído do pinhão

A determinação da umidade do amido foi realizada em triplicata, para tanto 3 alíquotas do material obtido conforme item 3.1, foram previamente pesadas e inseridas em estufa (Tecnal, modelo TE-381, Brasil) a 105°C por 24 horas (Stander Methodos, 1967). A umidade foi obtida pela equação 1:

$$h = \frac{(mi - mf)}{mi} * 100 \% \quad (1)$$

onde  $h$  é o percentual de umidade,  $mi$  a massa inicial pesada e  $mf$  a massa final após o período de secagem.

### 3.3 Preparo da solução filmogênica de amido

Para formulação dos biofilmes utilizou-se amido de pinhão, um agente plastificante (glicerol) e a goma xantana. Na Tabela 2 são listados os ingredientes utilizados na formulação dos biofilmes, assim como a quantidade dos mesmos.

Tabela 2- Ingredientes e quantidades utilizados na formulação do biofilme.

Ingrediente	Quantidade
Água destilada	250 mL
Amido de pinhão	7,500 g
Glicerol	2,250 g
Goma Xantana	0,001 g

A solução filmogênica foi preparada conforme a metodologia de Fakhouri et al. (2007). Para tanto, todos os componentes listados na Tabela 2 foram misturados e aquecidos em banho-maria a aproximadamente 75°C para promover a gelatinização do amido. A Figura 7 mostra o amido utilizado para formar a solução filmogênica.



Figura 7- Amido extraído do pinhão.

### 3.4 Secagem dos biofilmes

A técnica de *casting* é definida como a desidratação da solução filmogênica sobre uma placa de Petry. Para o *casting* colocou-se 0,43 g de solução filmogênica por cm<sup>2</sup> de área da placa de *Petry* (Fakhouri, 2007). Logo após, as placas foram inseridas em secador de alimentos (Solab, SL102/100, Brasil) com convecção de ar forçada por 24 horas a 40°C. A Figura 8 apresenta o equipamento de secagem utilizado.





Figura 8- Secador de alimentos modelo Solab SL 102/100.

### 3.5 Remoção dos biofilmes das placas de Petry

Para a remoção efetiva dos biofilmes das placas de Petry, sem danificar a sua estrutura, os mesmos foram inseridos em um dessecador contendo uma atmosfera saturada de NaCl, e o conjunto (biofilme e dessecador) foi colocado dentro de uma estufa à temperatura ambiente ( $\sim 21^{\circ}\text{C}$ ) durante uma semana (Fakhouri, 2007).

### 3.6 Determinação da umidade do biofilme

A determinação da umidade do biofilme foi realizada em triplicata. Para tanto, 3 amostras de biofilme de  $4\text{ cm}^2$  foram previamente pesadas e inseridas em estufa (Tecnal, modelo TE-381, Brasil) a  $105^{\circ}\text{C}$  por 24 horas (Stander Methodos, 1967). O procedimento é análogo ao apresentado no item 3.2.

### 3.7 Caracterização do biofilme

Para caracterizar os biofilmes foram feitos os testes de solubilidade em água, Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV), calorimetria diferencial de varredura (DSC), permeabilidade a gases, gramatura e espessura.

#### 3.7.1 Solubilidade em água

O procedimento para determinação da solubilidade foi realizado em duplicata. Para tanto, colocou-se uma seção do biofilme referente a  $4\text{ cm}^2$  em estufa (Tecnal, modelo TE-381, Brasil) a  $105^{\circ}\text{C}$  por 24 horas, em seguida, a amostra foi pesada (*mi*) e

inserida em um béquer com aproximadamente 80 mL de água destilada sob agitação magnética a 25°C por 24 horas. Logo após, o biofilme foi novamente colocado em estufa a 105°C por 24 h para secagem e posterior pesagem do mesmo para obtenção da massa final (*mf*). Através dessa técnica foi possível determinar a perda de massa (*pm*) do material por solubilização pela equação 2:

$$pm = \frac{mi - mf}{mi} \quad (2)$$

onde, *pm* é a perda de massa, *mi* é a massa inicial obtida na primeira pesagem e *mf* é a massa final.

### 3.7.2 Calorimetria diferencial de varredura

As temperaturas obtidas pelo DSC são a Tg (temperatura de transição vítrea) e Tf (temperatura de fusão) que são interessantes para avaliar as propriedades de transição de estado no biofilme.

As temperaturas de transição vítrea (Tg) e fusão (Tf) dos biofilmes foram determinadas por DSC (Differential scanning calorimetry DSC-6000, Perkin Elmer, Estados Unidos), para tanto, realizou-se ensaios em triplicata com massas de biofilmes que variaram de 0,6 a 0,9 mg, A faixa de temperatura estudada foi de -20 a 200°C, a uma taxa de aquecimento de 10°C/min e o gás de arraste foi Argônio.

### 3.7.3 Microscopia eletrônica de varredura (MEV)

A estrutura dos biofilmes foi verificada através da microscopia eletrônica de varredura (Jeol Scanning Microscope JSM-6060, Tóquio, Japão), utilizando uma aceleração potencial de 5 kV durante a obtenção das micrografias. As amostras foram metalizadas com ouro e as imagens da superfície do biofilme foram obtidas em diferentes resoluções (550, 1000, 1500 e 2500 vezes), assim como as imagens da seção transversal do biofilme (800, 1500 e 2000 vezes).

### 3.7.4 Permeabilidade gasosa de ar na planta de permeação de gases

Para avaliação da permeabilidade a gases do biofilme utilizou-se a planta de permeação de gases do Laboratório de Processos de Separação com Membranas (LASEM) do Departamento de Engenharia Química da UFRGS. A Figura 9 mostra a planta de permeação assim como o módulo onde foi inserido o biofilme.

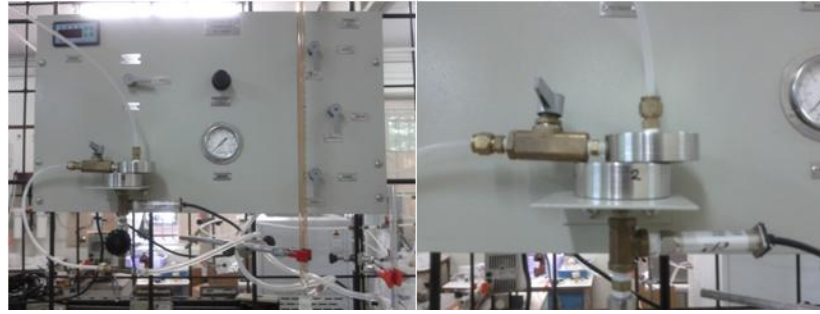


Figura 9- Fotografia do sistema de permeação de gases: à esquerda a planta de permeação de gases e à direita o módulo.

As medidas de permeabilidade foram realizadas na pressão de 1 bar, equivalente a pressão atmosférica de utilização dos biofilmes. Para esse teste foram desenvolvidos biofilmes com espessura controlada de 20  $\mu\text{m}$  através de um extensor, para tanto uma camada de biofilme foi espalhada em uma placa de acrílico e seca durante 3 dias a 40°C em estufa (Tecnal, modelo TE-381, Brasil). Logo após, os filmes foram recortados no formato redondo com uma área total de 13  $\text{cm}^2$  e inseridos no módulo da planta. Foram testados os gases  $\text{CO}_2$  e  $\text{N}_2$ . A equação 3 descreve a permeabilidade dos gases em estudo através do biofilme.

$$P = \frac{22,414 V p_{amb}}{RT t A (p_2 - p_1)} \quad (3)$$

onde 22,414 é o volume molar do gás ( $\text{cm}^3 \cdot \text{mol}^{-1}$ ), R é a constante ideal dos gases 6,236,56 ( $\text{cm}^3 \cdot \text{cmHg} \cdot \text{mol}^{-1} \cdot \text{K}^{-1}$ ), A é a área de permeação ( $\text{cm}^2$ ), T é a temperatura do gás (K), V/t é a vazão de gás ( $\text{cm}^3 \cdot \text{s}^{-1}$ ),  $p_{amb}$  a pressão ambiente (cmHg) e  $p_2$  e  $p_1$  são as pressões de alimentação e permeado (cmHg), respectivamente.

Como resultados dos experimentos de permeação de gases se obtém o valor V/t ( $\text{cm}^3 \cdot \text{s}^{-1}$ ) pela medição direta com um cronômetro do tempo de passagem das bolhas formadas pelo gás que passa através do módulo contendo o biofilme.

### 3.7.5 Gramatura

Para o cálculo da gramatura utilizou-se a razão entre a quantidade de solução dividida pela área ocupada pelo biofilme, logo o resultado foi dado em  $\text{g}/\text{cm}^2$ . A gramatura é dada pela equação 4 apresentada a seguir:

$$G = 10000 * \frac{\rho}{a} \quad (4)$$

onde, G é a gramatura expressa em  $\text{g}/\text{cm}^2$ ,  $\rho$  é a massa da mostra e ( $\alpha$ ) é a área da amostra.

### 3.7.6 Espessura

A espessura dos biofilmes foi medida com o auxílio de um micrômetro de disco marca Mitutoyo com escala de 0 a 0,25 mm com precisão de 0,001 mm. A espessura final do mesmo correspondeu à média aritmética de cinco pontos aleatórios de cada amostra (Oliveira, 1996).

O controle da espessura dos filmes é importante para se avaliar a uniformidade desses materiais, a repetibilidade da medida de suas propriedades e a validade das comparações entre os filmes. Conhecendo-se a espessura é possível obter informações sobre a resistência mecânica e as propriedades de barreira ao vapor d'água do material (Oliveira, 1996).

A espessura dos filmes biodegradáveis é variável, é decorrente do processo de *casting*, onde os biofilmes são secos em suportes, gerando filmes não homogêneos de espessuras diferentes dependendo da massa utilizada (Monterrey-quintero, 1998; Sobral *et al.*, 2000; Mali, 2002).

### 3.8 Aplicação dos biofilmes como revestimento de alimentos

Para avaliar as propriedades de barreira do biofilme, soluções filmogênicas foram preparadas conforme item 3.3, para posterior revestimento de frutas. Para tanto, as amostras foram mergulhadas na solução filmogênica e suspensas para posterior secagem em temperatura ambiente. Para fins de comparação, foi utilizado um plástico comercial oriundo de petróleo, e para controle foi usada uma amostra sem revestimento. As amostras foram fotografadas e pesadas de 5 em 5 dias para acompanhamento de perda de massa e aspecto visual de conservação. O procedimento foi testado em maçãs e peras, sendo que ambos os testes foram feitos em duplicata.

## 4 Resultados e Discussão

Este capítulo apresenta os resultados obtidos no desenvolvimento deste trabalho, referentes à extração de amido de pinhão, ao teor de umidade tanto do amido quanto do biofilme sintetizado, à síntese do biofilme e à sua caracterização com as técnicas de espessura, gramatura, análise térmica (DSC), microscopia eletrônica de varredura (MEV), permeabilidades ao N<sub>2</sub> e CO<sub>2</sub>, testes de solubilidade e revestimento em alimentos.

### 4.1 Extração do amido do pinhão

O processo de extração do amido de pinhão teve rendimento de  $19,36 \pm 0,26\%$ . Considerando que outras fontes de amido apresentam rendimento similar, como a batata inglesa (18%), mandioca (22-27%), araruta (8-16%), inhame (18-23%) e mandioquinha salsa (5-23%) (Franco et al., 2002), pode-se afirmar que o pinhão pode ser utilizado para obtenção de amido pela indústria de alimentos.

### 4.2 Determinação do teor de umidade do amido

O resultado de umidade obtido foi de  $10,40 \pm 0,21\%$ , esse valor ficou muito próximo a 10% que segundo Sarantópoulos (2001), deverá conservar as estruturas do amido sem variação nos teores mais importantes, como a amilose, para a formação do biofilme.

### 4.3 Obtenção do biofilme (secagem e remoção)

Pelo aspecto e consistência do biofilme sintetizado pela técnica de *casting* pôde-se observar a semelhança com o plástico oriundo do petróleo, a Figura 10 mostra o biofilme na placa de Petry e após a remoção da mesma.



Figura 10- Biofilme na placa de Petry e após remoção da mesma.

#### 4.4 Determinação do teor de umidade do biofilme

A umidade média do biofilme foi de  $10,8 \pm 0,4\%$ , esse valor é aceitável para biofilmes, visto que segundo Sarantópoulos, Oliveira e Canavesi (2001) para o biofilme apresentar boas propriedades de barreira, o mesmo deve ter umidade máxima de 10%.

#### 4.5 Gramatura

O valor médio para a gramatura dos biofilmes foi de  $0,0245 \pm 0,0008 \text{ g/cm}^2$ . A gramatura de filmes é definida como a massa de uma determinada área do material, a qual está diretamente relacionada à resistência mecânica dos filmes. Maiores gramaturas oferecem maiores resistências mecânicas (Oliveira et al., 1996).

A gramatura da solução no início do processo de *casting* era de  $0,43 \text{ g/cm}^2$  e no final foi cerca de 18 vezes menor, esse valor embora seja de difícil controle pelo processo, manteve-se aproximadamente constante e a resistência final dos biofilmes sintetizados foi satisfatória.

#### 4.6 Solubilidade

A solubilidade encontrada para o biofilme correspondeu a  $18,7 \pm 0,4\%$ . A resistência à umidade dos filmes de amido de pinhão foi superior à verificada por Wang et al. (2007) para filmes de amido de batata (3 e 50% glicerol), cuja solubilidade foi de 31,8%. A influência da concentração de amido na solubilidade de biofilmes, contudo não foi verificada por Wang et al. (2007).

Mehyar e Han (2004) constataram que as interações da rede formada pelo amido de ervilha geraram maior resistência à água que o filme de amido de arroz. Esses autores sugeriram que no caso do amido de ervilha (10% a mais de amilose) o aumento da força intermolecular destes polissacarídeos poderia ter sido causado pela maior interação entre as moléculas de amilose, o que, por hipótese, é o principal mecanismo de formação de filmes de amido.

Como o valor de solubilidade encontrado foi baixo, pode-se dizer que o biofilme pode ser usado em produtos que necessitam de embalagens com menor solubilidade. O seu uso é inadequado para alimentos que entram em contato com a água e precisam ser solubilizados, podendo atuar como proteção para alimentos em que a atividade de água é alta, quando o alimento tem contato com a água durante a cocção ou mesmo quando os filmes são ingeridos (comestíveis).

#### 4.7 Espessura

A espessura determinada pela medição direta através do micrômetro foi de  $0,11 \pm 0,03$  mm. Esse resultado é considerado positivo, pois mostra a homogeneidade do biofilme formado, ou seja, ele apresentou poucas alterações em sua superfície apesar do processo de formação ser o *casting* que é difícil de controlar.

Liu e Kerry (2005) estudaram a espessura de filmes de amido de ervilha obtidos por extrusão e encontram valores bem mais elevados de espessura (0,327 a 0,422 mm) do que estes obtidos por *casting*.

#### 4.8 Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)

Os resultados obtidos na Microscopia Eletrônica de Varredura foram micrografias da superfície e da seção transversal do biofilme em diferentes resoluções. A Figura 11 mostra as micrografias da superfície do biofilme.

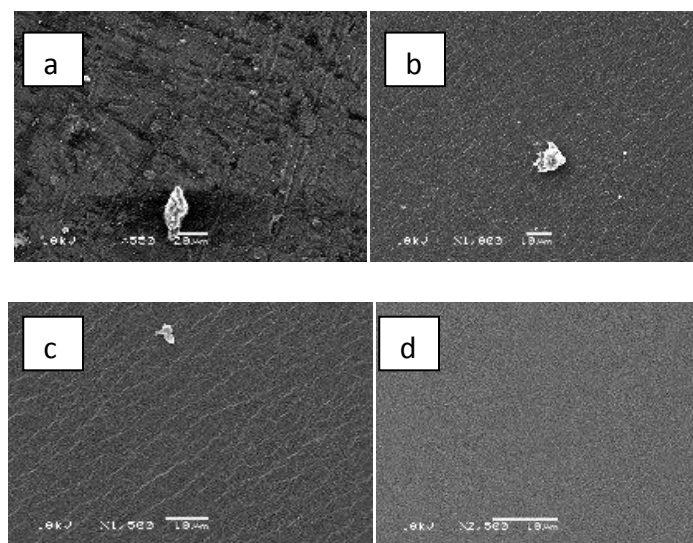


Figura 11- Fotomicrografias da superfície do biofilme com aumento de 550x (a), 1000x (b), 1500x (c) e 2500x (d).

Pelas fotomicrografias de superfície pode-se observar que existem grânulos de amido que não foram totalmente dissolvidos na solução. Além disso no aumento de 550x é possível observar as rachaduras de superfície que o biofilme apresenta, porém em magnitudes de 2500 x nota-se a uniformidade da superfície.

Outros resultados obtidos pela MEV foram as fotomicrografias da seção transversal do biofilme que são apresentadas na Figuras 12.

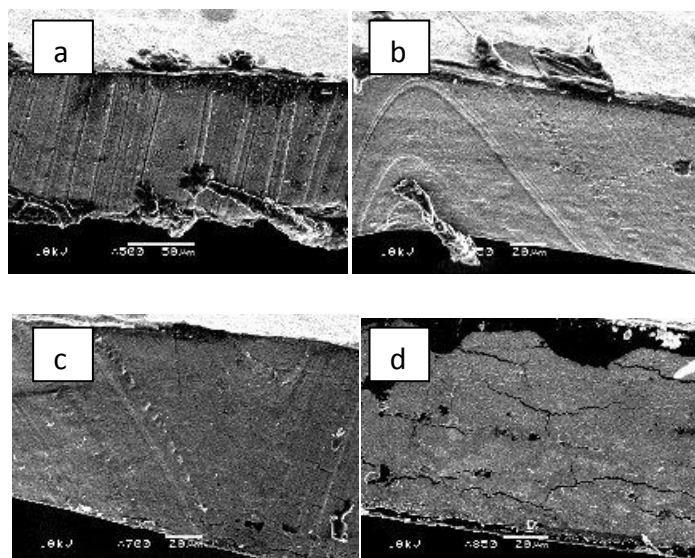


Figura 12- Fotomicrografias da seção transversal do biofilme em magnitudes de 500x (a) , 600x (b), 700x (c) e 850(x).

Pelas análises das fotomicrografias da seção transversal do biofilme observa-se que a estrutura do mesmo é densa, porém percebe-se pequenas rachaduras na estrutura em magnitudes de 850X. Essas imperfeições podem estar relacionadas às condições de conservação da amostra ou a problemas durante a secagem pelo uso de convecção forçada ou temperatura elevada.

#### 4.9 Calorimetria diferencial de varredura (DSC)

As análises de DSC detectaram as temperaturas de transição vítrea ( $T_g$ ) e fusão ( $T_f$ ) na qual o biofilme tem mudança de estado pela aplicação de fluxo de calor. A  $T_g$  pode ser percebida nos gráficos por uma mudança muito sutil na linha de base, que só é detectada por equipamentos mais sensíveis, e é quando ocorre uma variação no calor específico ( $C_p$ ) sem mudança significativa da temperatura. Nessa transição não ocorre variação de entalpia.

O aquecimento acima da temperatura de cristalização resulta no surgimento de um pico endotérmico na curva de fluxo de calor, correspondendo à temperatura de fusão ( $T_f$ ), que está relacionada a um movimento significativo das cadeias moleculares devido à desestruturação dos cristais pelo aumento da temperatura (Davanço, 2006).

Pela análise DSC observa-se que a  $T_g$  do filme foi de  $-4,8 \pm 0,12^\circ\text{C}$ ; nessa temperatura a estrutura vítrea do biofilme transforma-se em elastomérica, e sendo assim, o biofilme apresenta boa mobilidade em temperatura ambiente, característica desejada para seu uso como embalagem.



Quanto à temperatura de fusão do biofilme, ocorreu a detecção de picos distintos. Essa diferença encontrada nas amostras pode estar relacionada a não homogeneidade da solução filmogênica, pois, conforme os resultados da MEV apareceram grânulos de amido que não foram gelatinizados.

Algumas amostras apresentaram  $T_f$  média de  $182,3^\circ\text{C}$ , enquanto outras apresentaram menor  $T_f$ , de  $134,9^\circ\text{C}$ . Ambos os resultados demonstraram que o biofilme de amido de pinhão apresenta boa resistência a altas temperaturas. A Tabela 3 demonstra os resultados de  $T_g$  e  $T_f$  das amostras analisadas.

Tabela 3 – Temperatura de transição vítrea ( $T_g$ ) e Temperatura de fusão ( $T_f$ ) das amostras de biofilmes

Amostra	$T_g$ ( $^\circ\text{C}$ )		$T_f$ ( $^\circ\text{C}$ )		$T_f$ ( $^\circ\text{C}$ )	
	$T_o$	$T_p$	$T_o$	$T_p$	$T_o$	$T_p$
1	-4,98	-4,53	184,02	187,30	99,29	134,53
2	-5,03	-4,61	180,65	184,38	102,17	135,33
<b>Média</b>	-5,01	-4,57	182,33	185,84	100,73	134,93
<b>Desvio</b>	0,035	0,057	2,383	2,065	2,0365	0,5657

A Figura 13 apresenta o termograma com o resultado das  $T_g$  e  $T_f$  das amostras.

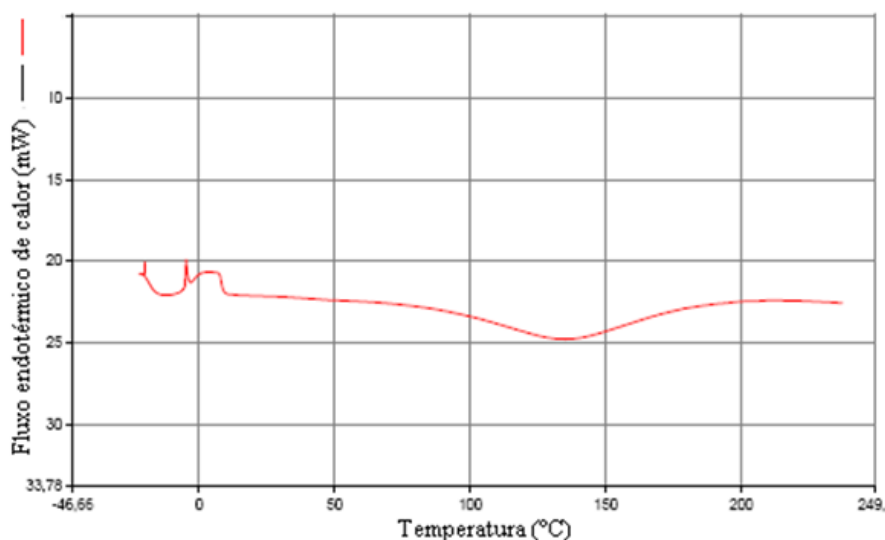


Figura 13 - Termograma mostrando a temperatura de transição vítrea ( $T_g$ ) e temperatura de fusão ( $T_f$ ) do biofilme de amido de pinhão.

A Figura 14 apresenta o termograma das amostras contendo a outra Tf encontrada para os biofilmes.

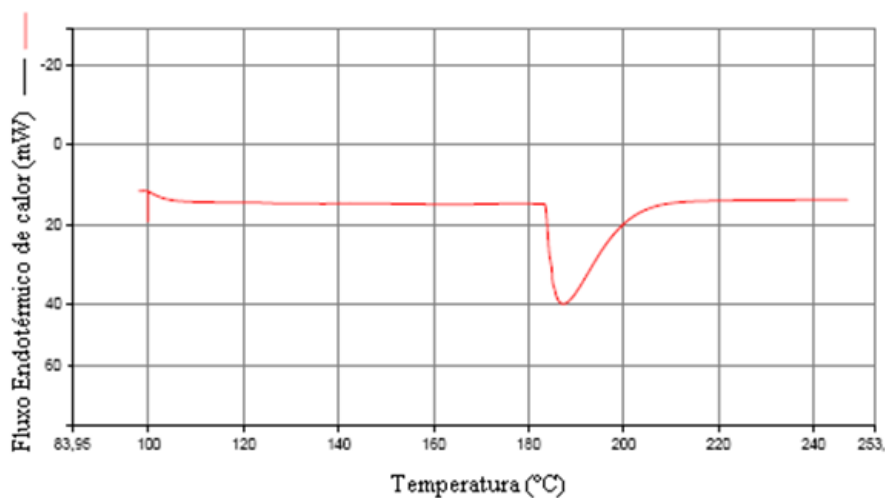


Figura 14 - Termograma mostrando a segunda temperatura de fusão (Tf) encontrada para o biofilme de amido de pinhão.

#### 4.10 Permeabilidade ao N<sub>2</sub> e CO<sub>2</sub>

Para o gás N<sub>2</sub> a permeabilidade obtida foi de 42,7 Barrer e para o CO<sub>2</sub> o valor encontrado foi de 36,4 Barrer, ambos os gases apresentaram uma permeabilidade semelhante. A permeabilidade próxima desses dois gases em pressão atmosférica demonstra que o biofilme não tem seletividade para nenhum deles, ou seja, a barreira de N<sub>2</sub> e CO<sub>2</sub> é bem semelhante. Estudos futuros com outros gases seriam interessantes para avaliar a permeabilidade do biofilme ao O<sub>2</sub> e ao etileno que é um importante gás para maturação de frutas e verduras.

Outro fato a ser ressaltado é que essas permeabilidades só foram obtidas com uma espessura controlada do biofilme, pois os biofilmes sintetizados nas placas de Petry não foram permeáveis aos gases mesmo em pressões de 10 bar. O biofilme apresentou os valores de permeabilidade, acima descritos, com espessura de 20 µm.

#### 4.11 Testes de revestimentos de alimentos com biofilmes

O uso de revestimento com biofilme, primeiramente, foi analisado em maçãs, como um teste, mas sem reprodutibilidade, por não ter sido feito em triplicata. Assim, foi utilizada uma maçã que foi mergulhada na solução filmogênica, outra com revestimento de filme comercial, oriundo do petróleo e uma terceira sem revestimento para controle. Esse teste inicial teve o intuito de provar se havia

diferença na perda de massa e degradação entre as maçãs. No primeiro dia o aspecto das maçãs é retratado na Figura 15.



Figura 15 -Fotografias das maçãs, onde a maçã 1 é revestida pelo biofilme de amido, a maçã 2 pelo filme comercial e a maçã 3 não tem revestimento.

Essas maçãs foram acompanhadas por 15 dias e pesadas de 5 em 5 dias, obtendo-se os resultados apresentados na Figura 16 que relacionam a perda de massa ao longo dos dias.

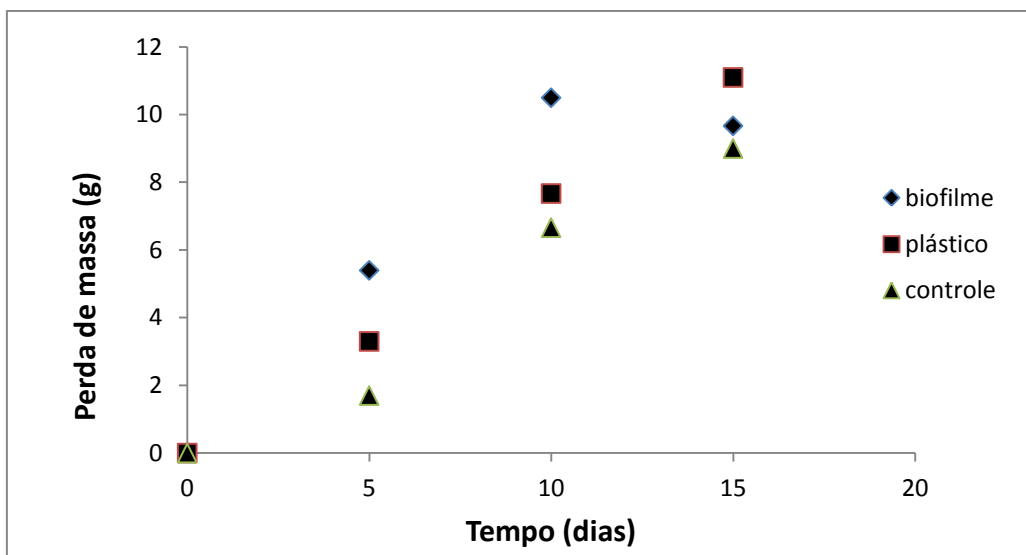


Figura 16 - Perda de massa da maçãs revestidas com biofilme, filme comercial e controle ao longo do tempo.

Através da Figura 16 é possível observar que a maçã revestida com biofilme do 10º para o 15º dia ganhou massa, fato que pode ser explicado pela saturação de etileno e pelo processo de apodrecimento, que a fizeram “inchar” e se decompor.

Cabe ressaltar que a maçã com biofilme foi a que mais perdeu massa até o 10º dia, e após, provavelmente ela teve um ganho de massa pela saturação em etileno. A maçã controle foi a que menos perdeu massa por não ter nenhum tipo de barreira com a atmosfera.

Pela Figura 17, que apresenta a fotografia do estado final das maçãs após 15 dias, percebe-se que a maçã mais preservada foi a envolvida pelo filme comercial. Isso mostra que esse plástico apresenta uma boa permeabilidade ao etileno, fator fundamental para a conservação de frutas que precisa ser melhorado no biofilme de amido de pinhão.



Figura 17 - Maçã envolvida por biofilme (a), comparação da maçã revestida com biofilme com a envolvida com filme comercial (b) e comparação entre a maçã com biofilme e a maçã controle (c).

O próximo experimento foi repetir o mesmo procedimento do teste de revestimento com maçãs, utilizando peras para confirmar a saturação de etileno. Na Figura 18 estão apresentadas as fotografias das amostras.



Figura 18 - Fotografias das peras: pera 1.1 é revestida com biofilme, pera 2.1 é a controle sem nenhum revestimento e pera 3.1 é revestida por filme comercial.

A Tabela 5 mostra os resultados da perda de massa total das amostras de pera após 15 dias de estocagem a temperatura ambiente (~21°C).

Tabela 4- Acompanhamento de perda de massa para as peras revestidas com biofilme de pinhão, filme comercial e controle.

Peras	1° Dia	15°Dia	Perda de massa (g)
	Massa(g)		
<b>1- Biofilme</b>	212,31	199,46	12,85
	215,54	203,12	12,42
<b>2- Controle</b>	231,45	220,25	11,2
	230,51	217,67	12,84
<b>3- Filme Plástico</b>	222,38	211,25	11,13
	235,57	225,56	10,01

Através do teste de Tukey ( $p < 0,05$ ) foi possível detectar que a perda de massa na maçã com biofilme e na maçã controle foi estatisticamente igual, ou seja, ela não diferiu. O biofilme teve uma perda média de 12,64 g, enquanto as perdas da pera controle e com revestimento de filme comercial foram de 12,02 e 10,57 g respectivamente. A pera com filme comercial apresentou perda de massa (g) significativamente menor que as outras.

Pela observação da Figura 19 é possível constatar o estado final de conservação das peras após 15 dias a temperatura ambiente.



Figura 18- Fotografias das peras revestidas com biofilme (a), controle (b) e com filme comercial (c).

Apesar da pera com biofilme mostrar pontos escuros em sua estrutura, o efeito de maturação mais rápido, constatado nas maçãs, não foi verificado nessas frutas. Neste experimento as peras revestidas pelo biofilme tiveram o menor grau de maturação. Existem vários fatores que podem ter contribuído para esse resultado, como grau de maturação inicial de cada fruta, fator de respiração, produção de etileno, entre outros.

## 5 Conclusões

Foi possível obter o biofilme de amido extraído do pinhão, que se trata de uma matéria-prima oriunda de fonte renovável e biodegradável.

Algumas considerações importantes sobre os biofilmes correspondem a sua boa resistência a água se comparado a outros filmes de diferentes fontes de amido, e a homogeneidade de sua espessura. A Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV) demonstrou a uniformidade da técnica de *casting* que resultou em um biofilme de estrutura densa e, pela calorimetria diferencial de varredura (DSC), detectou-se as temperaturas de transição vítrea e de fusão do biofilme em diferentes faixas que podem ser atribuídas ao processo de gelatinização parcial do grânulo de amido. Estudos que merecem mais atenção são os de permeabilidade, que devem ser testados para outros gases para avaliar a seletividade da barreira do biofilme à permeabilidade ao etileno e ao O<sub>2</sub>.

O presente trabalho apresenta resultados que podem ser utilizados em estudos futuros que visem a otimização das características do biofilme, assim como a sua utilização em alimentos.

Como sugestões de trabalhos futuros, é sugerida a geração de uma superfície de resposta para otimizar a mistura das matérias-primas e gerar um biofilme com características potencializadas. Ainda, mais testes de permeabilidade para avaliação da barreira do biofilme são de suma importância para produzir uma embalagem ativa com propriedades de preservação alimentícia satisfatórias.

## 6. Referências Bibliográficas

AMERICAN SOCIETY FOR TESTING AND MATERIALS (ASTM) INTERNATIONAL. D 882-02: standard test method for tensile properties of thin plastic sheeting. Philadelphia, 2002. 9 p.

AZEREDO, H.M.C.; FARIA, J.A.F; AZEREDO, A.M.C. Embalagens ativas para alimentos. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v.20, n.3, Campinas, set./dez. 2000.

BELLO-PÉREZ, L. A.; GARCIA SUAREZ, F.J.; MENDEZ-MONTEALVO, G.; NASCIMENTO J. R. O.; LAJOLO, F.M.; CORDENUNSI, B.R. Isolation and Characterization of starch from seeds of *Araucária brasiliensis*: A novel starch for application in food industry. *Starch/Stärke*, v. 58, n.6, p. 283-291, 2006.

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

BILIADERIS, C.G. The structure and interactions of starch with food. *Canadian Journal of Physiology and Pharmacology*, Ottawa, v. 69, p. 60 -78, 1991.

BOURTOOM, T.; CHINNAN, M.S. Preparation and properties of rice starch-chitosan blend biodegradable film. *Food Science and Technology*, London, v. 41, p. 1633-1641, 2008.

CANEVAROLO, S. V. **Ciências dos Polímeros**. São Paulo, Artliber Editora Ltda, 2002. 183p.

CEREDA, M. P; CARDOSO, C. E. P.; SOUZA, J. S. **Agricultura: Cultura de tuberosas amiláceas latino-americanas. Vol. 1 – Propriedades gerais do amido**. São Paulo: Fundação Cargill, 2002.540p.

CENTRO DE TECNOLOGIA DE EMBALAGENS- CETEA. **Ensaio para avaliação de embalagens plásticas flexíveis**. Campinas, 1996. 219p.

CHOI, W.S.; HAN, J.H. Physical and mechanical properties of pea-protein-based edible films. *Journal of Food Science*, Chicago, v. 66, n. 2, p. 319-322, 2001.

CIACCO, C.F.; CRUZ, R. Fabricação de amido e sua utilização. São Paulo: Secretaria da Indústria, Comércio, Ciência e Tecnologia. 1982. 152p. (Série Tecnologia Agroindustrial, v. 7).

DAVANÇO, Taciana. **Desenvolvimento e caracterização de biofilmes à base de gelatina, triacetina, ácido esteárico ou ácido capróico e surfactantes**. Campinas, 2006. Dissertação (Mestrado em Alimentos e Nutrição). Faculdade de Engenharia de Alimentos, da Universidade Estadual de Campinas.

DEBEAUFORT, F.; QUEZADA-GALLO, J. A.; VOILLEY A. **Edible films and coatings: tomorrows packagings: a review**. Crit. Rev. Food Sci., v. 38, n. 4, p. 299-313, 1998.

FAKHOURI, F. M.; FONTES, L. C. B.; GONÇALVES, P. V. M.; MILANEZ, C. R.; STEEL, C. J.; COLLARES-QUEIROZ, F. P. Filmes e coberturas comestíveis composta à base de amidos nativos e gelatina na conservação e aceitação sensorial de uvas Crimson. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 27, n. 2, 2007. Franco, C.M.L.; Daiuto, E.R.; Demiate, I.M.; Carvalho, L.J.C.B.; Leonel, M.; Cereda, M.P.; Vilpoux, O.F.; Sarmiento, S.B.S. (2002). Culturas de tuberosas amiláceas latino americanas. Fundação Cargill, Campinas.

FRENCH, D. Organization of starch granules. In: WHISTLER, R. L.; BEMILLER, J. N.; PASCHALL, E. F. Starch. **Chemistry and technology**. 2.ed. San Diego, Academic Press, 1984. cap.8, p.249-274.

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

GONTARD, N.; GUILBERT, S. Bio-packaging: technology and properties of edible and/or biodegradable material of agricultural origin. **Boletim do SBCTA**, v. 30, n. 1, p. 3-15, 1995.

GONTARD, N.; GUILBERT, S.; CUQ, J.L. Water and glycerol as plasticizers affect mechanical and water vapor barrier properties of an edible wheat gluten film. **Journal of Food Science**. V. 58(1), p. 206-211. 1993.

HAN, J. H. **Innovations in Food Packaging**, Elsevier Science, 2005.

HAN, J.H.; SEO, G.H.; PARK, I.M.; KIM, G.M.; LEE, D.S. Physical and mechanical properties of pea starch edible films containing beeswax emulsions. **Journal of Food Science**, London, v. 71, n. 6, p. 290-296, 2006.



HEDLEY, C.L.; BOGRACHEVA, Y.T.; WANG, T.L. A genetic approach to studying the morphology structure and function of starch granules using pea as model. *Starch/Stärke*, Weinheim, v. 54, p. 235-242, 2002.

LABUZA, T.P. An introduction to active packaging for foods. **Food Technology**, v. 50, n. 1, p. 68-71, 1996.

LABUZA, T.P.; BREENE, W.M. Applications of "active packaging" for improvement of shelf-life and nutritional quality of fresh and extended shelf-life foods. **Journal of Food Processing and Preservation**, v. 13, n. 1, p. 1-69, 1989.

LAOHAKUNJIT, N.; NOOMHORM, A. Effect of plasticizer on mechanical and barrier properties of rice starch film. *Starch/Stärke*, Weinheim, v. 56, p. 348-356, 2002.

LEE, M.H.; BAEK, M.H.; CHA, D.S.; PARK, H.J.; LIN, S.T. Freeze-thaw stabilization of sweet potato starch gel by polysaccharide gums. *Food Hydrocolloids*, Wrexham, v. 16, p. 345-352, 2002.

LI, Y.; SHOEMAKER, C.F.; MA, J.; SHEN, X.; ZHONG, F. Paste viscosity of rice starches of different amylose content and carboxymethylcellulose formed by dry heating and the physical properties of their films. *Food Chemistry*, London, v. 109, p. 616-623, 2008.

LIU, Z.; HAN, J.H. Film-forming characteristics of starch. *Journal of Food Science*, Chicago, v. 70, n. 1, p. 31-36, 2005.

LIU, H., YU, L., XIE, F., & CHEN, L. Gelatinization of corn starch with different amylose/amylopectin content. *Carbohydrate Polymers*, v.65, p.357-363. 2006.

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

LOURDIN, D.; COIGNARD, L.; BIZOT, H.; COLONNA, P. Influence of equilibrium relative humidity and plasticizer concentration on the water content and glass transition of starch materials. **Polymer**, v. 38, n. 21, p. 5401-5406, 1997.

MALI, S.; GROSSMANN, M. V. E.; GARCÍA, M. A.; MARTINO, M. N.; ZARITZKY, N. E. Barrier, mechanical and optical properties of plasticized yam starch films. **Carbohydrate Polymers**, [S.l.], v. 56, p. 129-135, 2005.

MEHYAR, G.F; HAN, J.H. Physical and mechanical properties of high-amilose rice and pea starch films as affected by relative humidity and plasticizer. *Journal of Food Science*, Chicago, v. 69, p. 449-454, 2004.

MILLER, C.M.O.; YAMASHITA, F.; LAURINDO, J.B. Evaluation of the effects of glycerol and sorbitol concentration and water activity on the water barrier properties of cassava starch films through a solubility approach. *Carbohydrate Polymers*, Barking, v. 72, p. 82-87, 2008.

MONTERREY-QUINTERO, E. S. **Caracterização físico-química de proteínas miofibrilares e elaboração de biofilmes**. Dissertação de Mestrado. Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos da USP, Pirassununga. 1998.

OLIVEIRA, L. M. et al. **Ensaio para avaliação de embalagens plásticas flexíveis**. Campinas: Centro de Tecnologia de Embalagem, CETEA, 1996. 219 p.

ROGERS, C E Permeation of gases and vapors in polymer. In: **Polymer Permeability**.

ROONEY, M.L. Active packaging in polymer films. In: **Active Food Packaging** (Rooney, M.L. ed) London, Blakie Academic and Professional, p. 74-110 1995.

SARANTÓPOULOS, C. I. G. L.; MORAES, B. B. **Embalagens Ativas e Inteligentes para frutas e Hortaliças**. CETEA, Instituto de Tecnologia em Alimentos, ITAL, Boletim de Tecnologia e Desenvolvimento de Embalagem, vol 21, n° 1, Jan/Fev/Mar 2009.

SARANTOPOULOS, C. I.G.L.; FERNANDES, T. Embalagens ativas: uma nova geração de embalagens para frutas e hortaliças. **Informativo CETEA**, v. 13, n. 3, jul/ago/set 2001. Disponível em: <http://www.cetea.ital.sp.gov.br/infCETEA.htm>. Acesso em: 28 jun 2011.

SCANNELL, A. G. M; HILL, C.; ROSS, R. P.; MARX, S.; HARTMEIER, W.; ARENDT, E. K. Development of bioactive food packaging materials using immobilized bacteriocins Lacticin 3147 and Nisaplin. **Int. J. Food Microbiol.**, v. 60, n. 2-3, p. 241-249, 2000.

SKOOG, D. A.; HOLLER, F. J.; NIEMAN, T. A. **Princípios de Análise Instrumental**. 5º ed. São Paulo: Bookman, 2002.

SPADA, Jordana. **Uso do amido de pinhão como agente encapsulante**, Porto Alegre, 2011. Dissertação (Mestrado em Engenharia). Departamento de Engenharia Química, da Universidade Federal do Rio Grande do Sul.

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

TEIXEIRA, E. M. **Utilização de amido de mandioca na preparação de novos materiais termoplásticos**. Tese de doutorado. Instituto de Química de São Carlos. Universidade de São Paulo. São Carlos: 2007.

THIRÉ, R.M.S.; SIMÃO, R.A; ARAÚJO, P.J.G.; ANCHETE, C.A. Redução da hidrofobicidade de filmes biodegradáveis a base de amido por meio de polimerização por plasma. **Polímeros: Ciência e Tecnologia**, São Carlos, v. 14, p. 57-62, 2004.

ZHANG, Z.; BRITT, I.J.; TUNG, A.M. Permeation of oxygen and water vapor through EVOH films as Influenced by relative humidity. **Journal of Applied Polymer Science**, New York, v. 82, p.1866–1872, 2001.

WOLF, K. L. **Propriedades Físico-químicas e mecânicas de biofilmes elaborados a partir de fibra e pó de colágeno**. São José do Rio Preto: Universidade Estadual Paulista. Dissertação de Mestrado, 2007.

WURLITZER, N. J. **Desenvolvimento e avaliação de propriedades físicas e antimicrobianas de filmes de poli (cloreto de vinilideno) incorporados com Triclosan**, 2007. 104f. Dissertação (Doctor Scientiae) – Universidade Federal de Viçosa, Minas Gerais.