
UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
ESCOLA DE ENGENHARIA
DEPARTAMENTO DE ENGENHARIA QUÍMICA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA QUÍMICA

UNIVERSIDAD DEL PAIS VASCO/EUSKAL HERRIKO UNIBERTSITATEA
ESCUELA DE INGENIERIA DE GIPUZKOA (DONOSTIA-SAN SEBASTIAN)
DEPARTAMENTO DE INGENIERIA QUIMICA Y DEL MEDIO AMBIENTE
PROGRAMA DE DOCTORADO EN INGENIERIA DE MATERIALES
RENOVABLES

**Desenvolvimento de embalagens biodegradáveis a partir de amido contendo
subprodutos provenientes do processamento de alimentos**

Cláudia Leites Luchese

Tese de Doutorado apresentada como requisito
parcial para obtenção do título de Doutora em
Engenharia Química.

Orientadoras:

Prof.^a Dr.^a Isabel Cristina Tessaro

Prof.^a Dr.^a Koro de la Caba

Porto Alegre

2018

AGRADECIMENTOS

Às minhas orientadoras Isabel Cristina Tessaro e Jordana Corralo Spada pela confiança, incentivo, colaboração e amizade. Muito obrigada pelos conselhos, ideias e principalmente por serem meus guias durante essa jornada.

À minha orientadora, Professora Dr.^a Koro de la Caba, ao seu grupo de pesquisa BIOMAT e ao pesquisador Dr. Pedro Guerrero, muito obrigada pela oportunidade e pelo aprendizado proporcionado durante minha estadia em Donostia.

Aos colegas do Laboratório de Processos de Separação por Membranas, Laboratório de Tecnologia e Desenvolvimento de Embalagens e ao grupo de Fenômenos de Transporte e Operações Unitárias pelo convívio e amizade. Cada um de vocês teve a sua parcela de contribuição para a realização deste trabalho.

À Professora Sandra Einloft da Pontifícia Universidade Católica (PUC/RS) por disponibilizar o equipamento de cromatografia de permeação em gel.

Gostaria também de aproveitar essa oportunidade para agradecer a todos os professores que de alguma forma contribuíram para a minha formação acadêmica e pessoal.

À banca examinadora, muito obrigada pela disponibilidade e pelas contribuições.

Ao Departamento de Engenharia da Química pela estrutura física dos laboratórios.

Ao Programa de Pós-Graduação em Engenharia Química, ao CNPq, a FAPERGS e a Capes pelo suporte financeiro.

À Universidade do País Vasco / Euskal Herriko Unibertsitatea (UPV/EHU) pela estrutura física dos laboratórios durante o período de estância.

À minha família e amigos, muito obrigada pelo apoio e incentivo.

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

Muito obrigada!

Resumo

O crescimento populacional acelerado promove um aumento considerável na geração de resíduos sólidos urbanos. Pesquisas revelam que aproximadamente 40% desses resíduos são constituídos por materiais plásticos não biodegradáveis derivados de fonte fóssil, gerando elevado impacto quando dispostos no meio ambiente. Dentro desse contexto, na última década, estudos utilizando polímeros biodegradáveis para o desenvolvimento de embalagens vêm se destacando cada vez mais, buscando materiais com elevada biodegradabilidade após o descarte. Dentre eles, destaca-se o uso do amido, visto que além de ser uma matéria-prima abundante, não tóxica, biodegradável, comestível, de baixo custo de comercialização, está disponível em todo o mundo e possui elevada capacidade de formação de gel. Aliado à questão do impacto ambiental, verifica-se a importância da reutilização de subprodutos da indústria de alimentos, visto que durante o processamento de frutas, quantidades consideráveis (30-50%) de cascas e bagaços, contendo elevados teores de compostos bioativos, são geradas e, na maioria das vezes, descartadas. Desta forma, objetivou-se avaliar diversas fontes de amido (milho, trigo, batata e mandioca) para a produção de filmes biodegradáveis, assim como a incorporação do resíduo do processamento do suco de mirtilo, rico em antocianinas, para produção de embalagens ativas e inteligentes. Inicialmente foram produzidos filmes à base dos diferentes amidos em diferentes gramaturas por *casting*; os filmes foram caracterizados quanto à espessura, solubilidade, propriedades mecânicas, permeabilidade ao vapor de água (PVA), estrutura química e caráter hidrofílico. Os resultados demonstraram que os filmes de amido de trigo apresentaram os maiores valores de PVA e os menores valores correspondentes às propriedades mecânicas. Os filmes de amido de mandioca apresentaram os menores valores de PVA e os maiores valores percentuais de alongação, enquanto os filmes de amido de milho apresentaram os maiores valores de tensão máxima de ruptura e módulo de elasticidade. A formação de filmes contínuos à base de amido de batata não foi possível, provavelmente devido ao baixo teor de amilose. Cabe ressaltar que diante dos resultados obtidos para a formação de filmes utilizando diferentes fontes de amido, prosseguiu-se com os amidos de milho e de mandioca para incorporação de resíduos do processamento do suco de mirtilo. Os filmes produzidos nesta etapa, além de serem caracterizados conforme descrito anteriormente, foram também submetidos a testes colorimétricos para avaliação da mudança de cor em soluções tampão com diferentes valores de pH, soluções aquosas e produtos alimentícios. A incorporação dos resíduos agroindustriais promoveu alterações nas propriedades mecânicas, houve aumento na tensão de ruptura e no módulo de Young e redução do percentual de alongação dos filmes. Verificou-se que os filmes contendo resíduo de mirtilo apresentaram mudanças de coloração após a imersão em soluções tampão contendo diferentes valores de pH. Esses resultados demonstraram o potencial uso dos resíduos agroindustriais ricos em antocianinas como indicadores de pH em alimentos e, conseqüentemente, como embalagens inteligentes e/ou indicadores de deterioração. Filmes de amido de mandioca com incorporação de diferentes teores de resíduo de mirtilo permaneceram íntegros após 24 h de imersão em água. Após 10 dias de imersão em solução de ácido acético, usada como simulante, verificou-se que houve maior migração de compostos fenólicos em comparação com as amostras que foram imersas em solução de etanol, também usada como simulante, ressaltando o seu potencial para o desenvolvimento de embalagens ativas. Além disso, durante a avaliação do processo de compressão para produção de filmes de amido verificou-se que mesmo com a incorporação do resíduo de mirtilo (4, 8 e 12%) os filmes apresentaram características hidrofóbicas, diferentemente dos filmes compósitos produzidos por *casting*.

Palavras-chave: amido; resíduo de mirtilo; filme biodegradável; *casting*; termocompressão; embalagens ativas e inteligentes.

Abstract

Currently, approximately 40% of food packaging is manufactured using plastic materials (Plastics Europe, 2016). In this regard, concerns related to improper disposal, non-biodegradability and the difficulty of recycling these materials have attracted more attention for the use of biopolymers to avoid serious environmental problems, particularly because they are used as single-use products. In addition, consumers' awareness of their health, the food nutritional value and food safety have increased (for example, some issues such as the migration of potentially toxic compounds from packaging to food).

To overcome these problems, biopolymers are considered an attractive alternative because they are abundant, cheap, environmentally friendly and biodegradable. Among biopolymers, starch is considered one of the most promising materials because of its low price, high abundance, long variety of botanical sources and good film-forming properties (Jiménez et al., 2012; Podshivalov et al., 2017). In particular, cassava starch, one of the main industrial starches, can be considered of great potential due to its odorless, tasteless, colorless, non-toxic and biodegradable characteristics (Souza et al., 2012). Starch, well known for its excellent film forming and oxygen barrier properties, is a promising alternative for non-biodegradable synthetic polymers in food packaging (Mali et al., 2010). However, only after thermal processing and the addition of plasticizers, the gelatinization occurs and the starch presents a thermoplastic behavior; thus, films can be obtained using casting or compression (Gutiérrez et al., 2015; Vu & Lumdubwong, 2016; Wang et al., 2017).

Depending on the characteristics of the raw material used, films with different properties are formed. Therefore, in the first stage of the work, different sources of starch (cassava, corn, potato and wheat) were tested using glycerol (as plasticizer) to produce films by casting with starch content varying from 2 to 6%. The starch gelatinization was promoted in a water bath (90 °C) during 40 min under mechanical stirring. Then, the solutions were poured into Petri dishes (casting) and the drying was carried out with forced air convection (temperature of 35 °C for 24 h). Before the characterization, the samples were conditioned for one week at 25 °C and 55% relative humidity. In order to evaluate the correlation between the formulations and their physicochemical and mechanical properties, a principal component analysis methodology (PCA) was used. It was not possible to produce continuous films based on potato starch, probably due to its low amylose content (10%). The films with corn, cassava and wheat starch were characterized with respect to thickness (0.06-0.22 mm), moisture

content (19-26%), water solubility (13.7-26.5%), water vapor permeability (0.19-0.48 g mm h⁻¹m⁻²kPa⁻¹), water contact angle (35-106°), mechanical properties (tensile strength: 1.9-6.7 MPa, elongation at break: 41-166%, Young's modulus: 8-127 MPa), thermal properties and biodegradability in the soil (organic compound). This stage was carried out in the Chemical Engineering Department at the Federal University of Rio Grande do Sul (UFRGS) in Porto Alegre, RS, Brazil.

Multivariate analysis (PCA) was a useful methodology to evaluate the physicochemical and mechanical behavior of films based on starch from different sources containing different starch contents. The principal compounds analysis allowed verifying that the films based on wheat starch had higher water vapor permeability values and lower mechanical properties values. The films based on cassava starch had higher elongation values and lower water vapor permeability values, suggesting their use as packaging for products with high water activity, such as fruits and vegetables. Finally, the films based on corn starch presented higher values of tensile stress and Young's modulus.

In addition, with respect to the cassava starch films, it was possible to observe that the water contact angle obtained indicates more hydrophobic surfaces (values higher than 90°) than the films manufacture using corn and wheat starch (values lower than 90°). From these results, it is possible to verify that the source and starch content influence the film properties and the results presented in this study are very important to determine the best application for starch-based films. Also, the corn and cassava starch films containing 3 and 4 g had a higher elasticity (percentage elongation) and mechanical properties comparable to currently commercial low density polyethylene (LDPE) films (Luchese, Spada, & Tessaro, 2017). In addition, it was verified that the starch films showed visual aspect and color modification and apparent disintegration of some fragments of the film during the biodegradability analysis. These results suggest that starch films are biodegradable and, therefore, the waste treatment used in the final disposal could be the composting process, reducing the environmental impact caused by conventional packaging systems.

A part of these results using corn and cassava starch films produced by casting promoted the publication of the paper "*Starch content affects physicochemical properties of corn and cassava starch-based films*" in the journal **Industrial Crops and Products** (Q1, JCR). <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2017.09.020>. The other part of these results promoted a development of the paper "*Impact of the starch source on physicochemical properties and biodegradability of different starch based films*" that was submitted to **Journal of Applied Polymer Science** (current status: revisions being processed).

In addition, biodegradable packaging materials can be carriers of antioxidants allowing the development of active packaging (Realini et al., 2014). These active compounds could be released in the food or in the surrounding medium of the food packaging to prolong the food shelf-life and improve its properties (Moreno et al., 2015). In this context, Brazil is the third largest fruit producer in the world with an annual productivity of more than 43 million tons, of which around 47% are consumed fresh and 53% are processed (IBRAF, 2014), promoting a significant increase in the agroindustrial waste generation. In particular, blueberry residues from juice processing, skins and seeds that are usually discarded are very rich in vitamins, minerals, fibers and phenolic compounds, such as anthocyanins, an antioxidant substance that can help prevent degenerative diseases (Konczak & Zhang, 2004; Zafra-Stone et al., 2007; Bunea et al., 2013; Zhao et al., 2015). Because of this, the reuse and the incorporation of blueberry residues in starch formulations to obtain films can be an interesting alternative to produce biodegradable active packaging, adding value to these residues and looking for the development of ecological products, contributing to reduce the waste generation.

For this reason, the second step of this work has as general objective the valorization of by-products or agroindustrial waste to obtain renewable raw materials and their modification to produce films with good functional properties. In particular, the objective of this work was to develop and characterize cassava starch films with blueberry residues by casting for use as active food packaging.

Therefore, the idea was to incorporate different contents of the blueberry residue into the cassava starch formulations in order to evaluate the effect of the addition of blueberry residue on the packaging properties. In the film formulations were used: cassava starch (4%), sorbitol (30% relative to the starch mass), blueberry residue (4, 8 and 12%) and distilled water (100 mL). The starch gelatinization was promoted at 90 °C for 40 min with stirring. The solutions were then poured into Petri plates (casting) and dried under ambient conditions of temperature and relative humidity. Prior to characterization, the samples were conditioned at 25 °C and 55% relative humidity for at least one week.

Thermal (DSC and TGA analyses), optical (color and gloss), and mechanical properties (ASTM D1708-1993), as well as the physical-chemical behavior, such as swelling in water (ASTM D570-1998), water contact angle, X-ray diffraction (XRD), water vapor permeability (ASTM E96-2000) and phenolic compounds migration (UE 2016/1416) were investigated in the samples manufactured. In addition, structural characterization by Fourier

Transform Infrared (FTIR) spectroscopy and measurements of visible light absorption of the films by UV/vis spectrophotometer were carried out. This work step was completed in the Chemical and Environmental Engineering Department at the School of Engineering of Gipuzkoa in San Sebastian, Spain, with the equipment specified in the memory of the Doctorate Program of Renewable Materials Engineering, as well as the equipment managed by the BIOMAT group and by SGIker.

The blueberry residue (from juice processing) incorporation into filmogenic solutions promoted an improvement in the film properties. The results highlight the potential of the cassava starch and blueberry residue for the manufacture of new renewable and biodegradable products to promote sustainable food packaging. The results indicated that a higher temperature was required for the degradation of the composite films containing starch and blueberry residue in comparison with the starch films. The film thickness (from 91.3 to 124.3 μm) was significantly affected ($p < 0.05$) by the blueberry residue incorporation.

The blueberry residue addition in starch based film formulations promoted a red tonality (higher values of a^*) in composite films. It is worth noting that all samples maintained their structural integrity after water immersion (24 h) and the maximum swelling showed values smaller than 300%. It was demonstrated that films with the blueberry residue are UV resistant due to the presence of aromatic compounds in the blueberry and therefore, the packaging manufactured could prevent the food deterioration caused by UV radiation, delaying the shelf life of packaged products. Furthermore, the migration assays showed more release of active compounds (after 10 days) in the acetic acid solution than in the ethanol solution, demonstrating the feasibility of these films as packaging for aqueous food products.

The results of this step for cassava starch and blueberry residues manufactured by casting and their physicochemical characterization promoted the paper publication "*Development and characterization of cassava starch films incorporated with blueberry pomace*" in the **International Journal of Biological Macromolecules** (Q1, JCR). <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2017.08.083>

Subsequently, another film preparation technique was evaluated. The use of thermo-processing in the films production was evaluated to assess the effect of the pressure and temperature in the formation process of the starch based films and its effect on starch films with the incorporation of different contents of the blueberry residue in powder.

Cassava starch, sorbitol (30% related to the starch content), blueberry residue (4, 8 and 12% related to the starch content) in powder and water (25% related to the starch content) were mixed manually, according to Guerrero et al. (2010) and the mixture was allowed to

stand for starch hydration (~ 24 h). This mixture (~ 1.8 g) was placed between two aluminum plates and it was introduced in an industrial press (Santec House, Spain), previously heated at 150 °C. The aluminum molds were left in the press for 1 min for preheating and then pressure was applied, 3 MPa for 5 min to obtain the films. All the films were conditioned in an ACS Sunrise 700V biocamera (Alava Ingenieros, Spain) at 25 °C and 55% relative humidity for 1 week before the characterization tests. The characterization of the physicochemical properties (film thickness, moisture content, total soluble matter content, transparency, water contact angle), optical (color and gloss), thermal (DSC, TGA and DMTA) and morphological (XRD, SEM) properties were evaluated. This step of the work was carried out in the Chemical and Environmental Engineering Department at the School of Engineering of Gipuzkoa in San Sebastian, Spain, with the equipment specified in the report of the Doctoral Program in Engineering of Renewable Materials, as well as the equipment managed by the BIOMAT group and by SGIker.

The films manufactured by thermo-processing showed a homogeneous visual appearance and the incorporation of the blueberry residue significantly ($p < 0.05$) affected the thickness (160 μm for the formulations without blueberry residue up to 180 μm for the formulations with blueberry residue). The starch films with blueberry residue showed water contact angle values above 90°, indicating the formation of hydrophobic films. The films with blueberry residues also exhibited good UV light barrier properties due to the aromatic compounds present in blueberry. The increase in protection against UV has great importance when films are used as food packaging to protect food from the oxidation caused by light. In addition, the films showed a homogeneous surface microstructure, which indicates a good compatibility between all the components of the film-forming formulations. In the microstructure of the cross section, some pores appeared in the films with the highest content of blueberry residue (12%). These films showed high thermal stability and maintained their integrity after immersion in different media. In addition, the film solubility was reduced by the blueberry residue incorporation, independently of the solution pH (pH values of 2.5, 7.0 and 10.0 were evaluated), thus providing good functional properties for applications as food packaging.

The results of the study based on the production of cassava starch and blueberry residue in powder by thermo-compression and their physicochemical characterization promoted the development of the paper “*Hydrophobic cassava starch films prepared with*

blueberry waste by compression molding” that was submitted to the **International Journal of Biological Macromolecules** (Q1, JCR).

The next stage of the work was to evaluate the films as intelligent packaging, because the anthocyanins, which are naturally present in the blueberry residue, are capable of changing color when they are subjected to different pH values. By definition, an intelligent packaging is a type of packaging that evaluates the quality and/or safety of the food packaged and transmits this information to the consumer, in contrast to the conventional packaging that has the purpose of protecting and containing the product, avoiding their contact with the external environment. The intelligent packaging, generally, uses some type of sensor capable of providing visual information to the consumer, such as change, appearance or even disappearance of color.

For this, cassava starch (4 g per 100 mL), glycerol (30% in relation to the starch mass), blueberry residue without and with previous bleaching of the fruit (0.5 g per 100 mL) and distilled water were used in the film formulations. The starch gelatinization at 90 °C was promoted during 35 min under stirring. Next, the solutions were spread by casting (0.34 g cm⁻²) and the drying was carried out using forced air convection (35 °C for 24 h). Before characterization, the samples were conditioned at 25 °C and 55% relative humidity for one week. This step was carried out in the Chemical Engineering Department at the Federal University of Rio Grande do Sul (UFRGS) in Porto Alegre, RS, Brazil.

In this part of the work, the physicochemical characterization of the blueberry residue was carried out. The content of anthocyanins in the residue was evaluated in the spectrophotometer (differential pH method) and by high performance liquid chromatography (ratio between peak area and mass of the sample) enabling to establish a correlation between these two techniques. Regardless of the technique used, the anthocyanin content values obtained for the blueberry residue with previous bleaching of fruit were approximately two-fold greater than those obtained for the blueberry powder sample that was not subjected to bleaching as fruit pretreatment.

The film samples were also characterized by performing the color modification analysis (ColorQuest XE, Hunter Laboratory) after immersion in buffer solutions with different pH values. The color analysis was performed using the CIELab scale with illuminator D₆₅ and an observation angle of 10°. The potential of an intelligent packaging system was demonstrated by observing colorimetric changes after the immersion of corn starch film with blueberry residue (without and with previous fruit bleaching) in buffer solutions with different pH values. The samples showed overall values of color difference

(ΔE^*) greater than 3 (except for the bleached sample after immersion at pH 4), which indicates that the color differences are visually perceptible to the human eye (Melgosa et al., 2001; Lee & Coates, 2003). However, more research is needed to properly correlate the color change with the shelf life of the products, for example, by evaluating the color change using simulants (sugar, salt, oils and proteins) and food products in order to correlate the values with the values found after immersion in buffer solution. Therefore, it is necessary to conduct more research to develop sensors and/or specific indicators for the application in food products for use as intelligent packaging.

The production of these films with cassava starch and blueberry residue by casting and their characterization for use as intelligent packaging promoted the publication of the paper "*Effect of blueberry agro-industrial waste addition to corn starch-based films for the production of a pH-indicator film*" in the **International Journal of Biological Macromolecules** (Q1, JCR). <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2017.05.149>

Resumen expandido de la Tesis

En los días actuales, aproximadamente el 40% de los envases de alimentos se fabrican con materiales plásticos (Plastics Europe, 2016). A este respecto, las preocupaciones relacionadas con la eliminación inadecuada, la no biodegradabilidad y la dificultad de reciclado de estos materiales han atraído cada vez más atención para el uso de biopolímeros para evitar serios problemas ambientales, particularmente porque se utilizan como productos de uso único. Además, ha aumentado la conciencia de los consumidores sobre su salud, el valor nutricional de los alimentos y la seguridad alimentaria (por ejemplo, algunas cuestiones tales como la migración de compuestos potencialmente tóxicos del envase a los alimentos).

Para superar estos problemas, los biopolímeros se consideran una alternativa atractiva ya que son abundantes, baratos, respetuosos con el medio ambiente y biodegradables. Entre los biopolímeros, el almidón es considerado como uno de los materiales más prometedores debido a su bajo precio, elevada abundancia, larga variedad de fuentes botánicas y buenas propiedades de formación de películas (Jiménez et al., 2012; Podshivalov et al., 2017). En particular, el almidón de tapioca, uno de los principales almidones industriales, puede considerarse de gran potencial debido a sus características inodoras, insípidas, incoloras, no tóxicas y biodegradables (De Souza et al., 2012). El almidón, muy conocido por sus excelentes propiedades formadoras de película y de barrera al oxígeno, es una alternativa prometedora para los polímeros sintéticos no biodegradables en el envasado de alimentos (Mali et al., 2010). Sin embargo, sólo después de la adición de los plastificantes y del procesamiento térmico, los gránulos de almidón gelatinizan y presentan un comportamiento termoplástico, a partir del cual se pueden obtener películas usando *casting* o termo-compresión (Gutiérrez et al., 2015; Vu & Lumdubwong, 2016; Wang et al., 2017).

Dependiendo de las características de la materia prima utilizada, se forman películas con diferentes propiedades. Por eso, en la primera etapa del trabajo, se probaron diferentes fuentes de almidón (tapioca, maíz, papas y trigo) con glicerol (como plastificante) para producir películas por *casting* con contenido de almidón que varía de 2 a 6%. Se promovió la gelatinización del almidón en baño de agua (temperatura de 90 °C) durante 40 min con agitación. A continuación, las soluciones fueron vertidas en placas Petri (*casting*) y se realizó el secado en equipo de convección forzada de aire (temperatura de 35 °C por 24 h). Anteriormente de la caracterización, las muestras se acondicionaron durante una semana a la temperatura de 25 °C y 55% de humedad relativa. La metodología de análisis de componentes

principales (ACP) se utilizó para evaluar la correlación entre las formulaciones y sus propiedades fisicoquímicas y mecánicas. No fue posible producir películas continuas basadas en almidón de papas, probablemente debido a su bajo contenido de amilosa (10%). Las películas con almidón de maíz, tapioca y trigo se caracterizaron con respecto al espesor (0,06-0,22 mm), contenido de humedad (19-26%), solubilidad en agua (13,7-26,5%), permeabilidad al vapor de agua ($0,19-0,48 \text{ g mm h}^{-1} \text{ m}^{-2} \text{ kPa}^{-1}$), ángulo de contacto ($35-106^\circ$), propiedades mecánicas (resistencia a la tracción: 1,9-6,7 MPa; elongación a rotura: 41-166%; módulo de Young: 8-127 MPa), propiedades térmicas y biodegradabilidad después de enterradas en el suelo (compuesto orgánico vegetal). Esta etapa del trabajo se realizó en las instalaciones del Departamento de Ingeniería Química en la Universidad Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS) en Porto Alegre, RS, Brasil.

El análisis multivariado (ACP) fue una metodología útil para evaluar el comportamiento fisicoquímico y mecánico de las películas basadas en almidón procedente de diferentes fuentes y con distintos contenidos de almidón. El análisis de los compuestos principales permitió verificar que las películas basadas en almidón de trigo presentaban valores de permeabilidad al vapor de agua más altos y valores de propiedades mecánicas más bajos. Las películas basadas en almidón de tapioca presentaron valores de elongación más altos y valores de permeabilidad al vapor de agua más bajos, sugiriendo su uso como envases para productos con elevada actividad de agua, como frutas y verduras. Finalmente, las películas basadas en almidón de maíz presentaron valores de tensión y módulo de Young más altos.

Además, con respecto a los sistemas de almidón de tapioca, fue posible observar que el ángulo de contacto obtenido indica superficies más hidrófobas (valores más altos que 90°) que las películas de almidón de maíz y trigo (valores más bajos que 90°). De los resultados, es posible verificar que la fuente y el contenido de almidón influyen en las propiedades de la película y los resultados presentados en este estudio son muy importantes para determinar las mejores aplicaciones para las películas basadas en almidón. También, las películas de almidón de maíz y tapioca que contienen 3 y 4 g de almidón presentaron una mayor elasticidad (elongación porcentual) y propiedades mecánicas comparables a las películas de polietileno de baja densidad (PEBD) actualmente comerciales (Luchese et al., 2017a). Además, se verificó que las películas de almidón presentaron modificaciones visuales aparentes de coloración y desintegración de algunos fragmentos de la película durante el análisis. Estos resultados sugieren que las películas de almidón son biodegradables y, por lo tanto, el

tratamiento de residuos utilizado en la eliminación final puede ser el proceso de compostaje, reduciendo el impacto ambiental causado por los sistemas de envasado convencionales.

Una parte de los resultados de este estudio con películas de almidón de tapioca y maíz producidos por *casting* promovió la publicación del paper “*Starch content affects physicochemical properties of corn and cassava starch-based films*” en la revista **Industrial Crops and Products** (Q1, JCR). <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2017.09.020> (Luchese et al., 2017a). Otra parte de los resultados de este estudio con las películas de almidón de papas, maíz, trigo y tapioca promovió la sumisión del paper “*Impact of the starch source on physicochemical properties and biodegradability of different starch based films*” en el **Journal of Applied Polymer Science** (*current status: revisions being processed*).

Además, los materiales de envasado biodegradables pueden ser portadores de agentes antioxidantes permitiendo obtener envases activos (Realini & Marcos, 2014). Estos compuestos activos podrían liberarse en el alimento o en el medio circundante del envase para prolongar la vida útil del producto alimenticio y mejorar sus propiedades (Moreno et al., 2015). En este contexto, Brasil es el tercer productor de frutas del mundo con una productividad anual de más de 43 millones de toneladas, de las cuales alrededor del 47% se consumen frescas y el 53% se procesan (IBRAF, 2014), aumentando significativamente la generación de residuos agroindustriales. En particular, los residuos de arándanos del procesamiento de zumos, las pieles y las semillas que suelen ser desechadas, son muy ricas en vitaminas, minerales, fibras y compuestos fenólicos, como las antocianinas, sustancia antioxidante que puede ayudar a prevenir enfermedades degenerativas (Bunea et al., 2013; Konczak and Zhang, 2004; Zafra-Stone et al., 2007; Zhao et al., 2015). En razón de eso, la incorporación de residuos de arándanos en formulaciones de almidón para la obtención de películas puede ser una alternativa interesante para producir envases activos biodegradables, agregando valor a estos residuos mediante el desarrollo de productos ecológicos y contribuyendo para disminuir la generación de residuos.

Por eso, la segunda etapa del trabajo tiene como objetivo general la valorización de subproductos o residuos industriales para obtener materias primas renovables y su modificación para fabricar películas con buenas propiedades funcionales. En particular, el objetivo de este trabajo fue desarrollar y caracterizar películas de almidón de mandioca con residuos de arándanos para su uso como envasado activo para alimentos.

Por eso, la idea fue incorporar diferentes contenidos del residuo en las formulaciones de almidón de tapioca para evaluar el efecto de la adición de residuos de arándanos en el rendimiento del envasado. Para eso, en la formulación de las películas fueron utilizados:

almidón de tapioca (4%), sorbitol (30% en relación con la masa de almidón), residuo de arándano (variando el 4, 8 y 12%) y agua destilada (100 mL). Se promovió la gelatinización del almidón en baño de aceite (temperatura de 90 °C) durante 40 min con agitación. A continuación, las soluciones fueron puestas en placas Petri (*casting*) y se secaron en condiciones ambientales de temperatura y humedad relativa. Antes de la caracterización, las muestras se acondicionaron a la temperatura de 25 °C y 55% de humedad relativa durante una semana.

Las propiedades térmicas (análisis de DSC y TGA) y ópticas (color y brillo), así como el comportamiento físico-químico del hinchamiento en agua (ASTM D570-1998), mediciones del ángulo de contacto, análisis de difracción de rayos X (DRX), evaluación de la permeabilidad al vapor de agua (ASTM E96-2000) y la migración de compuestos fenólicos (UE 2016/1416) fueron investigados en los envases producidos. Además fueron hechas caracterizaciones mecánicas (ASTM D1708-1993), estructurales por espectroscopia de infrarrojo por transformada de Fourier (FTIR) y mediciones de absorción de la luz visible de las películas por espectrofotómetro UV/vis. Esta etapa del trabajo se realizó en las instalaciones del Departamento de Ingeniería Química y del Medio Ambiente en la Escuela de Ingeniería de Gipuzkoa en San Sebastián, España, con el equipamiento especificado en la memoria del Programa de Doctorado de Ingeniería de Materiales Renovables, así como el equipamiento gestionado por el grupo BIOMAT y por SGIker.

La incorporación del residuo de arándano (procedente del procesamiento del zumo) en las soluciones de formación de película promovió una mejora en las propiedades de la película. Los resultados destacan el potencial del almidón de tapioca y del residuo de arándanos para la fabricación de nuevos productos renovables y biodegradables para promover una producción sostenible de envases para alimentos. Los resultados indicaron que se requería una temperatura más alta para la degradación de las películas basadas en almidón/residuo de arándanos que en las películas de almidón. La incorporación del residuo de arándanos afectó significativamente ($p < 0,05$) el espesor de la película (desde 91,3 μm hasta 124,3 μm).

Además de eso, la adición del residuo de arándanos promovió una tonalidad de color rojo (valores a^* más altos) en las películas compuestas. Vale la pena señalar que todas las muestras mantuvieron su integridad estructural después de la inmersión en agua (24 h) y el máximo del hinchamiento mostró valores inferiores al 300%. Se descubrió que las películas con el residuo de arándanos son resistentes a los rayos UV debido a la presencia de

compuestos aromáticos en el residuo de arándanos y, por lo tanto, los envases producidos pueden prevenir el deterioro de los alimentos causado por la radiación UV, prolongando la vida útil de los productos envasados. Además, los ensayos de migración mostraron más liberación de compuestos activos (después de 10 días) en la solución de ácido acético que en la solución de etanol, lo que demuestra la viabilidad de estas películas como envases para alimentos acuosos.

Los resultados del estudio de producción de estas películas con almidón de tapioca y residuo de arándanos por *casting* y su caracterización promovió la publicación del paper “*Development and characterization of cassava starch films incorporated with blueberry pomace*” en la revista **International Journal of Biological Macromolecules** (Q1, JCR). <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2017.08.083> (Luchese et al., 2017).

A la continuación de este trabajo fue evaluada otra técnica de preparo de los envasados. La utilización del termo-procesamiento en la producción de las películas fue evaluada para valorar el efecto de la aplicación de presión y temperatura en el proceso de formación de las películas de almidón y su efecto en películas de almidón con la incorporación de diferentes contenidos del residuo de arándanos en polvo.

El almidón de tapioca, sorbitol (30% en masa basado en el contenido del almidón), residuo de arándanos en polvo (contenido de 0, 4, 8 y 12% en masa basado en el contenido del almidón) y agua (25% en masa basado en el contenido del almidón) se mezclaron manualmente, según Guerrero et al. (2010); la mixtura se dejó reposar para la hidratación del almidón (~24 h). La mezcla (~1,8 g) se colocó entre dos placas de aluminio, se introdujo en la prensa industrial (Santec House, España), previamente calentada a la temperatura de 150°C. Los moldes fueron dejados en la prensa 1 min para el precalentamiento y después se aplicó la presión, 3 MPa durante 5 min para obtener las películas. Todas las películas fueron acondicionadas en una biocámara ACS Sunrise 700V (Alava Ingenieros, España) a 25 °C y 55% de humedad relativa durante 1 semana antes de las pruebas de caracterización.

La caracterización de las propiedades físico-químicas (contenido de humedad, contenido de materia soluble total, transparencia y mediciones del espesor de las películas), análisis de difracción de rayos X, mediciones del ángulo de contacto, así como las propiedades térmicas (análisis de DSC, TGA y DMTA), ópticas (color y gloss) y análisis morfológico (Microscopía Electrónica de Barrido) fueron evaluadas en los envases producidos. Esta etapa del trabajo se realizó en las instalaciones del Departamento de Ingeniería Química y del Medio Ambiente en la Escuela de Ingeniería de Gipuzkoa en San Sebastián, España, con el equipamiento especificado en la memoria del Programa de

Doctorado de Ingeniería de Materiales Renovables, así como el equipamiento gestionado por el grupo BIOMAT y por SGIker.

Las películas producidas por termo-procesamiento mostraron un aspecto visual homogéneo y la incorporación del residuo de arándanos afectó significativamente ($p < 0,05$) el espesor (160 μm para las formulaciones sin residuo hasta 180 μm para las formulaciones con residuo de arándanos). Las películas de almidón y residuo de arándanos presentaron valores de ángulo de contacto con el agua superiores a 90° , sugiriendo la formación de películas hidrófobas. Las películas con incorporación de los residuos de arándanos también exhibieron buenas propiedades de barrera contra la luz UV debido a los compuestos aromáticos presentes en los residuos de arándano. El incremento en la protección contra los rayos UV es de gran importancia cuando las películas se utilizan como envases de alimentos para proteger de la oxidación causada por la luz. Además, las películas mostraron una microestructura de la superficie homogénea, que indica una buena compatibilidad entre todos los componentes de las formulaciones formadoras de película. En el análisis de la microestructura de la sección transversal aparecieron algunos poros en las películas con contenido de residuos de arándanos más elevado. Estas películas mostraron una alta estabilidad térmica y mantuvieron su integridad después de la inmersión en diferentes medios. Además, la solubilidad de la película se redujo mediante la incorporación de residuos de arándanos, independientemente del pH (fueron evaluados valores de pH de 2,5; 7,0 y 10,0) de la solución, proporcionando así buenas propiedades funcionales para aplicaciones de envasado de alimentos.

Los resultados del estudio de producción de estas películas con almidón de tapioca y residuo de arándanos por compresión y su caracterización promovió el envío del paper “*Hydrophobic cassava starch films prepared with blueberry waste by compression molding*” a la **International Journal of Biological Macromolecules** (Q1, JCR).

La siguiente etapa del trabajo fue hacer la evaluación de las películas como envases inteligentes, porque las antocianinas, que están naturalmente presentes en el residuo de arándanos, son capaces de cambiar de coloración cuando son sometidas a diferentes valores de pH. Por definición, un envase inteligente es un tipo de envase que evalúa la calidad y/o seguridad del alimento envasado y transmite esta información al consumidor. A diferencia de un envase convencional que tiene el propósito de proteger y contener el producto, apenas evitando su contacto con el ambiente externo. Este tipo de envase, generalmente, utiliza algún

tipo de sensor capaz de proporcionar una información visual al consumidor, como cambio, aparición o hasta desaparición de color.

Para eso, en la formulación de las películas fueron utilizados: almidón de tapioca (4 g por 100 mL), glicerol (30% en relación con la masa de almidón), residuo de arándano sin y con blanqueamiento previo del fruto (0,5 g por 100 mL) y agua destilada. Se promovió la gelatinización del almidón en baño de agua (temperatura de 90 °C) durante 35 min con agitación. A continuación, las soluciones fueron producidas por *casting* (0,34 g cm⁻²) y se realizó el secado en equipo de convección forzada de aire (temperatura de 35 °C por 24 h). Antes de la caracterización, las muestras se acondicionaron a la temperatura de 25 °C y 55% de humedad relativa durante una semana. Esta etapa del trabajo se realizó en las instalaciones del Departamento de Ingeniería Química en la Universidad Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS) en Porto Alegre, RS, Brasil.

En esta parte del trabajo fue realizada la caracterización fisicoquímica del residuo de arándanos. El contenido de antocianinas en el residuo fue evaluado en el espectrofotómetro (método del pH diferencial) y por cromatografía líquida de alta resolución (relación entre el área del pico y la masa de la muestra) haciendo una correlación entre las dos técnicas. Independiente de la técnica utilizada, los valores de contenido de antocianinas obtenidos para el residuo de arándano en polvo con previo blanqueamiento del fruto fueron aproximadamente dos veces mayores que los obtenidos para la muestra de residuo de arándanos en polvo que no fue sometida al blanqueamiento como pretratamiento.

Las muestras de película también fueron caracterizadas haciendo el análisis de la modificación del color (ColorQuest XE, Hunter Laboratory) después de la inmersión en soluciones tampón con diferentes valores de pH. El análisis del color fue realizado utilizando la escala CIELab con iluminador D65 y un ángulo de observación de 10°.

El potencial de un sistema de envasado inteligente se demostró mediante la observación de cambios colorimétricos después de la inmersión de la película de almidón de maíz y residuos de arándano (sin y con previo blanqueamiento del fruto) en soluciones tampón con diferentes valores de pH. Las muestras presentaron valores globales de diferencia de color (ΔE^*) superiores a 3 (excepto para la muestra blanqueada después de la inmersión en pH 4), lo que indica que las diferencias de color son visualmente perceptibles para el ojo humano (Lee & Coates, 2003; Melgosa et al., 2001). Sin embargo, se necesita más investigación para correlacionar adecuadamente el cambio de color con la vida útil de los productos, por ejemplo, evaluando el cambio de color usando simulantes (azúcar, sal, aceites y proteínas) y productos alimenticios para correlacionar los valores con los encontrados

después de inmersión en solución tampón. Por lo tanto, es necesario realizar más investigaciones para desarrollar sensores y/o indicadores específicos de la aplicación de alimentos para su uso en empaques inteligentes.

El estudio de producción de estas películas con almidón de tapioca y residuo de arándanos por *casting* y su caracterización para uso como envase inteligente promovió la publicación del paper “*Effect of blueberry agro-industrial waste addition to corn starch-based films for the production of a pH-indicator film*” en la revista **International Journal of Biological Macromolecules** (Q1, JCR).

<https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2017.05.149> (Luchese et al., 2017b).

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Fluxograma das etapas do presente trabalho – Parte I e Parte II.	6
Figura 2. Continuação do fluxograma das etapas do presente trabalho – Parte III.	7
Figura 3. Classificação dos polímeros biodegradáveis (adaptada de AVÉROUS, 2004).	12
Figura 4. Representação esquemática da estrutura molecular da amilose e da amilopectina, formadas essencialmente por unidades de glicose. (Fonte: COPELAND et al., 2009).	16
Figura 5. Mecanismo do processo de gelatinização do amido: (a) grânulos de amido, (b) desorganização molecular e redução da cristalinidade, (c) aumenta o inchamento e ocorre a difusão da amilose para o grânulo e (d) colapso dos grânulos e formação de uma estrutura tipo gel (Fonte: LAI e KOKINI, 1991).	20
Figura 6. Representação esquemática das etapas de aquecimento e resfriamento de soluções de amido em função da viscosidade. (Fonte: MATSUGUMA, 2006).	21
Figura 7. Estrutura química das moléculas de glicerol e de sorbitol.	23
Figura 8. Esquema representativo do processo de espalhamento (<i>casting</i>) utilizado para produção dos filmes biodegradáveis à base de amido.	26
Figura 9. O processo de moldagem por compressão como descrito por um procedimento simplificado de quatro passos: (A) carregamento da amostra no molde; (B) compactação da carga no molde pré-aquecido; (C) processo de transformação dentro da cavidade do molde; (D) remoção/extração da amostra solidificada. (Fonte: TATARA, 2017).	27
Figura 10. Funções seletivas de filmes e revestimentos. Fonte: Adaptado de Debeaufort et al. (1998).	28
Figura 11. Curva de tensão versus deformação de filme sintético flexível, onde (A) representa o limite de proporcionalidade do material, (B) representa o ponto de escoamento e (C) o ponto de ruptura (Adaptado de Miltz, 1992).	33
Figura 12. Número de publicações científicas na área de embalagens ativas e inteligentes para alimentos por ano obtidos a partir da plataforma de busca de dados “Scopus” (https://www.scopus.com/ no dia 16.11.2017) utilizando como palavras-chave (a) “ <i>active food packaging and biopolymer</i> ” e (b) “ <i>intelligent food packaging and biopolymer</i> ”.	36
Figura 13. Exemplo de um sistema indicador de ausência/presença de oxigênio. Fonte: Adaptado de Vandesrroost et al. (2014).	40

Figura 14. Possíveis mudanças estruturais das antocianinas em meio aquoso em função do pH (TIMBERLAKE & BRIDLE, 1975; BROUILLARD et al., 1982; FRANCIS & MARKAKIS, 1989).	41
Figura 15. Principais antocianidinas encontradas na natureza (Fonte: GAO & MAZZA, 1994).	42
Figura 16. Esquema representativo para cálculo do índice de cristalinidade (X_c); a área hachurada corresponde à região cristalina (A_c), onde se encontram os picos.	54
Figura 17. Fluxograma simplificado do processo de obtenção do resíduo de mirtilo sem e com branqueamento prévio dos frutos.	56
Figura 18. Materiais para teste de tração: (a) condicionamento das amostras em umidade relativa controlada; (b) corpo de prova nas dimensões adequadas (100 x 25 mm); (c) análise em texturômetro.	64
Figura 19. Diagramas representativos do sistema de cores CIELAB. (Fonte: CIE, 1978).	69
Figura 20. Espectros de difração de raios-X dos grânulos de amidos de milho, de trigo, de mandioca e de batata.	75
Figura 21. Fotomicrografias dos amidos de (a) batata, (b) trigo, (c) milho e (d) mandioca com ampliação de 1000 x para amidos de batata e de mandioca e de 1500 x para os amidos de trigo e de milho.	76
Figura 22. Espectros de infravermelho por transformada de Fourier (FTIR) dos amidos de batata, milho, trigo e mandioca.	77
Figura 23. Aspecto visual dos filmes à base de amido de batata processados por <i>casting</i> (identificados pela letra B seguida pelo conteúdo de amido por 100 mL) espalhados nas gramaturas de 0,43 g.cm ⁻² , 0,34 g.cm ⁻² e 0,22 g.cm ⁻² , respectivamente.	79
Figura 24. Aspecto visual dos filmes à base de amido de milho (identificados pela letra M seguida pelo conteúdo de amido por 100 mL) produzidos por <i>casting</i> com teor fixo de glicerol em diferentes gramaturas (a: 0,43 g.cm ⁻² , b: 0,34 g.cm ⁻² e c: 0,22 g.cm ⁻²).	84
Figura 25. Aspecto visual dos filmes à base de amido de milho (identificados pela letra M seguida pelo conteúdo de amido) produzidos por <i>casting</i> contendo 30% de glicerol em relação ao teor de amido, espalhados nas gramaturas a (0,43 g.cm ⁻²), b (0,34 g.cm ⁻²) e c (0,22 g.cm ⁻²).	87
Figura 26. Aspecto visual dos filmes de amido de trigo, milho e mandioca que são identificados pelas letras T, M e C, respectivamente, seguidos pelo conteúdo de amido.	88
Figura 27. Análise de componentes principais (ACP) realizada para os resultados da análise de espessura (T), conteúdo de umidade (MC), solubilidade (SB), permeabilidade ao vapor de	

água (PVA) e propriedades mecânicas (TS, tensão máxima de ruptura; E, alongação; MY, módulo de elasticidade) para os filmes produzidos por <i>casting</i> contendo diferentes teores de amido de trigo (T), milho (M) e mandioca (C). Os dois primeiros componentes principais (fator 1 e fator 2) representam aproximadamente 67% da variação dos dados.....	95
Figura 28. Espectros de FTIR dos grânulos de amido de trigo, de milho e de mandioca e dos respectivos filmes.	98
Figura 29. Fotografias revelando o aspecto visual dos filmes à base de amido de mandioca, de trigo ou de milho durante a análise de biodegradabilidade em solo, inicial e após períodos de tempo de 7, 20, 30 e 56 dias. Os filmes comerciais de PEBD (polietileno de baixa densidade) e PVC (policloreto de vinila) foram utilizados como controle.....	100
Figura 30. Distribuição de tamanho de partícula dos resíduos de mirtilo em pó: fração mais grosseira que ficou retida na peneira de 100 <i>mesh</i> (CG) e fração mais fina que passou na peneira de 100 <i>mesh</i> (C100).	103
Figura 31. Cromatogramas obtidos pela análise de antocianinas por CLAE (Cromatografia Líquida de Alta Eficiência) em resíduo de mirtilo em pó sem e com branqueamento prévio do fruto.	107
Figura 32. (a) Fotografia dos extratos de resíduo de mirtilo, indicando a mudança de cor na faixa de pH entre 2 e 11. Espectro UV-vis das soluções contendo resíduo de mirtilo em diferentes valores de pH: (b) entre 2 e 11, (c) na faixa ácida, entre 2 e 5 e (d) na faixa básica, entre 6 e 11.	109
Figura 33. Aspecto visual dos filmes à base de amido de milho contendo resíduo de mirtilo em pó (a) sem branqueamento e (b) com branqueamento prévio do fruto.....	110
Figura 34. Aspecto visual dos filmes contendo resíduo de mirtilo após a imersão em soluções tampão com diferentes valores de pH (entre 2 e 12). SB e CB indicam que o resíduo foi feito sem e com branqueamento prévio do fruto, respectivamente.	112
Figura 35. Espectros UV-visível das soluções tampão em diferentes pH (2 e 4) após o teste de imersão dos filmes.	114
Figura 36. Espectros de FTIR do filme de amido de mandioca, do resíduo de mirtilo e dos filmes à base de amido de mandioca (4%) contendo resíduo de mirtilo branqueado com diferentes granulometrias. O filme C4GMI contém a fração retida na peneira de 100 <i>mesh</i> e o filme C4GMII100 contém a fração que passou pela peneira de 100 <i>mesh</i>	118
Figura 37. Aspecto visual da mudança de cor das amostras e valores de diferença total de cor (ΔE^*) dos filmes controle e após imersão em diferentes valores de pH (4, 5, 6 e 7).....	121
Figura 38. Mudança de coloração visual e diferença global de cor (valores de ΔE^*) dos filmes após imersão em soluções tampão e em base oleosa (óleo de milho).	123

Figura 39. Fotografias evidenciando a aplicação das embalagens nos pedaços de frango de maneira (a) indireta (pedaço de frango na parte interna do béquer), (b) direta (o filme foi diretamente enrolado no pedaço de frango) e (c) aspecto visual dos filmes de amido de mandioca (4%) e resíduo de mirtilo após 10 dias de contato, mantidos na temperatura de refrigeração de 6 °C.	124
Figura 40. Fotografias mostrando o aspecto visual dos filmes de amido de mandioca (4%) sem e com resíduo de mirtilo em diferentes granulometrias durante a análise de biodegradabilidade após 7, 20 e 30 dias enterrados em solo.	126
Figura 41. Termogramas dos filmes de amido de mandioca (CS) com diferentes teores de resíduo de mirtilo (BW: 0, 4, 8 e 12% em relação ao teor de amido, respectivamente) obtidos por Calorimetria Diferencial de Varredura (DSC).	129
Figura 42. Resultado da análise de (a) perda de massa com aumento da temperatura e (b) DTGA, derivada da curva de perda de massa, para filmes de amido de mandioca (CS) com diferentes teores de resíduo de mirtilo (BW: 0, 4, 8 e 12% em relação ao teor de amido, respectivamente).	130
Figura 43. Curvas de absorvância na região UV-vis para os filmes de amido de mandioca (CS) com diferentes teores de resíduo de mirtilo (BW: 0, 4, 8 e 12% em relação ao teor de amido, respectivamente).	131
Figura 44. (a) Aspecto visual dos filmes de amido de mandioca (CS) com diferentes teores de resíduo de mirtilo (BW: 0, 4, 8 e 12% em relação ao teor de amido, respectivamente) após 24 h de imersão em água e (b) comportamento dessas amostras durante a análise de inchamento. Os símbolos representam dados experimentais, enquanto as linhas correspondem ao ajuste exponencial.	133
Figura 45. Aspecto visual dos filmes de amido de mandioca (CS) com diferentes teores de resíduo de mirtilo (BW: 0, 4, 8 e 12% em relação ao teor de amido, respectivamente) após 10 dias de imersão em soluções simulantes de (a) ácido acético (3%) e (b) etanol (96%). Curvas de absorvância de luz ultravioleta (UV) das soluções simulantes após 10 dias de ensaio de migração em (c) ácido acético e (d) etanol. Os números 1, 2 e 3 representam as amostras CS0BW; 4, 5 e 6, as amostras CS4BW; 7, 8 e 9, as amostras CS8BW, e 10, 11 e 12, as amostras CS12BW.	135
Figura 46. Resultados de perda de massa (TGA) e curvas derivadas (DTGA) da perda de massa pela temperatura, para os filmes de amido de mandioca (CS) com diferentes teores de resíduo de mirtilo (BW: 0, 4, 8 e 12% em relação ao teor de amido, respectivamente) por termocompressão.	136
Figura 47. Microscopia eletrônica de varredura da superfície dos filmes de amido de mandioca (CS) contendo diferentes teores de resíduo de mirtilo (BW: 0, 4, 8 e 12% em relação ao teor de amido, respectivamente) produzidos por termocompressão.	139

Figura 48. Microscopia eletrônica de varredura da seção transversal dos filmes de amido de mandioca (CS) contendo diferentes teores de resíduo de mirtilo (BW: 0, 4, 8 e 12% em relação ao teor de amido, respectivamente) produzidos por termocompressão. 140

Figura 49. Padrões XRD de filmes de amido de mandioca (CS) com diferentes teores de resíduo de mirtilo (BW: 0, 4, 8 e 12% em relação ao teor de amido, respectivamente) por termocompressão. 141

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Classificação de materiais plásticos (Fonte: GÓMEZ e MICHEL, 2013).....	11
Tabela 2. Resumo das propriedades físico-químicas da amilose e da amilopectina. (Fonte: BALL et al., 1998 e SAJILATA et al., 2006).....	17
Tabela 3. Características e propriedades dos amidos de mandioca, batata, milho e trigo.	18
Tabela 4. Intervalos de temperatura de gelatinização de alguns amidos.	19
Tabela 5. Resumo dos principais ITT comercializados atualmente para monitorar alimentos.	43
Tabela 6. Formulações utilizadas para o preparo de filmes à base de amido com teor de glicerol fixo (0,9 g por 100 mL) e com 30% em relação ao teor de amido.	59
Tabela 7. Formulações experimentais utilizadas para a produção de filmes à base de amido contendo resíduo de mirtilo.....	61
Tabela 8. Resultados das análises de teor de umidade, conteúdo de amilose e amilopectina e índice de cristalinidade dos amidos de milho, mandioca, trigo e batata.	73
Tabela 9. Análise granulométrica dos amidos utilizados para a produção dos filmes.....	74
Tabela 10. Resultados das análises de caracterização dos filmes de amido de milho produzidos por <i>casting</i> com teor fixo de glicerol e diferentes gramaturas.	83
Tabela 11. Resultados das análises de caracterização dos filmes de amido de milho (identificados pela letra M seguida pelo conteúdo de amido por 100 mL) produzidos por <i>casting</i> com 30% de glicerol (G) e diferentes gramaturas (a: 0,43 g.cm ⁻² , b: 0,34 g.cm ⁻² e c: 0,22 g.cm ⁻²).	86
Tabela 12. Resultados das análises de caracterização dos filmes de amido (identificados pelas letras M, C e T para amido de milho, mandioca e trigo, respectivamente, seguidos pelo conteúdo de amido) produzidos por <i>casting</i> com 30% de glicerol e gramatura b (0,34 g.cm ⁻²).	90
Tabela 13. Resultados de caracterização de alguns filmes comerciais produzidos por extrusão: espessura, umidade, solubilidade em água, PVA, tensão de ruptura (TS), alongação (E) e módulo de Young (MY).....	94
Tabela 14. Valores do ângulo de contato para os filmes produzidos por <i>casting</i> à base de amido de milho, trigo e mandioca, contendo 30% de glicerol em relação ao teor de amido. .	96

Tabela 15. Composição físico-química do resíduo de mirtilo (retido na peneira de 100 <i>mesh</i>) obtido a partir do processamento do suco.	101
Tabela 16. Resultado da análise granulométrica do resíduo de mirtilo, que ficou retido e que passou pela peneira de 100 <i>mesh</i> , utilizados para a produção dos filmes ativos e inteligentes.	102
Tabela 17. Resultados para análise do teor de antocianinas totais pelo método do pH diferencial em espectrofotômetro (mg antocianinas / g de resíduo seco) e por CLAE (relação entre a área do pico e a massa de amostra utilizada) para as amostras de resíduo de mirtilo sem e com etapa de prévio branqueamento dos frutos.	104
Tabela 18. Resultados para análise do teor de antocianinas totais pelo método do pH diferencial em espectrofotômetro (mg antocianinas / g de resíduo seco) e por CLAE (relação entre a área do pico e a massa de amostra utilizada) para as amostras de mirtilo em pó sem e com etapa de prévio branqueamento dos frutos após passar na peneira de 100 <i>mesh</i>	106
Tabela 19. Resultados da análise colorimétrica para filmes de amido de milho contendo resíduo de mirtilo sem e com branqueamento.	113
Tabela 20. Valores de espessura, umidade, solubilidade e permeabilidade ao vapor de água dos filmes à base de amido de mandioca produzidos por <i>casting</i> com resíduo de mirtilo em diferentes granulometrias.	116
Tabela 21. Valores de espessura (mm) e resultado da análise de propriedades mecânicas (resistência à tração, TS [MPa], percentual de alongação, E [%] e módulo de elasticidade, MY [MPa]) dos filmes à base de amido de mandioca, glicerol (30% em relação à massa de amido) e resíduo de mirtilo produzidos por <i>casting</i>	119
Tabela 22. Valores de ΔE^* (diferença global de cor) calculados após o contato da amostra com soluções aquosas e em base oleosa, nos respectivos valores de pH.	122
Tabela 23. Valores de espessura (μm), permeabilidade ao vapor de água e ângulo de contato (WCA) para os filmes à base de amido de mandioca produzidos com diferentes conteúdos de resíduo de mirtilo.	128
Tabela 24. Propriedades óticas dos filmes à base de amido de mandioca produzidos com diferentes teores de resíduo de mirtilo: parâmetros colorimétricos (L^* , a^* , b^* , C^* , h^* e ΔE^*), e valores de opacidade.	132
Tabela 25. Matéria solúvel total (TSM) determinada após imersão em água destilada, soluções ácidas e soluções básicas e os valores do ângulo de contato com a água (WCA) dos filmes de amido de mandioca (CS) com diferentes teores de resíduo de mirtilo (BW) por termocompressão.	137

Tabela 26. Propriedades óticas dos filmes de amido de mandioca (CS) com diferentes teores de resíduo de mirtilo (BW) por termocompressão: parâmetros de cor (L^* , a^* , b^* , ΔE^*) e brilho (“*gloss*” medido no ângulo de 60°)..... 138

Tabela 27. Valores das temperaturas de transição vítrea (T_{g1} e T_{g2}) obtidos da análise térmica dinâmico-mecânica, DMTA, para os filmes de amido de mandioca (CS; 4%) com diferentes teores de resíduo de mirtilo (BW) produzidos por termocompressão. 142

Lista de siglas, abreviaturas e símbolos

1 Barrer	$10^{-10} \text{ cm}^3(\text{STP}) \text{ cm cm}^{-2} \text{ s}^{-1} \text{ cmHg}^{-1}$
a^*	parâmetro colorimétrico do eixo de cores vermelho (+) ao verde (-)
ABTS	radical sintético 2,2'-azino-bis (3-ethylbenzotiazolina-6-sulfonato)
ACP	análise estatística de componentes principais
a_w	atividade de água
b^*	parâmetro colorimétrico do eixo de cores amarelo (+) ao azul (-)
b.s.	base seca
b.u.	base úmida
C_{ab}^*	croma ou saturação de cor
CLAE	Cromatografia Líquida de Alto Desempenho
DMSO	reagente dimetilsulfóxido ou sulfóxido de dimetilo
DPPH	radical sintético 2,2-diphenil-1-picrilhidrazil
DRX	Difração de raios-X
DSC	Calorimetria Exploratória Diferencial (<i>Differential Scanning Calorimetry</i>)
E	percentual de alongamento na ruptura [%]; análise de propriedades mecânicas
FAOSTAT	<i>Food and Agriculture Organization of the United Nations</i>
FTIR	Análise de infravermelho com transformada de Fourier (<i>Fourier-transform infrared spectroscopy</i>)
h_{ab}	ângulo hue, indica a tonalidade

HPLC	<i>High Performance Liquid Chromatography</i>
L^*	parâmetro de cor que indica a luminosidade
m/m	massa por massa
m/v	massa por volume
MEV	Microscopia Eletrônica de Varredura
MY	módulo de Young ou módulo de elasticidade [MPa]; análise de propriedades mecânicas
PEBD	polietileno de baixa densidade (polímero de fonte fóssil)
PVA	permeabilidade ao vapor de água ($\text{g mm h}^{-1} \text{m}^{-2} \text{kPa}^{-1}$)
PVC	policloreto de vinila (polímero de fonte fóssil)
R^2	coeficiente de determinação
T	temperatura ($^{\circ}\text{C}$)
t	tempo (s) ou (h)
TGA	análise termogravimétrica
TS	tensão de ruptura [MPa]; análise de propriedades mecânicas
v/v	volume/volume
WVP	<i>water vapor permeability</i> ($\text{g mm h}^{-1} \text{m}^{-2} \text{kPa}^{-1}$)
λ	comprimento de onda (nm)
μ	viscosidade dinâmica (N s m^{-2})
ρ	massa específica (kg m^{-3})

SUMÁRIO

Capítulo 1 - Introdução.....	1
Capítulo 2 - Fundamentos Teóricos e Revisão Bibliográfica.....	9
<i>2.1. Tecnologia de embalagens</i>	<i>9</i>
<i>2.2. Classificação de materiais poliméricos</i>	<i>10</i>
<i>2.3. Matérias-primas utilizadas durante o processo de formação de filmes de amido.....</i>	<i>13</i>
2.3.1. Amido	15
2.3.2. Plastificantes	22
<i>2.4. Filmes poliméricos produzidos a partir do amido</i>	<i>24</i>
<i>2.5. Caracterização dos filmes.....</i>	<i>28</i>
2.5.1. Propriedades de barreira ao vapor de água.....	29
2.5.2. Propriedades de barreira a gases.....	31
2.5.3. Propriedades mecânicas.....	32
<i>2.6. Embalagens ativas e inteligentes</i>	<i>34</i>
2.6.1. Embalagens ativas	36
2.6.2. Embalagens inteligentes	39
<i>2.7. Resíduos agroindustriais provenientes da produção de mirtilo.....</i>	<i>46</i>
<i>2.8. Considerações finais.....</i>	<i>49</i>
Capítulo 3 - Materiais e Métodos	51
<i>3.1. Matérias-primas.....</i>	<i>52</i>
<i>3.2. Caracterização dos grânulos de amido</i>	<i>52</i>
3.2.1. Determinação do conteúdo de umidade.....	52
3.2.2. Determinação do teor de amilose	53
3.2.3. Análise morfológica	53
3.2.4. Análise granulométrica.....	53
3.2.5. Análise de cristalinidade.....	53
3.2.6. Análise de estrutura química	54
3.2.7. Análise de propriedades térmicas	54
<i>3.2. Processo de obtenção do resíduo da produção do suco de mirtilo.....</i>	<i>55</i>
<i>3.3. Caracterização dos resíduos agroindustriais.....</i>	<i>56</i>

3.3.1. Análise de umidade	56
3.3.2. Análise do teor de fibras e proteínas	57
3.3.3. Análise granulométrica	57
3.3.4. Extração e quantificação do conteúdo de antocianinas presente no resíduo de mirtilo ..	57
3.3.5. Análise espectrofotométrica UV-vis dos extratos antociânicos.....	58
3.4. Preparo dos filmes de amido.....	59
3.5. Preparo dos filmes com incorporação de resíduo de mirtilo	60
3.6. Caracterização dos filmes	61
3.6.1. Análise do teor de umidade e da solubilidade em água	62
3.6.2. Análise de permeabilidade ao vapor de água.....	62
3.6.3. Análise de espessura	63
3.6.4. Análise do caráter hidrofílico.....	63
3.6.5. Análise de propriedades mecânicas	63
3.6.6. Análise de estrutura química.....	64
3.6.7. Análise de propriedades de barreira à luz	64
3.6.8. Análise morfológica.....	64
3.6.9. Análise de cristalinidade	65
3.6.10. Análise de brilho	65
3.6.11. Análise de propriedades térmicas	65
3.6.12. Análise térmica dinâmico-mecânica	66
3.6.13. Ensaio de migração de compostos fenólicos	66
3.6.14. Ensaio de inchamento (swelling) em água.....	66
3.6.15. Determinação do conteúdo de matéria solúvel total	67
3.6.16. Análise de biodegradabilidade dos filmes em composto orgânico	67
3.7. Testes para validação dos filmes produzidos com resíduo de mirtilo como embalagem inteligente	68
3.7.1. Teste colorimétrico para avaliação dos filmes como indicador de mudança de pH.....	68
3.7.2. Aplicação dos filmes contendo resíduo de mirtilo em soluções aquosas e alimentos ...	70
3.8. Análise estatística.....	71
Capítulo 4 - Resultados e Discussão	72
4.1. Parte I – Caracterização dos diferentes amidos e dos filmes à base de amido	72
4.1.1. Caracterização físico-química dos diferentes tipos de amido.....	72
4.1.2. Formação de estruturas à base de amido de batata	78

4.1.3. Caracterização dos filmes à base de amido de milho com conteúdo de glicerol fixo	81
4.1.4. Caracterização dos filmes preparados com os diferentes tipos de amido.....	88
4.1.5. Avaliação do caráter hidrofílico dos filmes produzidos com diferentes tipos de amido	96
4.1.6. Avaliação da estrutura química dos filmes produzidos com diferentes tipos de amido.	97
4.1.7. Avaliação biodegradabilidade dos filmes produzidos com diferentes tipos de amido...	99
4.2. Parte II – Elaboração dos filmes à base de amido com glicerol e resíduo de mirtilo utilizando a técnica de casting	101
4.2.1. Caracterização do resíduo obtido a partir do processamento do suco de mirtilo	101
4.2.2. Avaliação da mudança de coloração de soluções contendo resíduo de mirtilo.....	108
4.2.3. Avaliação da capacidade de mudança de coloração de filmes à base de amido de milho contendo resíduo de mirtilo sem e com branqueamento prévio do fruto	110
4.2.4. Caracterização físico-química e avaliação da capacidade de mudança de coloração de filmes à base de amido de mandioca contendo resíduo de mirtilo após imersão em soluções tampão com diferentes valores de pH, em soluções aquosas e em alimentos	115
4.2.5. Avaliação da influência da adição de resíduo de mirtilo na biodegradabilidade dos filmes de amido de mandioca	125
4.3. Parte III – Desenvolvimento e caracterização de filmes de amido de mandioca e sorbitol com diferentes teores de resíduo de mirtilo	127
4.3.1. Filmes produzidos por casting.....	127
4.3.2. Filmes produzidos por termocompressão	136
Capítulo 5 - Conclusão e Sugestões para Trabalhos Futuros.....	143
5.1. Conclusão.....	143
5.2. Sugestões para trabalhos futuros	146
Referências Bibliográficas	149
Apêndice I.....	169
Apêndice II.....	171
Apêndice III	173
Apêndice IV.....	176
Apêndice V	179
Apêndice VI.....	182
Apêndice VII.....	183
Apêndice VIII - Lista de publicações decorrentes da Tese.....	184

Capítulo 1 - Introdução

O crescimento populacional e econômico mundial tem como consequência o aumento na geração de lixo urbano. Dados estatísticos mostram que, somente no Brasil, 240 a 300 mil toneladas de resíduos sólidos urbanos são produzidas diariamente, sendo estes, em grande parte, destinados a aterros sanitários ou descartados no meio ambiente. Cabe destacar que cerca de 30-40% do total de resíduos sólidos podem ser atribuídos a materiais plásticos usados como embalagens (SOTERO, 2000; DAS & TIWARI, 2018), e o descarte incorreto desses materiais provenientes de polímeros de origem fóssil causa um elevado impacto ambiental, pois a maioria não é biodegradável. Além disso, no processo de reciclagem são consumidas grandes quantidades de energia térmica. Os números e valores percentuais citados tendem a aumentar, visto que o mercado de embalagens apresenta perspectivas de aumento, em consequência do crescimento populacional e também devido à busca por praticidade e segurança alimentar por parte dos consumidores. Estima-se que no ano de 2030 haverá mais de 8,5 bilhões de pessoas no mundo (ONU, 2017). Conforme dados da Associação Brasileira de Embalagens (ABRE, 2014), a produção de embalagens apresenta uma estimativa de crescimento anual de 2,7%; em 2013 a receita líquida de venda de embalagens alcançou R\$ 51 bilhões de reais.

Sendo assim, os problemas gerados pela dificuldade de reciclagem da maioria das embalagens sintéticas disponíveis, aliada à geração de resíduos, têm incentivado pesquisas relacionadas ao desenvolvimento de materiais biodegradáveis com características que permitam a sua utilização na indústria. Alguns bioplásticos podem ser degradados rapidamente em condições adequadas e não precisam ser incinerados; além disso, o lixo gerado pela utilização desse tipo de material plástico pode ser compostado através do processo de mineralização por microrganismos. O dióxido de carbono, que é liberado quando

os plásticos são submetidos ao processo de degradação, pode ser consumido pelas plantas que o utilizam para a síntese de novos biopolímeros; desta forma, não há liberação de CO₂ para a atmosfera, minimizando alterações climáticas decorrentes dessas emissões (FEIL, 1995).

Os biopolímeros de fontes renováveis derivados de plantios de larga escala têm ganhado espaço, entre os quais estão os polissacarídeos, as proteínas e os lipídios. Dentre os polissacarídeos, destaca-se o amido, visto que ele é uma matéria-prima abundante, não tóxica, biodegradável, de baixo custo de comercialização e está disponível em todo o mundo. Pesquisas utilizando amido para produção de bioplásticos tiveram início nos anos 70, contudo as aplicações ainda são restritas uma vez que ele apresenta limitações industriais devido às pobres propriedades mecânicas dos filmes de amido produzidos. Em geral, os materiais para embalagens devem ser resistentes à ruptura e à abrasão, para proteger e reforçar a estrutura dos produtos e, ainda, devem ser flexíveis, para adaptar-se a possíveis deformações sem se romper (SOBRAL, 2000). Além disso, em virtude da natureza hidrofílica do amido, sua utilização pode limitar o desenvolvimento desse setor. Considerando essas informações, diversas estratégias têm sido pesquisadas com o intuito de contornar algumas limitações, tornando os filmes obtidos menos susceptíveis às variações de umidade e mecanicamente mais resistentes. Sabe-se que a inserção de fibras naturais pode melhorar as propriedades mecânicas dos filmes.

Neste contexto, a primeira parte do trabalho tem como objetivos avaliar diferentes fontes de amido na formação de filmes plásticos, entender os mecanismos de formação dos mesmos e analisar as características resultantes devido às diferenças existentes entre eles.

Além da produção de embalagens à base de biopolímeros, outra área de estudo de elevada importância no setor de embalagens corresponde às embalagens inteligentes. Este tipo de embalagem vem ganhando importância devido à crescente busca por alimentos minimamente processados e/ou alimentos “prontos para comer” (*ready-to-eat*), que apresentem segurança e qualidade facilmente detectáveis.

Por definição, uma embalagem inteligente é um tipo de embalagem que avalia a qualidade e/ou segurança do alimento embalado e transmite esta informação ao ambiente externo, diferente de uma embalagem convencional que tem apenas a finalidade de proteger e conter o produto, evitando seu contato direto com o ambiente externo. Nas embalagens inteligentes, geralmente, é inserido algum tipo de sensor capaz de comunicar uma informação visual ao consumidor, como mudança, aparecimento ou até desaparecimento de cor. Nesse sentido, diferentes sensores naturais vêm sendo estudados, como a clorofila e as antocianinas.

As antocianinas correspondem a uma classe de compostos capazes de mudar de coloração ao serem submetidos a diferentes valores de pH, podendo ser encontradas em diversos frutos e flores.

No desenvolvimento de embalagens deve-se aliar competitividade com boas propriedades, de nada vale desenvolver uma embalagem com ótimas características, mas com custo elevado. Sendo assim, estudos visando à reutilização de resíduos e de subprodutos da agroindústria para o desenvolvimento embalagens sustentáveis e economicamente competitivas são de ampla importância. Durante o processamento de frutas são gerados resíduos, tais como cascas, bagaços e sementes que, na maioria das vezes, são descartados, não sendo posteriormente utilizados. Esses resíduos representam aproximadamente 30-50% do peso total dos frutos e grande parte dos nutrientes e compostos bioativos presentes na casca e no resíduo acabam não sendo agregados ao produto final (ALEZANDRO et al., 2013).

Diante do exposto, o objetivo da segunda etapa do trabalho foi produzir embalagens inteligentes através do reaproveitamento de resíduos agroindustriais ricos em antocianinas, como o bagaço proveniente da produção do suco de mirtilo. Os filmes inteligentes foram feitos com amido de mandioca ou de milho, visto que essas foram as matérias-primas que se mostraram mais promissoras na primeira etapa do trabalho. As embalagens inteligentes foram produzidas com o pó obtido da moagem do resíduo, ao contrário dos outros trabalhos que incorporam as antocianinas na forma de extrato obtido por extração com solventes. Para tanto, foram produzidos filmes de base amilácea com resíduos de diferentes granulometrias e diferentes concentrações iniciais de resíduo do processamento de suco de mirtilo.

Na terceira etapa do trabalho, realizada na Universidade do País Basco / Euskal Herriko Unibertsitatea (UPV / EHU - Espanha), foram feitos filmes por *casting* utilizando sorbitol como plastificante; ensaios de inchamento após imersão das amostras em água e de migração dos compostos fenólicos foram conduzidos a fim de verificar a possibilidade de desenvolvimento de uma embalagem ativa à base de amido com incorporação de compostos antioxidantes presentes no resíduo de mirtilo. Diferentemente da embalagem inteligente que informa ao consumidor a real condição do produto, uma embalagem ativa é capaz de interagir com o alimento, prolongando seu tempo de vida de prateleira. Além disso, durante o doutorado-sanduíche, foi avaliado outro método de produção de filmes de amido, conhecido como termocompressão, com intuito de viabilizar o processamento de filmes de amido em escala industrial e melhorar algumas propriedades em comparação às amostras desenvolvidas por *casting*.

Objetivo Geral

O objetivo geral deste trabalho foi produzir embalagens inteligentes e ativas à base de amido, reaproveitando o resíduo da produção do suco de mirtilo, que é um subproduto rico em antocianinas. Para melhor entendimento, as etapas desenvolvidas no presente trabalho estão descritas esquemática e resumidamente nos fluxogramas apresentados nas Figuras 1 e 2.

Objetivos específicos

Para alcançar o objetivo geral proposto nesse trabalho os seguintes objetivos específicos podem ser citados:

- caracterizar os diferentes tipos de amido (milho, trigo, mandioca e batata) utilizados como matérias-primas para produção dos filmes quanto ao teor de amilose/amilopectina, conteúdo de umidade, morfologia do grânulo, propriedades térmicas, distribuição granulométrica, estrutura química, padrão e índice de cristalinidade;
- avaliar a capacidade de formação de filmes contínuos utilizando diferentes tipos de amido, verificando a influência do teor de glicerol utilizado como plastificante e a influência da gramatura utilizada na etapa de *casting*;
- analisar o impacto da fonte de amido utilizada sobre as propriedades físico-químicas, mecânicas, térmicas, estruturais, morfológicas e a biodegradabilidade dos filmes produzidos por *casting*. Buscar possíveis correlações entre as propriedades citadas e a fonte de amido pela análise de componentes principais (ACP);
- comparar as propriedades dos filmes de amido produzidos por *casting* com aquelas dos filmes atualmente comercializados;
- caracterizar o resíduo de mirtilo em pó, obtido pelo processamento do suco, em relação à umidade, ao tamanho de partícula (análise granulométrica), aos teores de fibras e de proteínas, e ao conteúdo de antocianinas;
- avaliar a influência do branqueamento prévio do fruto sobre o comportamento e a capacidade de mudança de coloração de filmes de amido de milho contendo resíduo de mirtilo em pó produzidos por *casting*, após serem submetidos à imersão em soluções tampão contendo diferentes teores de pH;
- avaliar a granulometria do resíduo de mirtilo na aplicabilidade de filmes de amido de

mandioca como indicador colorimétrico em soluções tampão com diferentes valores de pH (4, 5, 6 e 7), em soluções aquosas (salinas, de sacarose e proteicas), óleo de milho, assim como em pedaços de frango;

- avaliar a influência da incorporação do resíduo de mirtilo na biodegradabilidade dos filmes à base de amido de milho;
- verificar a possibilidade de desenvolvimento de embalagens ativas à base de amido de mandioca e resíduo de mirtilo por *casting*, utilizando como análise principal a técnica de avaliação da migração de compostos fenólicos em soluções que podem atuar como simulantes (solução de ácido acético e solução de etanol) de alimentos;
- utilizar a técnica de termocompressão para produção de filmes de amido de mandioca contendo diferentes teores de resíduo de mirtilo. Avaliar as propriedades físicas, térmicas e óticas e buscar uma correlação desses resultados com as mudanças morfológicas e o comportamento térmico dinâmico-mecânico dos filmes.

Estrutura da Tese

Este trabalho está estruturado em capítulos. No segundo capítulo, encontra-se uma revisão bibliográfica sobre as matérias-primas utilizadas, os métodos de fabricação dos filmes, alguns aspectos relacionados à caracterização de filmes e o estado da arte sobre o desenvolvimento de embalagens ativas e inteligentes. No terceiro capítulo foram descritos os materiais e os métodos utilizados, tanto na UFRGS (Universidade Federal do Rio Grande do Sul) como na UPV / EHU (Universidade do País Vasco / Euskal Herriko Unibertsitatea) para a realização das etapas experimentais deste trabalho; no quarto capítulo, são apresentados e discutidos os resultados obtidos para os filmes preparados com diferentes fontes de amido, sem e com a adição do resíduo de mirtilo. O quinto e último capítulo envolve as conclusões gerais deste trabalho e as sugestões para trabalhos futuros.

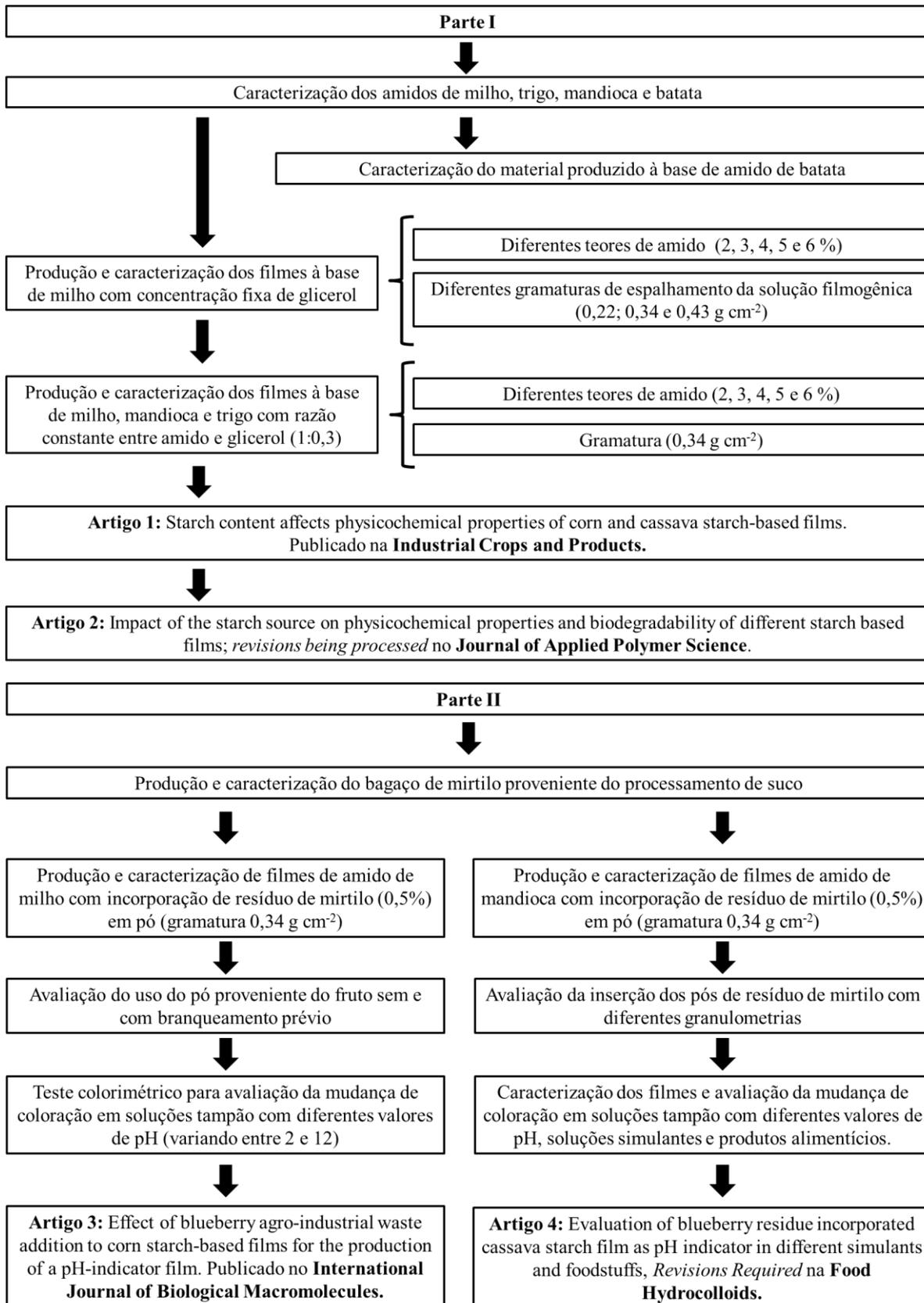


Figura 1. Fluxograma das etapas do presente trabalho – Parte I e Parte II.

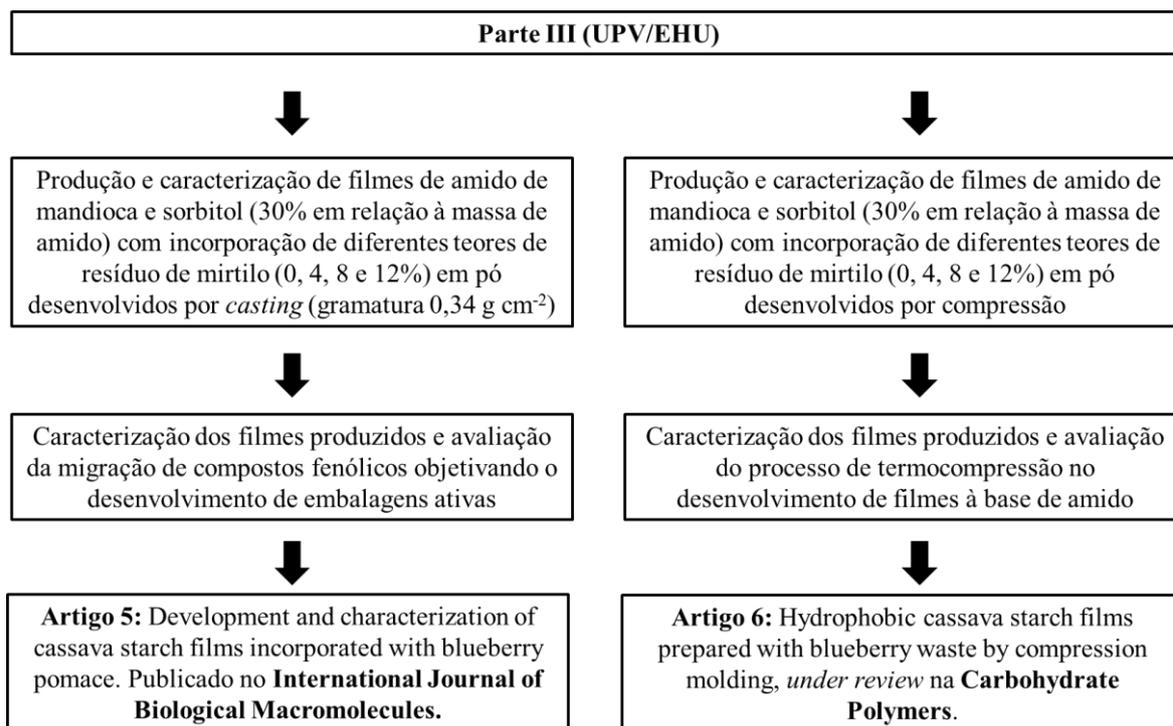


Figura 2. Continuação do fluxograma das etapas do presente trabalho – Parte III.

Capítulo 2 - Fundamentos Teóricos e Revisão Bibliográfica

Neste capítulo estão apresentadas a fundamentação teórica e a revisão bibliográfica desta tese. Os seguintes assuntos serão abordados: informações importantes relacionadas à tecnologia de embalagens, contendo um breve histórico; características das matérias-primas que foram utilizadas; descrição dos processos de *casting* e de termocompressão utilizados para produção das embalagens, importância e aspectos relevantes relativos às análises de caracterização dos filmes.

2.1. Tecnologia de embalagens

A Associação Brasileira de Embalagens (ABRE) define a embalagem como um recipiente ou envoltura que armazena produtos temporariamente, individualmente ou agrupando unidades, tendo como principal função proteger e estender o prazo de vida (*shelf-life*) do seu conteúdo, além de viabilizar a distribuição, a identificação e o consumo do produto.

Há mais de 10 mil anos houve o surgimento da necessidade de transportar e conservar os alimentos durante as migrações por procura de melhores lugares para viver. As primeiras embalagens foram feitas de materiais naturais disponíveis na época, tais como: conchas do mar, cascas de coco e outros frutos e folhas. Posteriormente, foram confeccionadas tigelas de madeira, cestas de fibras naturais, bolsas de peles de animais, potes de barro, cestas de fibras vegetais e vasos de cerâmica. Anos mais tarde, durante a Revolução Industrial (período de 1760 a 1860), houve um aumento significativo na produtividade de bens de consumo através da introdução de máquinas nas indústrias, o que conseqüentemente impulsionou a produção

de embalagens com diferentes formatos e tamanhos. Outro fato importante refere-se à descoberta do processo de conservação de alimentos denominado apertização por Nicolas Appert em 1809. Como esse processo empregava garrafas de vidro, ocorreu uma valorização do uso desse material para embalar alimentos. Essa técnica foi precursora dos atuais métodos de conservação de alimentos em latas. Em 1810, o inglês Peter Durand patenteou um processo similar empregando chapas de ferro recobertas de estanho, ao invés das garrafas de vidro, marcando o surgimento de indústrias de processamento de alimentos e as latas descartáveis. Além disso, durante a Primeira Guerra Mundial (1914-1918) houve uma série de transformações que, mais tarde, se refletiram nos mais diversos setores. Nesta época, as embalagens de produto a granel deram origem à embalagem individual, hoje designada de embalagem de consumo. Esta tendência surgiu devido a maior facilidade de distribuição de refeições aos exércitos em pequenos pacotes. Outro acontecimento marcante na história da embalagem foi o surgimento dos primeiros supermercados nos Estados Unidos em 1930. Desta forma, as embalagens, que antes somente tinham a função de conter e proteger o produto, passaram a adquirir uma nova função: vender o produto.

No Brasil, as primeiras embalagens utilizadas foram cestos, samburás e balaios criados pelos índios e usadas para o transporte de seus produtos. Com a chegada dos portugueses, alguns novos utensílios foram trazidos, dentre eles destacam-se: barris, caixas, toneis e potes. Em 1808 com a chegada de D. João VI ao Brasil e a abertura das atividades marítimo-portuárias, o processo de produção de embalagens de vidro teve início no Brasil, uma vez que antes deste período a fabricação de produtos era proibida pela coroa de Portugal.

Sendo assim, a necessidade e o surgimento das embalagens começaram a aparecer à medida que a vida do homem se tornou gradativamente mais complexa. Hoje, a embalagem contempla diferentes áreas de estudo envolvendo aspectos técnicos relacionados ao conhecimento do produto e do material da embalagem, aspectos regulatórios (legislação e certificações), aspectos ambientais (descarte e geração de resíduos) e aspectos mercadológicos e estéticos preocupados com o marketing do produto.

2.2. Classificação de materiais poliméricos

A utilização de plásticos sintéticos provenientes de polímeros petroquímicos na produção de embalagens possui como principais características o baixo custo, facilidade de processamento, elevada aplicabilidade, versatilidade e durabilidade, sendo esta última característica a principal desvantagem da sua utilização. De acordo com a Associação

Brasileira da Indústria de Plástico (ABIPLAST, 2015), foram consumidos 7,2 milhões de toneladas de materiais plásticos no Brasil em 2014. Dados estatísticos importantes mostram que o plástico representa, aproximadamente, 20% dos resíduos produzidos no Brasil. Além disso, sabe-se que apenas 15% das cidades brasileiras possuem coleta seletiva; desta forma, pode-se concluir que a maior parte do resíduo plástico gerado não é reciclada, o que aumenta ainda mais o interesse na produção de embalagens a partir de polímeros que possam ser facilmente degradados no ambiente sob condições específicas. Para contornar esses problemas, algumas alternativas como a substituição dos plásticos convencionais provenientes de fontes fósseis por biodegradáveis de fontes renováveis estão sendo estudadas.

Os materiais plásticos podem ser classificados em quatro tipos, em relação à biodegradabilidade e a fonte de matéria-prima utilizada para sua fabricação (GÓMEZ e MICHEL, 2013). Estes quatro tipos são: (I) plástico convencional, (II) plástico biodegradável de origem não renovável, e aqueles de base bio (matéria-prima renovável), considerados não biodegradáveis (III) e biodegradáveis (IV). As principais diferenças e semelhanças dos diferentes tipos de plásticos estão apresentadas na Tabela 1.

Tabela 1. Classificação de materiais plásticos (Fonte: GÓMEZ e MICHEL, 2013).

Classe	Fonte		Biodegradável	Exemplo	Classificação
I	Petróleo/gás natural	(Não renovável)	Não	Polietileno, polipropileno	Plástico convencional
II	Petróleo/gás natural	(Não renovável)	Sim	PLA do petróleo	Plástico biodegradável
III	Biomassa (milho, cana de açúcar, etc.)	(Renovável)	Não	Polietileno derivado do etanol de milho e/ou cana de açúcar	Plástico base bio (matéria-prima renovável) ou bioplástico
IV	Biomassa (milho, cana de açúcar, etc.)	(Renovável)	Sim	PHA, PLA derivado do amido	Plástico biodegradável base bio (matéria-prima renovável) ou bioplástico biodegradável

PLA = ácido polilático e PHA = resina base polihidroxialcanoatos

Os polímeros completamente biodegradáveis são divididos em 4 grupos de acordo com a obtenção do polímero, conforme apresentado na Figura 3. Agro-polímeros são obtidos a partir de agro-produtos, geralmente com o fracionamento da biomassa. Estes são divididos em polissacarídeos, proteínas e lipídios. No segundo grupo estão os poliésteres sintetizados

por microrganismos a partir de fontes renováveis, por exemplo, os polihidroxialcanoatos (PHAs). O terceiro grupo é formado por polímeros sintetizados quimicamente a partir de monômeros derivados de processos biotecnológicos, como é o caso do poli(ácido láctico) (PLA) que pode ser obtido pela polimerização do ácido láctico, proveniente da fermentação do milho por microrganismos. O último grupo contempla os polímeros biodegradáveis provenientes de fontes não renováveis totalmente sintetizados em processos petroquímicos. Neste grupo, destacam-se a policaprolactona (PCL), as poliésteramidas (PEA), co-poliésteres alifáticos, como por exemplo, o poli(butileno succinato-co-adipato) (PBSA) e co-poliésteres aromáticos como o poli(adipato-co-tereftalato de butileno) (PBAT) (AVÉROUS, 2004).

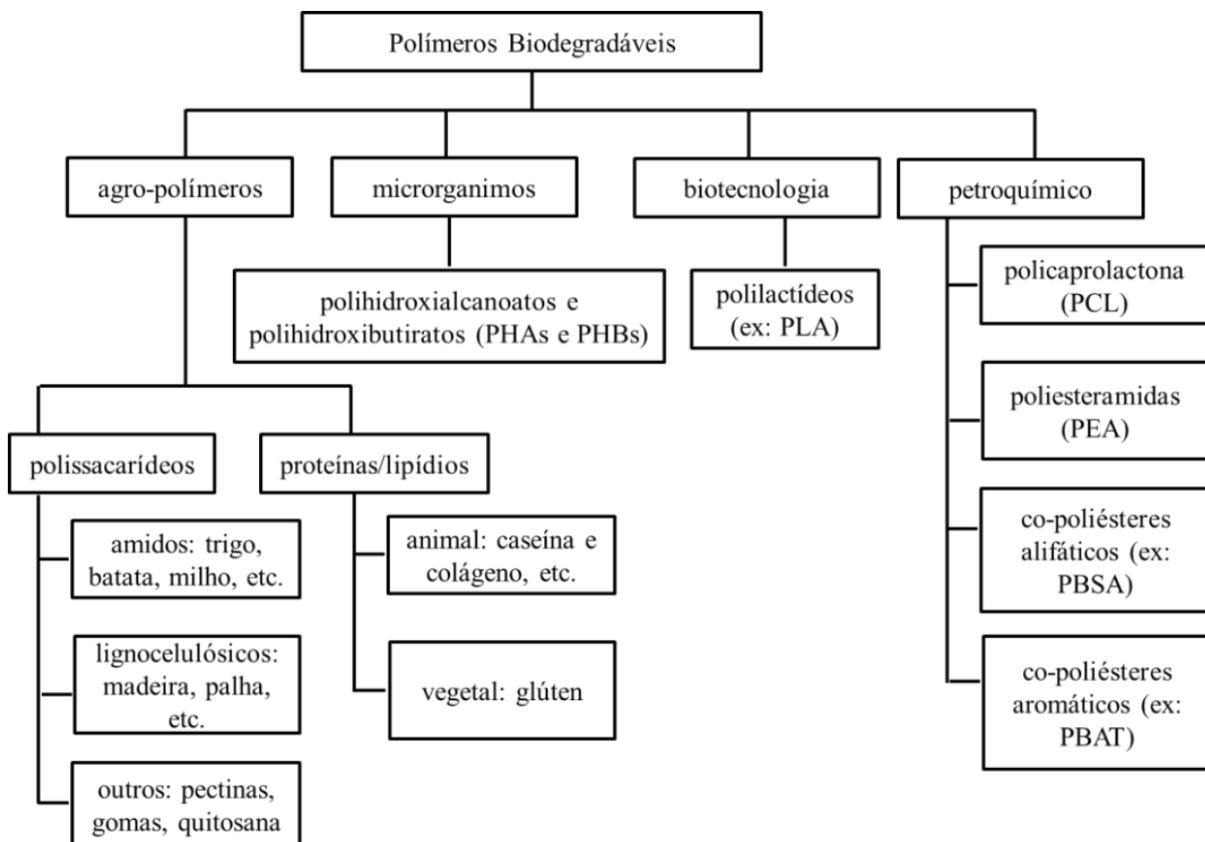


Figura 3. Classificação dos polímeros biodegradáveis (adaptada de AVÉROUS, 2004).

Como o foco do presente trabalho são polissacarídeos de base amilácea, a seguir estão descritas as principais características e peculiaridades do amido.

2.3. Matérias-primas utilizadas durante o processo de formação de filmes de amido

Para a confecção dos filmes deste trabalho, foram utilizados os amidos de batata, mandioca, milho e trigo, e glicerol ou sorbitol como plastificante; desta forma, as características destas matérias-primas, relevantes para o desenvolvimento dos filmes, serão brevemente apresentadas a seguir.

O mercado mundial de amido está dividido em cinco matérias-primas, quatro delas de origem tropical (milho, batata, batata-doce e mandioca). Nos últimos anos, o amido de milho tem sido a matéria-prima predominante para a produção de polímeros biodegradáveis, possivelmente por ser a principal fonte de amido produzido mundialmente (aproximadamente 64%), seguido pela batata-doce (13%) e pela mandioca (11%) (SOUZA, DITCHFIEL e TADINI, 2010). O milho é a principal fonte de amido nos Estados Unidos (99% da produção), na Europa (46%), na Ásia e no Brasil. Os maiores produtores mundiais de milho são os Estados Unidos, China e Brasil, que, em 2009, produziram 333, 163 e 51 milhões de toneladas, respectivamente. O milho é cultivado em praticamente todo o território brasileiro, sendo que 90% da produção concentraram-se nas regiões Sul (40,8% da produção), Centro-Oeste (30,2% da produção) e Sudeste (19,1% da produção) (EMBRAPA, 2012).

Quanto à mandioca, de acordo com os dados da *Food and Agriculture Organization* (FAO, 2016), ela é cultivada em mais de 100 países, com produção de 273 milhões de toneladas em 2016. Dados da FAO (2016) revelam que dentre as culturas agrícolas, a mandioca é a maior fonte produtora de amido no Brasil, aproximadamente 23 milhões de toneladas, sendo este o quarto país com maior produção desta raiz, estando somente atrás da Nigéria, da Tailândia e da Indonésia, que atingiram aproximadamente 55, 30 e 23 milhões de toneladas, respectivamente. A mandioca é a terceira fonte de calorias mais importante nos países tropicais, perdendo apenas para o arroz e para o milho.

A batata (*Solanum tuberosum*), da família das solanáceas, é nativa dos Andes Americanos. Dados da *Food and Agriculture Organization of the United Nations* (FAOSTAT, 2014) indicam que a China, a Índia e a Rússia são os maiores produtores mundiais, totalizando aproximadamente 270 milhões de toneladas. A batata é a terceira principal fonte de alimento para a humanidade, superada apenas pelo arroz e pelo trigo. No Brasil, a produção de batata alcança 3,7 milhões de toneladas, com área plantada de 142 mil hectares. A produção de fécula de batata-doce concentra-se em 95% na China, sendo o restante localizado, principalmente, no Japão (VILPOUX, 2016).

O trigo, gramínea do gênero *Triticum*, é o segundo cereal mais cultivado no mundo, sendo que, efetivamente somente metade é colhida após o cultivo, o restante cresce de forma silvestre (ALVES et al., 2013). A produção de amido, a partir de trigo, encontra-se em forte crescimento na Europa, onde a produtividade alta e o elevado valor agregado dos coprodutos permitem a produção com preços muito competitivos. No Brasil, o trigo pode ser cultivado nos estados do Paraná (PR) e do Rio Grande do Sul (RS), além dos estados de Goiás (GO), Minas Gerais (MG), São Paulo (SP) e Santa Catarina (SC) que também são responsáveis pelo fornecimento do trigo, onde as condições são favoráveis para o desenvolvimento desta gramínea. Estes estados são os principais responsáveis pelo abastecimento de trigo no país (EMBRAPA, 2016).

Cabe ressaltar que durante o processamento das culturas amiláceas citadas, diferentes subprodutos de valor agregado são produzidos. O uso desses subprodutos e/ou resíduos da produção de amido que, geralmente, contém um elevado teor de amido, poderia tornar a confecção dos filmes mais viável economicamente. Essa opção pode ser uma alternativa promissora com o intuito de tornar as embalagens ainda mais competitivas comercialmente, além de minimizar a utilização de fontes que podem ser usadas diretamente para alimentação. Sendo assim, apesar dos subprodutos não terem sido objeto desse estudo, a seguir são apresentados alguns tópicos relacionados aos resíduos provenientes do processamento da mandioca, batata e trigo.

O processamento industrial das raízes da mandioca pode gerar elevadas quantidades de resíduo. Considerando apenas a parte sólida, Bianchi & Cereda (1999) definem, como inaceitável, que um material que apresenta na sua composição amido, fibras e um alto poder calorífico, seja subutilizado ou simplesmente disposto no ambiente, sem nenhuma utilidade. Após o descascamento e a lavagem das raízes, uma parte, chamada casquinha, é descartada, podendo representar de 15 a 20% do total de mandioca processada, em peso úmido (umidade aproximadamente 10%). Após prensagem, moagem e esfarelamento, temos a geração do resíduo conhecido como crueira, que corresponde a pouco mais de 1,0% do total de matéria-prima, sendo que a varredura e o bagacinho alcançam em conjunto valores em torno de 0,5%. De cada tonelada de matéria-prima processada é gerado em torno de 2 kg de bagacinho.

Segundo Da Costa (2004), no setor de processamento da farinha de mandioca existe uma forte demanda para a transformação de resíduos em subprodutos, contribuindo com o meio ambiente e reduzindo custos. Os estudos realizados nos últimos anos utilizando resíduos da fabricação da farinha de mandioca na formulação de produtos alimentares apresentaram

resultados favoráveis para sua utilização em escala industrial. Entretanto, pesquisas nessa área ainda são escassas. Fiorda et al. (2015) produziram *snacks* de amido de mandioca e bagaço da produção de amido de mandioca desidratado (70:30, m/m) por extrusão.

No entanto, apesar de possuir destaque no setor alimentício, aproximadamente 35% (casca e restante de polpa) do total de batata produzida é descartada durante o processo de industrialização. Estima-se que no Brasil sejam descartadas mais de 300 mil toneladas de cascas de batata por ano (ÁVILA, 2012). Tendo em vista o potencial desse resíduo e levando-se em consideração que a casca da batata possui 25,6% de amido em massa, utilizar a casca da batata como fonte de amido para obtenção de filmes pode ser uma alternativa interessante.

Um resíduo gerado no processo de fabricação da farinha de trigo é o farelo, camada externa do grão de trigo, composto por carboidratos, cinzas, proteínas, água, sais minerais e impurezas vegetais. A casca que corresponde 14,5% do peso do grão também é um resíduo obtido do processo de produção da farinha de trigo (PORTAL SÃO FRANCISCO, 2010).

2.3.1. Amido

O amido, segundo biopolímero mais abundante no mundo, perdendo somente para a celulose, pode ser obtido de diversas fontes vegetais, como cereais, raízes e tubérculos, e também de frutas e legumes. No entanto, a extração do produto amiláceo em nível comercial se restringe às partes comestíveis de cereais (milho, trigo e arroz), raízes (mandioca) e tubérculos (batata).

O amido é constituído pela mistura de dois polímeros, a amilose e amilopectina, cujas estruturas moleculares podem ser observadas na Figura 4. A amilose é essencialmente linear, formada por unidades de glicose, com até 6000 unidades ligadas por ligações α -(1 \rightarrow 4), enquanto que a amilopectina possui uma estrutura ramificada cadeias glicosídicas ligadas através de ligações α -(1 \rightarrow 4) e ramificações em α -(1 \rightarrow 6) (IMBERTY et al., 1991; JENKINS et al., 1993). Um resumo das propriedades físico-químicas da amilose e da amilopectina é apresentado na Tabela 2.

Segundo Souza & Andrade (2000), a parte linear das moléculas de amilopectina forma estruturas helicoidais duplas, que são estabilizadas por ligações de hidrogênio entre grupamentos hidroxila, dando origem às regiões cristalinas dos grânulos. A região amorfa é composta pelas cadeias de amilose e pelas ramificações da amilopectina. De acordo com Rolland-Sabaté et al. (2012), a macromolécula de amilopectina, por possuir um grande

número de ramificações e por apresentar, em geral, uma massa molar maior do que a da amilose, provavelmente possui uma mobilidade bem mais restrita do que a da molécula de amilose.

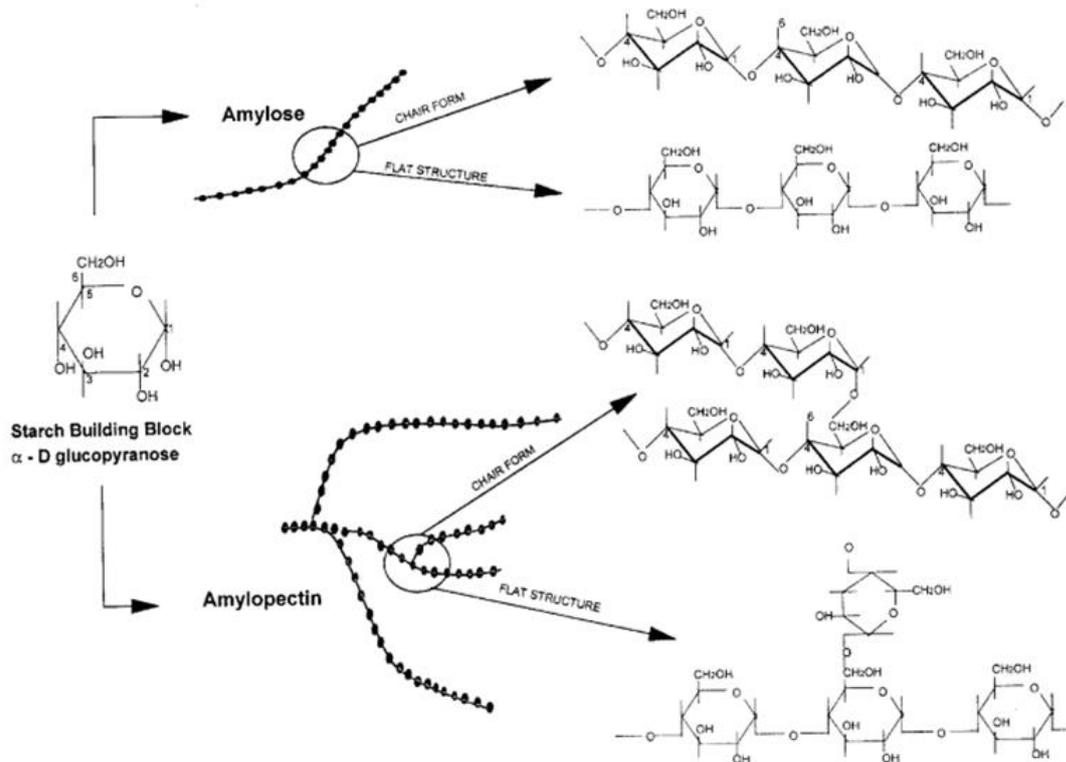


Figura 4. Representação esquemática da estrutura molecular da amilose e da amilopectina, formadas essencialmente por unidades de glicose. (Fonte: COPELAND et al., 2009).

Os componentes amiláceos são naturalmente empacotados em regiões cristalinas para formar a estrutura semicristalina granular do amido. Os amidos cerosos contêm baixo teor de amilose no interior do grânulo, isto produz uma relação mais elevada de cristalinidade entre amilopectina e amilose, produzindo uma estrutura mais plástica (GUTIÉRREZ et al., 2015). Sendo assim, pode-se dizer que quanto maior o conteúdo de amilose, menor será a cristalinidade do grânulo de amido e conseqüentemente, quanto maior o conteúdo de amilopectina, maior será a cristalinidade do grânulo de amido.

A amilopectina é uma molécula altamente ramificada, e suas ramificações de cadeia lateral se entrelaçam para formar as duplas hélices que são as bases dos cristais. Diferentes espécies de amido apresentam distintas proporções de amilose e amilopectina, embora para a maioria das espécies, a quantidade de amilopectina representa cerca de 70% do teor de polissacarídeo total; a arquitetura exata da molécula de amilopectina também é dependente da espécie.

Tabela 2. Resumo das propriedades físico-químicas da amilose e da amilopectina. (Fonte: BALL et al., 1998 e SAJILATA et al., 2006).

Propriedade	Amilose	Amilopectina
Fração percentual no grânulo (%)	15 - 35	65 - 85
Estrutura molecular	Essencialmente linear	Altamente ramificada
Porcentagem de ramificações α-1,6 (%)	< 1	4 - 6
Massa molar (Da)	$10^4 - 10^5$	$10^7 - 10^8$
Grau de polimerização (DP)	$10^2 - 10^3$	$10^3 - 10^4$
Comprimento da cadeia (unidades de glicose)	3 - 1000	3 - 50
Soluções aquosas diluídas*	Instável	Estável
Formação de gel	Firme, irreversível	Leve, reversível
Cor do iodo	Azul	Vermelho-púrpura
Digestibilidade por β-amilase (%)	100	Aprox. 60

*Amilose é, entretanto, solúvel em 0,5 mol.L⁻¹ de KOH, DMSO e formamida.

O grau de cristalinidade dos amidos varia de 20 a 45% (HOOVER, 2001; MUÑOZ et al., 2015). A avaliação dos padrões de cristalinidade dos grânulos de amido por ângulo de difração de raios-X tem sido largamente empregada. O padrão A é típico de amidos de cereais (milho, arroz, trigo); o padrão B é característico de amidos de tubérculos (batata), de frutas, de milho com alto teor de amilose e de amido retrogradado; o padrão C, por sua vez, é uma mistura dos precedentes sendo o amido de mandioca um exemplo típico. Classificam-se como tipo C, os amidos que apresentam características de A e B, mas predominantemente do tipo A. Este tipo compreende os amidos de leguminosas, como por exemplo, a ervilha e algumas variedades de feijão (HULLEMAN et al., 1999; COPELAND et al., 2009). Durante a análise por difração de raios-X, são verificados picos de maior intensidade nos seguintes ângulos:

- 2 θ : 15°; 17°; 18° e 23°, para o tipo A, típico dos amidos de cereais;
- 2 θ : 5,6°; 15°; 17°; 22° e 23°, para o tipo B, mais comum nos amidos de tuberosas, sendo o representante típico de batata com o pico em 5,6°.

As principais diferenças entre as cristalinidades tipo A e tipo B do amido residem na densidade do envelope da dupla hélice e no conteúdo de água relacionado à rede formada (SCHMITT et al., 2015). A estrutura do tipo A é descrita como um envelope monoclinico compacto ($a = 124$ nm, $b = 1,172$ nm, $c = 1,069$ nm e $\gamma = 123,5^\circ$) contendo oito moléculas de água (SARKO & WU, 1974; IMBERTY et al., 1988), enquanto a estrutura do tipo B é descrita como uma célula hexagonal unitária ($a = b = 1,85$ nm e $c = 1,04$ nm) com 6 duplas hélices e uma coluna contendo 36 moléculas de água presentes no centro do arranjo hexagonal. O tipo C, conforme descrito anteriormente, é uma estrutura intermediária entre os tipos A e B, na qual o tipo A abrange o tipo B (JIPING et al., 2007). Cano et al. (2014), Weber, Collares-Queiroz & Chang (2009), Muñoz et al. (2015) e Majzoobi & Beparva (2014) e outros autores avaliaram algumas características de amidos de diferentes fontes e os resultados estão sintetizados e apresentados na Tabela 3.

Tabela 3. Características e propriedades dos amidos de mandioca, batata, milho e trigo.

Propriedade / Amido	Mandioca ¹	Batata ²	Milho ³	Trigo ⁴
Teor de amilose (%)	16-20	18-23	25-28	20-25
Teor de amilopectina (%)	80-84	77-82	72-75	75-80
Razão amilose/amilopectina	1:4,6	1:4	1:2,6	1:3
Padrão de cristal	A, B e C	B	A	A
Índice de Cristalinidade (%)	38	28	14	-
Tamanho médio do grânulo (μm)	5-35	10-40	5-26	13-19
Formato do grânulo	Redondo ou oval	Oval	Poliédrico e arredondado	Lenticular

Fontes: ¹ Cano et al. (2014), ² Weber, Collares-Queiroz & Chang (2009), ³ Muñoz et al. (2015) e ⁴ Majzoobi & Beparva (2014).

Processo de gelatinização e retrogradação do amido

No processo de fabricação dos filmes pela técnica de *casting* (explicada posteriormente no item 2.5), primeiramente, deve ocorrer a gelatinização do amido, que

corresponde ao processo de transformação do amido granular em pasta viscoelástica. No processo de gelatinização ocorrem mudanças irreversíveis na estrutura do grânulo de amido que influenciam significativamente suas propriedades (ZAIDUL et al., 2008). Isso acontece porque durante o aquecimento de dispersões de amido em presença de excesso de água, inicialmente ocorre o inchamento dos grânulos até temperaturas nas quais ocorrerá seu rompimento (intervalo de temperatura de gelatinização), com destruição da ordem molecular do amido (SOUZA & ANDRADE, 2000). Esse intervalo pode ser determinado por calorimetria exploratória diferencial (DSC), o intervalo de temperatura de gelatinização reflete a facilidade ou a dificuldade de cozimento do amido. Na Tabela 4 estão apresentados os intervalos de temperatura de gelatinização de alguns amidos (NODA et al., 2003; ZAIDUL et al., 2008; BAO et al., 2009).

Tabela 4. Intervalos de temperatura de gelatinização de alguns amidos.

Amido	Intervalo de temperatura de gelatinização (°C)
Batata	56 – 66
Mandioca	58 – 70
Milho	62 – 72
Trigo	52 – 63
Arroz	61 – 77
Milho ceroso	63 – 72

Fonte: NODA et al., 2003; ZAIDUL et al., 2008; BAO et al., 2009.

Durante a gelatinização, inicialmente, a água penetra na região amorfa promovendo o inchamento do grânulo e decréscimo da birrefringência (propriedade que indica o grau de organização molecular do amido). Com o aumento da temperatura, o movimento térmico das moléculas e a solvatação por forças de inchamento levam a um decréscimo da ordem e perturbação das regiões cristalinas com o desenrolamento das duplas-hélices até a completa perturbação da estrutura granular amilácea e obtenção de um gel (SWINKELS, 1985). A amilopectina absorve muita água durante a cocção do amido, sendo a principal responsável pelo inchamento do grânulo. Enquanto que a amilose contribui para o aumento da viscosidade da fase contínua da dispersão amido-água durante o aquecimento do grânulo de amido em meio aquoso. Portanto, amidos ricos em amilopectina são mais solúveis em água do que os que contêm muita amilose (GALLANT et al., 1997).

Na Figura 5 está representado o mecanismo de gelatinização do amido, onde em (a) estão os grânulos de amido contendo amilose (cadeia linear) e amilopectina (cadeia ramificada); em (b) após adição de água ocorre uma desorganização molecular, seguida pela redução da cristalinidade e os grânulos de amido tendem a inchar; em (c) a adição de calor em excesso de água promove maior inchamento, promovendo uma tendência de difusão da amilose para fora do grânulo; em (d) os grânulos, agora compostos majoritariamente por cadeias de amilopectina, sofrem um colapso e são mantidos em uma matriz de amilose formando uma estrutura tipo gel (LAI & KOKINI, 1991; ZHOU et al., 2002).

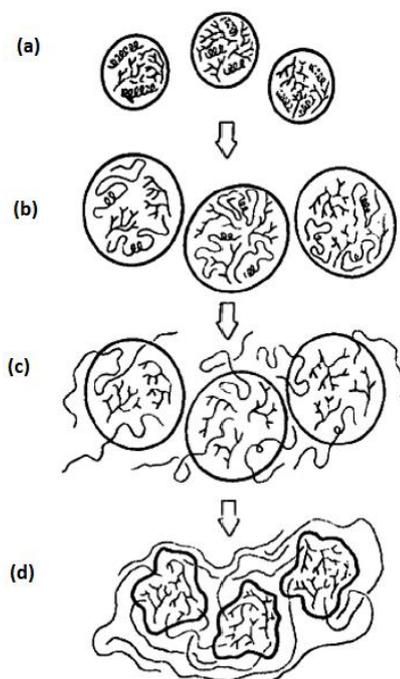


Figura 5. Mecanismo do processo de gelatinização do amido: (a) grânulos de amido, (b) desorganização molecular e redução da cristalinidade, (c) aumenta o inchamento e ocorre a difusão da amilose para o grânulo e (d) colapso dos grânulos e formação de uma estrutura tipo gel (Fonte: LAI e KOKINI, 1991).

Quando soluções de amido são resfriadas à temperatura ambiente, ou mesmo temperaturas mais baixas (congelamento), ocorre a formação de géis ou de precipitados microcristalinos, dependendo da concentração das soluções e da velocidade de resfriamento. Soluções concentradas e resfriadas rapidamente tendem a formar géis, enquanto soluções mais diluídas, deixadas em repouso, tendem a precipitar. Esses precipitados cristalinos são formados devido à tendência para formação de ligações intermoleculares da fração linear (amilose); isso não acontece com a amilopectina, uma vez que essa associação é dificultada pela presença de ramificações. Esse fenômeno, conhecido como retrogradação do amido, é

acelerado pelo congelamento de soluções aquosas. As ramificações da amilopectina impedem ou dificultam a aproximação dessas cadeias, o que faz com que a amilopectina permaneça em solução. No processo de retrogradação ocorre a liberação de moléculas de água que anteriormente estavam ligadas às cadeias de amilose, e esse fenômeno é denominado sinérese (LAI & KOKINI, 1991; BOBBIO & BOBBIO, 2003).

Um esquema representativo do efeito da temperatura durante o aquecimento e o resfriamento de suspensões aquosas de amido em função da viscosidade está apresentado na Figura 6, onde se verifica que durante a fase inicial de aquecimento, ocorre um aumento na viscosidade devido ao inchamento dos grânulos. Um pico de viscosidade é obtido durante a formação da pasta, quando a maioria dos grânulos está totalmente inchada. Durante a fase de temperatura constante (~95 °C), os grânulos começam a se romper e ocorre a completa dispersão (solubilização) do biopolímero. Finalmente, durante a fase de resfriamento, moléculas de amilose e amilopectina solubilizadas começam a se reassociar e outro aumento na viscosidade é registrado. Este segundo aumento da viscosidade está relacionado ao processo de retrogradação (TSAI et al., 1997; MATSUGUMA, 2006).

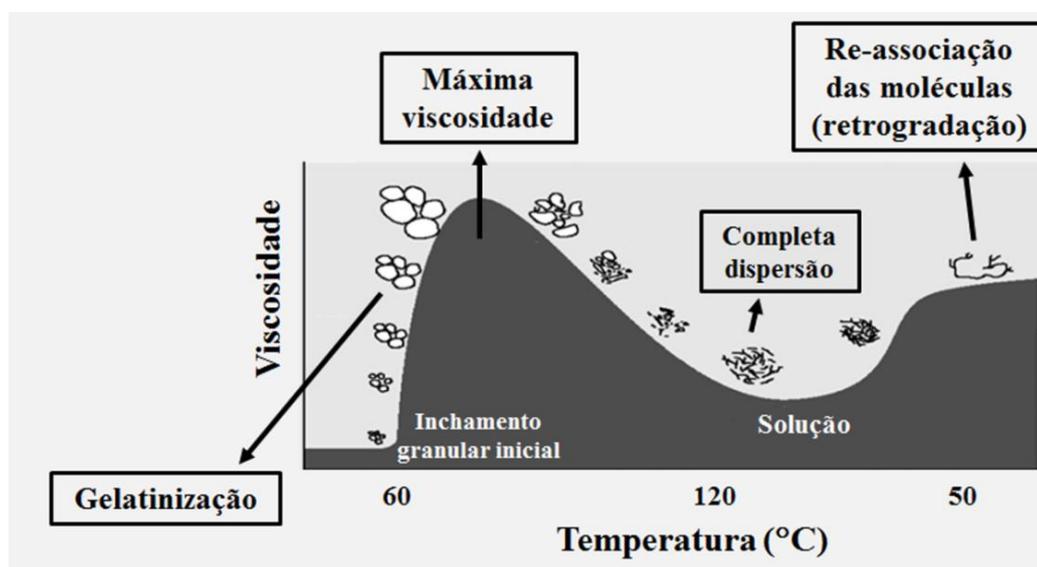


Figura 6. Representação esquemática das etapas de aquecimento e resfriamento de soluções de amido em função da viscosidade. (Fonte: MATSUGUMA, 2006).

A retrogradação é um fenômeno que ocorre quando, com o passar do tempo, as moléculas de amido perdem energia e as ligações de hidrogênio tornam-se mais fortes, de modo que ocorre reorganização das cadeias. Essa reassociação permite a formação de áreas cristalinas, alterando o índice de refração e a viscosidade da pasta, convertendo-se num sistema viscoelástico ou em concentrações de amido suficientemente altas (superior a 6%)

(DENARDIN & SILVA, 2009). Resumidamente, Van Soest & Vliegenthart (1997) descrevem que o processo de retrogradação em amido é representado por mudanças estruturais, tais como a ocorrência de cristalização.

A retrogradação é um processo que ocorre quando as moléculas de amido gelatinizado começam a se reassociar em uma estrutura ordenada. Desta forma, fatores como temperatura, tamanho e concentração dos grânulos e a presença de outros compostos podem influenciar o comportamento do amido (HOOVER, 1995; JANE et al., 1999; ZAVAREZE et al., 2009). O processo de retrogradação do amido ocorre em dois diferentes estágios: o primeiro e mais rápido, ocorre devido à retrogradação da amilose, e o segundo, que ocorre mais lentamente, é devido à formação de uma estrutura ordenada de amilopectina (FORSSELL et al., 1999; SELIGRA et al., 2016).

2.3.2. 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 & KHOCHTA, 1994). Os plastificantes alteram a flexibilidade dos filmes devido à habilidade de reduzir as ligações de hidrogênio, quando estas existem, entre as cadeias dos polímeros e, desta forma, interferir nos espaços moleculares (MALI et al., 2002).

A eficácia do plastificante está associada às suas propriedades intrínsecas: tamanho molecular, formato, número de grupos hidroxila, espaçamento de átomos de oxigênio, capacidade de ligação à água, entre outros. Além disso, também está associada com a configuração do biopolímero, isto é, a compatibilidade do plastificante com o biopolímero influencia na distribuição e formação da estrutura tridimensional do filme (NGUYEN & LUMDUBWONG 2016; SABERI et al., 2017).

Segundo Zhang & Han (2006), durante a gelatinização dos grânulos de amido, conforme comentado anteriormente, as moléculas de amilose e amilopectina são liberadas para a solução e acabam interagindo, principalmente, mediante ligações de hidrogênio. De acordo com Liu & Han (2005), sem adição de plastificantes, a amilose e a amilopectina formam filmes com estrutura bifásica, uma fase rica em amilose e outra fase rica em amilopectina. Além disso, as interações entre as moléculas de amilose e amilopectina podem ser tão fortes que os filmes de amido sem plastificante tornam-se rígidos e quebradiços. A

existência dos plastificantes nas soluções formadoras de filmes à base de amido ajuda a formar um filme flexível.

Na Figura 7 está apresentada a estrutura química da molécula de glicerol (1,2,3-propanotriol, $C_3H_8O_3$), um álcool simples, sendo este um dos plastificantes mais utilizados em filmes comestíveis (LAOHAKUNJIT & NOOMHORM, 2002) devido a sua baixa massa molar (92 g mol^{-1}). Durante o processo de transesterificação do biodiesel, combustível alternativo produzido a partir do óleo vegetal em relação àqueles produzidos a partir de fontes fósseis, ocorre a geração de glicerina (ou glicerol) como subproduto. No ano de 2000, a produção de glicerol foi de 800 mil toneladas por ano; a produção de glicerol advinda de biodiesel (na Europa e nos EUA) em 2000 já era de 10% do total. Desta forma, a busca por novas aplicações para o excedente de glicerina gerada durante a produção de biodiesel é essencial e necessária.

Na Figura 7 também está representada a estrutura química da molécula de sorbitol ($C_6H_{14}O_6$), sendo este um poliálcool, naturalmente presente em diversas frutas, tais como maçã e ameixa. Assim como o glicerol, o sorbitol também é um plastificante muito utilizado como agente plastificante no desenvolvimento de filmes poliméricos, uma vez que também possui baixa massa molar (182 g.mol^{-1}). Devido à presença de seis grupos hidroxilas, este composto pode interagir com as cadeias poliméricas de amilose e amilopectina formando ligações de hidrogênio intra e intermoleculares (SABERI et al., 2017).



Figura 7. Estrutura química das moléculas de glicerol e de sorbitol.

Pesquisas mostram que a adição de glicerol em filmes de amido reduz a fragilidade dos filmes. Por outro lado, o uso deste plastificante, em geral, aumenta a afinidade dos filmes com a água (MALI, KARAM & PEREIRA-RAMOS, 2004, CHANG et al., 2006; GODBILLOT et al., 2006, MÜLLER et al., 2009). Segundo Laohakunjit & Noomhorm (2002), o uso do sorbitol e do glicerol como plastificantes em filmes de amido de arroz (30% amilose) promoveu maior homogeneidade e aparência mais lisa quando comparados com os

filmes produzidos sem plastificantes. O aspecto visual e o percentual de alongação dos filmes melhoraram com o aumento das concentrações de glicerol e sorbitol, assim como, em alguns casos, dependendo da quantidade adicionada e do processo utilizado, houve uma melhora nas propriedades de barreira ao vapor d'água e ao oxigênio.

Os plastificantes atuam diminuindo as forças intermoleculares entre as cadeias de amido, provocando uma redução da temperatura de transição vítrea da solução e, de modo geral, a resistência mecânica diminui e a flexibilidade aumenta com o incremento da concentração do plastificante. Contudo, vale ressaltar que os plastificantes influenciam todas as propriedades funcionais dos filmes, não somente as propriedades mecânicas (MALI et al., 2010). A permeabilidade ao vapor de água tende a aumentar com o incremento do teor de plastificantes hidrofílicos, como é o caso dos polióis, em especial o glicerol.

2.4. Filmes poliméricos produzidos a partir do amido

Um dos primeiros filmes plásticos biodegradáveis utilizados comercialmente foi o celofane (obtido a partir do xantato de celulose), material flexível, transparente e com boas propriedades mecânicas, porém, sensível à umidade. Na década de 1970, as pesquisas se voltaram para a introdução de amido em matrizes poliméricas sintéticas, na proporção de 5 a 20% em massa, levando à obtenção de plásticos considerados biofragmentáveis, mas não totalmente biodegradáveis. A partir da década de 1990, houve um aumento no interesse de desenvolvimento de materiais termoplásticos, compostos essencialmente por amido, envolvendo a adição de plastificantes para melhorar as propriedades mecânicas. A busca por materiais com durabilidade, quando em uso, e elevada capacidade de degradação após o descarte vem aumentando nas últimas décadas, neste contexto, os polímeros biodegradáveis vêm se destacando cada vez mais.

Recentemente, uma série de materiais poliméricos derivados do amido de milho tem surgido na indústria, como é o caso do Mater-Bi da Novamont e BIOMIND da Cabopol. Devido ao seu elevado teor de matérias-primas renováveis e as propriedades de biodegradabilidade e compostabilidade, o uso do Mater-Bi (Novara, Itália) permite reduzir o impacto ambiental através da combinação de amidos, celulose e óleos vegetais. A Cabopol (Porto de Mós, Portugal) iniciou a produção do BIOMIND, um novo composto termoplástico biodegradável destinado à produção de artigos domésticos descartáveis, sacos para lixo, embalagens alimentares, sacos de compras, filmes agrícolas e muitas outras aplicações de uso

doméstico, industrial e agrícola, usando processo de extrusão.

Mais recentemente, a Biomater Bioplásticos (São Paulo, SP, Brasil) em parceria com a Universidade de São Paulo (USP), Universidade Federal de São Carlos (UFSCar), outras instituições e empresas alemãs (BIOTEC) estão alavancando o mercado nacional de bioplásticos. A Biomater foca na substituição gradativa dos polímeros convencionais de fonte fóssil pelos polímeros obtidos a partir de fontes renováveis, tais como PLA e fécula de batata. Os bioplásticos compostáveis podem ser utilizados em diversos tipos de aplicação, como por exemplo: na agricultura, na produção de filmes em geral, em artigos de cutelaria (instrumentos para cortar) e como embalagens para alimentos. Vale ressaltar que um dos últimos investimentos em pesquisa realizado pela Biomater foi designado à produção de cápsulas descartáveis para café, uma vez que requerem alta resistência à temperatura. Todos os produtos são 100% biodegradáveis e compostáveis de acordo com as normas EN 13432, ASTM 6400, ABNT 15448-1 e ABNT 15448-2.

Entretanto, Larotonda (2002) ressalta também que poucos países possuem a capacidade de produzir amido (carboidratos em geral) em larga escala como o Brasil. Atualmente existem milhares de patentes e publicações com filmes à base de amido. A pesquisa no site *Web of Science* (realizada em 27 de novembro de 2017) confirma esta informação, visto que mais de 1500 trabalhos foram encontrados utilizando as palavras “*starch food films*” na busca.

Em escala industrial, os filmes de amido são obtidos via processamento térmico onde ocorre a fusão do amido; processos de injeção, compressão, extrusão/sopro e extrusão/calandragem são geralmente usados. No entanto, em escala laboratorial, a técnica mais utilizada corresponde ao espalhamento da solução filmogênica, denominado *casting*. Na técnica do tipo *casting*, após a gelatinização térmica dos grânulos de amido em excesso de água, a amilose e a amilopectina se dispersam na solução aquosa e, durante a secagem, se reorganizam, formando uma matriz contínua que dá origem aos filmes (MALI et al., 2010). Um esquema representativo do processo de produção de filmes por *casting* é apresentado na Figura 8; as soluções filmogênicas pós gelatinização do amido são vertidas em placas; em seguida, é realizada a etapa de evaporação do solvente através da utilização de condições ambiente e/ou em secador com convecção forçada de ar, em temperatura constante por um determinado período de tempo.

O mecanismo de formação de filmes de amido depende da concentração de sólidos totais 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 (LIU & HAN, 2005).

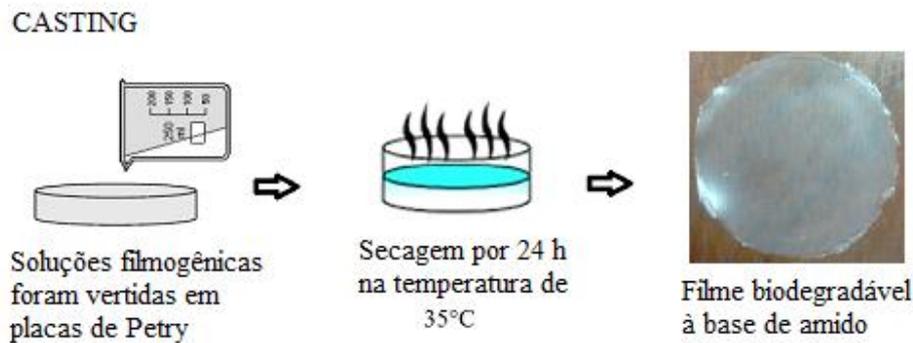


Figura 8. Esquema representativo do processo de espalhamento (*casting*) utilizado para produção dos filmes biodegradáveis à base de amido.

As propriedades estruturais finais dos filmes à base de amido dependem de vários fatores, tais como: a fonte de amido; a proporção de amilose/amilopectina; o grau de cristalinidade; as interações entre o amido e os plastificantes utilizados; o método de processamento utilizado para o desenvolvimento dos filmes, entre outros (ORTEGA-TORO et al., 2014; LÓPEZ et al., 2015). Conforme comentado anteriormente, o processamento por via úmida ou *casting* é o método mais utilizado para o desenvolvimento de filmes de amido em escala laboratorial (BASIAK et al., 2016, LUCHESE et al., 2015, MONTERO et al., 2017). No entanto, o processo de moldagem por compressão é um método de processamento particularmente mais adequado para a produção industrial, devido à sua simplicidade e à redução do tempo do processo, portanto, possui maior potencial do ponto de vista industrial (CASTILLO et al., 2015, MORENO et al., 2015; NINAGO et al., 2015). Além disso, o processo de formação de filme pode influenciar nas propriedades óticas incluindo medidas de opacidade, cor e brilho (MONEDERO et al., 2009; GARRIDO et al., 2013).

Durante o processamento de filmes por *casting*, a água utilizada para fabricação das soluções filmogênicas atua de forma eficaz como um plastificante, no entanto, durante o processamento de filmes por compressão em que menores quantidades de água são usadas e as temperaturas de processamento são superiores a 100 °C, torna-se ainda mais importante a incorporação de agentes plastificantes, como por exemplo, glicerol e/ou sorbitol. A adição desses compostos aumenta a faixa de temperaturas de processo e permite o desenvolvimento de filmes flexíveis em larga escala (GUERRERO et al., 2010; VIEIRA et al., 2011; DU et al., 2015).

O processo de moldagem por compressão é uma das mais antigas técnicas de processamento de materiais. Para os materiais plásticos, foi um dos primeiros métodos utilizados industrialmente, com equipamentos existentes há pelo menos 100 anos. A execução de um ciclo de moldagem por compressão é bastante simples. Na Figura 9 está representada uma visão conceitual esquematizada, onde é possível verificar que o processo é dividido em quatro estágios distintos. Em primeiro lugar, o material é vertido, ou posicionado, na metade inferior do molde. O pré-aquecimento dos moldes é realizado a fim de garantir que ambas as partes (superior e inferior) estejam aquecidas. Em seguida, é aplicada uma determinada pressão para compactar a amostra. A amostra pressurizada também utiliza o calor presente e uma reação química (no caso de um polímero termofixo) promove a realização da transformação dessa amostra. No terceiro passo, a amostra continua a ser transformada à medida que a pressão e a temperatura são mantidas. Finalmente, a última fase mostra a liberação da peça, com a ajuda de um pino ejetor, a partir da metade inferior do molde à medida que o molde é aberto. Esta sequência se aplica a todos os moldes de compressão, embora haja uma grande variedade de características de amostras, design das cavidades dos moldes e parâmetros de moldagem a serem utilizados (TATARA, 2017).

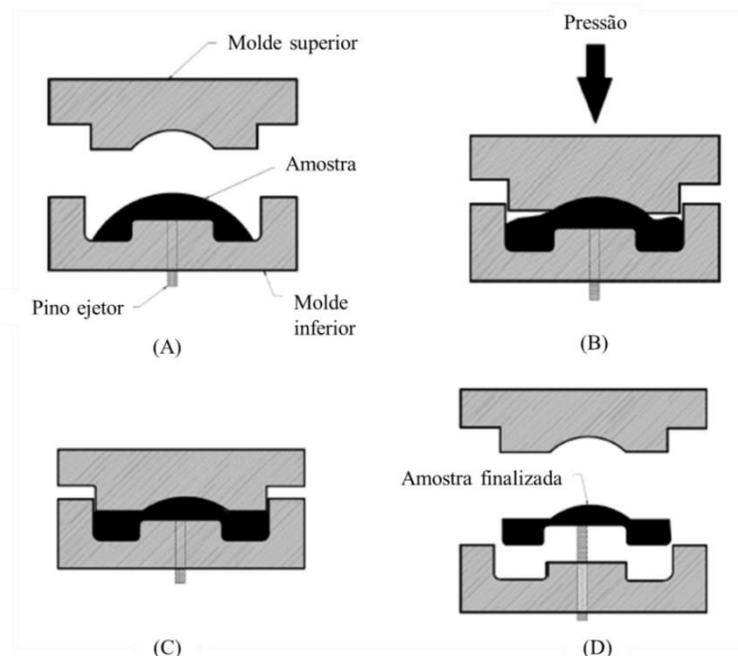


Figura 9. O processo de moldagem por compressão como descrito por um procedimento simplificado de quatro passos: (A) carregamento da amostra no molde; (B) compactação da carga no molde pré-aquecido; (C) processo de transformação dentro da cavidade do molde; (D) remoção/extração da amostra solidificada. (Fonte: TATARA, 2017).

2.5. Caracterização dos filmes

Vários produtos alimentícios perdem qualidade e/ou deterioram devido à absorção de umidade do ambiente, isso acontece, por exemplo, em alimentos desidratados e misturas em pó que empedram, ou em biscoitos e bolachas que perdem a crocância. Outros efeitos indesejados também podem surgir como, crescimento de fungos e bactérias, surgimento de mau cheiro e mudança aparente na coloração. Assim, um dos principais papéis de uma embalagem de alimentos é atuar como barreira seletiva que controla a permeação de vapor de água entre o ambiente externo e o produto em seu interior, de modo a lhes assegurar estabilidade. Além disso, as embalagens têm como função proteger o produto de danos físicos e choques mecânicos, e evitar a permeação de gases e odores (SARANTÓPOULOS et al., 2002).

Além de barreira ao vapor d'água, os filmes podem ser utilizados visando à permeação controlada de gases como o oxigênio e o dióxido de carbono, ou de compostos aromáticos e lipídicos (GIANCONE et al., 2008). Na Figura 10 estão contemplados os possíveis sistemas de transferência de massa entre o produto e o meio circundante, sendo a embalagem uma barreira seletiva para tais trocas.

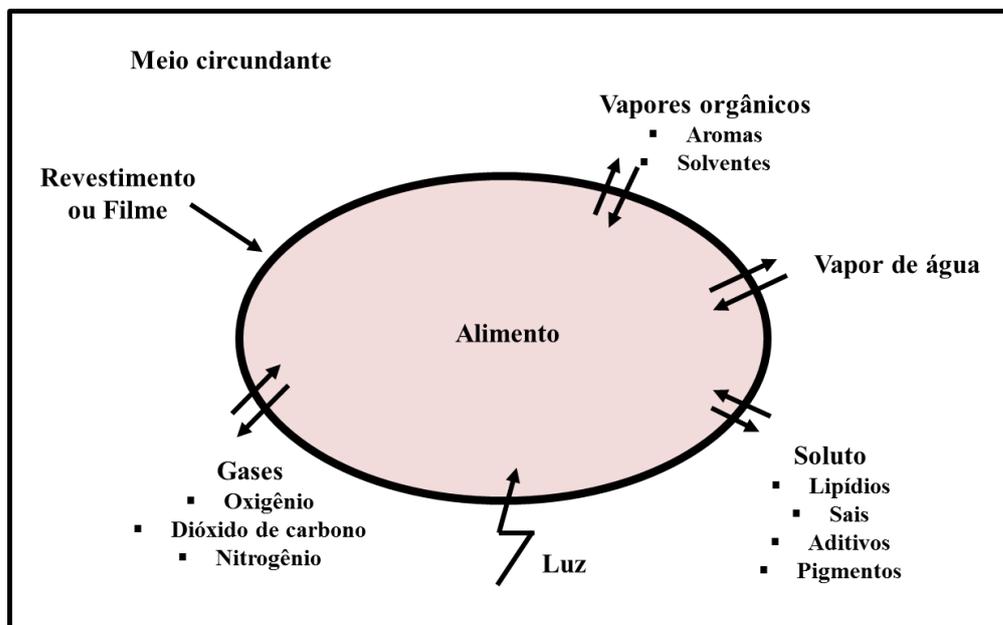


Figura 10. Funções seletivas de filmes e revestimentos. Fonte: Adaptado de Debeaufort et al. (1998).

Os itens seguintes focam nos fundamentos e na importância das propriedades de barreira ao vapor de água e a gases, assim como das propriedades mecânicas de filmes flexíveis.

2.5.1. Propriedades de barreira ao vapor de água

Para filmes hidrofílicos, a permeabilidade ao vapor de água é uma das propriedades mais discutidas, pois é influenciada pelas características intrínsecas do material, pelo teor do plastificante e pelas condições ambientais de umidade relativa e temperatura às quais os filmes estão expostos (MÜLLER, LAURINDO & YAMASHITA, 2009). A Norma ASTM E96 (1995) define permeabilidade como a taxa de transmissão de vapor de água através da unidade de área do material plano, a uma determinada espessura, induzida pela diferença de pressão de vapor entre duas superfícies específicas, sob condições de temperatura definidas.

A permeabilidade ao vapor de água (PVA) de filmes depende 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 (estado vítreo ou elastomérico). A interação entre o polímero formador do filme, do plastificante ou outros aditivos são fatores igualmente importantes na permeabilidade do filme (GARCÍA, MARTINO & ZARITZKY, 2000). A permeabilidade ao vapor de água através de filmes geralmente ocorre através da parte hidrofílica, assim, a razão hidrofílico/hidrofóbica irá influenciar na PVA. A permeabilidade também é dependente do tamanho dos poros do filme. Sarantópoulos, Oliveira & Canavesi (2001) destacam que polímeros com muitas ligações de hidrogênio, como é o caso do amido, produzem filmes que são mais suscetíveis à umidade, ou seja, possuem elevados valores de PVA. 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 volumétrico pela espessura do material de embalagem, dividido pela diferença de pressão de vapor entre as superfícies do material (ASTM E96-95, 1995).

A permeabilidade do vapor d'água é baseada na lei de Fick de difusão de massa; 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 do permeante na superfície do material, difusão do permeante através do material devido à diferença de potencial químico expresso em termos de um gradiente de concentração e dessorção do permeante na outra face do material.

A permeabilidade depende fortemente da interação entre a matriz polimérica e o gás permeante e das condições ambientais como temperatura e umidade (GARCÍA, MARTINO & ZARITZKY, 2000). Em alguns casos, os resultados de permeabilidade podem ser usados para melhor entender o possível mecanismo de transferência de massa que ocorre entre o material e o permeante, assim como, é possível verificar se ocorre interação polimérica (solubilização ou migração de monômeros) da estrutura filmôgenica com o ambiente e/ou com o alimento (BERTUZZI et al., 2007).

Phan et al. (2005) encontraram alguns resultados de permeabilidade ao vapor de água em filmes de diferentes fontes. Segundo os autores, o tipo de amido influenciou nos resultados, sendo que os filmes de amido de arroz ceroso (*waxy starch*, amido particularmente rico em amilopectina, extraído a partir de cereais mutantes) foram os filmes com maior permeabilidade, seguido de filmes de amido de arroz não-ceroso, ágar e amido de mandioca.

Os valores de permeabilidade ao vapor de água são essenciais para definir as possíveis aplicações dos filmes no setor de embalagens. Resumidamente, um material que é muito permeável ao vapor de água pode ser adequado como embalagem para produtos frescos ou “*in natura*”, como por exemplo, na conservação de massas frescas (ANDRADE-MOLINA et al., 2013) enquanto que um filme menos permeável pode ser útil como embalagem para produtos desidratados (PAGNO et al., 2015).

Adicionalmente, diversos trabalhos avaliam o efeito dos plastificantes em filmes de amido, no entanto, nem sempre os resultados encontrados apresentam concordância, visto que as interações entre esses componentes são de natureza complexa. Caner et al. (1998) verificaram que nos filmes produzidos sem adição de plastificante ocorre a presença de microfissuras que aumentam a permeabilidade dos filmes. Por outro lado, em geral, a adição de plastificante em filmes de amido promove um aumento da afinidade do sistema em relação à captação de água, devido a sua natureza hidrofílica, levando a um aumento da permeabilidade ao vapor de água (SOTHORNVIT & KROCHTA, 2000; PINHEIRO et al., 2010). Entretanto, na maioria dos casos, a obtenção de baixos valores de permeabilidade ao

vapor de água é requerida, uma vez que pode auxiliar na prevenção da condensação do vapor de água, minimizando possíveis problemas por contaminação microbiana (PARK et al., 1994).

Sendo assim, a adição de compostos lipídicos, com propriedades hidrofóbicas, aos filmes de polissacarídeos pode ser realizada objetivando diminuir a PVA. A incorporação de substâncias como óleos vegetais e surfactantes em filmes com amido pode diminuir a hidrofilicidade, favorecendo as aplicações destes como embalagens. Diversos tipos de agentes lipídicos podem ser adicionados, como por exemplo: óleo de girassol, ácido oleico, óleo de milho, óleo de alho, entre outros (PRANOTO et al., 2005; BRAVIN et al., 2006; VARGAS et al., 2009). García, Martino & Zaritzky (2001) mostraram que a adição de 10% de óleo de girassol nas formulações diminuiu consideravelmente a PVA dos filmes à base de amido de milho. Song et al. (2017) realizaram adição de 2% (v/v) de óleo essencial de limão em formulações de amido de trigo e apresentaram aproximadamente 16% de redução nos valores de PVA. Assis et al. (2017) verificaram que foi necessária a incorporação de pelo menos 8% de licopeno em formulações de filmes de amido de mandioca para que houvesse uma redução significativa na permeabilidade ao vapor de água das amostras.

2.5.2. Propriedades de barreira a gases

Os valores desejados para as propriedades de barreira dependem da aplicação dos filmes flexíveis. Alta permeabilidade ao oxigênio é desejada para filmes utilizados no acondicionamento de carnes vermelhas frescas, uma vez que a transferência do oxigênio permite a formação de oximioglobina, pigmento responsável pela cor característica do produto. No caso de alimentos ricos em lipídios, deseja-se baixa permeabilidade ao oxigênio, a fim de evitar a formação de radicais livres e desenvolvimento de odor e sabor de ranço em virtude do processo de oxidação.

Segundo Rindlav et al. (1997), 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, esse comportamento também pode ocorrer para os filmes de amido.

A comparação entre os valores de taxa de permeabilidade a gases em filmes muitas vezes é difícil de ser realizada, uma vez que diferentes condições operacionais são utilizadas para a realização dos testes. Além disso, diversos fatores podem influenciar nos resultados, tais como: a integridade e espessura do filme, a relação entre as áreas amorfas e cristalinas, a

relação hidrofiliicidade/hidrofobicidade das amostras e a mobilidade da cadeia polimérica, a interação entre o polímero, o plastificante e outros aditivos usados, entre outros.

Filmes de amido de ervilha (3, 4 e 5%) contendo glicerol (0, 10 e 20%), goma xantana (0, 0,05 e 0,1%) e água destilada produzidos por *casting* apresentaram valores de permeabilidade ao oxigênio variando de 5 a 18 mL m⁻² dia⁻¹ (MATTA, 2009). Filmes de amido (2, 5 e 8%) com alto teor de amilose desenvolvidos por Pagella et al. (2002) pela técnica de espalhamento (*casting*) apresentaram valores de permeabilidade ao oxigênio de aproximadamente 130 mL m⁻² dia⁻¹. Desta forma, em comparação com a permeabilidade ao oxigênio dos filmes comerciais de polietileno de alta densidade (PEAD) e polietileno de baixa densidade (PEBD), aproximadamente 3000 e 10000 mL m⁻² dia⁻¹, respectivamente (GARCIA et al., 2000), os filmes de amido possuem elevada propriedade de barreira ao oxigênio.

A permeabilidade depende da interação entre o polímero da matriz e o gás que permeia, bem como as condições ambientais, tais como temperatura e umidade relativa. Os trabalhos citados a seguir, referem-se aos testes de permeabilidade de gases realizados na temperatura ambiente. Spada et al. (2014) produziram filmes de amido de pinhão, goma xantana e glicerol e encontraram valores de permeabilidade para N₂ e CO₂ de 42,7 ± 1,8 e 36,4 ± 1,6 Barrer, respectivamente. Bifani et al. (2007) encontraram permeabilidade ao CO₂ de 40,9 ± 0,9 Barrer para filmes feitos com carboximetilcelulose, glicerol e óleo de girassol. Os valores mais baixos (entre 3 e 29 Barrer) em relação à permeabilidade CO₂ foram obtidos para filmes de *amylomaize* (amido extraído de milhos mutantes, rico em amilose) e amido de milho, com sorbitol ou glicerol (GARCÍA, MARTINO & ZARITZKY, 2000). Materiais sintéticos como o polietileno de baixa densidade (PEBD) também mostram baixa permeabilidade ao CO₂ (9,4 Barrer).

É importante ressaltar que ambientes com altos níveis de CO₂ e N₂ reduzem as taxas de respiração e produção de etileno, retardando o processo de deterioração de produtos alimentares, como frutas e legumes. Por conseguinte, uma elevada permeabilidade a estes gases é necessária para os filmes quando utilizado para esta finalidade. Entretanto, a fim de testar a aplicabilidade dos filmes em alimentos vegetais, tais como legumes e frutas, também são necessários estudos de permeabilidade com outros gases, tais como O₂ e etileno.

2.5.3. Propriedades mecânicas

O uso para o qual os filmes são destinados requer uma clara compreensão das propriedades mecânicas, tais como: resistência à tensão (TS) e alongação na ruptura (E).

Esses parâmetros relacionam propriedades mecânicas de filmes com as suas estruturas químicas e dependem fortemente da composição do filme. Três propriedades, tensão na ruptura, alongação na ruptura e módulo de Young (MY) ou módulo de elasticidade, podem ser obtidas através dos testes de tração. Resistência à tensão indica a tensão de tração máxima que o filme pode sustentar, alongação na ruptura representa a alteração máxima no comprimento de uma amostra de teste antes de romper, e módulo de Young é uma medida da rigidez do filme, calculado pela razão entre tensão e deformação da mesma (PEREDA, AMICA & MARCOVICH, 2012; VICENTINI, 2003).

A fim de promover um melhor entendimento da análise de propriedades mecânicas, na Figura 11, está representada uma curva característica da relação entre tensão e deformação de filmes flexíveis sintéticos. Inicialmente o material oferece resistência crescente à solitação de tração, a qual provoca seu alongamento, que é totalmente reversível. A partir do ponto A (limite de proporcionalidade do material), o aumento de resistência passa a ser menor para um mesmo aumento de deformação até o ponto de escoamento (B), a partir do qual a força requerida para deformar a amostra diminui e, uma vez cessada a tensão, o material estará permanentemente deformado. Com o decorrer do alongamento, o material resiste até que ocorra a ruptura no ponto C. A tensão neste ponto é denominada de tensão na ruptura e corresponde a deformação na ruptura ou alongação na ruptura. O módulo de Young representa a inclinação da curva tensão versus deformação, dentro do limite elástico (SARANTÓPOULOS et al, 2002; VICENTINI, 2003).

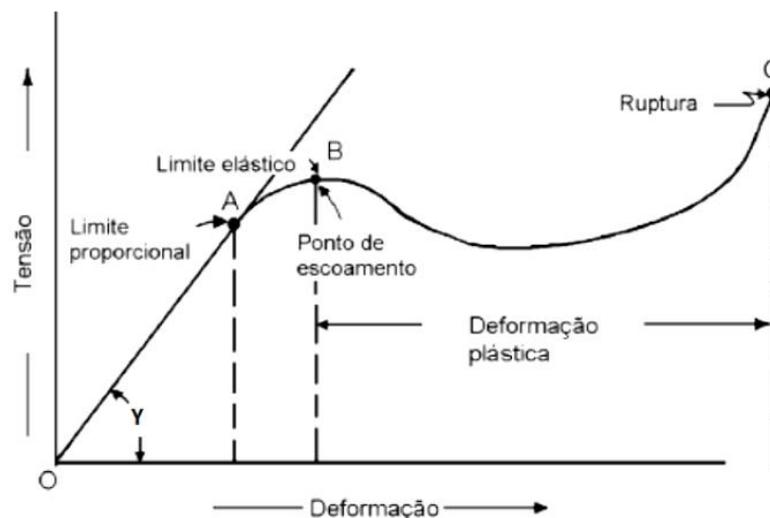


Figura 11. Curva de tensão versus deformação de filme sintético flexível, onde (A) representa o limite de proporcionalidade do material, (B) representa o ponto de escoamento e (C) o ponto de ruptura (Adaptado de Miltz, 1992).

As propriedades mecânicas dos filmes dependem das interações entre os componentes, ou seja, da formação de ligações moleculares fortes ou numerosas entre as cadeias. A interação de proteínas, hidrocolóides e outros aditivos incluindo água, plastificantes e compostos bioativos desempenha um papel importante na TS e E dos filmes (BOURBON et al., 2011). Hidrocolóides, que geralmente requerem plastificação mostram menor resistência à tensão, mas sua deformação é principalmente dependente do conteúdo do plastificante. Em estudo realizado utilizando farinha de banana na elaboração de filmes comestíveis, o aumento do conteúdo de farinha de banana e de pectina melhorou a resistência do filme. Em contraste, o aumento do teor de glicerol (plastificante) reduziu a resistência à tensão e aumentou a flexibilidade (SOTHORNVIT & PITAK, 2007).

2.6. Embalagens ativas e inteligentes

Nos últimos anos, verificou-se um aumento crescente da demanda por alimentos minimamente processados mais frescos, facilmente preparáveis e prontos para comer (*ready-to-eat*). Levando em consideração a necessidade de aumentar o tempo de vida de prateleira dos alimentos, assim como minimizar o risco de contaminação dos alimentos devido aos microrganismos patogênicos, muitas embalagens convencionais sofreram mudanças para atender a essas exigências do mercado atual. Dentro deste contexto, surge o conceito de embalagens ativas e inteligentes, que foram definidas pelo projeto Europeu “Actipak”, conforme apresentado a seguir (AHVENAINEN, 2003).

- Embalagens ativas são aquelas que alteram a condição do alimento embalado para prolongar seu tempo de vida de prateleira ou melhorar a segurança e as propriedades sensoriais, mantendo ao mesmo tempo a qualidade do alimento embalado.
- Embalagens inteligentes são aquelas que monitoram a condição de alimentos embalados para fornecer informações sobre a sua qualidade, traçando os pontos críticos durante o transporte e armazenamento.

Adicionalmente, de acordo com Yam et al. (2005), embalagens inteligentes que utilizam o sistema de identificação por frequência de rádio (RFID) são capazes de detectar, entender, registrar, traçar, comunicar e aplicar a lógica científica para facilitar a tomada de decisão do consumidor. Sendo assim, embalagens inteligentes são sistemas capazes de monitorar as condições dos alimentos em tempo real, facilitando o controle de qualidade de

um produto. Em alguns casos, a informação é comunicada diretamente através de mudanças de coloração.

Vanderroost et al. (2014) ressaltam que as embalagens inteligentes não devem ser confundidas com as embalagens ativas. A embalagem ativa possui uma extensão da função de proteção de embalagens convencionais para produtos, de tal forma que contém agentes que permitem a liberação ou a sorção de substâncias entre o produto embalado e o ambiente circundante. Desta forma, embalagem ativa torna-se um sistema no qual o produto, a embalagem, e o ambiente são capazes de interagir de forma positiva para prolongar o tempo de vida de prateleira, melhorando a qualidade dos alimentos embalados, ou então objetivando alcançar algumas características que não podem ser obtidas de outro modo. As embalagens inteligentes e as embalagens ativas não são mutuamente exclusivas. Ambos os sistemas de embalagem podem trabalhar em sinergia para obter a chamada “*smart packaging*”. Essas embalagens oferecem uma solução completa para os desafios enfrentados pelas embalagens ditas convencionais, pois além de monitorarem as mudanças no produto ou no ambiente (embalagens inteligentes), atuam sobre essas mudanças (embalagens ativas). Embora os conceitos de embalagem inteligente e “*smart packaging*” sejam frequentemente usados alternadamente na literatura, Vanderroost et al. (2014) enfatizam que eles não possuem essa equivalência.

Com o objetivo de situar a pesquisa científica relacionada ao desenvolvimento de embalagens ativas e inteligentes utilizando biopolímeros para a indústria de alimentos no panorama mundial, foi realizada uma busca na plataforma de base de dados do “*Scopus*” (<https://www.scopus.com/> no dia 16.11.2017) com as palavras “*active food packaging and biopolymer*” e “*intelligent food packaging and biopolymer*”. Os resultados referentes ao número de publicações desde 1997 até o presente momento estão apresentados na Figura 12. Observa-se que houve um crescimento expressivo de publicações e estudos nessa área a partir do ano de 2010, demonstrando seu potencial. Contudo, a literatura ainda é um pouco escassa, visto que foram encontradas 2.000 publicações para embalagens ativas e 321 para embalagens inteligentes.

É importante destacar que quando a palavra “*biopolymer*” não foi utilizada nessa busca, uma quantidade substancialmente superior de publicações foi encontrada; 15.751 publicações no caso de embalagens ativas e 3.177 para embalagens inteligentes. Portanto, pode-se concluir que ainda são poucas as pesquisas dedicadas ao estudo da

produção de filmes ativos e inteligentes a partir de biopolímeros, demonstrando a importância e o potencial para o desenvolvimento de pesquisas nessa área.

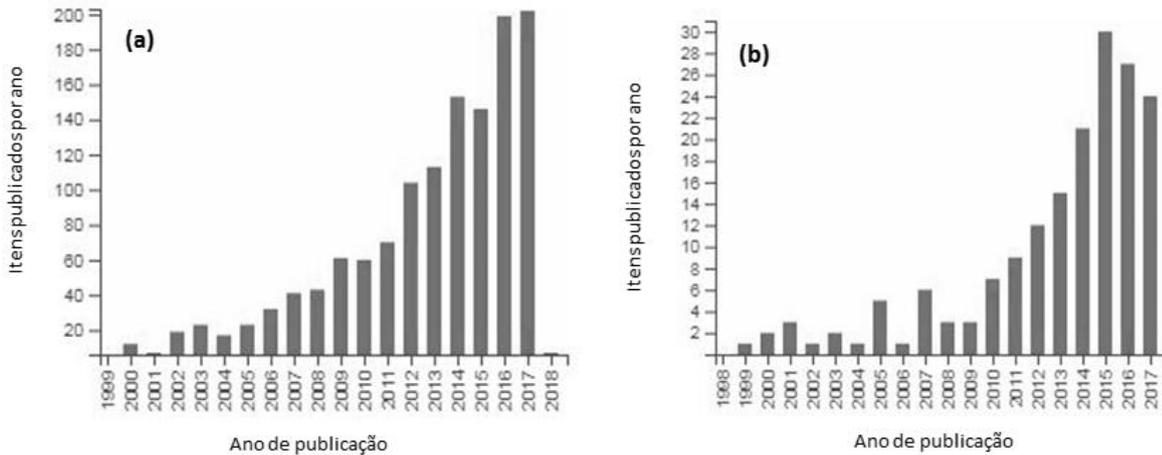


Figura 12. Número de publicações científicas na área de embalagens ativas e inteligentes para alimentos por ano obtidos a partir da plataforma de busca de dados “Scopus” (<https://www.scopus.com/> no dia 16.11.2017) utilizando como palavras-chave (a) “*active food packaging and biopolymer*” e (b) “*intelligent food packaging and biopolymer*”.

Especificando um pouco mais a busca, uma pesquisa utilizando uma combinação de palavras “*active and intelligent food packaging and biopolymer*”, levou a um número de publicações bastante reduzido; foram encontradas somente 269 publicações até o presente momento. É importante ressaltar que a mesma pesquisa foi realizada no início do trabalho, e, no período de 1997 a 2014, foram encontradas somente 126 publicações, permitindo vislumbrar que nos últimos 3 anos houve um aumento expressivo de pesquisas na área de embalagens ativas e inteligentes, qualificando e justificando o estudo desenvolvido nesta tese.

2.6.1. Embalagens ativas

Conforme comentado anteriormente, a embalagem ativa é um tipo de embalagem que mantém ou melhora a qualidade e/ou a segurança do produto pela interação do produto alimentício com o ambiente (KRUIJF & VAN BEEST, 2003, MUÑOZ-BONILLA & FERNÁNDEZ-GARCÍA, 2012). Por exemplo, a liberação de compostos bioativos e/ou antimicrobianos adicionados à embalagem pode retardar a ocorrência de processos químicos e/ou microbiológicos de deterioração, promovendo um aumento no tempo de vida de prateleira de um produto, além de permitir melhoras nas características sensoriais e nutricionais do alimento (OTONI et al., 2016).

Vale ressaltar que a maioria dos trabalhos publicados na área de embalagens ativas avalia a incorporação de agentes antimicrobianos, tais como: óleos essenciais, zeólitas impregnadas com prata, nisina, ácido propiônico, entre outros (APPENDINI & HOTCHKISS, 2002), objetivando conferir um efeito inibitório no desenvolvimento de microrganismos, retardando as reações de deterioração em alimentos e prolongando o tempo de vida de prateleira dos produtos alimentícios. Numa pesquisa realizada no site de busca *Web of Science* (<http://apps- webofknowledge.ez45.periodicos.capes.gov.br/>, em 05/12/2017) usando as palavras-chave “*antimicrobial food packaging*” foram encontrados 1.538 resultados. Além disso, verificou-se uma tendência de crescimento em publicações nessa área de pesquisa nos últimos anos. No entanto, a fim de situar nosso estudo, uma nova pesquisa foi realizada, na mesma plataforma (*Web of Science*) utilizando as palavras-chave “*antioxidant food packaging*” e foram encontrados apenas 897 resultados, demonstrando que esse campo de pesquisa ainda requer mais informações e o desenvolvimento de pesquisas nessa área merece receber mais atenção. Ainda mais, quando a palavra “*residue*” é incluída na busca, o número de publicações na área de embalagens ativas para alimentos contendo compostos antioxidantes obtidos a partir de fontes residuais da agroindústria é reduzido para 21 documentos.

De acordo com a regulamentação Europeia 1935/EC e 450/2009/EC, os materiais ativos podem atuar absorvendo ou liberando substâncias do ou para o produto embalado ou para o ambiente envolvido (RESTRUCCIA et al., 2010). Exemplos típicos de embalagens ativas são: sistemas com atmosfera modificada; embalagens a vácuo; absorvedores de gases (oxigênio, etileno, odores); absorvedores de umidade; emissores de antimicrobianos e compostos antioxidantes. Luchese et al. (2018) apresentaram uma revisão sobre o cenário da produção de embalagens ativas, e relataram que existem diversos compostos ativos que podem ser utilizados como antioxidantes naturais, por exemplo: ácido ascórbico (ASHWAR et al., 2015), catequinas extraídas de chás, preto e verde (PENG et al., 2013), polifenóis (LI et al., 2014 e TALÓN et al., 2017), antocianinas (ZHANG et al., 2010; CRIZEL et al., 2016), entre outros.

A maioria dos compostos ativos é extraída de plantas, frutas e outros vegetais. No entanto, a utilização de resíduos ricos em compostos de interesse, processados como farinhas, sem tratamento prévio ou algum processo extrativo, pode representar uma maneira mais fácil e barata de incorporação de ativos em embalagens. Além de agregar poder antioxidante quando incorporadas aos filmes, as farinhas podem melhorar características tecnológicas

como resistência à tração, devido ao elevado conteúdo de fibras. Pensando nisso, a obtenção de farinhas provenientes de co-produtos industriais torna-se uma alternativa promissora para a produção de embalagens ativas comercialmente viáveis.

Alguns trabalhos relatam que o descarte de co-produtos agroindustriais pode chegar até um terço da produção, sendo preocupante e oneroso para o fabricante fornecer um descarte adequado, principalmente pelo alto valor nutricional da maioria desses produtos (O'SHEA, ARENDT & GALLAGHER, 2012). Comumente os resíduos da indústria de processamento de frutas são destinados à produção de ração animal (BUSTAMANTE et al., 2008; TELES, 2014), o que acarreta elevado desperdício, visto que esses resíduos possuem uma grande quantidade de fibras e ingredientes bioativos, tais como, compostos fenólicos (LÓPEZ-MARCOS et al. 2015).

Sendo assim, o uso dos resíduos provenientes do processamento de frutas é de grande interesse para a indústria, a fim de isolar compostos fitoquímicos específicos para aplicação como suplementos nutracêuticos, aditivos alimentares e desenvolvimento de novos produtos, contribuindo para a reutilização de resíduos de processos agroindustriais. Além de serem fonte natural de compostos antioxidantes, antimicrobianos, aromatizantes, corantes e texturizantes, também são fontes de pectina e fibra alimentar, substâncias comumente utilizadas na indústria de alimentos (O'SHEA et al., 2012; AYALA-ZAVALA et al., 2011; PETKOWICZ et al., 2017). Os compostos antioxidantes obtidos a partir de resíduos do processamento de frutas podem ter diversas aplicações. Recentemente, alguns pesquisadores têm voltado sua atenção para aplicação desses compostos em embalagens ativas, tais como: cinamaldeído e carvacrol (DU et al., 2012), resíduos de cenoura e de beterraba minimamente processadas (IAHNKE et al., 2016) e resíduos de mirtilo – fibras e extrato etanólico (CRIZEL et al., 2016). Filmes comestíveis e revestimentos podem ser usados como agentes transportadores de compostos bioativos, de compostos antimicrobianos tais como óleos essenciais de frutas ou qualquer outra substância que prolongue o tempo de vida útil de um produto embalado.

Iahnke et al. (2015) avaliaram a produção de embalagens à base de gelatina com a adição de resíduos de cenoura minimamente processada e comprovaram seu elevado potencial, uma vez que foram capazes de evitar a ocorrência de reações de rancificação em óleo de girassol, contribuindo para o desenvolvimento de novas embalagens ativas através da incorporação de agentes antioxidantes naturais provenientes de fontes residuais.

Crizel et al. (2018) avaliaram a incorporação do resíduo de azeitona (bagaço obtido a partir da primeira extração do óleo), adicionado na forma de farinha e de micropartículas, em uma matriz de quitosana. Os autores verificaram que as embalagens produzidas com 30% de resíduo apresentaram efeito benéfico, evitando a formação de peróxidos, visto que foram encontrados valores de formação de peróxido menores (1,8 e 1,7 mEq kg⁻¹ para o óleo extraído de nozes armazenadas durante 31 dias usando o resíduo na forma de farinha e de micropartículas, respectivamente) em comparação com as amostras de filme controle (3,1 mEq kg⁻¹). Vale ressaltar que, a determinação do valor de peróxido é um dos métodos mais importantes para avaliar a qualidade dos óleos vegetais, e sua medição indica o estado de oxidação primária do óleo, que pode facilmente levar a mais estágios de rancificação (PIZARRO et al., 2013 YANG et al., 2014). Os resultados encontrados permitiram observar que a embalagem desenvolvida apresentou elevada eficácia contra oxidação de nozes, prolongando seu tempo de vida de prateleira e, viabilizando, a obtenção de uma embalagem ativa.

2.6.2. Embalagens inteligentes

Para que uma embalagem seja considerada inteligente, ela deve interagir com o produto e responder a mudanças específicas do alimento ou do ambiente que o cerca (ROONEY, 1995), tendo como componentes os sensores e indicadores que sinalizam o resultado dessa medição.

Os sensores são dispositivos capazes de fornecer continuamente informação química ou física do sistema, convertendo-a em sinal elétrico de saída contínua (TREVISAN & POPPI, 2006). Os indicadores, por sua vez, são substâncias que indicam a presença ou a ausência de algum composto ou o grau de reação entre duas ou mais substâncias através de mudanças nas características do indicador, especialmente mudanças de cor. Na Figura 13 está representado um sistema indicador de ausência/presença de oxigênio, onde se verifica que o indicador muda de coloração, passando da cor rosa para a cor azul quando a concentração de oxigênio presente é superior a 0,5% (VANDESRROOST et al., 2014).



Figura 13. Exemplo de um sistema indicador de ausência/presença de oxigênio. Fonte: Adaptado de Vandesroost et al. (2014).

O aumento na formação de metabólitos (tais como CO_2 , SO_2 , NH_4 , aminas voláteis e ácidos orgânicos) pode ser utilizado para informar a contaminação microbológica em produtos alimentares, visto que alguns corantes (tais como azul de bromotimol, xilenol azul, púrpura de bromocresol, vermelho de cresol, vermelho de fenol, e alizarina) reagem na presença destes subprodutos. Além disso, alguns compostos naturais podem ser utilizados como indicadores devido à sua capacidade de mudança de coloração, como por exemplo, as antocianinas, compostos hidrossolúveis que podem ser extraídos de diversos tipos de vegetais (repolho roxo, berinjela, entre outros) e frutas (mirtilo, uva, jabuticaba, entre outros).

Antocianinas

As antocianinas correspondem a uma classe de compostos capazes de mudar de coloração ao serem submetidos a diferentes valores de pH (TERCI & ROSSI, 2002). Em condição ácida (pH 1,0) ocorre predomínio de formas estruturais intactas de intensa coloração (cátion flavílico); em pH igual a pH 4,5 há formação de estruturas incolores (carbinol); e em condição básica (pH > 7) ocorre formação de bases quinoidais, de coloração azulada. As mudanças estruturais que ocorrem nas antocianidinas com a variação do pH, responsáveis pelo aparecimento das espécies com colorações diferentes, incluindo o vermelho em meio fortemente ácido e o amarelo em meio fortemente alcalino, podem ser exemplificados pelo esquema das principais transformações ilustradas na Figura 14 (TIMBERLAKE & BRIDLE, 1975; BROUILLARD et al., 1982; FRANCIS & MARKAKIS, 1989). Logo, as antocianinas podem ser incorporadas nas soluções filmogênicas durante o preparo dos filmes para a produção de embalagens inteligentes, sendo possível fornecer ao consumidor uma informação de qualidade através de mudanças de cor. O processo de degradação de antocianinas, e sua

consequente mudança estrutural pode ocorrer devido a diversos fatores, entre eles: temperatura; luminosidade; contato com oxigênio; presença de açúcares; presença de enzimas; pH; presença de proteínas; presença de íons metálicos, etc.

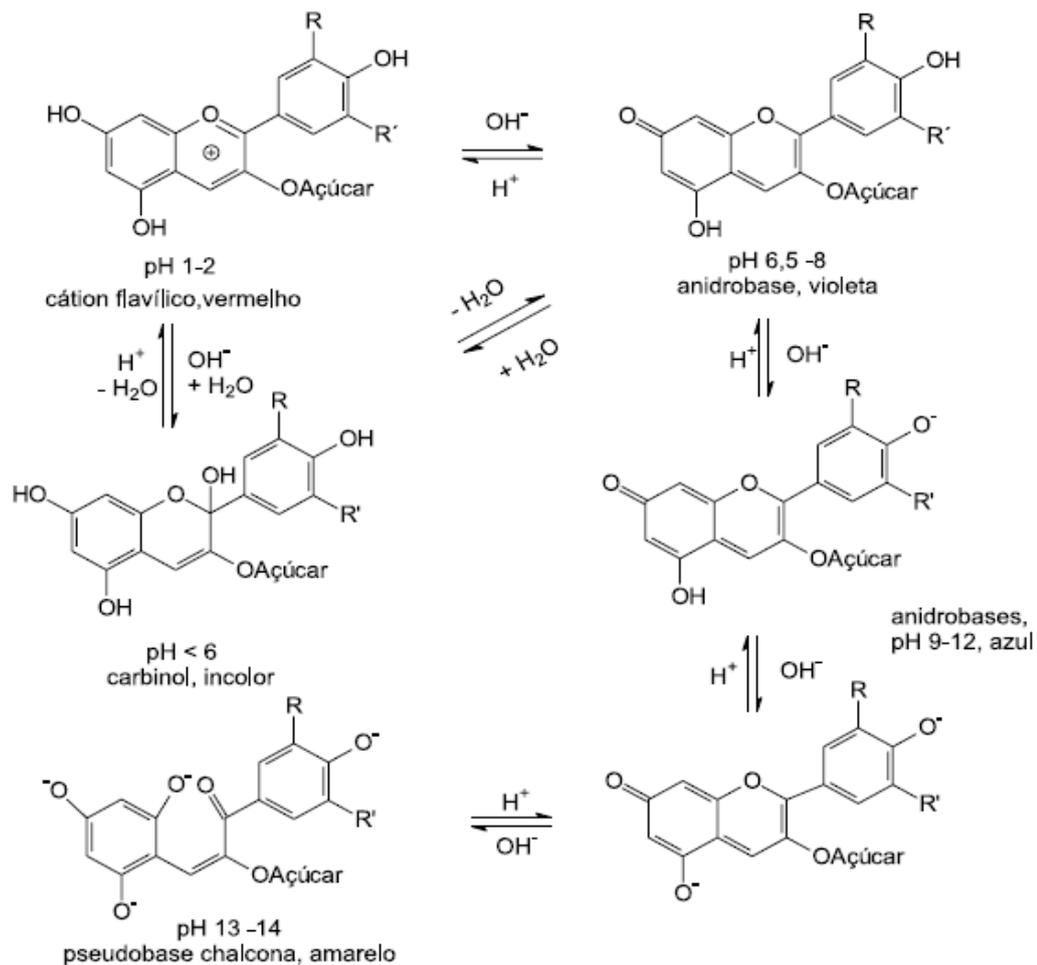


Figura 14. Possíveis mudanças estruturais das antocianinas em meio aquoso em função do pH (TIMBERLAKE & BRIDLE, 1975; BROUILLARD et al., 1982; FRANCIS & MARKAKIS, 1989).

As antocianinas são pigmentos naturais que pertencem à classe dos flavonóides que são metabolitos secundários dos frutos ou legumes e que na natureza apresentam-se na forma glicosilada. A cianidina, delfinidina, petunidina, peonidina, pelargonidina e a malvidina são as seis antocianidinas mais comuns que diferem entre si por terem várias substituições de grupos hidroxilo e metoxilo no anel B, representadas na Figura 15 (GAO & MAZZA, 1994). A delfinidina é a principal antocianidina encontrada em todos os estádios de maturação, e em quantidades menores a malvidina, cianidina e petunidina. Segundo Määttä-Riihinen et al. (2004), os mirtilos têm o perfil de antocianinas mais complexo entre as bagas mais comuns

(uvas, amoras e framboesas), contendo mais de vinte e cinco antocianinas diferentes resultantes da glicosilação das seis antocianidinas (delfinidina, cianidina, petunidina, pelargonidina, peonidina, e malvidina) com diferentes tipos de açúcares (glicose, galactose e arabinose).

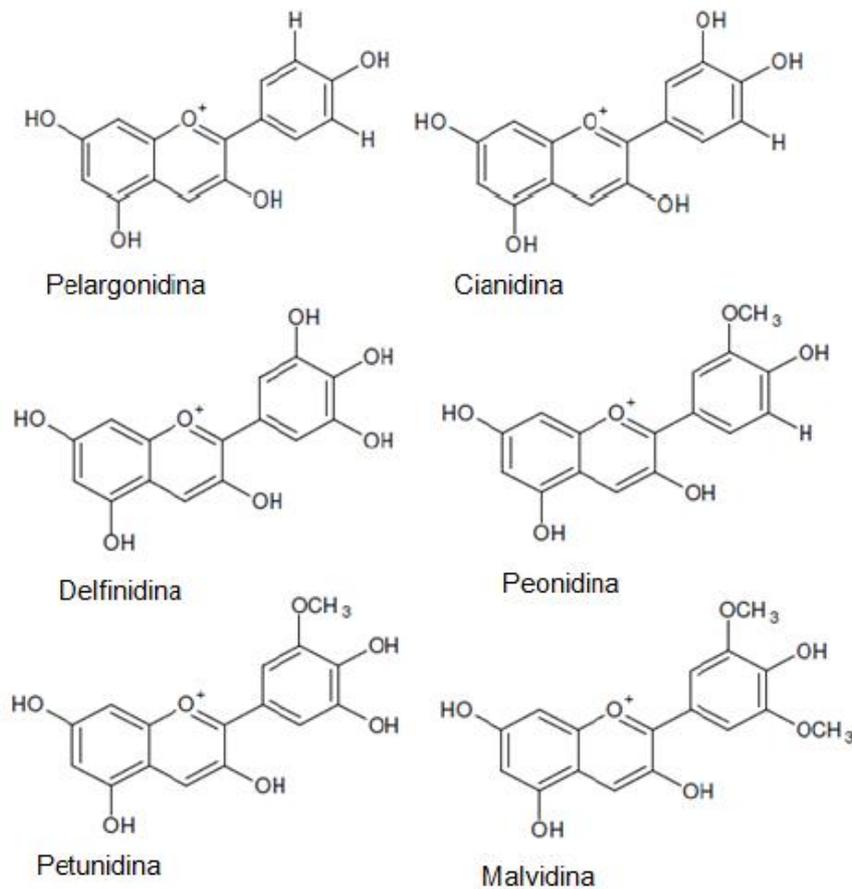


Figura 15. Principais antocianidinas encontradas na natureza (Fonte: GAO & MAZZA, 1994).

Indicadores de deterioração

Os indicadores de deterioração de alimentos utilizam os metabólitos passíveis de serem detectados como "informação" necessária para monitorar o estado de deterioração em produtos alimentícios.

Muitos fatores podem influenciar na determinação do tempo de vida de prateleira de produtos alimentícios, tais como: pH, atividade da água, os níveis de nutrientes e oxigênio disponíveis, temperatura, etc. A deterioração de um alimento pode ser detectada através de análises de quantificação de enzimas ou microrganismos, ou medidas indiretas pela presença de metabólitos e medidas de pH (HAN, HO & RODRIGUES, 2005; YOSHIDA et al. 2014).

Cabe ressaltar que os indicadores de deterioração podem ser diretos ou indiretos. Os indicadores visuais diretos são sistemas de embalagens inteligentes anexados ao produto, como rótulos incorporados, ou impressos no material da embalagem de alimentos. Esses são capazes de fornecer informações mais precisas e direcionadas sobre atributos de qualidade. Enquanto os indicadores visuais inteligentes indiretos podem ser sensores de tempo/temperatura (ITT), cujo princípio de funcionamento baseia-se numa mudança irreversível que pode ser mecânica, química, eletroquímica ou microbiológica; eles atuam com base nas taxas de polimerização, difusão, reação química ou enzimática levando em consideração o binômio tempo-temperatura.

Na Tabela 5 está apresentado um resumo dos principais indicadores tempo-temperatura (ITT) atualmente comercializados utilizados para monitorar a qualidade de alimentos. O ITT *CheckPoint*® (VITSAB A.B., Malmö, Suécia) é um sistema enzimático. O ITT *Fresh-Check*® (Temptime Corp., Morris Plains, NJ, EUA) é baseado numa reação de polimerização em estado sólido, resultando num polímero altamente colorido. O ITT *OnVu*™ (Ciba Specialty Chemicals & Freshpoint, Switzerland) é um indicador fotoquímico cuja reação ocorre em estado sólido. O ITT *TT Sensor*™ (Avery Dennison Corp., EUA) é baseado em reações de difusão de corante. O ITT *3M Monitor Mark*® (3M Co., St Paul, Minnesota), também chamado de *Freshness Check*, também é baseado na difusão de materiais com propriedades poliméricas. O ITT (eO)® (CRYOLOG, Gentilly, França) baseado na mudança de pH devido ao crescimento microbiano.

Tabela 5. Resumo dos principais ITT comercializados atualmente para monitorar alimentos.

Tipo de ITT	Princípio	Tipo de resposta	Faixa da E_a (kJ/mol)	Custo (U\$)
CheckPoint® tipos M, L	Enzimático	Verde para amarelo e então para vermelho	70-170	5 -15
Fresh-Check®	Polimérico	Incolor para verde escuro	80-90	1 - 5
OnVu™	Fotoquímico	Azul escuro para incolor	90-150	1 - 5
TT Sensor™	Reação de difusão	Amarelo para rosa	115-125	5 -15

Indicadores de pH colorimétricos podem ser incorporados ao material da embalagem ou inseridos interna ou externamente na embalagem alimentícia a fim de detectar e monitorar as alterações nas condições de qualidade de produtos embalados pela variação visual de cor

(MACIEL, YOSHIDA & FRANCO, 2012). No entanto, segundo Puligundla et al. (2012), algumas questões, tais como: umidade do produto, o tempo de vida, o custo, a segurança e geração de prótons durante as reações oxidativas devem ser levadas em consideração antes de decidir sobre a eficiência de sensores baseados no pH.

As publicações científicas sobre indicadores de deterioração para alimentos ainda são escassas. A seguir são apresentados trabalhos reportados na literatura envolvendo a possibilidade de utilização de indicadores em sistemas alimentícios, assim como a caracterização dos materiais utilizados, incluindo análise das propriedades mecânicas, propriedades de barreira ao vapor de água, e análise microestrutural.

Pacquit et al. (2006 e 2007) desenvolveram um sensor de aminas voláteis de baixo custo baseado em análises colorimétricas para monitoramento em tempo real da qualidade de peixes. Esse sensor continha um corante sensível ao pH, bromocresol verde, que responde pela mudança de cor visível para os compostos de deterioração voláteis básicos, tais como trimetilamina, amônia e dimetilamina conhecidos coletivamente como Nitrogênio Básico Volátil Total (TVB-N). A resposta do sensor permitiu correlacionar os resultados obtidos com os padrões de crescimento de bactérias em amostras de peixe, possibilitando assim, acompanhar em tempo real o processo de deterioração. A abordagem apresentou sensibilidade para aminas voláteis, com uma resposta linear variando entre 0 e 15 ppm de concentração do gás amoníaco.

Maciel, Yoshida & Franco (2012) estudaram o desenvolvimento de um indicador de temperatura inteligente e biodegradável para monitorar a qualidade dos alimentos através de mudanças de coloração irreversíveis. As antocianinas, que geralmente são utilizadas como indicadores de pH, também podem ser utilizadas como indicadores naturais de temperatura. Para tanto, os autores espalharam soluções filmogênicas contendo quitosana e antocianinas sobre a superfície de papel cartão ($0,045 \text{ m}^2$), formando o sistema chamado "CH-Sys". Os papéis cartão revestidos foram secos em estufa ($150 \text{ }^\circ\text{C}$ durante 90 s); neste processo de secagem, as características de cor púrpura das ATH foram mantidas. O teste com o CH-Sys foi realizado através da exposição desse sistema em diferentes temperaturas (20, 40, $60 \text{ }^\circ\text{C}$), sem (0 lux) e com luminosidade (1000 lux) durante 72 h. Ocorreu uma mudança visual progressiva e irreversível de coloração, desde o roxo claro até ligeiramente amarelada, associada às mudanças na estrutura química das moléculas de antocianinas. Os resultados mostraram que o bioprotótipo desenvolvido possui um elevado potencial para ser utilizado

como indicador de temperatura. Entretanto, os autores não testaram a sua aplicação em sistemas alimentícios reais.

Golasz et al. (2013) avaliaram o desempenho de filmes de amido de mandioca, glicerol e antocianinas extraídas da casca de uva produzidos pela técnica de *casting*, como indicador de degradação de carne suína refrigerada (mantida a 4 °C). Durante 14 dias, a deterioração da carne de porco foi avaliada por análises microbiológicas e pH, e os filmes também foram submetidos à análise colorimétrica. A partir dos resultados obtidos na contagem de microrganismos psicrotróficos aeróbios em carne de porco refrigerada por 14 dias, concluiu-se que seu consumo seria aceitável (contagem até 6,7 log UFC/g; segundo Bomar, 1985) imediatamente antes do décimo dia de armazenamento. Portanto, este foi considerado o ponto final do tempo de vida de prateleira. O pH do tecido (pH carne suína pós-morte: 5,7 - 5,9) não se alterou substancialmente antes de 10 dias de armazenamento. A partir deste dia, foi observado um aumento acentuado do pH devido à produção de amônia e aminas por enzimas endógenas e microbianas que degradaram as proteínas. Durante o armazenamento, os filmes perderam a intensidade de coloração apresentada inicialmente e se tornaram progressivamente acromáticos, exibindo uma cor mais cinzenta. Além disso, conforme os resultados encontrados pelos autores, os consumidores provavelmente seriam capazes de distinguir mudanças visuais na cor dos filmes durante o armazenamento, caso uma escala de cores fosse apresentada conjuntamente na embalagem do produto. No entanto, após o 7º dia, os filmes demonstraram baixa reprodutibilidade de dados, ou seja, eles não foram capazes de demonstrar claramente o fim do prazo de validade, portanto, estudos mais detalhados seriam necessários.

Zhang et al. (2014) utilizaram materiais de base biológica para desenvolver um filme colorimétrico sensível às variações de pH: antocianinas extraídas da flor *Bauhinia blakeana* Dunn e quitosana (grau de desacetilação, 18 - 20%) para imobilização dos corantes naturais. Neste trabalho, a incorporação das antocianinas no filme à base de quitosana foi feita por imersão em uma solução concentrada dos corantes naturais durante 24 h, seguida de lavagem com água ultrapura e armazenamento em solução tampão de ácido cítrico e hidrogenofosfato dissódico (Na₂HPO₄) (pH 5,0) *overnight*. Os resultados indicaram que a mudança de cor dos filmes pôde ser observada a olho nu na gama de pH variando entre 2,2 - 9,0, após 48 h em contato com alimentos como a carne de porco e de peixe (mudança da cor púrpura para a cor verde). No entanto, os autores salientam que novos estudos devem ser conduzidos a fim de

estabelecer uma correlação entre a cor do filme e a contagem de microrganismos para estimar o grau de deterioração das amostras.

O objetivo de Yoshida et al. (2014) também foi obter e caracterizar um sistema indicador colorimétrico rápido para embalagens devido à alteração do pH. Para tanto, os autores produziram filmes à base de quitosana (grau de acetilação de aproximadamente 18%) pela técnica de *casting* usando antocianinas extraídas de uvas. Os filmes produzidos apresentaram inicialmente cor violeta escuro e, depois de imersos em diferentes soluções tampão, apresentaram coloração rosa (pH ácido), verde-azulada (pH neutro) e amarela (pH básico). Entretanto, a modificação colorimétrica envolvendo sistemas alimentícios reais não foi realizada.

Silva-Pereira et al. (2015) desenvolveram um sistema para o monitoramento do pH utilizando como base, quitosana, amido de milho e extrato de repolho roxo *Brassica oleracea var. capitata*. O filme apresentou resposta sensível à variação do pH, permitindo detectar mudanças de pH. A fim de validar o uso desse sistema como um sensor de deterioração, testes de aplicação foram realizados com tiras de peixe. Os autores verificaram que na temperatura ambiente (25 °C), durante 12 h nenhuma mudança de cor foi visível no filme indicador, entretanto, após 16 h, a cor começou a mudar para azul, indicando o aumento do pH do peixe e o início da deterioração, somente após 72 h, a cor mudou completamente para amarelo, indicando, assim, a deterioração completa do alimento. O mesmo teste foi realizado na temperatura de refrigeração (4 – 7 °C), não sendo observada alteração de cor durante 72 h, mas após 7 dias, a cor mudou de azul claro para amarelo, indicando deterioração do alimento. O filme permitiu detectar mudanças de coloração em função da alteração do pH do alimento, que é um indicativo de deterioração. Contudo, os autores apontam que outros testes, tais como testes de deterioração microbiana, são necessários para validar e correlacionar o estado microbiológico dos peixes com a alteração de cor do indicador.

2.7. Resíduos agroindustriais provenientes da produção de mirtilo

Nos últimos anos houve um aumento do consumo de mirtilo *in natura* e também na forma de suco, principalmente devido às suas reconhecidas propriedades antioxidantes decorrentes da presença de compostos fenólicos, que são sequestradores de radicais livres e, portanto, desempenham uma importante função na prevenção de doenças, tais como câncer, diabetes, doenças cardiovasculares e doenças neurológicas (BUNEA et al., 2013; KONCZAK & ZHANG, 2004; ZAFRA-STONE et al., 2007). Além disso, durante o processamento de

suco de mirtilo, são geradas amplas quantidades de resíduo, que é rico em antocianinas, porque estes compostos estão presentes preferencialmente na casca do mirtilo. Estes resíduos podem representar um alto custo de tratamento para a indústria, uma vez que eles apresentam potencial poluidor.

Dados da FAOSTAT (2014) registraram os Estados Unidos como o maior produtor mundial de mirtilo (262.539 toneladas - aproximadamente 55% da produção mundial), seguido pelo Canadá, responsável por aproximadamente 30% da produção (182.275 toneladas) e pelo continente europeu (principalmente França, Alemanha e Polônia), com aproximadamente 13%; o restante do mundo produz cerca de 2% de montante total do fruto. Os Estados Unidos são os maiores consumidores mundiais de mirtilo. Apesar de ser o maior produtor mundial, no período de entressafra, o país não é autossuficiente e para satisfazer a demanda, importa aproximadamente 82% da produção do restante do mundo.

De acordo com Santos (2007) e Fachinello (2008), na América do Sul, os maiores produtores de mirtilo são o Chile (aproximadamente 7.500 toneladas são produzidas por ano numa área superior a 2.000 hectares), Argentina e Uruguai (áreas superiores a 1.500 e 500 hectares, respectivamente). No Brasil, os primeiros estudos com mirtilo foram registrados por pesquisadores da Embrapa Clima Temperado (Pelotas, RS), em 1983, utilizando a variedade *Rabbiteye* (ANTUNES & RASEIRA, 2006), proveniente da Universidade da Flórida (Estados Unidos). No entanto, a primeira tentativa de comercialização desse fruto ocorreu em 1990, no município de Vacaria, que é pioneiro no cultivo de mirtilo, e a partir de então, tornou-se referência na produção de mirtilo (SANTOS, 2007 e FACHINELLO, 2008).

Estima-se que a área cultivada no Brasil seja superior a 150 hectares, sendo o estado do Rio Grande do Sul o maior produtor de mirtilo, com mais de 50 produtores rurais (cerca de 150 toneladas são produzidas por ano), em uma área de aproximadamente 70 hectares. A produtividade varia entre 6 e 10 toneladas por hectare com elevado custo de comercialização (FACHINELLO, 2008). As perspectivas de cultivo de mirtilo no país são bastante promissoras, tanto para o consumo interno como para exportação. Além da comercialização do fruto “*in natura*”, o seu processamento, buscando manter as propriedades funcionais está em constante crescimento (MORAES et al., 2007).

O mirtilo é utilizado industrialmente na fabricação de sucos e derivados, entretanto durante seu processamento são gerados cerca de 20-30% de resíduo sólido (bagaço) que é composto basicamente de cascas e sementes contendo aproximadamente 70% do teor total de antocianinas do fruto (CACACE & MAZZA, 2003). Isto destaca a importância econômica,

ambiental e nutricional da reutilização dos resíduos agroindustriais gerados durante o processamento de frutas.

A maior parte dos trabalhos encontrados na literatura visa o aproveitamento desse bagaço para extração de compostos antioxidantes e/ou corantes ou utiliza os resíduos para a produção de farinha e posterior inserção em produtos alimentares. A seguir, serão citados de forma resumida alguns importantes trabalhos que avaliaram a utilização do resíduo de mirtilo.

Zardo (2014) avaliou diferentes tratamentos térmicos, solventes e a técnica do ultrassom para otimizar o processo de extração das antocininas; o extrato obtido foi posteriormente microencapsulado por *spray dryer*. Paes et al. (2014) avaliaram os efeitos da pressão, da temperatura e do solvente no rendimento global e qualidade do extrato durante o processo de extração de antocianinas presentes no bagaço de mirtilo usando líquidos pressurizados e CO₂ supercrítico. Neste trabalho foi verificado que as concentrações de compostos bioativos extraídas do resíduo de mirtilo foram superiores às relatadas para as amostras de mirtilo frescas. Além disso, os autores conseguiram identificar dezesseis antocianinas nos extratos usando cromatografia líquida de alta performance.

A caracterização físico-química, assim como a determinação da atividade antioxidante do teor de antocianinas e de polifenóis do fruto de mirtilo, do resíduo de mirtilo proveniente da produção de bebidas fermentadas e da farinha obtida deste bagaço foi realizada por Goldmeyer et al. (2014). Os resultados desse trabalho demonstraram que o resíduo apresentou maior teor de antocininas, apresentando elevado valor agregado.

Silva et al. (2014) apresentaram os principais resultados da avaliação sensorial, físico-química e microbiológica após produção de uma bebida láctea fermentada com adição de uma farinha produzida a partir do resíduo do processamento de suco de mirtilo (*Vaccinium myrtillus*, L.). Os autores destacam que o aproveitamento do resíduo de mirtilo na saborização de bebida láctea fermentada apresentou-se como uma alternativa viável, pois manteve o padrão de identidade e qualidade e resultou em produto com potencial de aceitação no mercado, além de apresentar elevado conteúdo de compostos fenólicos.

Caldas (2014) avaliou as propriedades antioxidantes do bagaço de mirtilo como potencial conservante para produtos cárneos, uma vez que a indústria alimentícia direcionada a esse setor tem procurado compostos naturais que minimizem a oxidação do produto e aumentem o seu tempo de prateleira. Nesse trabalho, os autores fizeram testes na presença de peptona (um modelo proteico), e verificaram que o teor de compostos fenólicos totais e a capacidade antioxidante (analisada usando radicais peroxila como agente sequestrador) foram

influenciados tanto pela atividade da peptona como pelos compostos presentes no resíduo de mirtilo. Entretanto, os autores citam que para avaliar o potencial conservante do extrato aquoso de resíduo de mirtilo em produtos cárneos deveria ser também testado um modelo lipídico (contendo ácidos graxos insaturados e triglicérides) submetido a diversos fatores promotores da oxidação (tais como: luz, temperatura, metais). Kechinski (2011) estudou o processo de extração de antocianinas do resíduo de mirtilo e avaliou a estabilidade à luz das antocianinas presentes no extrato aquoso obtido para posterior aproveitamento como corante natural na indústria de alimentos. Crizel et al. (2016) avaliaram a incorporação de fibras na forma de farinha e extratos etanólicos de antocianinas do bagaço de mirtilo em filmes à base de gelatina e constataram a eficiência dessa estrutura filmogênica na prevenção da oxidação lipídica de óleo de girassol.

Diante do exposto, a reutilização do resíduo proveniente do processamento do suco de mirtilo, como ingrediente na formulação de estruturas filmogênicas, pode ajudar a reduzir o alto custo do tratamento para a indústria, contribuindo para o desenvolvimento de novos materiais com propriedades funcionais aprimoradas.

2.8. Considerações finais

Este capítulo teve o intuito de situar o presente trabalho no panorama atual, tanto para o desenvolvimento de filmes à base de amido, quanto para o desenvolvimento e uso de embalagens ativas e inteligentes. A revisão bibliográfica apresentada permite identificar os principais pontos de interesse em relação ao desenvolvimento e fabricação de filmes biodegradáveis de amido, vislumbrando estabelecer hipóteses e responder as questões a serem avaliadas. Também é possível determinar os pontos de deficiência relativos à literatura, e assim contribuir para o avanço desta área de pesquisa com os resultados encontrados. Constatou-se que existem informações divergentes e resultados desconhecidos em relação ao grau de cristalinidade e à influência da relação amilose/amilopectina nas propriedades finais das estruturas filmogênicas produzidas. Verificou-se que a compreensão dos fenômenos que ocorrem permite melhor entendimento dos resultados encontrados. Desta forma, a escolha e caracterização das matérias-primas, a técnica de processamento utilizada e as análises de caracterização dos filmes produzidos são fatores importantes para o desenvolvimento sólido de uma embalagem que venha a ser aplicada em um alimento.

É importante ressaltar que não foram encontrados na literatura trabalhos avaliando a utilização de resíduos da indústria de produção de farinhas e amidos para a formação de

filmes biodegradáveis e que, ao pesquisar trabalhos relacionados com incorporação de resíduos do processamento de sucos para produção de embalagens inteligentes à base de amido, os resultados da bibliografia pesquisada foram escassos.

Adicionalmente, verificou-se que a maioria dos trabalhos desenvolvidos na área de embalagens ativas refere-se à incorporação de agentes antimicrobianos na formulação. No entanto, existem poucos estudos na literatura envolvendo a adição de compostos antioxidantes para o desenvolvimento de embalagens ativas, principalmente a partir de fontes residuais da agroindústria, aumentando a importância das pesquisas nesta área.

Vale destacar que o sucesso no desenvolvimento de embalagens biodegradáveis, ativas e/ou inteligentes consiste em aliar as propriedades físicas, químicas e bioquímicas de diversos materiais com as características do produto para o qual a embalagem está sendo desenvolvida. Esta é uma área de atuação com grandes possibilidades e perspectivas e com mercado em expansão, devido, principalmente, à crescente exigência de consumidores por produtos de excelência, de alta qualidade e que contribuam para o desenvolvimento sustentável.

Capítulo 3 - Materiais e Métodos

Neste capítulo estão apresentadas as etapas de aquisição e a caracterização das matérias-primas e dos resíduos agroindustriais utilizados, assim como o processo de obtenção dos filmes, as metodologias de caracterização, os equipamentos e os métodos analíticos utilizados. A metodologia utilizada para a realização dos testes de migração, inchamento e aplicabilidade através da mudança de coloração, visando obtenção de embalagens ativas, embalagens inteligentes e/ou sensores de deterioração, também estão descritos, assim como a metodologia de análise de biodegradabilidade. O presente trabalho foi desenvolvido no LASEM (Laboratório de Processos de Separação por Membranas) e no LATEM (Laboratório de Tecnologia e Desenvolvimento de Embalagens e Membranas) situados no Departamento de Engenharia Química da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, na cidade de Porto Alegre, estado do Rio Grande do Sul, Brasil.

Alguns equipamentos pertencentes à laboratórios colaboradores aos trabalhos realizados no LASEM foram utilizados para realização das análises de propriedades mecânicas, análise de tamanho de partícula e difração de raios X, análises termogravimétricas e análises colorimétricas: Laboratório de Análise de Propriedades Físicas dos Alimentos, pertencente ao Instituto de Ciência e Tecnologia de Alimentos, ICTA, UFRGS; Laboratório de Materiais Cerâmicos (LACER) pertencente ao Programa de Pós-Graduação Minas, Metalúrgica e Materiais, PPGE3M, UFRGS; Laboratório 201 pertencente ao Programa de Pós-Graduação em Ciência dos Materiais, PGCIMAT, Instituto de Química, UFRGS; Laboratório de Fotoquímica e Superfícies (LAFOS) pertencente ao Programa de Pós-Graduação em Ciência dos Materiais, PGCIMAT, UFRGS; Laboratório de Tecnologia e Processamento de Alimentos (LATEPA) pertencente ao Departamento de Engenharia Química, UFRGS.

Uma parte do trabalho foi feita na Universidade do País Vasco / Euskal Herriko Unibertsitatea (UPV/EHU) em San Sebastián, na Espanha, durante o doutorado sanduíche, de junho de 2016 até junho de 2017. A infraestrutura utilizada pertencente ao Programa de Doutorado em Engenharia de Materiais Renováveis do Departamento da Engenharia Química e do Meio Ambiente da Escola de Engenharia de Gipuzkoa, mais especificamente, nas dependências do SGIker (*Servicios Generales de Investigación*) sob coordenação do grupo de pesquisa BIOMAT. Durante esta etapa foi realizado o desenvolvimento de filmes pelos processos de *casting* e de compressão. Os filmes feitos na UFRGS foram desenvolvidos apenas pela técnica de *casting*.

3.1. Matérias-primas

O amido de milho e o amido de mandioca foram adquiridos da empresa Delaware (RS, Brasil) e do Mercado Público, da cidade de Natal (RN, Brasil), respectivamente. O amido de trigo utilizado para realização do presente trabalho foi gentilmente cedido pela Molinos Juan Semino S.A. (Carcaraña, Argentina) e o amido de batata foi adquirido da Sigma-Aldrich (Missouri, EUA); o glicerol e o sorbitol usados foram de grau PA (Nuclear, SP, Brasil).

Os mirtilos (*Vaccinium corymbosum* L.) foram adquiridos congelados da empresa Italbraz Ltda, situada na cidade de Vacaria, RS, Brasil.

3.2. Caracterização dos grânulos de amido

Os grânulos dos diferentes tipos de amido utilizados nesse trabalho foram caracterizados em relação aos seguintes aspectos: conteúdo de umidade, teor de amilose/amilopectina, morfologia dos grânulos, distribuição granulométrica, padrão e índice de cristalinidade, estrutura química e propriedades térmicas. As técnicas utilizadas estão brevemente descritas a seguir.

3.2.1. Determinação do conteúdo de umidade

A determinação do conteúdo de umidade foi realizada através do método gravimétrico (AOAC 930.04, 1990).

3.2.2. Determinação do teor de amilose

O conteúdo de amilose dos amidos foi determinado pelo método colorimétrico, conforme metodologia de Martinez & Cuevas (1989), descrita no APÊNDICE I. Foram utilizados como reagentes: álcool etílico 96% GL; NaOH 1 M; ácido acético 1 M; solução de iodo (2%) e padrão de amilose (*Sigma-Aldrich*).

3.2.3. Análise morfológica

As amostras foram examinadas em diferentes escalas de aproximação em um microscópio eletrônico de varredura de bancada (marca Hitachi, modelo TM 3000, Alemanha), utilizando uma aceleração potencial de 15 kV durante as análises de microscopia.

3.2.4. Análise granulométrica

A distribuição do tamanho de partícula das amostras de amido foi determinada por um analisador de tamanho de partículas (Cilas, Modelo 1180, França) pelo princípio da difratometria a laser usando água como agente dispersor. O equipamento utiliza três lasers para cobrir uma ampla faixa analítica de tamanhos variando entre 0,04 e 2500 μm , com ótima reprodutibilidade (precisão superior a 99%). O cálculo da medida de dispersão granulométrica (SPAN) foi realizado utilizando a Equação (3.1):

$$\text{SPAN} = (d_{90\%} - d_{10\%})/d_{50\%} \quad (3.1)$$

sendo que $d_{10\%}$ representa o diâmetro de partícula correspondente a 10% da distribuição acumulada; $d_{50\%}$, é o diâmetro de partícula correspondente a 50% da distribuição acumulada; e $d_{90\%}$ representa o diâmetro de partícula correspondente a 90% da distribuição acumulada.

3.2.5. Análise de cristalinidade

A fim de averiguar as estruturas cristalinas presentes, bem como o índice de cristalinidade das amostras de amido, foi utilizado um difratômetro de raios-X (DRX) Philips, modelo X'Pert MPD equipado com monocromador de grafite e ânodo fixo operando a 40 kV e 30 mA. As medições foram realizadas utilizando radiação $\text{Cu-K}\alpha$, com passo de 0,05 e 1 s em cada passo e ângulo (2θ) de varredura, variando de 2-80°. A determinação do índice de cristalinidade (X_c) foi realizada através da relação entre a área dos picos e a área total abaixo da curva, em relação à linha de base, usando o programa computacional Origin 6.0 para

calcular as áreas dos difratogramas, de acordo com o esquema representado na Figura 16. O índice de cristalinidade (X_c) foi calculado de acordo com a Equação (3.2):

$$X_c = \frac{A_c}{(A_c + A_a)} \quad (3.2)$$

sendo que, A_c corresponde à área da região cristalina e A_a corresponde à área da região amorfa.

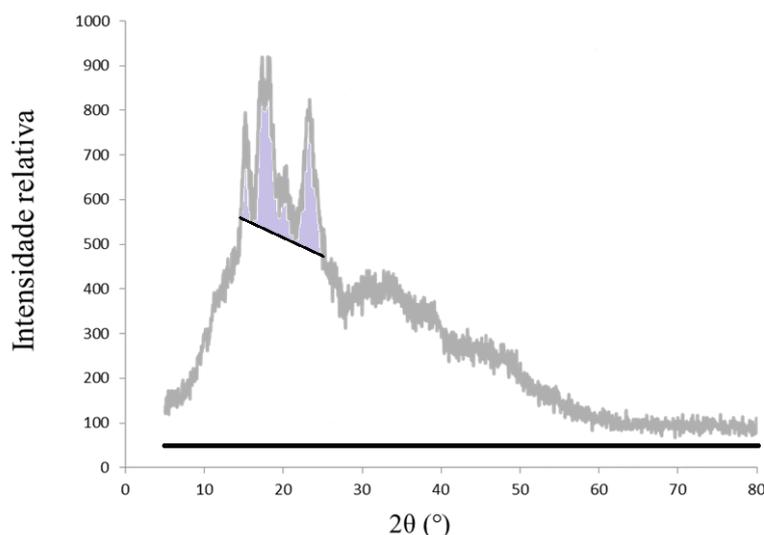


Figura 16. Esquema representativo para cálculo do índice de cristalinidade (X_c); a área hachurada corresponde à região cristalina (A_c), onde se encontram os picos.

3.2.6. Análise de estrutura química

O equipamento de espectrometria no infravermelho por transformada de Fourier (FTIR), *Perkin Elmer*, modelo Spectrum 1000, foi utilizado para análise da estrutura química das amostras. Os espectros foram obtidos com uma resolução de 2 cm^{-1} , usando uma média de verredura de 32 scans. As ligações presentes vibram com frequências na qual absorvem energia em faixas características, sendo conhecidas como bandas de absorção. Essa análise permite determinar as ligações químicas presentes nos compostos e nas amostras investigadas.

3.2.7. Análise de propriedades térmicas

Para a realização das análises termogravimétricas (TGA) utilizou-se o equipamento TA *Instrument*, modelo Q50; as amostras foram aquecidas de 25 °C até 800 °C usando 10 °C min^{-1} como taxa de aquecimento, sob atmosfera de nitrogênio (50 mL min^{-1}).

Para a determinação da temperatura de fusão e gelatinização das amostras, foram feitas análises de calorimetria exploratória diferencial (DSC 600, *Perkin Elmer*, Estados Unidos).

Para encontrar a temperatura de fusão, aproximadamente 6 mg de amido foram colocados em suportes metálicos, selados hermeticamente. Essas amostras foram aquecidas de -60 °C até 250 °C usando 10 °C min⁻¹ como taxa de aquecimento, sob atmosfera de nitrogênio (50 mL min⁻¹). Para encontrar a temperatura de gelatinização das amostras, suspensões de amido em água (proporção 1:4) foram preparadas e deixadas em repouso por aproximadamente 24 h anteriormente à realização das análises para garantir a ocorrência da gelatinização durante o aquecimento das amostras, que ocorreu entre -60 °C e 250 °C usando 10 °C min⁻¹ como taxa de aquecimento, em atmosfera de argônio (20 mL min⁻¹).

A entalpia de gelatinização (ΔH_g , expressa em J g⁻¹) foi obtida através da integração da curva endotérmica obtida, tomando como referência a massa de amido em base seca utilizada na análise. As temperaturas iniciais e finais, bem como a temperatura de gelatinização (T_0 , T_f e T_g , respectivamente) foram obtidas através do termograma gerado automaticamente pelo software acoplado ao equipamento.

3.2. Processo de obtenção do resíduo da produção do suco de mirtilo

Os mirtilos (*Vaccinium corymbosum* L.) foram adquiridos congelados da empresa Italbraz Ltda, situada na cidade de Vacaria, RS, Brasil. Após seu recebimento, os mirtilos foram armazenados na temperatura de -18 °C até a extração do suco. Os resíduos de mirtilo sem e com branqueamento prévio do fruto foram produzidos de acordo com o fluxograma apresentado na Figura 17. Para realizar o tratamento térmico de branqueamento, as frutas descongeladas foram colocadas no interior de uma autoclave (Autoclave Vertical, *Phoenix Lufenco*) na temperatura de 100 °C por 3 minutos, e logo após resfriadas com água gelada, de acordo com a metodologia de Rossi et al. (2003). Após a produção de suco em processador (*Juicer*, Wallita), o resíduo foi separado por filtração em malha de tecido e posteriormente liofilizado durante três dias (modelo LS 6000, Terroni Equipamentos, Brasil). O resíduo liofilizado foi moído (MOINHO MF 10, IKA®, Werke, Staufen, Alemanha) e duas frações granulométricas foram separadas para a produção dos filmes: a fração que passou pela peneira de 100 *mesh* (abertura 0,149 mm) e a fração que ficou retida na peneira de 100 *mesh*.

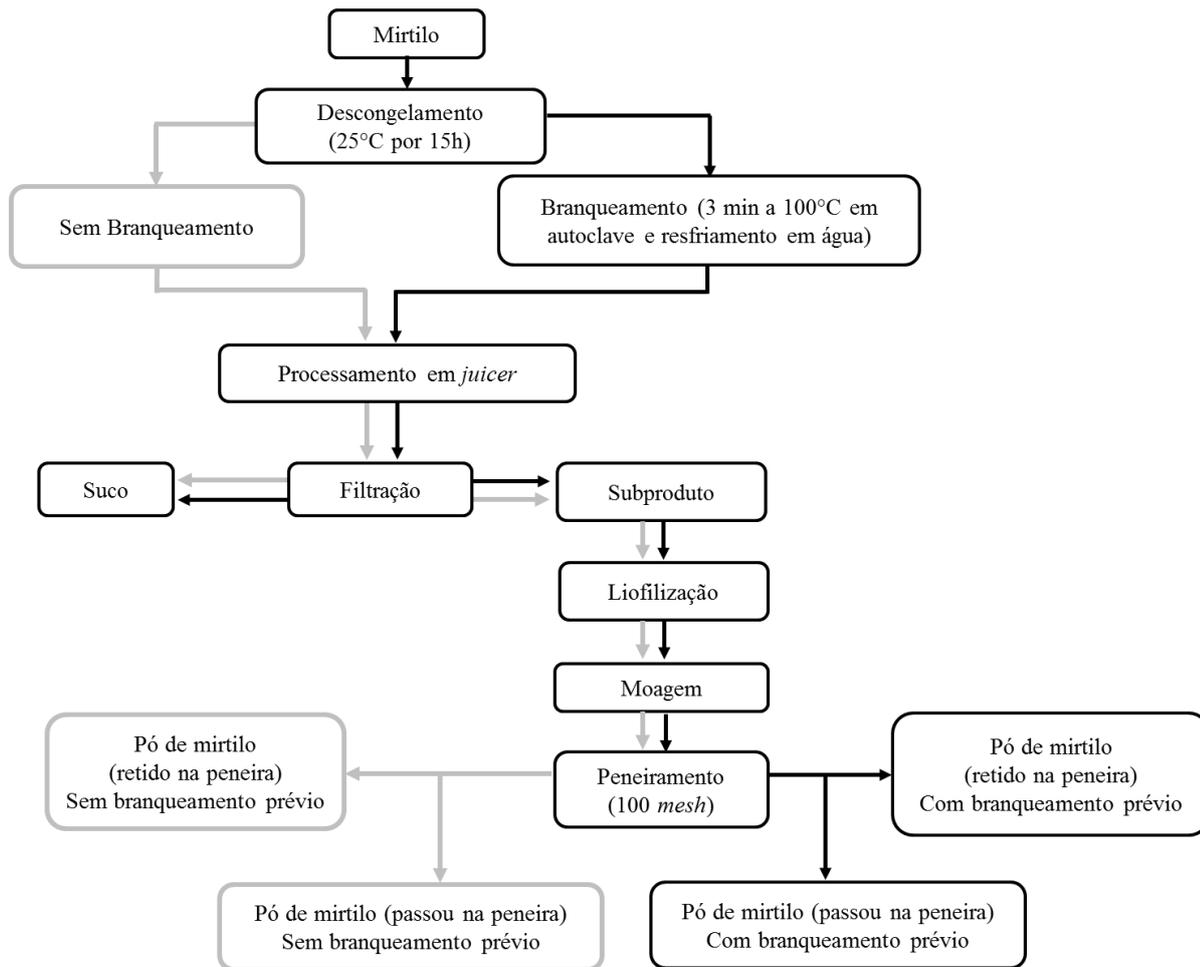


Figura 17. Fluxograma simplificado do processo de obtenção do resíduo de mirtilo sem e com branqueamento prévio dos frutos.

3.3. Caracterização dos resíduos agroindustriais

Neste trabalho as diferentes frações de resíduo obtidas do processamento de suco de mirtilo foram caracterizadas em relação aos seguintes aspectos: conteúdo de umidade, teor de fibras, proteínas e antocianinas totais, e distribuição granulométrica. As técnicas utilizadas estão brevemente descritas a seguir.

3.3.1. Análise de umidade

O conteúdo de umidade foi determinado de acordo com o método AOAC 930.04 (1990).

3.3.2. *Análise do teor de fibras e proteínas*

O conteúdo de fibras solúveis e insolúveis foi determinado de acordo com o método AOAC 991.43 (2005). O total de fibras é representado pelo somatório do teor de fibras solúveis e insolúveis. O conteúdo total de proteínas foi determinado de acordo com o método AOAC 991.20 (2005).

3.3.3. *Análise granulométrica*

A metodologia de análise por difratometria a laser utilizada é idêntica ao que foi descrito anteriormente no item 3.2.4.

3.3.4. *Extração e quantificação do conteúdo de antocianinas presente no resíduo de mirtilo*

A extração das antocianinas presentes nos resíduos de mirtilo foi realizada pelo método de extração exaustiva utilizando aproximadamente 1 g de amostra em pó em 20 mL de metanol e água acidificada com 1% de ácido cítrico (razão 50:50) em cada extração. A metodologia completa utilizada está descrita no APÊNDICE II.

A quantificação do teor de antocianinas total presente nas frações de resíduo de mirtilo em pó (sem e com branqueamento prévio do fruto) contendo diferentes granulometrias foi realizada pelo método de pH diferencial através de análise espectrofotométrica (*Pró-Análise*, modelo UV 1600, Brasil), de acordo com a metodologia de Giusti & Wrolstad (2001). O cálculo da absorbância (LEE et al., 2005) da amostra diluída foi realizado de acordo com a Equação (3.3) e o cálculo da concentração de antocianinas monoméricas (ATM) foi realizado através da Equação (3.4):

$$A = (A_{\lambda 520} - A_{\lambda 700})_{\text{pH } 1,0} - (A_{\lambda 520} - A_{\lambda 700})_{\text{pH } 4,5} \quad (3.3)$$

$$\text{ATM (mg L}^{-1}\text{)} = (A \times \text{MM} \times \text{FD} \times 1000) / (\epsilon \times 1) \quad (3.4)$$

Na Equação (3.4), A representa a absorbância; MM, a massa molar da antocianina predominante na amostra; FD é o fator de diluição utilizado; ϵ representa a absorvidade molar. Utilizou-se a cianidina-3-glucosídeo como base, para fins de comparação com a literatura. Para essa antocianina, MM equivale a 449,2 g mol⁻¹ e ϵ corresponde a 26.900 L mol⁻¹ cm⁻¹.

O mesmo extrato utilizado para análise do método do pH diferencial foi empregado para análise por CLAE (Agilent, 1260 Infinity, Califórnia, EUA), usando uma coluna C-18 de

fase reversa (*Brownlee Validated*, 250 x 4,6 mm; tamanho de partícula 5 μm ; *Perkin Elmer*, EUA) acoplada a cartuchos de guarda (15 x 3,2 mm; 5 μm , *Perkin Elmer*, EUA) e ao detector de arranjo de diodos (DAD, *Diodo Array Detection*). Os solventes e as amostras foram filtrados em uma membrana de 0,22 μm . As fases móveis utilizadas para a análise de antocianinas consistiam de: 5% (v/v) de ácido fórmico em água destilada (solvente A) e 100% acetonitrila (solvente B). A separação foi alcançada usando um gradiente linear de 5% até 20% de B em 30 minutos, de acordo com a metodologia de Bochi (2013). No final do gradiente a coluna foi lavada aumentando para 100% o solvente B, mantendo essa condição por 5 minutos, e equilibrou-se o sistema para as condições iniciais por 10 minutos. O volume de injeção foi de 20 μL , temperatura de 30 $^{\circ}\text{C}$ e vazão de 1 mL min^{-1} .

Segundo Bochi (2013) e Rossi et al. (2003), em colunas de fase reversa (C-18) a retenção de antocianinas é determinada pelo número de hidroxilas e metoxilas da parte aglicona da estrutura, ou seja, os compostos possuem diferentes tempos de retenção; a ordem de eluição inicia com o aparecimento da delphinidina, seguida pela cianidina, petunidina, pelargonidina, peonidina e finalmente, a malvidina.

3.3.5. Análise espectrofotométrica UV-vis dos extratos antociânicos

A extração das antocianinas do resíduo de mirtilo em pó foi realizada com uma solução solvente contendo ácido cítrico (1%, v/v), com base no método proposto por Machado et al. (2017) com algumas modificações. O resíduo de mirtilo em pó foi colocado em contato com o solvente de extração sob agitação durante 30 min em condições de temperatura ambiente (4 mg mL^{-1}). Após este período, a solução foi centrifugada e filtrada (papel de filtro Whatman n^o3) para remoção do material sólido. Em seguida, foi realizado o ajuste do pH da solução de resíduo de mirtilo (pH inicial equivalente a 3,5) adicionando 0,1 M de HCl (ácido clorídrico) ou NaOH (hidróxido de sódio), dependendo do valor de pH desejado, variando entre 2 e 11, seguindo a metodologia proposta por Choi et al. (2017). As soluções com os valores de pH ajustados foram lidas em espectrofotômetro UV-vis (Pró-Análise, UV 1600, Brasil) na faixa de comprimento de onda variando entre 400 e 700 nm.

3.4. Preparo dos filmes de amido

A produção dos filmes à base de amido foi realizada pela técnica de *casting* de acordo com a metodologia de Talja et al. (2008), com algumas modificações. Para o preparo das soluções filmogênicas seguiu-se a seguinte formulação: amido de milho, amido de trigo, amido de batata e amido de mandioca nas concentrações variando entre 2 e 6 g por 100 mL de solução, glicerol (utilizando um teor fixo equivalente a 0,9 g por 100 mL de solução e, posteriormente, fixando a razão de amido e glicerol, usando 30% de glicerol em relação à massa de amido). Na Tabela 6 estão apresentadas as quantidades de cada ingrediente utilizadas para o preparo dos filmes à base de amido. As soluções filmogênicas foram submetidas à agitação mecânica em banho termostático a 90 °C durante 35 min para gelatinização do amido. Após, as soluções filmogênicas foram espalhadas em placas de Petri em diferentes gramaturas: 0,43 g cm⁻²; 0,34 g cm⁻²; 0,22 g cm⁻²). Essas placas foram dispostas em um secador de alimentos (DeLeo A5AFD/0915, Brasil) com convecção forçada de ar por 24 h na temperatura de 35 °C.

Tabela 6. Formulações utilizadas para o preparo de filmes à base de amido com teor de glicerol fixo (0,9 g por 100 mL) e com 30% em relação ao teor de amido.

Concentração de amido (g/100 mL)	Glicerol (g/100 mL)	Água (mL)	Percentual de glicerol em relação ao amido (%)
2		97,1	45,0
3		96,1	30,0
4	0,9	95,1	22,5
5		94,1	18,0
6		93,1	15,0
Concentração de amido (g/100 mL)	Glicerol (g/100 mL)	Água (mL)	Percentual de glicerol em relação ao amido (%)
2	0,6	97,4	
3	0,9	96,1	
4	1,2	94,8	30,0
5	1,5	93,5	
6	1,8	92,2	

Hoover (2001); Singh, Chawla & Singh (2004); Singh et al. (2006); Majzoobi & Beparva (2014) e Muñoz et al. (2015) reportaram que cada tipo de amido apresenta diferentes faixas de temperatura de gelatinização. Para o amido de milho, a temperatura de gelatinização varia de 66 até 78 °C, para o amido de trigo varia de 52 a 67 °C, para amido de mandioca, entre 63 e 74 °C e para o amido de batata, de 60 a 69 °C. Entretanto, objetivando minimizar estas variações e para garantir a completa gelatinização do amido, a temperatura de operação e o tempo de processo foram fixados, conforme mencionado anteriormente.

3.5. Preparo dos filmes com incorporação de resíduo de mirtilo

A metodologia de preparo dos filmes inteligentes é similar àquela descrita anteriormente no item 3.4. No entanto, os filmes à base de amido contendo resíduo foram preparados utilizando duas técnicas de processamento: *casting* e termocompressão, conforme dados apresentados na Tabela 7. É importante ressaltar que, nesta etapa do trabalho, os filmes contendo amido foram utilizados como formulação controle para fins de avaliação da influência da incorporação do resíduo nas propriedades dos filmes.

Primeiramente, os filmes foram preparados com os amidos de milho e mandioca (3 e 4 g por 100 mL), glicerol (30% em relação à massa de amido) como plastificante, resíduo de mirtilo (0,5 g por 100 mL de solução filmogênica), e água destilada, somente pela técnica de *casting*.

Na terceira parte do trabalho, realizada na UPV/EHU, foi avaliada a produção de filmes por *casting* contendo amido de mandioca (4 g por 100 mL), sorbitol (30% em relação à massa de amido) como plastificante, a fração mais fina (que passou na peneira de 100 *mesh*) do resíduo de mirtilo com prévio branqueamento do fruto (4, 8 e 12% em relação à massa de amido) e água destilada. Posteriormente, foi realizada a avaliação do desenvolvimento de filmes por termocompressão contendo o amido de mandioca, sorbitol (30% em relação à massa de amido) como plastificante, a fração mais fina do resíduo de mirtilo com prévio branqueamento do fruto (4, 8 e 12% em relação à massa de amido) e água destilada (25% em relação à massa de amido). Os ingredientes descritos anteriormente foram manualmente misturados, de acordo com a metodologia proposta por Guerrero et al. (2010), em seguida, foram deixados em repouso para hidratação do amido por aproximadamente 24 h. Após esse período de tempo, a mistura dos ingredientes (aproximadamente 1,8 g) foi colocada entre duas placas de alumínio, que foram introduzidas em uma prensa industrial (Santec House,

Espanha) a 150 °C sob pressão de 3 MPa por 5 min. Cabe ressaltar que os moldes (duas placas de alumínio) foram pré-aquecidos durante 1 min na temperatura de 150 °C.

Tabela 7. Formulações experimentais utilizadas para a produção de filmes à base de amido contendo resíduo de mirtilo.

Concentração de amido (g/100 mL)	Percentual de glicerol em relação ao amido (%)	Resíduo de mirtilo (g/100 mL)	Água (mL)	Processo
3	30	0,5	100	<i>Casting</i>
4				
Concentração de amido (g/100 mL)	Percentual de sorbitol em relação ao amido (%)	Resíduo de mirtilo (%)	Água (mL)	Processo
4	30	0	100	<i>Casting</i>
		4		
		8		
		12		
Teor de amido	Percentual de sorbitol em relação ao amido (%)	Resíduo de mirtilo (%)	Água (%)	Processo
*	30	0	25	Compressão
		4		
		8		
		12		

*O teor de amido usado na preparação depende da quantidade de amostra necessária para formação da massa utilizada para a produção dos filmes.

3.6. Caracterização dos filmes

A fim de padronizar os filmes, anteriormente às análises de caracterização, os mesmos foram acondicionados em ambiente com umidade relativa de 55% e temperatura controlada de aproximadamente 25 °C por no mínimo uma semana.

3.6.1. *Análise do teor de umidade e da solubilidade em água*

O conteúdo de umidade dos filmes foi determinado gravimetricamente, medindo a perda de massa dos filmes, após secagem em estufa na temperatura de 105 °C por 24 h de acordo com o método AOAC 930.04 (1990). Para a realização da análise de solubilidade em água, seguiu-se a metodologia proposta por Hosseini, Razavi & Mousavi (2009) que se baseia na diferença de massa. Os filmes previamente secos em estufa foram imersos em béqueres contendo aproximadamente 80 mL de água destilada e armazenados na temperatura de 25 °C por 24 h. Após esse tempo, os filmes foram novamente pesados e a perda de massa foi relacionada à solubilidade do material. Cada formulação foi analisada, pelo menos, em duplicata, e cada amostra foi caracterizada em triplicata.

3.6.2. *Análise de permeabilidade ao vapor de água*

A análise de permeabilidade ao vapor de água foi feita conforme as normas da ASTM E96 (2000). Para tanto, amostras de filmes foram sobrepostas em células de permeação de alumínio preenchidas com sílica (UR = 0%). Para promover a diferença de pressão de vapor de água, as células de permeação foram colocadas em uma câmara de vidro contendo solução saturada de nitrato de magnésio (UR = 55% na T = 25 °C). Após um período de 48 h, as cápsulas de permeação foram novamente pesadas (Shimadzu ATY224, São Paulo, Brasil) para avaliar o ganho de massa. A permeabilidade ao vapor de água (PVA) dos filmes foi determinada em triplicata usando a Equação (3.5):

$$PVA = \frac{w}{t} \frac{e}{A \Delta p} \quad (3.5)$$

sendo w é a massa de água que permeou através do filme (g); e representa a espessura dos filmes (mm); A é a área de permeação (m²); t representa o tempo de permeação (h); Δp é a diferença de pressão de vapor de água entre os dois lados do filme (kPa). Para a análise de PVA, cada formulação foi analisada, pelo menos, em duplicata, e cada amostra foi caracterizada em triplicata.

Na UPV/EHU, a análise de permeabilidade ao vapor de água foi realizada em uma câmara com umidade ambiente controlada PERMETM W3/0120 (Labthink Instruments Co. Ltd., China) segundo ASTM E96 (2000). Cápsulas de permeação com área de 33 cm² foram usadas. As condições operacionais de temperatura e umidade relativa foram de 38 °C e 90%, respectivamente. As análises foram realizadas em triplicata para cada formulação.

3.6.3. *Análise de espessura*

A espessura dos filmes foi medida utilizando um micrômetro digital (Mitutoyo IP 65, Japão) em 5 pontos aleatórios em cada amostra de 8,5 cm de diâmetro. Pelo menos 5 amostras de cada formulação tiveram sua espessura avaliada.

Na UPV/EHU, a espessura dos filmes foi medida com um micrômetro digital QuantuMike Mitutoyo (Neurtek, Espanha), precisão de 0,001 mm. Foi realizada uma média de cinco medições em cada amostra em diferentes posições.

3.6.4. *Análise do caráter hidrofílico*

O ângulo de contato foi medido pelo método da gota séssil com o equipamento KRÜSS (Hamburgo, Alemanha). Água deionizada (3 μ L) foi gotejada na superfície dos filmes utilizando uma microsseringa e o software *Drop Shape Analysis* (DSA 4) para a aquisição das imagens fotográficas. Os valores do ângulo de contato foram medidos na temperatura ambiente instantaneamente após a aplicação das gotas de água.

Na UPV/EHU, a análise de ângulo de contato foi realizada no equipamento Oca20 (Dataphysics Instruments, Neurtek, Spain) e o software SCA20 foi usado para aquisição das imagens. Todas as medições foram feitas em triplicata para cada formulação analisada.

3.6.5. *Análise de propriedades mecânicas*

As propriedades mecânicas dos filmes foram avaliadas usando um texturômetro (Texture analyzer TA.XT2i) de acordo com a ASTM (*American Society for Testing and Materials*) método D882-12 (ASTM, 2012), que se aplica à determinação das propriedades de tração de filmes com espessura inferior a 1 mm. Para tanto, pelo menos, 5 filmes de cada formulação foram recortados (70 mm de comprimento e 25 mm de largura) e colocados no equipamento com separação inicial das garras de 50 mm e velocidade de operação de 0,8 mm s⁻¹. Um esquema simplificado das etapas utilizadas para realização dessa análise está apresentado na Figura 18.

Os dados fornecidos pelo equipamento correspondem às curvas de tensão versus deformação de onde são obtidos os valores das propriedades mecânicas, como a resistência máxima à ruptura [TS; MPa], a elongação máxima de ruptura [E; %] e o módulo de Young ou módulo de elasticidade [MY; MPa]. Conforme comentado anteriormente, a deformação é o alongamento relativo da amostra analisada em relação ao seu comprimento inicial. O módulo

de elasticidade expressa à relação entre a resistência à tração e à deformação na região elástica do filme (coeficiente angular da reta), sendo, portanto, um indicador de rigidez do filme.

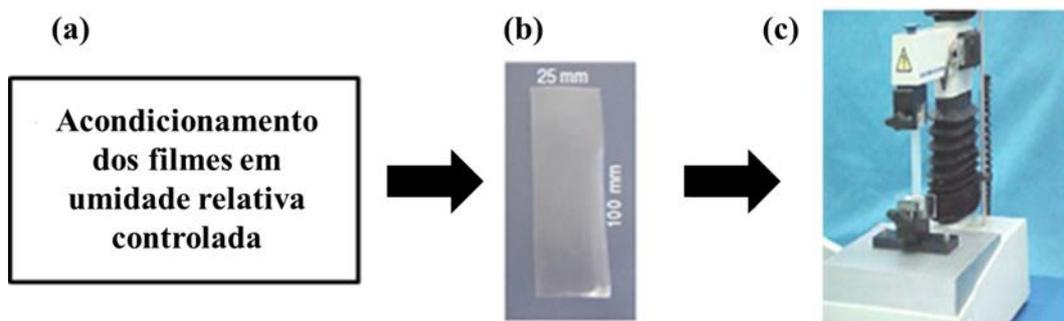


Figura 18. Materiais para teste de tração: (a) condicionamento das amostras em umidade relativa controlada; (b) corpo de prova nas dimensões adequadas (100 x 25 mm); (c) análise em texturômetro.

3.6.6. Análise de estrutura química

A estrutura química dos filmes foi analisada por espectrometria no infravermelho por transformada de Fourier (FTIR), de maneira idêntica à descrita anteriormente no item 3.2.6.

3.6.7. Análise de propriedades de barreira à luz

As propriedades de barreira à luz dos filmes foram determinadas por espectrofotometria UV-vis (Jasco, Modelo V-630, Japão) avaliando a faixa de comprimento de onda variando entre 200 e 800 nm. A opacidade das amostras foi calculada dividindo o valor da absorbância em comprimento de onda definido ($\lambda = 600$ nm) pela espessura do filme. Considerando um valor de espessura constante, quanto menores forem os valores da absorbância de uma amostra, menores serão os valores de opacidade e, conseqüentemente, as amostras apresentarão maior transparência. Essa análise foi realizada somente na UPV/EHU.

3.6.8. Análise morfológica

A morfologia da superfície e da seção transversal dos filmes foi analisada usando um microscópio eletrônico de varredura (S-4800, Hitachi, Japão). As amostras foram fixadas em um *stub* com fita dupla face e revestidas com ouro sob vácuo, usando um pulverizador iônico (JEOL-1100, Izasa Scientific, Espanha) sob atmosfera de argônio. Todas as amostras foram examinadas usando uma tensão de aceleração de 15 kV. Essa análise foi realizada apenas na UPV/EHU.

3.6.9. *Análise de cristalinidade*

Para averiguar as estruturas cristalinas presentes, bem como o grau de cristalinidade das amostras de amido e dos filmes produzidos a partir desses amidos, utilizou-se um difratômetro de raios-X marca Philips, modelo X'Pert MPD equipado com monocromador curvado de grafite e ânodo fixo de cobre, operando a 40 kV e 30 mA. As medições foram realizadas utilizando radiação Cu K α (1,54184 Å), K α 1 (1,54056 Å), K α 2 (1,54439 Å) e K β (1,39222 Å), com passo de 0,05° por 1 s em cada passo e ângulo (2 θ) de varredura, variando de 5-75°, com fendas de divergência e anti-espalhamento de 1/2°.

Na UPV/EHU, as análises de difração de raios X foram realizadas em um difratômetro PANalytical, operando em 40 kV e 40 mA (θ representa o valor do ângulo de incidência de raios X nas amostras), usando uma fonte de radiação Cu K α ($\lambda = 1,5418$ Å). Os dados de difração foram coletados de 2,5 até 50°.

3.6.10. *Análise de brilho*

As análises de brilho (“*gloss*”) foram realizadas de acordo com a ASTM D-523 (2014) com ângulo de incidência de 60° usando um medidor de brilho Multi Gloss 268 Plus (Konica Minolta, Espanha). Foram realizadas dez (10) medições para cada composição. A média e o desvio padrão dessas medidas foram reportados. Essa análise foi realizada apenas na UPV/EHU.

3.6.11. *Análise de propriedades térmicas*

Para a realização das análises termogravimétricas (TGA), as amostras foram colocadas em uma termobalança (modelo Q50, TA *Instrument*) e aquecidas de 25 °C até 800 °C usando 10 °C min⁻¹ como taxa de aquecimento, em atmosfera de nitrogênio (50 mL min⁻¹). A temperatura de fusão das amostras foi detectada por calorimetria diferencial exploratória (DSC), aquecendo-as de -60 °C até 250 °C usando 10 °C min⁻¹ como taxa de aquecimento, em atmosfera de nitrogênio (50 mL min⁻¹).

Na UPV/EHU, as análises termogravimétricas foram realizadas em uma termobalança TGA SDTA 851 (Mettler Toledo S.A.E., Barcelona, Espanha), variando a temperatura entre 25 °C e 800 °C com taxa de aquecimento de 10 °C min⁻¹; as análises foram realizadas sob atmosfera de nitrogênio (10 mL min⁻¹) para evitar a ocorrência de reações termo-oxidativas. Além disso, as análises de calorimetria diferencial de varredura (DSC) foram realizadas em

equipamento DSC 822 (Mettler Toledo S.A.E., Barcelona, Espanha). As amostras de filme com e sem resíduo de mirtilo (aproximadamente 3,5 mg) foram hermeticamente fechadas usando cápsulas de alumínio para prevenir a perda de massa durante a análise. O aquecimento foi feito usando $10\text{ }^{\circ}\text{C min}^{-1}$ de $50\text{ }^{\circ}\text{C}$ até $250\text{ }^{\circ}\text{C}$ sob atmosfera inerte (10 mL min^{-1} de N_2).

3.6.12. Análise térmica dinâmico-mecânica

As análises térmicas dinâmico-mecânicas (DMTA) foram executadas utilizando um equipamento DMTA Explexor 100 N, Gabo Qualimeter (JM Toneu, Espanha). Os filmes foram analisados em temperaturas variando entre $-100\text{ }^{\circ}\text{C}$ e $50\text{ }^{\circ}\text{C}$ sob uma taxa de aquecimento de $2\text{ }^{\circ}\text{C min}^{-1}$. As medidas de tensão foram realizadas sob frequência constante de 1 Hz e a deformação aplicada foi fixada em 0,08%. Essa análise foi realizada somente na UPV/EHU.

3.6.13. Ensaio de migração de compostos fenólicos

Os ensaios de migração de compostos fenólicos foram realizados de acordo com a norma Europeia UE 2016/1416 (2011). Soluções de etanol (96%, v/v) e ácido acético (3%, v/v) foram selecionadas como soluções simulantes representativas para alimentos gordurosos e aquosos, respectivamente (TOVAR et al., 2005). Os testes de migração realizados por imersão total das amostras foram realizados da seguinte forma: 6 cm^2 de cada filme e 10 mL do simulante foram colocados em frascos de vidro; em seguida, esses frascos (com filme e solução simulante) foram introduzidas em um ambiente com temperatura controlada ($20\text{ }^{\circ}\text{C}$), durante 10 dias. Imediatamente após a exposição dos filmes aos simulantes durante o período de tempo pré-estabelecido, os filmes foram removidos dos frascos de vidro e medidas de absorvância UV-vis (Jasco, Model V-630, Tóquio, Japão) foram realizadas nas soluções simulantes. As amostras foram ensaiadas em triplicata para cada formulação de filme e para cada agente simulante. Essa análise foi realizada somente na UPV/EHU.

3.6.14. Ensaio de inchamento (swelling) em água

O inchamento dos filmes foi medido gravimetricamente de acordo com a norma ASTM D 570 (1998), em triplicata. As amostras foram inicialmente pesadas (w_o) e imersas em água destilada, e após tempos fixos foram removidas e pesadas novamente (w_t); utilizou-se um papel para remover o excesso de água nesta etapa. As medições foram feitas a cada 1 h

nas primeiras 10 h de análise e após 24 h. A porcentagem de inchamento (*swelling*) foi calculada utilizando a Equação (3.6):

$$\text{Inchamento (\%)} = \frac{(W_t - W_o)}{W_o} \times 100 \quad (3.6)$$

3.6.15. Determinação do conteúdo de matéria solúvel total

O conteúdo total de matéria solúvel (TSM) foi expresso como a porcentagem de matéria seca do filme solubilizada após imersão em diferentes meios durante 24 h (GUERRERO et al., 2013). Soluções ácidas (pH 2,5), neutras (pH 7) e básicas (pH 10) foram selecionadas para a realização dos testes. O ajuste do pH das soluções utilizadas foi realizado utilizando água destilada, HCl (1 mol L⁻¹) e NaOH (1 mol L⁻¹). Os valores reportados no presente trabalho representam a média de três repetições. Essa análise foi realizada somente na UPV/EHU.

3.6.16. Análise de biodegradabilidade dos filmes em composto orgânico

A norma brasileira para avaliação da biodegradação e compostagem de embalagens plásticas degradáveis e/ou de fontes renováveis, ABNT NBR 15448 (2008), é baseada nas premissas da norma Europeia EN 13432 (2000): “*Requirements for packaging recoverable through composting and biodegradation*”.

Para avaliação da biodegradabilidade dos filmes foi utilizado um composto orgânico (solo) para imersão das amostras a serem avaliadas. Por definição, um composto orgânico é obtido a partir do solo por biodegradação de uma mistura que consiste principalmente de resíduos vegetais, com outros materiais orgânicos, ocasionalmente presentes, e na presença de conteúdo mineral limitado (BRIASSOULIS, 2007; CERRUTI et al., 2011).

A amostra de solo foi caracterizada segundo metodologias da EMBRAPA (1997, 1998) para pH, teor de umidade e matéria orgânica; SMEWW 2540-G para sólidos totais e EPA 200.2 para conteúdo de fósforo. O composto orgânico (solo) utilizado no presente trabalho apresentou pH básico (8,6 ± 0,1), 287 ± 47 g de carbono por kg de amostra, 30,7% ± 0,2% de sólidos totais, 69,2% ± 0,1% de umidade e 6,165 ± 1,141 mg de fósforo por kg de amostra.

As amostras de filmes preparadas por *casting* (contendo 4% de amido sem e com resíduo de mirtilo em diferentes granulometrias (0,5 g) foram cortadas em pedaços de 25 mm x 25 mm e acondicionadas em telas de plástico para facilitar a sua retirada após serem

enterradas no solo. Os testes foram realizados sob condições ambiente de temperatura ($\sim 25\text{ }^{\circ}\text{C}$) e pressão. Para a realização da análise de biodegradabilidade, as amostras foram enterradas no solo até uma profundidade de aproximadamente 10-20 mm em um recipiente de polipropileno estéril contendo cerca de 40 mg do composto orgânico (solo). As amostras foram mantidas à temperatura ambiente e água foi pulverizada uma vez por dia para manter a umidade. Em diferentes períodos de tempo, as amostras foram cuidadosamente removidas do solo e registros fotográficos foram realizados. O processo de desintegração foi monitorado qualitativamente por inspeção visual de acordo com Cerruti et al. (2011) e Piñeros-Hernandez et al. (2017).

3.7. Testes para validação dos filmes produzidos com resíduo de mirtilo como embalagem inteligente

Além das análises de caracterização dos filmes descritas anteriormente (umidade, solubilidade, permeabilidade ao vapor de água, espessura, propriedades mecânicas, estruturais, térmicas, óticas, grau de biodergradação e capacidade de migração) foram feitos testes colorimétricos para avaliação dos filmes como indicadores de mudança de pH. Adicionalmente, os extratos antociânicos foram analisados por espectrofotometria UV-vis em diferentes pHs. As metodologias estão descritas a seguir.

3.7.1. Teste colorimétrico para avaliação dos filmes como indicador de mudança de pH

Amostras dos diferentes filmes obtidos foram cortadas (2 x 2 cm) e submersas em soluções tampão com valores de pH variando entre 2 e 12, a fim de avaliar seu potencial como indicador colorimétrico. Após a imersão em soluções tampão com diferentes valores de pH, a mudança de cor dos filmes ocorreu instantaneamente, no entanto, foi estabelecido que a leitura colorimétrica das amostras seria realizada após um tempo de 20 min de imersão nas soluções tampão, para padronizar as respostas, minimizando, desta forma, possíveis diferenças de variação de cor decorrentes de diferentes tempos de contato. Os cálculos de diferença total de cor (ΔE^*) foram realizados utilizando como padrão a amostra original não submetida ao teste de mudança de cor.

As análises de cor foram realizadas em colorímetro de bancada ColorQuest XE (Hunter Laboratory, USA) usando a escala *CIELab** com D65 como iluminante e ângulo de observação de 10° (CIE, 1978). Os valores encontrados para os parâmetros de análise de cor

correspondem à média de três determinações. A coordenada L^* é uma medida de luminosidade, com valores variando de 0 (totalmente preta) a 100 (totalmente branca). A coordenada de cromaticidade a^* pode assumir valores negativos (cor verde) e valores positivos (cor vermelha), enquanto que a coordenada de cromaticidade b^* pode variar de valores negativos (cor azul) a positivos (cor amarela); este comportamento pode ser observado nos diagramas apresentados na Figura 19. As diferenças de cor são determinadas pelo parâmetro ΔE^* , que é calculado pela distância Euclidiana entre dois pontos em um espaço tridimensional definidos pelos parâmetros L^* , a^* e b^* . Matematicamente, o parâmetro colorimétrico ΔE^* pode ser descrito pela Equação (3.7), apresentada a seguir:

$$\Delta E^* = \sqrt{(\Delta L^*)^2 + (\Delta a^*)^2 + (\Delta b^*)^2} \quad (3.7)$$

Neste espaço de cor, C^*_{ab} representa a saturação e h_{ab} é o ângulo de tonalidade. O valor de saturação C^*_{ab} representa a distância do eixo de luminosidade (L^*) e inicia em zero no centro. O ângulo de tonalidade começa no eixo $+a^*$ e se movimenta em sentido anti-horário, medido em graus em uma escala de 0° a 360° , por exemplo: 0° é vermelho e 90° é amarelo. Uma cor em qualquer um dos planos a^* e b^* também pode ser descrita em termos de cromaticidade ou Chroma (C^*_{ab}) e do seu ângulo de tonalidade, h_{ab} . O valor de Chroma (C^*_{ab}) e o ângulo h_{ab} podem ser determinados a partir das Equações (3.8), (3.9), (3.10) e (3.11) descritas a seguir (CIE, 1978):

$$C^*_{ab} = \sqrt{(a^*)^2 + (b^*)^2} \quad (3.8)$$

$$h_{ab} = \tan^{-1}(b^*/a^*) \quad \text{quando } a^* \text{ e } b^* \text{ são positivos} \quad (3.9)$$

$$h_{ab} = 180 + \tan^{-1}(b^*/a^*) \quad \text{se } a^* \text{ e } b^* \text{ negativos e se } a^* \text{ negativo e } b^* \text{ positivo} \quad (3.10)$$

$$h_{ab} = 360 + \tan^{-1}(b^*/a^*) \quad \text{quando } a^* \text{ positivo e } b^* \text{ negativo} \quad (3.11)$$

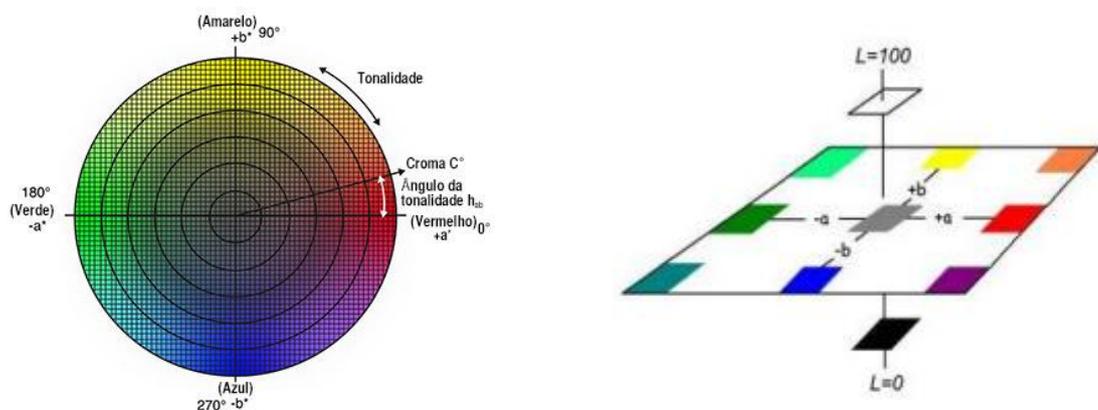


Figura 19. Diagramas representativos do sistema de cores CIELAB. (Fonte: CIE, 1978).

Na UPV/EHU, as análises de cor foram realizadas no equipamento CR-400 Chroma-Meter (Konica Minolta, Espanha). Os filmes foram colocados em uma superfície plana de coloração padrão branca ($L^* = 97,39$, $a^* = 0,03$ e $b^* = 1,77$) usada como superfície controle de calibração. A amostra contendo somente amido foi usada como padrão para calcular os valores de diferença de cor global (ΔE^*).

3.7.2. Aplicação dos filmes contendo resíduo de mirtilo em soluções aquosas e alimentos

Após a imersão em soluções tampão com diferentes valores de pH, a mudança de cor dos filmes também foi avaliada em soluções aquosas e alimentos. A mudança de cor foi avaliada comparando as diferenças de cor entre filmes antes e depois de um tempo de imersão padrão (fixado em 20 min, conforme comentado anteriormente), no respectivo valor de pH, nas seguintes soluções aquosas utilizadas como simulantes alimentícios ou alimentos: água destilada (pH 5,6), solução de sal (pH 7), solução de sacarose (pH 6), proteína do leite (pH 6), óleo de milho (pH 6) e carne de frango (pH 5,8).

No Brasil, os testes utilizando as soluções aquosas que simulam o comportamento dos alimentos devem ser realizados de acordo com a Resolução do Conselho Colegiado (RDC) nº 105/1999 (Agência Nacional de Vigilância Sanitária, 1999) e RDC nº 51/2010 (ANVISA, 2010). As soluções aquosas que simulam o comportamento dos alimentos, apresentando propriedades físico-químicas semelhantes às dos alimentos, podem ser utilizadas como alternativa nos ensaios de migração devido à complexidade das matrizes alimentícias (ARVANITOYANNIS & BOSNEA, 2004; GARDE et al., 2001; RIBEIRO- SANTOS et al., 2017). A água foi selecionada como uma solução aquosa simulante para representar produtos alimentícios contendo alto teor de água (alimentos aquosos) (BANER et al., 1992). As soluções de sal e açúcar foram preparadas de acordo com a metodologia utilizada por Suciú et al. (2013). Os outros sistemas simulantes foram escolhidos para avaliar o comportamento da mudança de cor nos produtos alimentícios baseados em proteínas. O óleo de milho foi avaliado como um simulador em produtos alimentícios ricos em compostos lipídicos. No caso da aplicação dos filmes em pedaços de carne de frango, utilizou-se um meio estéril e técnicas adequadas de aplicação dos filmes em contato direto e indireto (próximo da amostra) com o produto alimentício avaliado (SILVA-PEREIRA et al., 2015).

3.8. Análise estatística

Os resultados foram submetidos à análise estatística levando em consideração os filmes feitos com o mesmo tipo de amido, em diferentes concentrações. As análises de variância entre as amostras e o Teste de Tukey foram feitos no software STATISTICA 8.0 (Statsoft Inc., Tulsa, USA) com nível de confiança de 95% ($p < 0,05$).

Para fins de comparação, as mesmas análises realizadas para os filmes de amido produzidos no presente trabalho, foram realizadas para filmes atualmente comercializados, tais como: PVC [poli(cloreto de vinila)], popularmente conhecido como filmito; PEBD (polietileno de baixa densidade), comumente usado como embalagem para alimentos; PARAFILME “M”, PM-996, WI 54956 (*Neenah, Wisconsin, USA*). O Parafilm M® é um filme de parafina plástica com papel, é um termoplástico dúctil, maleável, à prova d'água, inodoro, transparente e coesivo. Além disso, as análises também foram realizadas para um filme à base de amido de milho, conhecido como *BioBag (International AS | Hovsveien 8, N-1831, Askim, Noruega)* utilizado na Noruega como sacos para acondicionamento de lixo orgânico que posteriormente é enviado para compostagem.

Para avaliar os resultados obtidos na Parte I desta Tese, a Análise de Componentes Principais (ACP) também foi realizada usando a matriz de covariância no software STATISTICA 8.0 (Statsoft Inc., Tulsa, EUA). Os parâmetros físico-químicos (espessura, permeabilidade ao vapor de água, solubilidade em água e teor de umidade) e as propriedades mecânicas (resistência à tração, percentual de alongação e módulo de Young) foram utilizados como variáveis ativas e as amostras (filmes contendo diferentes fontes e conteúdos de amido preparados pela técnica de *casting*) foram projetadas no espaço do fator.

Capítulo 4 - Resultados e Discussão

Neste capítulo são apresentados e discutidos os resultados obtidos nas Partes I, II e III do trabalho, conforme apresentado anteriormente nos fluxogramas das Figuras 1 e 2. Inicialmente, os resultados de caracterização dos amidos de milho, trigo, mandioca e batata, utilizados como matérias-primas, e dos materiais desenvolvidos à base desses amidos são discutidos. Em seguida, são apresentados os resultados referentes à caracterização do resíduo obtido a partir do processamento do suco de mirtilo e dos filmes produzidos por *casting* e por termocompressão com a incorporação desse resíduo. Além disso, os resultados dos experimentos para avaliação da capacidade de migração dos compostos fenólicos da embalagem para o meio, assim como da capacidade de mudança de coloração dos filmes devido à presença de antocianinas em função do valor do pH das soluções de imersão estão apresentados. Finalmente, os resultados dos testes de aplicação feitos em soluções aquosas e produtos alimentícios para avaliação da capacidade de mudança de cor também são discutidos.

4.1. Parte I – Caracterização dos diferentes amidos e dos filmes à base de amido

4.1.1. Caracterização físico-química dos diferentes tipos de amido

Nas Tabelas 8 e 9 e nas Figuras 20, 21 e 22 estão apresentados os resultados da caracterização dos amidos (milho, mandioca, trigo e batata) quanto ao conteúdo de umidade, teor de amilose e amilopectina, morfologia do grânulo, distribuição granulométrica, estrutura química, padrão e índice de cristalinidade.

O conteúdo de umidade observado para os todos os amidos variou entre 9,2 e 14,5%. O teor de umidade do amido é um parâmetro que pode influenciar mais significativamente durante a etapa de termoprocessamento das amostras. Os valores encontrados para o conteúdo de amilose e amilopectina apresentaram resultados muito semelhantes para os amidos de milho, mandioca e trigo; entretanto, para o amido de batata, o teor de amilose (aproximadamente 10%) foi inferior ao

valor obtido para os outros amidos. Cano et al. (2014), Weber, Collares-Queiroz & Chang (2009) e Majzoobi & Beparva (2014) encontraram valores similares aos apresentados na Tabela 8 para os amidos de batata (9,2%), milho (28%) e trigo (24-25%), respectivamente. No entanto, conteúdo de amilose para o amido de mandioca (18%) encontrado por Muñoz et al. (2015) foi inferior ao valor encontrado no presente estudo.

Tabela 8. Resultados das análises de teor de umidade, conteúdo de amilose e amilopectina e índice de cristalinidade dos amidos de milho, mandioca, trigo e batata.

Amido	Teor de umidade (%)*	Amilose (%)	Amilopectina (%)	Índice de cristalinidade (%)
Milho	13,5 ± 0,3 ^B	28,5	71,5	14,3
Mandioca	14,5 ± 0,1 ^A	26,9	73,1	13,1
Trigo	12,4 ± 0,1 ^C	27,4	72,6	11,9
Batata	9,2 ± 0,2 ^D	9,9	90,1	21,1

*Letras diferentes nas colunas indicam que houve diferença estatisticamente significativa ($p < 0,05$).

A análise de cristalinidade dos grânulos de amido apresentada na Figura 20 permitiu confirmar os tipos de cristais previamente descritos na literatura; o padrão A é tipicamente encontrado em amidos de cereais (milho e trigo), o padrão B é característico de amidos de tubérculos (batata), o padrão C é uma mistura dos tipos A e B (mandioca). O amido do tipo C apresenta características de A e B, mas predominantemente A, sendo a mandioca um exemplo típico. Adicionalmente, o índice de cristalinidade calculado, que também está apresentado na Tabela 8, permite correlacionar esse resultado com a análise do teor de amilose, uma vez que grânulos de amido com menor teor de amilose apresentam maior cristalinidade.

O índice de cristalinidade encontrado para o amido de milho foi de aproximadamente 14,3%, muito similar ao reportado por Weber, Collares-Queiroz & Chang (2009). No entanto, valores inferiores foram encontrados para o amido de batata e de mandioca, quando comparados aos resultados de Hoover (2001) para o amido de batata (28%) e de mandioca (38%). Quanto ao índice de cristalinidade do amido de trigo, não foram encontrados valores na literatura para fins de comparação.

Os resultados da análise granulométrica dos amidos por difração a laser estão apresentados na Tabela 9. Uma avaliação desses resultados permite verificar que o diâmetro médio dos grânulos variou entre 11 e 43 μm ; os amidos de milho e de mandioca apresentaram as menores faixas de tamanho de partícula dentre os amidos testados, como consequência, as distribuições de tamanho

mais estreitas. Os resultados foram muito semelhantes para estes amidos, que apresentaram diâmetros variando entre 1,5 e 20 μm ; o amido de trigo apresentou distribuição de tamanhos variando entre 3 e 30 μm , enquanto o amido de batata apresentou a distribuição de tamanhos mais larga e os maiores valores de tamanho de grânulo, que variaram entre 20 e 65 μm . Adicionalmente, pode-se verificar que, exceto para o amido de batata, que apresentou distribuição granulométrica unimodal, todos os outros amidos apresentaram distribuição bimodal com a presença de ombros (estes resultados estão apresentados no APÊNDICE III). Resultados similares foram encontrados por MUÑOZ et al. (2015) que avaliaram diferentes tipos de amido e encontraram o diâmetro médio dos grânulos variando entre 15 e 45 μm , sendo que o amido de batata apresentou os maiores tamanhos de grânulos (entre 21,1 e 80,7 μm) e o amido de mandioca a distribuição mais estreita e os menores valores de tamanho de grânulos (entre 9,5 e 25 μm). O amido de milho apresentou valores variando entre 8,3 e 25 μm e o amido de trigo entre 4,4 e 40 μm .

Tabela 9. Análise granulométrica dos amidos utilizados para a produção dos filmes.

Amido	Análise granulométrica (μm)				
	D(0,1)	D(0,5)	D(0,9)	Diâmetro médio	Dispersão (Span)
Milho	1,7 \pm 0,1 ^{BC}	13,03 \pm 0,01 ^C	19,2 \pm 0,2 ^C	12,17 \pm 0,07 ^C	1,34 \pm 0,01 ^B
Mandioca	1,54 \pm 0,01 ^C	12,55 \pm 0,06 ^D	19,7 \pm 0,3 ^C	11,9 \pm 0,2 ^C	1,45 \pm 0,02 ^A
Trigo	2,99 \pm 0,06 ^B	18,07 \pm 0,01 ^B	28,4 \pm 0,2 ^B	17,09 \pm 0,06 ^B	1,41 \pm 0,01 ^{AB}
Batata	19,7 \pm 0,5 ^A	43,4 \pm 0,1 ^A	65,1 \pm 0,6 ^A	42,60 \pm 0,02 ^A	1,04 \pm 0,03 ^C

*Letras diferentes nas colunas indicam que houve diferença estatisticamente significativa ($p < 0,05$).

**Média de três repetições \pm desvio padrão. D(0,1 μm): diâmetro de partícula correspondente a 10% da distribuição acumulada; D(0,5 μm): diâmetro de partícula correspondente a 50% da distribuição acumulada; D(0,9 μm): diâmetro de partícula correspondente a 90% da distribuição acumulada; Diâmetro médio (μm): diâmetro médio em volume; Span = medida de dispersão granulométrica.

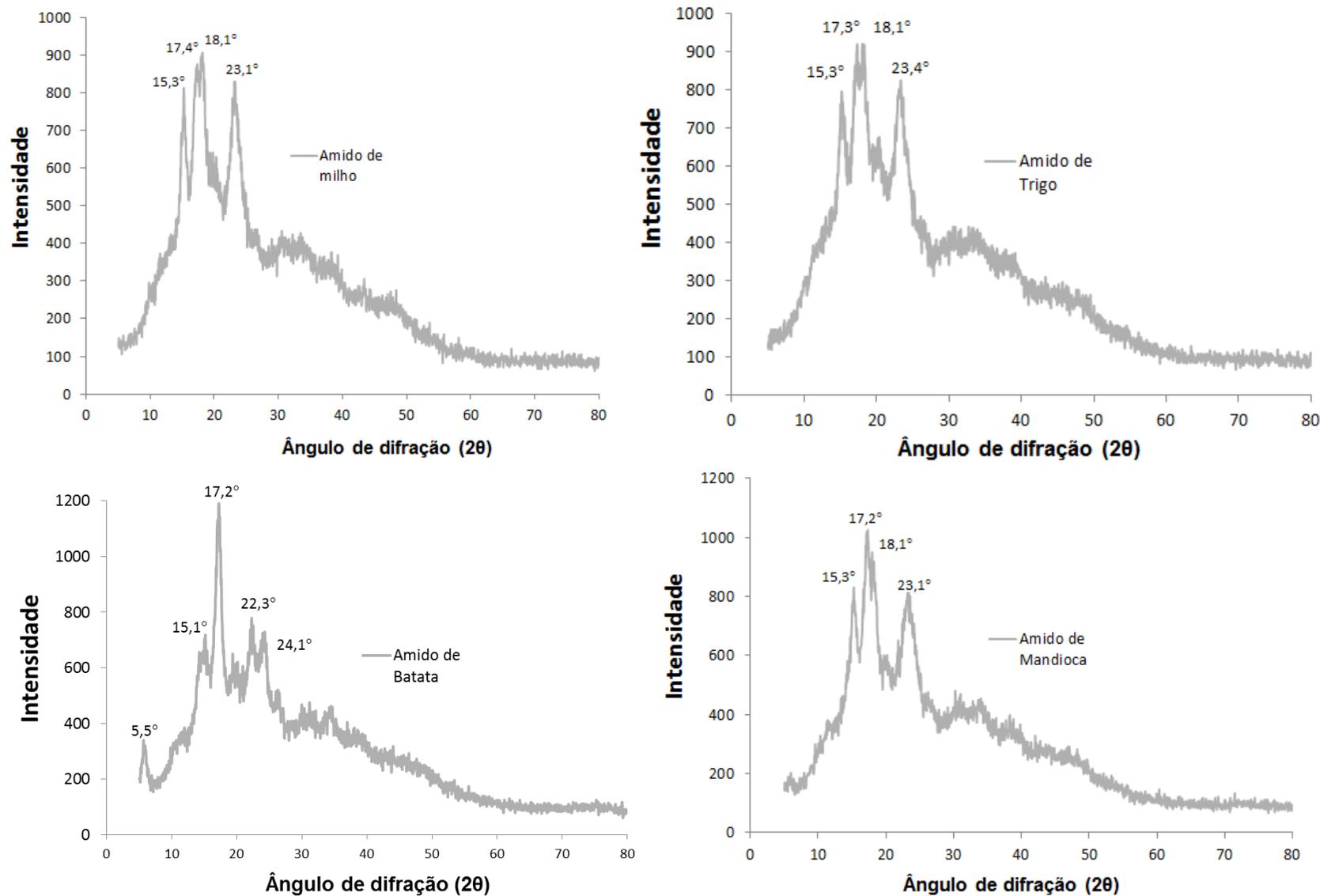


Figura 20. Espectros de difração de raios-X dos grânulos de amidos de milho, de trigo, de mandioca e de batata.

Na Figura 21 estão apresentados os resultados da análise morfológica dos grânulos de amido por Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV); diferentes aumentos foram usados para facilitar a visualização do formato dos grânulos de amido. É possível verificar que o amido de milho possui uma forma poliédrica e arredondada, o de mandioca possui forma redonda ou oval, o de trigo apresenta forma esférica-elíptica ou lenticular, enquanto o amido de batata apresenta forma ovalar. Esses resultados concordam com as informações da literatura (HOOVER, 2001; SINGH et al., 2003; MUÑOZ et al., 2015) e também com os resultados da análise granulométrica, visto que o amido de batata apresentou, claramente, grânulos maiores com menor dispersão de tamanhos em comparação aos outros amidos.

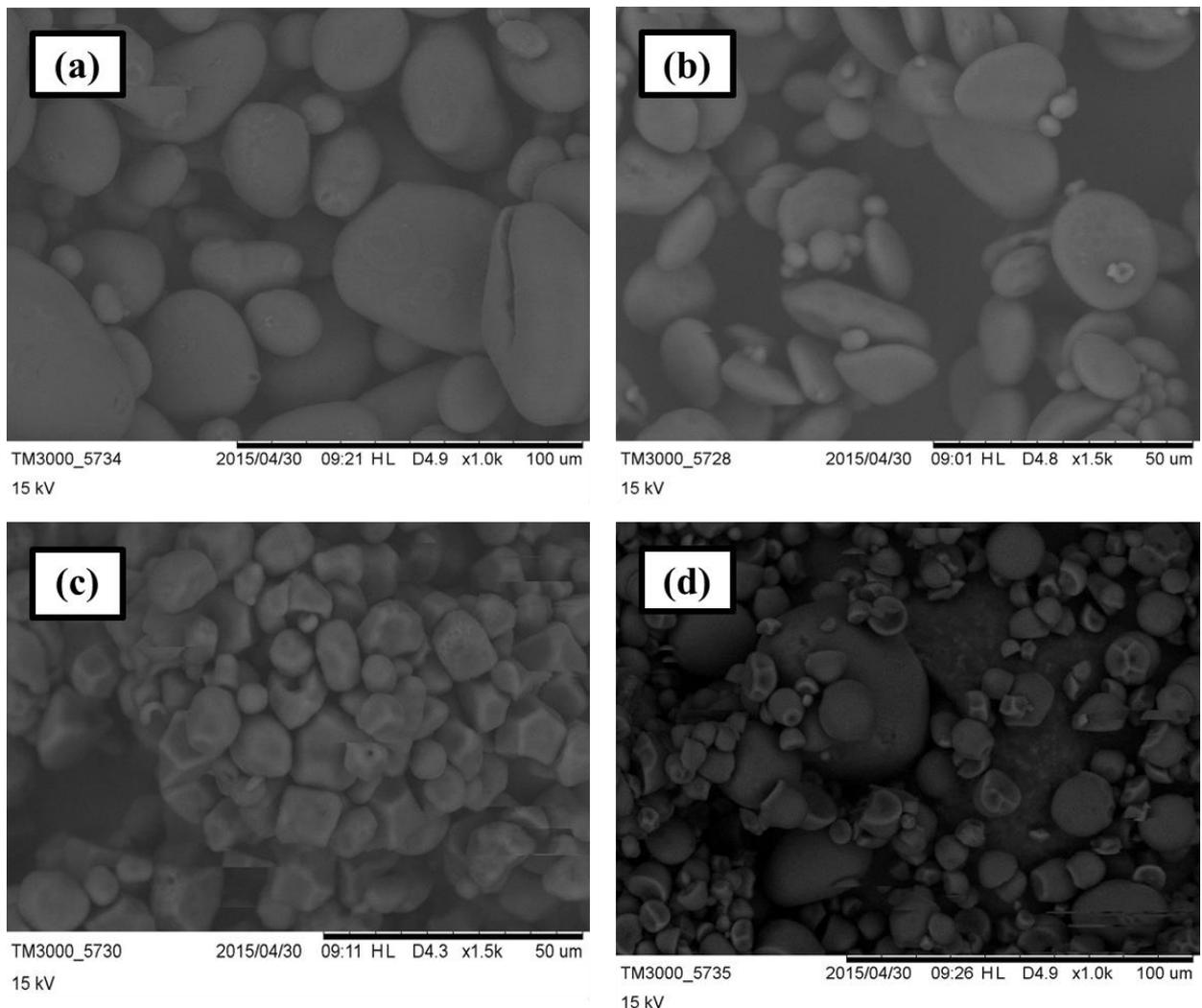


Figura 21. Fotomicrografias dos amidos de (a) batata, (b) trigo, (c) milho e (d) mandioca com ampliação de 1000 x para amidos de batata e de mandioca e de 1500 x para os amidos de trigo e de milho.

Os espectros de infravermelho por transformada de Fourier (FTIR) dos diferentes amidos estão apresentados na Figura 22. Verificou-se que amidos provenientes de diferentes fontes possuem o mesmo espectro de FTIR. O resultado dessa análise mostra que eles apresentam ligações químicas idênticas, visto que foram identificados picos nos mesmos números de onda, com as mesmas intensidades; os amidos exibiram os seguintes picos típicos de polissacarídeos. A faixa de estiramento O-H e a intensidade das bandas correspondem a grupos ligados por ‘ligações de hidrogênio’ intermoleculares (PERIOTTO, 2012 e BARTZ et al., 2012):

- 1000 cm^{-1} : ligações C-C e C-O dos anéis aromáticos;
- $1400\text{-}1600\text{ cm}^{-1}$: vibrações dos anéis aromáticos, compostos fenólicos e hidrocarbonetos;
- 2900 cm^{-1} : estiramento C-H;
- 3300 cm^{-1} : umidade e ligações de hidrogênio do grupamento hidroxila (OH).

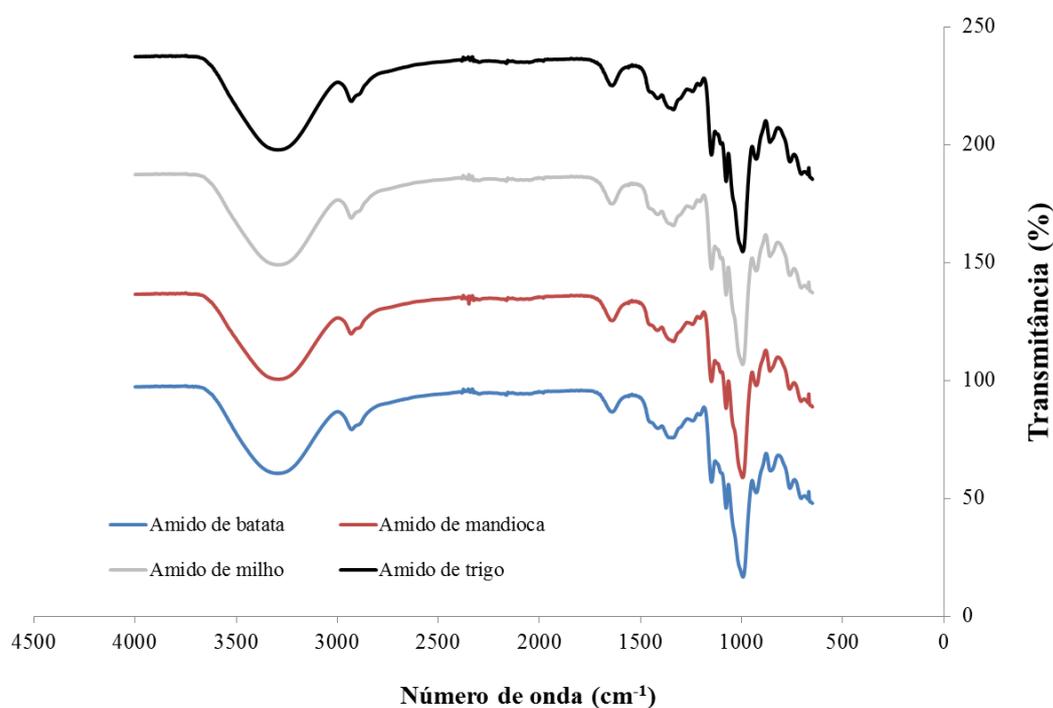


Figura 22. Espectros de infravermelho por transformada de Fourier (FTIR) dos amidos de batata, milho, trigo e mandioca.

4.1.2. Formação de estruturas à base de amido de batata

O aspecto visual dos filmes à base de amido de batata (identificados pela letra B, seguida pelo conteúdo de amido por 100 mL) processados por *casting* e espalhados em diferentes gramaturas: a (0,43 g.cm⁻²), b (0,34 g.cm⁻²) e c (0,22 g.cm⁻²) estão apresentados na Figura 23. É possível verificar que independente da formulação e da quantidade de solução utilizadas, a formação de filmes contínuos a partir do amido de batata não foi possível e, portanto, os filmes de amido de batata não puderam ser caracterizados.

Segundo Bortnowska et al. (2014), o amido de batata necessita de hidratação, previamente ao processo de gelatinização, para viabilizar a formação de filmes; essa alternativa também foi testada, assim como o aumento do teor de glicerol na formulação, entretanto, os resultados não foram promissores, ou seja, novamente, não houve formação de estruturas filmogênicas contínuas. Outros autores (Balakrishnan et al. (2017), Velásquez et al. (2015) e Moreno et al. (2015) que trabalharam com amido de batata para confecção de filmes, obtiveram matrizes contínuas. No entanto, os amidos utilizados por eles apresentaram teores de amilose (acima de 18%) maiores que o utilizado no presente trabalho (10%). Isto sugere que não houve formação de filmes contínuos devido ao teor muito baixo de amilose, visto que a presença deste composto é essencial para a formação das redes tridimensionais.

Esse resultado corrobora com o reportado por García et al. (2000), esses autores afirmaram que a formação de filmes está diretamente associada à presença de amilose. A hipótese de não formação de filmes contínuos devido ao baixo teor de amilose pode ser reforçada pelos resultados encontrados por Colussi et al. (2017), que relataram resultados similares aos descritos no presente trabalho quando tentaram produzir filmes de amido de arroz com baixo teor de amilose (8%).

Outro fator que pode ter sido a causa da não formação do filme contínuo de amido de batata é descrito por Myllarinen et al. (2002). Esses autores citam que a amilopectina por si só pode recristalizar em algumas circunstâncias, visto que o processo de recristalização é favorecido para cadeias que possuem comprimento médio de 15 DP (grau de polimerização) ou mais. Lembrando que a amilopectina apresentam cadeias com DP maiores do que a amilose. Desta forma, os filmes de amido de batata são mais suscetíveis a formar filmes semicristalinos do que outros tipos de amidos com maior teor de amilose. Além disso, Goodfellow & Wilson (1990) relatam que a presença de amilopectina em elevadas quantidades no amido pode promover a recristalização da amilose.

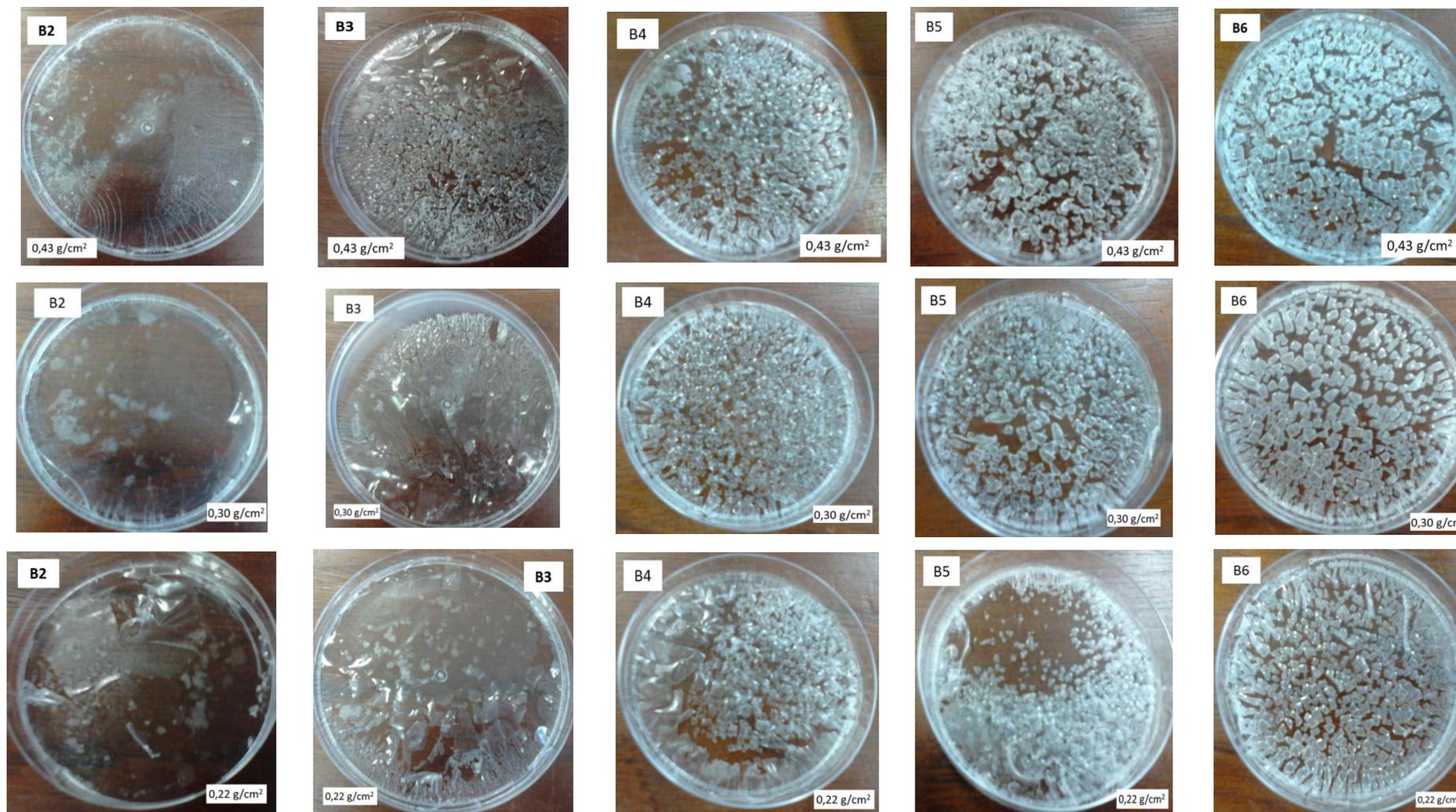


Figura 23. Aspecto visual dos filmes à base de amido de batata processados por *casting* (identificados pela letra B seguida pelo conteúdo de amido por 100 mL) espalhados nas gramaturas de $0,43 \text{ g.cm}^{-2}$, $0,34 \text{ g.cm}^{-2}$ e $0,22 \text{ g.cm}^{-2}$, respectivamente.

Além disso, Goodfellow & Wilson (1990) citaram que a cristalização das cadeias laterais helicoidais da amilopectina pode produzir seções rígidas dentro da molécula, aumentando a força do gel. No entanto, na molécula de amilose, a transição das cadeias para o formato de hélice é um processo intermolecular, que leva diretamente à criação de uma rede tridimensional. Em outras palavras, as cadeias de amilopectina, durante o processo de gelatinização, apresentam um aumento da força do gel, mas não ocorre um aumento da extensão da rede de gel. Portanto, a rede tridimensional de amido de batata contendo apenas 10% de amilose parece ser insuficiente para promover a formação de um filme contínuo.

Estas hipóteses permitem explicar os resultados encontrados no presente trabalho e podem ser confirmadas pela análise de cristalinidade comparativa dos filmes de amido de batata, milho, trigo e mandioca. Os resultados da análise de cristalinidade representados pelos difratogramas dos grânulos de amidos avaliados e os filmes produzidos a partir desses amidos estão apresentados no APÊNDICE IV.

As formulações contendo amido de milho, trigo ou mandioca permitiram a formação de filmes contínuos e flexíveis, os quais apresentaram estrutura amorfa (ou seja, os grânulos perderam sua estrutura semicristalina durante a gelatinização sob as condições de processamento). Por sua vez, os filmes de amido de batata apresentaram estrutura semicristalina, com picos bem definidos e coincidentes com os picos apresentados no difratograma do grânulo de amido de batata. O filme de amido de batata apresentou índice de cristalinidade médio de 13,3%.

Assim como os filmes apresentados neste trabalho à base de amido de mandioca, milho e trigo, a maioria dos filmes de amido recém-preparados são, basicamente, amorfos (RINDLAV et al., 1997; RINDLAV-WESTLING et al., 1998; GARCÍA et al., 2000), embora alguns filmes de amilose possam apresentar leve cristalinidade (< 10%) (MYLLÄRINEN et al., 2002). Isto acontece, pois, posteriormente à solubilização e à completa gelatinização, o grânulo de amido perde a sua cristalinidade, que raramente é restaurada após o processo imediato de secagem, porque a taxa de retrogradação ou a recristalização do amido é, frequentemente, muito mais lenta do que a velocidade de secagem (RITZL et al., 1998). Embora o processo de envelhecimento de filmes de amido possa torná-los semicristalinos, a maioria dos filmes permanece amorfo após armazenamento prolongado (RINDLAV et al., 1997; RINDLAV-WESTLING et al., 1998).

4.1.3. Caracterização dos filmes à base de amido de milho com conteúdo de glicerol fixo

Nesta etapa do trabalho foram avaliados filmes produzidos por *casting* com glicerol em quantidade fixa (0,9g por 100 mL de solução), em diferentes gramaturas. A quantidade de solução filmogênica utilizada para produzir os filmes por *casting* está identificada por letras: a representa $0,43 \text{ g.cm}^{-2}$, b corresponde a $0,34 \text{ g.cm}^{-2}$ e c, $0,22 \text{ g.cm}^{-2}$. Os filmes produzidos foram caracterizados quanto à espessura, ao conteúdo de umidade, à solubilidade em água, à permeabilidade ao vapor de água e em relação às propriedades mecânicas.

Cabe ressaltar que dependendo da quantidade de amido e da gramatura utilizadas, algumas amostras não apresentaram formação de filmes contínuos passíveis de caracterização. Somente as formulações com baixos teores de amido de milho (2 e 3 g por 100 mL) foram caracterizadas ao utilizar a maior gramatura ($0,43 \text{ g.cm}^{-2}$). Entretanto, a redução na quantidade de solução ($0,34 \text{ g.cm}^{-2}$ e $0,22 \text{ g.cm}^{-2}$) usada para o espalhamento em placas de Petri possibilitou a formação de filmes com maior conteúdo de amido (2, 3 e 4 g por 100 mL). Segundo Mali et al. (2010), o controle da espessura dos filmes produzidos por *casting* é uma etapa que exige atenção e é, ainda, um parâmetro pouco estudado. Este parâmetro influencia largamente as propriedades mecânicas e a permeabilidade ao vapor de água de filmes hidrofílicos. A espessura é influenciada pela quantidade de glicerol usada, pela técnica de preparo dos filmes e, principalmente, pelas características das matérias-primas utilizadas.

Apesar das tentativas de modificação da espessura dos filmes, as soluções filmogênicas contendo 5 e 6 g de amido de milho por 100 mL de solução filmogênica (e a formulação contendo 4 g de amido e gramatura de $0,43 \text{ g.cm}^{-2}$) não possibilitaram a formação de filmes, independente da quantidade usada durante o espalhamento, provavelmente devido à baixa relação entre o conteúdo de amido e de plastificante utilizada. Alguns autores (MALI et al., 2010; MÜLLER et al., 2009) discutem que seria necessária a utilização de pelo menos 30% de plastificante em relação ao teor de amido (m/m) para que ocorra a formação de filmes. Desta forma, os resultados encontrados sugerem que possivelmente não houve formação de filmes devido à baixa razão entre a quantidade de amido e de plastificante utilizada (18% e 15%, em relação ao conteúdo de amido 5 e 6 g por 100 mL de solução filmogênica, respectivamente). Sendo assim, para as próximas etapas os filmes foram produzidos com uma quantidade fixa de 30% de glicerol em relação ao teor de amido utilizado, ou seja, utilizando uma razão amido/glicerol constante.

Analisando os resultados apresentados na Tabela 10 e na Figura 24, verificou-se uma tendência, visto que o aumento do teor de amido promoveu, em geral, aumento da espessura dos

filmes, e redução do conteúdo de umidade e dos valores de permeabilidade ao vapor de água. Isto ocorreu devido ao aumento do teor de sólidos na formulação, que torna a rede polimérica mais densa e, conseqüentemente, menos permeável, prevenindo, ou pelo menos, retardando a transferência de massa entre o produto e o ambiente. Além disso, o aumento do conteúdo do teor de amido afetou as propriedades mecânicas, visto que foi percebida uma tendência de maiores valores de tensão ruptura, alongação máxima e módulo de Young ou módulo de elasticidade, quanto maior o conteúdo de amido.

Quanto à análise de solubilidade, apesar de existirem diferenças entre os valores, independente da formulação utilizada, a solubilidade dos filmes variou entre 18% (filmes com maior conteúdo de amido) e 30% (filmes com menor teor de amido), mostrando que todos os filmes produzidos são praticamente insolúveis em água ($T = 25\text{ °C}$). Salas-Valero, Tapia-Blácido e Menegalli (2015) produziram filmes à base de amido de milho, glicerol e farinha cañihua por *casting* e encontraram valores de umidade variando entre 13 e 14% e solubilidade variando entre 34 e 36%, semelhantes aos valores encontrados no presente estudo. Santacruz et al. (2015) avaliaram formulações filmogênicas à base de amido de batata e de mandioca e também encontraram valores de solubilidade semelhantes (variando entre 33 e 40%) aos valores do presente trabalho. De acordo com Kim et al. (2015), a baixa solubilidade de filmes de amido está relacionada às fortes ligações intermoleculares entre as cadeias de amido, o que impede a dissociação do polímero.

Tabela 10. Resultados das análises de caracterização dos filmes de amido de milho produzidos por *casting* com teor fixo de glicerol e diferentes gramaturas.

Filmes	Espessura (mm)	Umidade (%)	Solubilidade (%)	PVA	TS (MPa)	E(%)	MY (MPa)
				($\text{g mm}^{-1} \text{h}^{-2} \text{m}^{-2} \text{kPa}^{-1}$)			
M2 a	0,130 ± 0,02 ^{BC}	39,7 ± 2,1 ^A	17,9 ± 2,2 ^{BC}	0,53 ± 0,07 ^A	2,2 ± 0,2 ^D	46 ± 6 ^{DE}	34 ± 10 ^{BC}
M3 a	0,173 ± 0,04 ^A	24,7 ± 2,5 ^C	19,9 ± 1,1 ^B	0,45 ± 0,01 ^A	2,4 ± 0,1 ^{CD}	128 ± 13 ^A	36 ± 2 ^{BC}
M2 b	0,075 ± 0,01 ^D	31,4 ± 3,8 ^B	16,4 ± 0,8 ^{BC}	0,34 ± 0,03 ^B	2,9 ± 0,1 ^{BCD}	70 ± 7 ^{CD}	33 ± 2 ^{BC}
M3 b	0,115 ± 0,02 ^C	20,4 ± 1,6 ^{CD}	19,3 ± 4,1 ^{BC}	0,32 ± 0,05 ^{BC}	2,9 ± 0,1 ^{BCD}	103 ± 10 ^{AB}	48 ± 3 ^B
M4 b	0,156 ± 0,02 ^{AB}	20,8 ± 2,5 ^{CD}	15,7 ± 4,0 ^C	0,29 ± 0,04 ^{BCD}	3,9 ± 0,1 ^A	122 ± 9 ^A	65 ± 3 ^A
M2 c	0,066 ± 0,02 ^D	23,4 ± 0,8 ^{CD}	27,4 ± 0,9 ^A	0,31 ± 0,01 ^{BC}	3,1 ± 0,3 ^{BC}	41 ± 6 ^E	23 ± 7 ^C
M3 c	0,079 ± 0,01 ^D	18,2 ± 4,2 ^D	17,8 ± 4,7 ^{BC}	0,25 ± 0,02 ^{CD}	2,9 ± 0,2 ^{BCD}	63 ± 7 ^{CD}	30 ± 1 ^C
M4 c	0,108 ± 0,01 ^C	18,5 ± 2,4 ^D	14,9 ± 2,1 ^C	0,15 ± 0,01 ^D	3,4 ± 0,6 ^{AB}	87 ± 29 ^{BC}	48 ± 9 ^B

*os filmes estão identificados com a letra M seguida pelo conteúdo de amido por 100 mL.

**as gramaturas de espalhamento da solução filmogênica estão representadas por a (0,43 g.cm⁻²), b (0,34 g.cm⁻²) e c (0,22 g.cm⁻²).

***Tensão de ruptura (TS), alongação máxima (E) e módulo de Young ou módulo de elasticidade (MY).

****Letras diferentes nas colunas indicam que houve diferença estatisticamente significativa (p < 0,05).

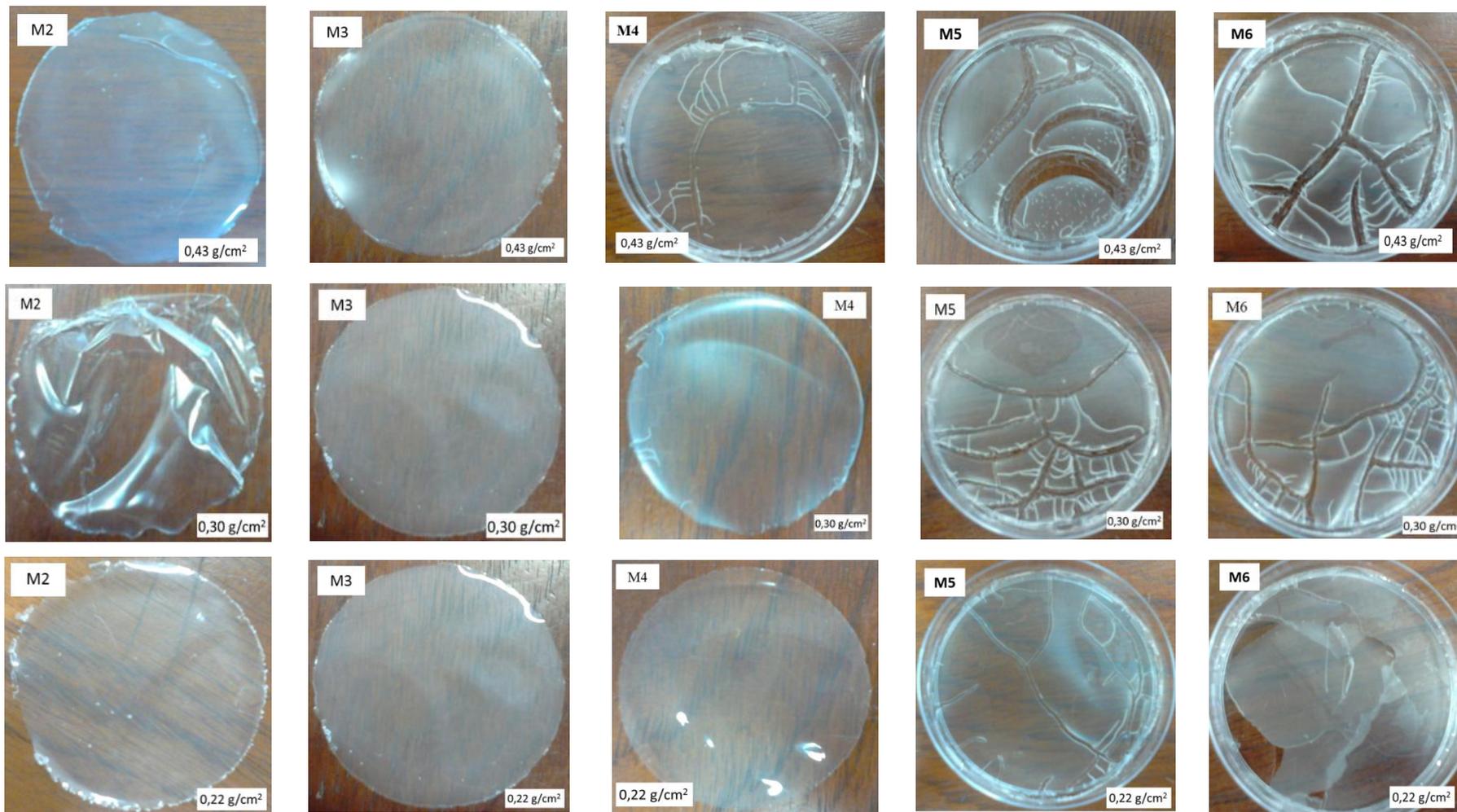


Figura 24. Aspecto visual dos filmes à base de amido de milho (identificados pela letra M seguida pelo conteúdo de amido por 100 mL) produzidos por *casting* com teor fixo de glicerol em diferentes gramaturas (a: $0,43 \text{ g}\cdot\text{cm}^{-2}$, b: $0,34 \text{ g}\cdot\text{cm}^{-2}$ e c: $0,22 \text{ g}\cdot\text{cm}^{-2}$).

A solubilidade em água direciona a aplicação do filme como embalagem para produtos alimentícios. Em alguns casos, a sua total solubilização em água pode ser benéfica, como nos produtos semiprontos que utiliza cozimento por contato direto em água. Entretanto, quando o alimento é líquido ou pastoso ou com elevada atividade de água, filmes com elevada solubilidade em água não são indicados (FAKHOURI et al., 2007). Spada et al. (2014) produziram filmes de amido de pinhão, goma xantana e glicerol e encontraram valores de solubilidade variando entre 18 e 20%, semelhante aos valores encontrados no presente estudo. Wang et al. (2007) encontraram maiores valores de solubilidade (aproximadamente 32%) para filmes de amido de batata, e Tongdeesoontorn et al. (2011) encontraram valores ainda mais altos, aproximadamente 73%, para filmes de amido de mandioca e glicerol. Elevada solubilidade em água é requerida para alimentos que possuem contato direto com a água durante o processo de cozimento ou quando o revestimento é projetado para ser ingerido, ou seja, quando utilizado como filme comestível. Entretanto, baixa solubilidade ou até mesmo insolubilidade em água é desejada em produtos para que a integridade da embalagem seja mantida mesmo em condições ambiente. Filmes com baixa solubilidade em água são necessários para proteção dos produtos alimentícios com atividade de água intermediária ou elevada.

Os resultados das análises de espessura, umidade, solubilidade em água, permeabilidade ao vapor de água e propriedades mecânicas para os filmes de amido de milho produzidos com razão amido/glicerol fixada em 30% em relação ao teor de amido (utilizou-se a letra G para facilitar a identificação dessas amostras) estão apresentados na Tabela 11 e na Figura 25. Verificou-se que apesar do percentual de glicerol ter sido fixado em 30% em relação ao teor de amido, não houve a formação de filme para as soluções filmogênicas contendo 4 e 5 g de amido por 100 mL na gramatura a ($0,43 \text{ g.cm}^{-2}$) e para a solução filmogênica contendo 6 g de amido por 100 mL nas gramaturas a e b ($0,43 \text{ g.cm}^{-2}$ e $0,34 \text{ g.cm}^{-2}$, respectivamente). Esse resultado sugere que, ainda mais importante do que o teor de plastificante em relação ao conteúdo de amido utilizado nas formulações, a quantidade de solução filmogênica, e conseqüentemente, a espessura dos filmes irá influenciar na capacidade de formação de filmes. Assim, relacionou-se a não formação do filme com a uniformidade do processo de secagem, visto que quanto maiores a quantidade e a viscosidade do material a ser seco, maiores são as dificuldades envolvidas no processo de evaporação do solvente, influenciando na difusão e convecção do ar de secagem. Além disso, pode ocorrer a formação de caminhos preferenciais durante a secagem dos filmes.

Tabela 11. Resultados das análises de caracterização dos filmes de amido de milho (identificados pela letra M seguida pelo conteúdo de amido por 100 mL) produzidos por *casting* com 30% de glicerol (G) e diferentes gramaturas (a: 0,43 g.cm⁻², b: 0,34 g.cm⁻² e c: 0,22 g.cm⁻²).

Filmes	Espessura (mm)	Umidade (%)	Solubilidade (%)	PVA (g mm h ⁻¹ m ⁻² kPa ⁻¹)	TS (MPa)	E(%)	MY (MPa)
M2G a	0,121 ± 0,03 ^{CDE}	30,7 ± 1,5 ^A	21,6 ± 0,6 ^{ABC}	0,30 ± 0,03 ^{CDE}	5,2 ± 0,1 ^{BC}	71 ± 14 ^{CDE}	33 ± 5 ^C
M3G a	0,184 ± 0,01 ^A	23,1 ± 4,6 ^{BC}	20,3 ± 3,9 ^{BC}	0,27 ± 0,02 ^{DE}	8,7 ± 0,1 ^A	74 ± 6 ^{BCD}	115 ± 12 ^A
M2G b	0,088 ± 0,01 ^{EF}	22,1 ± 2,4 ^{BC}	26,5 ± 2,6 ^A	0,32 ± 0,02 ^{ABCD}	4,5 ± 0,3 ^{CD}	41 ± 12 ^E	100 ± 10 ^{AB}
M3G b	0,134 ± 0,01 ^{BCD}	25,6 ± 1,5 ^{ABC}	18,9 ± 1,3 ^{BCD}	0,27 ± 0,03 ^{DE}	5,0 ± 0,1 ^{BC}	62 ± 4 ^{DE}	79 ± 9 ^B
M4G b	0,154 ± 0,02 ^B	24,8 ± 2,9 ^{ABC}	17,2 ± 0,8 ^{CD}	0,30 ± 0,01 ^{BCDE}	5,4 ± 0,3 ^B	113 ± 10 ^A	120 ± 16 ^A
M5G b	0,189 ± 0,02 ^A	23,4 ± 1,7 ^{ABC}	19,3 ± 0,1 ^{BCD}	0,40 ± 0,03 ^A	4,4 ± 0,5 ^{CD}	107 ± 26 ^{AB}	101 ± 23 ^{AB}
M2G c	0,060 ± 0,01 ^F	30,9 ± 3,1 ^{AB}	18,7 ± 0,6 ^{BCD}	0,36 ± 0,02 ^{AB}	1,8 ± 0,1 ^F	74 ± 7 ^{BCD}	15 ± 4 ^C
M3G c	0,093 ± 0,01 ^E	20,8 ± 1,3 ^C	21,7 ± 3,6 ^{AB}	0,25 ± 0,02 ^E	2,4 ± 0,1 ^F	72 ± 14 ^{CDE}	27 ± 6 ^C
M4G c	0,106 ± 0,02 ^{DE}	25,4 ± 1,9 ^{ABC}	16,5 ± 0,9 ^{CD}	0,27 ± 0,02 ^{DE}	4,2 ± 0,5 ^D	75 ± 5 ^{BCD}	96 ± 8 ^{AB}
M5G c	0,127 ± 0,03 ^{CD}	21,5 ± 1,5 ^{BC}	17,1 ± 0,5 ^{CD}	0,34 ± 0,01 ^{ABC}	4,7 ± 0,2 ^{BCD}	100 ± 16 ^{ABC}	100 ± 12 ^{AB}
M6G c	0,135 ± 0,02 ^{BCD}	19,2 ± 0,6 ^C	13,1 ± 1,3 ^D	0,36 ± 0,04 ^{ABC}	3,3 ± 0,2 ^E	47 ± 6 ^{DE}	32 ± 1 ^C

*Letras diferentes nas colunas indicam que houve diferença significativa estatisticamente ($p < 0,05$).

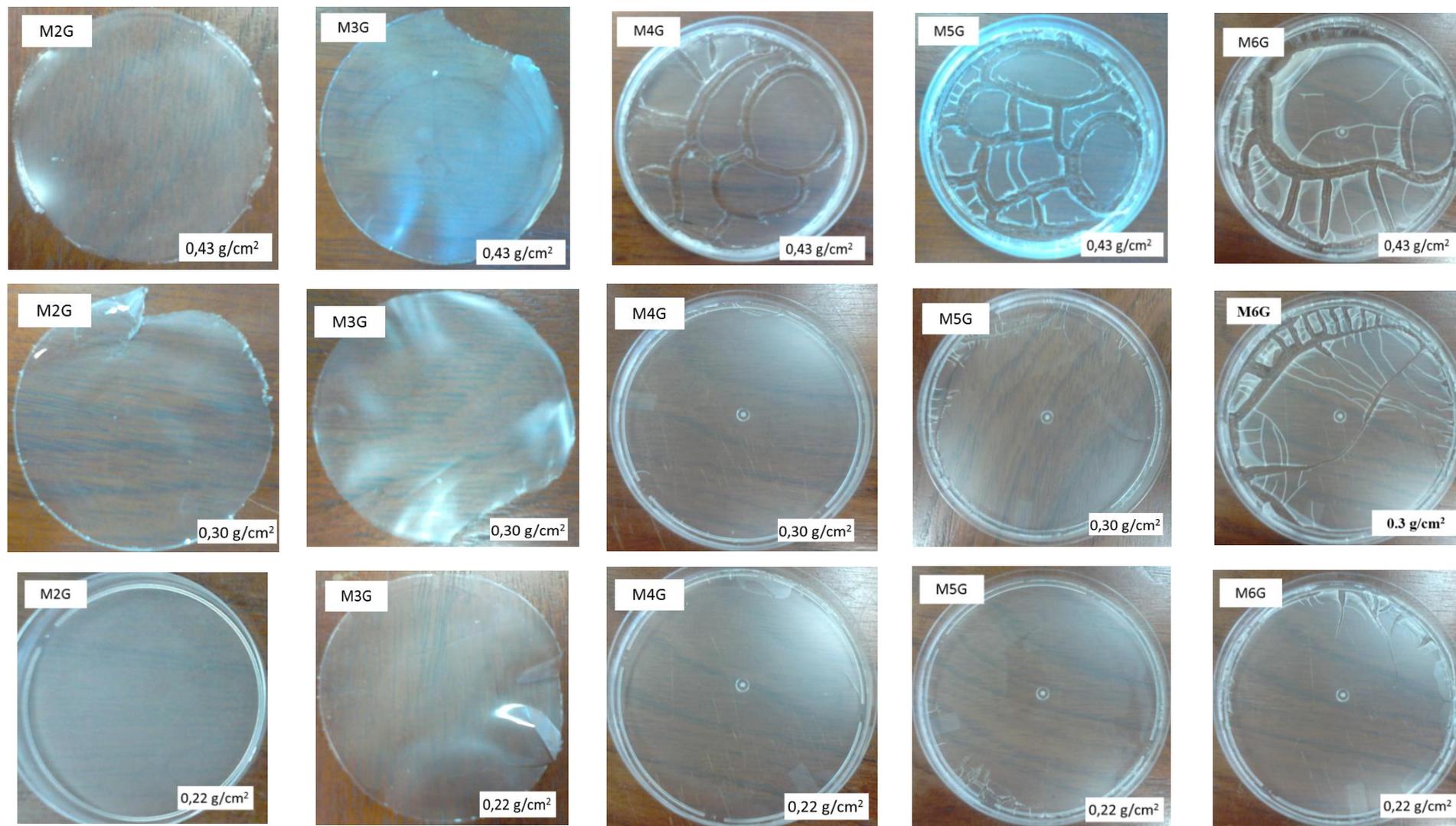


Figura 25. Aspecto visual dos filmes à base de amido de milho (identificados pela letra M seguida pelo conteúdo de amido) produzidos por *casting* contendo 30% de glicerol em relação ao teor de amido, espalhados nas gramaturas a ($0,43 \text{ g}\cdot\text{cm}^{-2}$), b ($0,34 \text{ g}\cdot\text{cm}^{-2}$) e c ($0,22 \text{ g}\cdot\text{cm}^{-2}$).

4.1.4. Caracterização dos filmes preparados com os diferentes tipos de amido

Na Figura 26 e na Tabela 12 e na estão apresentados, respectivamente, os resultados de caracterização e o aspecto visual (fotografias) dos filmes de amido produzidos por *casting* contendo 30% de glicerol em relação ao teor de amido, utilizando a gramatura *b* ($0,34 \text{ g.cm}^{-2}$). Filmes de amido de trigo, milho e mandioca foram identificados pela letra T, M e C, respectivamente; o conteúdo de amido também foi identificado por uma numeração após a letra correspondente à fonte de amido. O espalhamento da solução filmogênica utilizando a gramatura *b* permitiu a formação de filmes mais fáceis de trabalhar em comparação com a gramatura *c* ($0,22 \text{ g.cm}^{-2}$), visto que esta última se apresentou muito fina, dificultando o manuseio e as etapas posteriores de caracterização dos filmes.

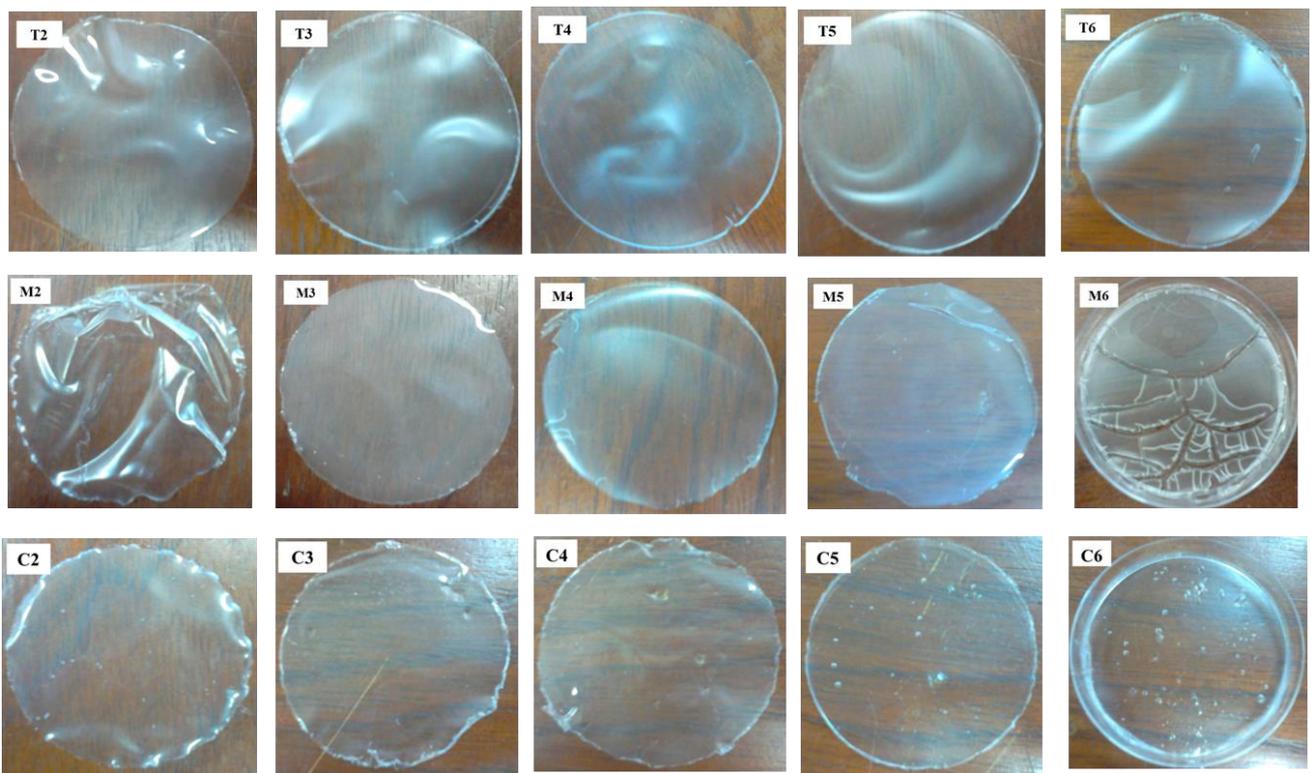


Figura 26. Aspecto visual dos filmes de amido de trigo, milho e mandioca que são identificados pelas letras T, M e C, respectivamente, seguidos pelo conteúdo de amido.

Os filmes foram caracterizados quanto à espessura, ao conteúdo de umidade, solubilidade em água, permeabilidade ao vapor de água e propriedades mecânicas. Os dados apresentados na Tabela 12 mostram que o aumento do teor de glicerol na formulação dos filmes promoveu um aumento na permeabilidade ao vapor de água (PVA), apesar do conteúdo de amido também ter

aumentado. Müller, Laurindo & Yamashita (2009) encontraram esse mesmo comportamento em testes realizados com diferentes concentrações de glicerol em filmes de amido. Os autores relacionaram esse comportamento com o incremento no valor do índice de solubilidade da água na matriz polimérica, o que torna os filmes mais higroscópicos. De acordo com McHugh & Krochta (1994), o aumento do teor de glicerol durante o processo leva ao aumento da permeabilidade aos gases e ao vapor de água de filmes hidrofílicos, visto que ele se liga às moléculas do biopolímero, aumentando a mobilidade e diminuindo a densidade entre as suas moléculas, facilitando a transmissão dos gases através do material. Contudo, o glicerol pode interferir tanto pela presença de moléculas hidrofílicas que facilitam a etapa de sorção da água, quanto pela sua influência na mobilidade da cadeia que facilita a etapa de difusão no filme.

Santacruz et al. (2015) encontraram valores de PVA semelhantes aos relatados no presente trabalho para filmes de amido de mandioca (usando glicerol ou glicose como plastificantes), variando entre 0,39 e 0,58 g mm h⁻¹ m⁻² kPa⁻¹. Salas-Valero, Tapia-Blácido e Menegalli (2015) produziram filmes à base de amido de milho, glicerol e farinha de cañihua por *casting* e encontraram valores de permeabilidade ao vapor de água variando entre 0,09 e 0,6 g mm h⁻¹ m⁻² kPa⁻¹.

Mali, Karam & Pereira-Ramos (2004) avaliaram as conexões entre a composição e as propriedades físico-químicas dos amidos de mandioca, milho e inhame, assim como dos filmes produzidos a partir desses amidos. Os autores verificaram que houve uma diminuição dos valores de PVA quando o teor de glicerol utilizado era inferior a 20% em relação ao teor de amido, porque uma estrutura mais compacta foi formada. Entretanto, quando o teor de glicerol utilizado foi aumentando para 40% em relação ao teor de amido, houve um aumento na PVA porque a matriz formadora do filme tornou-se menos densa. Durante a produção de filmes de amido de inhame e glicerol (3:1 m/m), os autores encontraram PVA igual a 0,41 g mm h⁻¹ m⁻² kPa⁻¹, resultado similar aos encontrados no presente estudo.

Tabela 12. Resultados das análises de caracterização dos filmes de amido (identificados pelas letras M, C e T para amido de milho, mandioca e trigo, respectivamente, seguidos pelo conteúdo de amido) produzidos por *casting* com 30% de glicerol e gramatura b (0,34 g.cm⁻²).

Filmes	Espessura (mm)	Umidade (%)	Solubilidade (%)	PVA			TS (MPa)	E (%)	MY (MPa)
				⁻¹ (g mm h	⁻² m	⁻¹ kPa)			
M2	0,08 ± 0,01 ^{FG}	22 ± 3 ^{ABC}	26 ± 3 ^A	0,32 ± 0,02 ^{BCDE}	4,5 ± 0,3 ^C	41 ± 12 ^D	100 ± 10 ^{AB}		
M3	0,13 ± 0,01 ^{CDE}	26 ± 2 ^{AB}	19 ± 1 ^{BCD}	0,27 ± 0,03 ^{EFG}	5,0 ± 0,1 ^{BC}	62 ± 4 ^D	79 ± 9 ^{BCD}		
M4	0,15 ± 0,02 ^{BC}	25 ± 3 ^{AB}	17 ± 1 ^{BCDE}	0,30 ± 0,01 ^{DE}	5,4 ± 0,3 ^B	113 ± 10 ^B	120 ± 16 ^A		
M5	0,19 ± 0,02 ^{AB}	23 ± 2 ^{ABC}	19 ± 1 ^{BCD}	0,40 ± 0,03 ^{BC}	4,4 ± 0,5 ^C	107 ± 26 ^{BC}	101 ± 23 ^{AB}		
C2	0,06 ± 0,01 ^G	28 ± 1 ^A	17 ± 1 ^{BCDE}	0,22 ± 0,02 ^{FGH}	2,0 ± 0,2 ^E	78 ± 6 ^{BCD}	18 ± 3 ^F		
C3	0,11 ± 0,02 ^{DEF}	19 ± 1 ^{BC}	16 ± 1 ^{CDEF}	0,27 ± 0,04 ^{EFG}	1,9 ± 0,2 ^{DC}	150 ± 64 ^{BC}	20 ± 2 ^F		
C4	0,13 ± 0,02 ^{CDE}	24 ± 4 ^{ABC}	14 ± 1 ^F	0,19 ± 0,04 ^H	2,0 ± 0,1 ^E	166 ± 5 ^A	28 ± 1 ^{EF}		
C5	0,14 ± 0,02 ^{CD}	23 ± 2 ^{ABC}	16 ± 2 ^{BCDEF}	0,21 ± 0,01 ^{FGH}	6,7 ± 0,1 ^A	51 ± 4 ^D	127 ± 3 ^A		
C6	0,21 ± 0,04 ^A	22 ± 1 ^{ABC}	20 ± 1 ^B	0,48 ± 0,04 ^A	2,6 ± 0,2 ^{DE}	58 ± 4 ^D	33 ± 7 ^{EF}		
T2	0,10 ± 0,01 ^{EFG}	20 ± 4 ^{BC}	16 ± 2 ^{DEF}	0,35 ± 0,02 ^{BCD}	2,2 ± 0,2 ^E	61 ± 16 ^D	36 ± 8 ^{EF}		
T3	0,15 ± 0,02 ^{CD}	24 ± 2 ^{ABC}	18 ± 1 ^{BCDE}	0,35 ± 0,03 ^{BCD}	2,1 ± 0,3 ^E	71 ± 1 ^{BCD}	42 ± 7 ^{DEF}		
T4	0,19 ± 0,01 ^A	24 ± 5 ^{AB}	18 ± 2 ^{BCDE}	0,36 ± 0,02 ^{BCD}	2,6 ± 0,2 ^{DE}	79 ± 20 ^{BCD}	52 ± 6 ^{CDE}		
T5	0,21 ± 0,02 ^A	21 ± 3 ^{BC}	19 ± 1 ^{BCD}	0,45 ± 0,03 ^{BC}	2,2 ± 0,1 ^E	71 ± 12 ^{BCD}	38 ± 4 ^{EF}		
T6	0,22 ± 0,04 ^A	19 ± 1 ^C	16 ± 2 ^{EF}	0,39 ± 0,03 ^{BC}	2,3 ± 0,3 ^E	75 ± 12 ^{BCD}	47 ± 6 ^{DEF}		

*Letras diferentes nas colunas indicam que houve diferença significativa estatisticamente ($p < 0,05$).

Os resultados de PVA apresentados na Tabela 12 para os filmes de amido de trigo indicam que o aumento do teor de amido promoveu maiores valores de permeabilidade ao vapor de água. Este resultado também foi descrito por Santacruz et al. (2015), o aumento do teor de amido de 0,5 para 1% promoveu um aumento na permeabilidade ao vapor de água dos filmes de amido de batata e mandioca. Os autores atribuem este fenômeno à elevada concentração de amido presente, uma vez que o aumento do teor de amido pode facilitar a ocorrência do fenômeno de retrogradação e, conseqüentemente, resultar em maiores valores de PVA.

Na Tabela 13 são apresentados os resultados de caracterização de alguns filmes comerciais produzidos por extrusão para fins de comparação com os resultados encontrados no presente trabalho. Para fins de exemplificação, foi realizada a análise de PVA de filmes à base de poli(cloreto de vinila) (PVC), e de polietileno de baixa densidade (PEBD), atualmente comercializados como embalagens para alimentos. O filme comercial de PVC apresentou PVA igual a $0,03 \pm 0,003 \text{ g mm h}^{-1} \text{ m}^{-2} \text{ kPa}^{-1}$ enquanto o filme de PEBD apresentou um valor de $0,0030 \pm 0,0001 \text{ g mm.h}^{-1} \text{ m}^{-2} \text{ kPa}^{-1}$. O resultado dessa análise demonstrou que os valores de PVA encontrados para os filmes comerciais de PVC e PEBD são 10 e 100 vezes, respectivamente, inferiores aos valores encontrados para filmes produzidos neste trabalho. Esse resultado demonstra que os filmes produzidos ainda possuem propriedades de barreira ao vapor de água pobres (valores de PVA muito altos) quando comparadas aos filmes comerciais. No entanto, é importante ressaltar que a espessura ($8 \mu\text{m}$) desses filmes comerciais é muito inferior à espessura dos filmes produzidos neste trabalho (entre 75 e $166 \mu\text{m}$). O filme comercial de amido (*Biobag*, Noruega) produzido por extrusão também apresentou valores de permeabilidade ao vapor de água aproximadamente 10 vezes menor do que o valor encontrado para os filmes de amido produzidos por *casting* no presente trabalho.

Além de influenciar na permeabilidade ao vapor de água, o aumento da concentração de plastificante nas formulações ocasionou alterações nas propriedades mecânicas dos filmes. De maneira geral, para os filmes com quantidades acima de 4% de amido de milho ou trigo, ocorreu um aumento no percentual de alongação, e uma redução na tensão máxima de ruptura e no módulo de elasticidade. Este resultado reforça a ideia de que a partir de certas concentrações os plastificantes atuam diminuindo as forças intermoleculares entre as cadeias de amido (MALI et al., 2010).

Quanto ao amido de mandioca, o aumento da quantidade deste biopolímero até 5% promoveu um aumento da tensão de ruptura (TS) e do módulo de elasticidade (MY) dos filmes, i.e., as propriedades de resistência à ruptura foram melhores e a rigidez dos filmes foi maior. Esse resultado fica bem evidente para o filme C5, uma vez que se observou um aumento do percentual de

elongação apenas até a formulação C4, quando foram utilizadas 5 g de amido (C5), o filme apresentou um comportamento mais rígido, representado pelos altos valores de TS e MY e pelo menor percentual de elongação. Durante o preparo da formulação C6, houve a formação de bolhas na superfície dos filmes, que podem estar relacionadas à maior viscosidade da solução filmogênica. Esse fato influenciou de forma negativa no resultado da análise de propriedades mecânicas dessas amostras, uma vez que as amostras romperam mais facilmente devido ao aparecimento dessas bolhas que são pontos fracos na matriz.

De Souza et al. (2012) produziram filmes de amido de mandioca (4%) com espessura de 0,13 mm e encontraram máxima resistência de 6,5 MPa, e percentual de alongamento de 76%; esses resultados são semelhantes ao encontrado para o filme C5 com espessura de 0,14 mm produzido no presente estudo. Santacruz et al. (2015) produziram filmes de amido de batata e de mandioca usando glicerol e glicose (1%, m/v) como plastificantes, e encontraram valores de TS, variando entre 9 e 10 MPa, superiores aos valores encontrados neste estudo, provavelmente devido à adição de quitosana nas formulações. No entanto, os valores encontrados para o módulo de elasticidade (variando entre 8 e 16 MPa) foram muito inferiores aos resultados deste trabalho.

Parra et al. (2004) avaliaram as propriedades de filmes de amido de mandioca com glicerol, glutaraldeído e polietilenoglicol e verificaram que a tensão de ruptura variou entre 0,07 e 0,5 MPa e o percentual de elongação variou entre 9 e 73%, apresentando propriedades mecânicas fracas em comparação com os resultados encontrados neste estudo. Entretanto, os autores encontraram valores de permeabilidade ao vapor de água 100 vezes menores do que os valores encontrados no presente estudo ($0,07 \text{ g mm h}^{-1} \text{ m}^{-2} \text{ kPa}^{-1}$).

Apesar do valor de resistência à tração encontrado para filmes sintéticos de polietileno de baixa densidade (PEBD) ser inferior ao relatado por Coutinho, Mello & Maria (2003), que encontraram valores variando entre 6,9 e 16 MPa, comparando os filmes biodegradáveis desenvolvidos com filmes plásticos atualmente comercializados (Tabela 13), foi possível verificar que o filme de PEBD apresentou propriedades mecânicas muito semelhantes àquelas dos filmes de amido de milho e de amido de mandioca contendo 4 g. O filme de PVC apresentou valores de tensão máxima de ruptura (TS) superiores àqueles encontrados para os filmes à base de amido, entretanto, apresentou valor percentual de elongação (E) inferior a dos filmes de amido de milho e de mandioca contendo 3 e 4 g. Além disso, quando comparados aos filmes sintéticos (PEBD e PVC), os filmes biodegradáveis de amido de mandioca apresentam percentual de alongamento na ruptura superior.

Finalmente, objetivando comparar e correlacionar os resultados discutidos anteriormente para os filmes à base de amido de milho, trigo e mandioca contendo 30% de glicerol na formulação

produzidos por *casting* na gramatura b ($0,34 \text{ g cm}^{-2}$), foi realizada uma análise estatística de componentes principais (ACP). Os resultados dessa análise estão apresentados na Figura 27, onde é possível observar que os dois primeiros componentes principais explicaram 67% da variação total dos dados. Na ACP estão plotadas as propriedades físico-químicas (espessura e solubilidade em água, representadas pelas letras T e SB, respectivamente), de barreira ao vapor de água (PVA) e mecânicas (TS: resistência à tração; E: alongação percentual, MY: módulo de elasticidade) dos filmes, e também todas as amostras (contendo diferentes fontes e conteúdos de amido).

A análise de componentes principais realizada permitiu separar as amostras em três grupos distintos de acordo com a fonte de amido utilizada nos filmes. Os filmes à base de amido de trigo (T) apresentaram maiores valores de PVA e espessura e valores mais baixos para os resultados da análise de propriedades mecânicas (TS, E, MY), solubilidade em água e teor de umidade. O filme C6 apresentou resultados semelhantes a este grupo devido à presença de bolhas na superfície do filme que são considerados pontos fracos ou pontos de ruptura. O segundo grupo, representado pelos filmes contendo amido de milho (M), apresentou os maiores valores de TS e MY (ou rigidez); e os maiores valores de solubilidade em água e teor de umidade. Além disso, o filme C5 apresentou resultados semelhantes aos filmes de amido de milho. O terceiro grupo foi composto pelos filmes de amido de mandioca (C) com maiores valores de percentual de alongação (E), no entanto, valores mais baixos de TS, MY, espessura e permeabilidade ao vapor de água.

Zanela et al. (2016) também utilizaram uma metodologia multivariada para avaliar o comportamento das misturas de amido/poli(álcool vinílico)/glicerol. Os autores concluíram que esta técnica exploratória foi útil para selecionar o tipo de plastificante e a temperatura de extrusão mais adequada para produzir materiais biodegradáveis com boas propriedades mecânicas.

A partir das características apresentadas pelos filmes, é possível determinar sua aplicabilidade, uma vez que dependendo do produto, diferentes propriedades são requisitadas à embalagem. Com o objetivo de desenvolver filmes de amido com diferentes concentrações de sorbato de potássio para a conservação das massas frescas, Andrade-Molina et al. (2013) obtiveram valores de PVA variando entre 6 e $14 \text{ g mm h}^{-1} \text{ m}^{-2} \text{ kPa}^{-1}$, superiores aos valores encontrados no presente trabalho. Contudo, considerando os resultados desta etapa, onde todos os filmes apresentaram elevados valores de permeabilidade ao vapor de água e valores de tensão de ruptura relativamente baixos, os filmes formados a partir do amido de mandioca, que mostraram maior transparência e percentual de alongação do que os filmes de amido de milho e trigo, poderiam ser selecionados para dar continuidade a estudos visando a sua aplicação como embalagens de alimentos frescos e leves.

Tabela 13. Resultados de caracterização de alguns filmes comerciais produzidos por extrusão: espessura, umidade, solubilidade em água, PVA, tensão de ruptura (TS), alongação (E) e módulo de Young (MY).

Filmes	Espessura (μm)	Umidade (%)	Solubilidade (%)	PVA	TS (MPa)	E(%)	MY (MPa)
				($\text{g mm h}^{-1} \text{ m}^{-2} \text{ kPa}^{-1}$)			
PVC	$8 \pm 0,5$	$4,7 \pm 2,3$	$11,9 \pm 0,7$	$0,03 \pm 0,003$	$17,1 \pm 0,7$	45 ± 6	81 ± 2
PEBD	$8 \pm 0,5$	$4,1 \pm 0,6$	Insolúvel	$0,003 \pm 0,0001$	$3,9 \pm 0,4$	99 ± 50	71 ± 7
PARAFILM[®] “M”	$139 \pm 1,5$	$0,94 \pm 0,08$	Insolúvel	$0,02 \pm 0,001$	-	-	$457,6 \pm 24,7$
FILME AMIDO (<i>Biobag</i>)	$11 \pm 0,5$	$4,9 \pm 0,6$	$13,8 \pm 2,1$	$0,0357 \pm 0,0025$	$10,1 \pm 0,2$	98 ± 13	205 ± 45

*As amostras de parafilme não romperam, por isso não possuem valores de TS e E. Atingiram o limite máximo do equipamento sem romper.

*Filme comercial de PVC (policloreto de vinila); Filme comercial de PEBD (polietileno de baixa densidade).

*PARAFILM[®] “M”, PM-996, Laboratory Film, WI 54956 (Neenah, Wisconsin, USA).

*Filme comercial à base de amido de milho: *BioBag, International, AS / Hovsveien 8, N-1831 Askim, Noruega.*

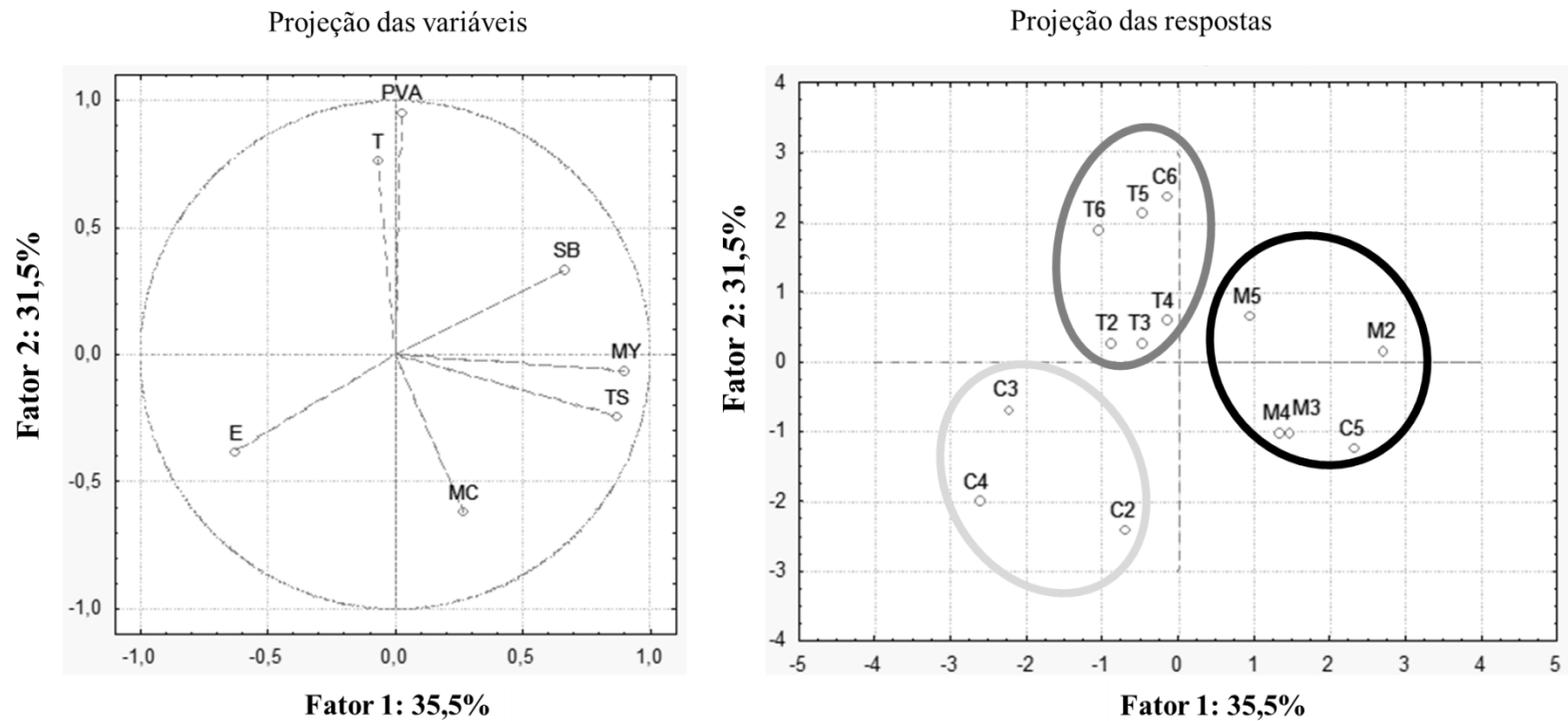


Figura 27. Análise de componentes principais (ACP) realizada para os resultados da análise de espessura (T), conteúdo de umidade (MC), solubilidade (SB), permeabilidade ao vapor de água (PVA) e propriedades mecânicas (TS, tensão máxima de ruptura; E, alongação; MY, módulo de elasticidade) para os filmes produzidos por *casting* contendo diferentes teores de amido de trigo (T), milho (M) e mandioca (C). Os dois primeiros componentes principais (fator 1 e fator 2) representam aproximadamente 67% da variação dos dados.

4.1.5. Avaliação do caráter hidrofílico dos filmes produzidos com diferentes tipos de amido

Na Tabela 14 estão apresentados os resultados da análise de ângulo de contato dos filmes produzidos por *casting* à base amido de milho, de mandioca e de trigo, contendo 30% de glicerol em relação ao teor de amido. Os resultados dessa análise mostraram que os filmes de amido de milho e de trigo apresentaram características hidrofílicas, visto que os valores de ângulo de contato variaram entre 35° e 62°. Os filmes de amido de mandioca apresentaram valores de ângulo de contato estatisticamente maiores (valores superiores a 90°), indicando que estes foram mais hidrofóbicos. A hidrofilicidade e/ou a hidrofobicidade dos filmes pode afetar a sua capacidade de retenção de água, assim como a solubilidade das amostras. Filmes mais hidrofóbicos possuem poucos sítios disponíveis para a sorção de água em sua matriz polimérica, aumentando a resistência à transferência de vapor de água. Os valores de ângulo de contato não puderam ser diretamente correlacionados com os resultados de permeabilidade ao vapor de água, visto que a PVA é influenciada por vários outros fatores, como, impedimento estérico, efeitos de tortuosidade que afetam a difusão de moléculas de água, existência de poros, espaços vazios e canais preferenciais através da matriz polimérica (CHENG et al., 2008; VALENZUELA et al., 2013).

Tabela 14. Valores do ângulo de contato para os filmes produzidos por *casting* à base de amido de milho, trigo e mandioca, contendo 30% de glicerol em relação ao teor de amido.

Teor de amido (g por 100 mL)	Valores de ângulo de contato		
	Filme de amido de milho	Filme de amido de trigo	Filme de amido de mandioca
2	35 ± 2° ^H	55 ± 3° ^{EF}	88 ± 7° ^C
3	54 ± 1° ^{EF}	62 ± 5° ^D	91 ± 8° ^{BC}
4	51 ± 3° ^{FG}	61 ± 4° ^{DE}	96 ± 2° ^{BC}
5	43 ± 4° ^G	55 ± 5° ^{EF}	101 ± 5° ^{AB}
6	51 ± 4° ^{FG}	61 ± 4° ^{DE}	106 ± 3° ^A

*Letras diferentes nas colunas indicam que houve diferença estatisticamente significativa ($p < 0,05$).

Bialopiotrowicz (2003) e Silva et al. (2007) analisaram o ângulo de contato de filmes de amido de milho (4% em massa) e filmes de amido de mandioca (5% em massa) usando glicerol como plastificante e encontraram valores de 43 ± 3° e 82 ± 2°, respectivamente, bastante similares aos encontrados no presente trabalho. Abreu et al. (2015) produziram filmes à base de amido de

milho com nanopartículas de prata e também reportaram valores de ângulo de contato variando entre 45 e 58°.

4.1.6. Avaliação da estrutura química dos filmes produzidos com diferentes tipos de amido

Uma avaliação comparativa entre a estrutura química dos diferentes amidos e dos respectivos filmes foi realizada por espectroscopia de infravermelho por transformada de Fourier (FTIR), esses resultados podem ser visualizados na Figura 28. Verificou-se que tanto os grânulos de amido quanto os respectivos filmes desenvolvidos apresentaram pico idênticos, típicos de amostras de polissacarídeos:

- 1000 cm^{-1} : vibrações nas ligações C-C e C-O dos anéis aromáticos;
- 1400-1600 cm^{-1} : vibrações dos anéis aromáticos, compostos fenólicos e hidrocarbonetos;
- 2900 cm^{-1} : estiramento C-H;
- 3300 cm^{-1} : umidade e vibrações nas ligações de hidrogênio do grupamento hidroxila (OH).

Entretanto, verificou-se que ocorreu um aumento na intensidade das bandas dos espectros de FTIR de todos os filmes; esse aumento foi visivelmente mais intenso na banda de 3300 cm^{-1} , provavelmente devido à adição de glicerol ($\text{C}_3\text{H}_8\text{O}_3$) na formulação dos filmes.

A absorção em torno de 1640 cm^{-1} é uma banda típica que corresponde ao amido e seus derivados, relacionada à água fortemente ligada (YU et al., 2010; ZHANG et al., 2012; SELIGRA et al., 2016), enquanto o pico observado em torno de 3300 cm^{-1} está associado ao estiramento de grupos - OH de glicose, glicerol e água (ZHANG et al., 2014).

A produção de filmes contendo diferentes tipos de amido não ocasionou variação nos espectros de FTIR, provavelmente em função dos filmes conterem os mesmos componentes principais (amilose e amilopectina) e grupos funcionais semelhantes. Os resultados encontrados nesta análise foram corroborados por aqueles observados por Ma, Yu & Wan (2006), Bartz et al. (2012), Piñeros-Hernandez et al. (2017) que analisaram filmes de amido de milho, filmes de amido de arroz e filmes de amido de mandioca, respectivamente.

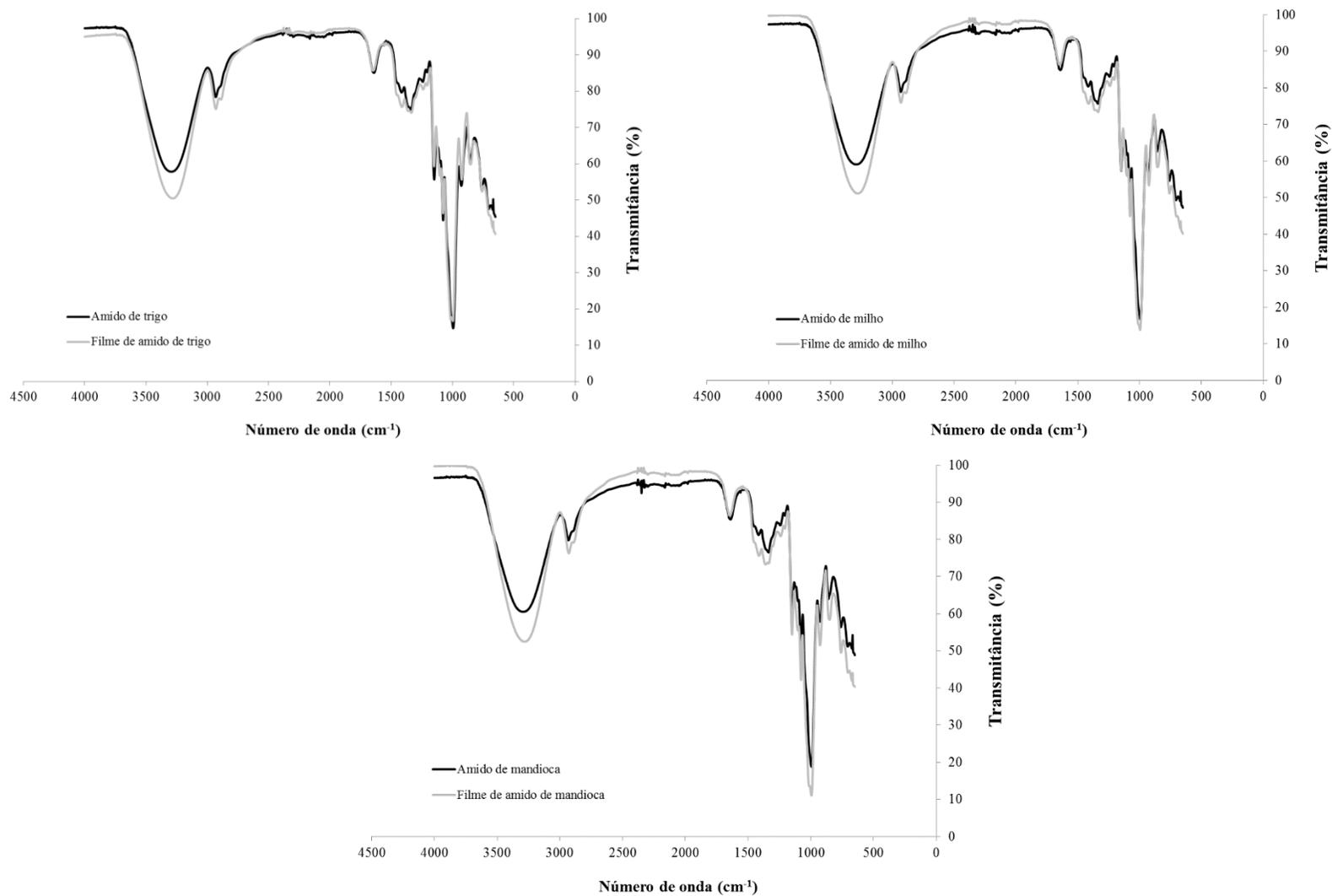


Figura 28. Espectros de FTIR dos grânulos de amido de trigo, de milho e de mandioca e dos respectivos filmes.

4.1.7. Avaliação biodegradabilidade dos filmes produzidos com diferentes tipos de amido

Os polímeros biodegradáveis são aqueles que sofrem degradação pela ação de microrganismos, tais como bactérias e fungos, além de algas e insetos ou outros agentes gerando biomassa e subprodutos (CO_2 e H_2O em meios aeróbios e CH_4 em meios anaeróbios). Na Figura 29 está apresentada a evolução do processo de desintegração dos filmes à base de amido de milho, de mandioca ou de trigo enterrados sob o composto vegetal (solo), após determinados períodos de tempo. Verificou-se que após 7 dias de ensaio, todos os filmes apresentaram mudanças consideráveis na sua cor, tonalidade e integridade, sugerindo o início do processo de biodegradação. É sabido que a ação do calor e a presença de umidade, bem como a atividade enzimática decorrente da presença de microrganismos promovem quebras e o enfraquecimento das cadeias poliméricas do amido (CERRUTI et al., 2011; MOHEE et al., 2008; PIÑEROS-HERNANDEZ et al., 2017). Observando as imagens da Figura 29, é possível notar uma biodegradação mais rápida dos filmes à base de amido em comparação com os filmes comerciais de PEBD e de PVC, usados como controle.

Torres et al. (2011) verificaram que os filmes de amido apresentaram três estágios de degradação. Na fase inicial, resultado das primeiras 24 h de análise, houve a mais significativa perda de massa. Os autores associaram esse primeiro mecanismo de degradação principalmente com a lixiviação de glicerol. Na segunda fase, após aproximadamente 20 dias de análise, ocorre uma diminuição da massa dos filmes de amido em taxa relativamente constante, até cerca de 90% da massa original; o mecanismo de degradação nesta fase foi associado com a atividade biológica dos microrganismos. A terceira e última etapa, após cerca de 30-35 dias, ocorre uma redução da taxa de perda de massa com o tempo; os filmes apresentam aproximadamente 5% da massa inicial e é possível observar a presença de fragmentos com modificação considerável de aparência. Os estágios de degradação descritos por Torres et al. (2011) não puderam ser quantitativamente mensurados durante as análises de biodegradabilidade neste estudo, no entanto, verificou-se qualitativamente, através de inspeção visual, a ocorrência das etapas de degradação descritas.

Apesar da completa degradação das amostras não ter sido atingida, após 56 dias de análise, verificou-se que os filmes de amido apresentaram modificações visuais aparentes de coloração e desintegração de fragmentos durante a análise. De acordo com a norma ISSO 20200 (2004), para que um material plástico seja considerado desintegrável ele deve atingir a completa biodegradação após, no máximo, 90 dias quando submetido em um ambiente de compostagem. No entanto, de

acordo com a ASTM 15448-2 (2008), todos os materiais de embalagem e seus constituintes devem ter no mínimo 90% do carbono orgânico convertido a dióxido de carbono no prazo máximo de seis meses (biodegradação aeróbia). Sendo assim, e levando em consideração que o processo de compostagem de materiais ocorre num ambiente com temperatura mais elevada que aquela utilizada ($T_{\text{ambiente}} \sim 25 \text{ }^{\circ}\text{C}$) no presente trabalho e que as condições do processo são mais controladas e severas, promovendo, assim, um aumento na taxa de biodegradação das amostras, acredita-se que os filmes de amido possam ser considerados biodegradáveis, uma vez que o processo de desintegração foi observado, apesar das brandas condições utilizadas (principalmente em relação à temperatura, uma vez que foi utilizada condição ambiente).

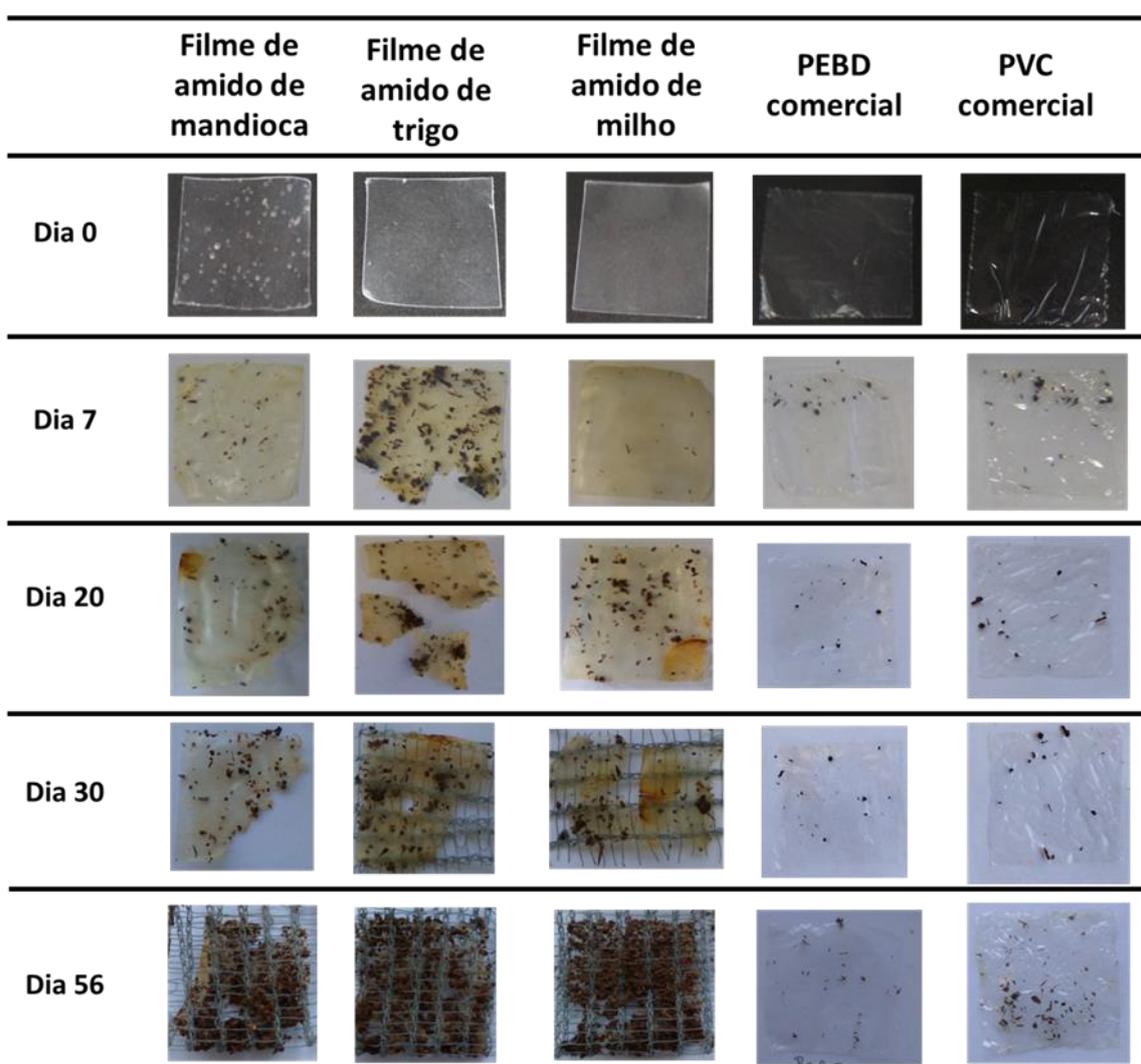


Figura 29. Fotografias revelando o aspecto visual dos filmes à base de amido de mandioca, de trigo ou de milho durante a análise de biodegradabilidade em solo, inicial e após períodos de tempo de 7, 20, 30 e 56 dias. Os filmes comerciais de PEBD (polietileno de baixa densidade) e PVC (policloreto de vinila) foram utilizados como controle.

4.2. Parte II – Elaboração dos filmes à base de amido com glicerol e resíduo de mirtilo utilizando a técnica de *casting*

4.2.1. Caracterização do resíduo obtido a partir do processamento do suco de mirtilo

Nesta etapa do trabalho são apresentados os resultados referentes à composição e granulometria das frações do resíduo de mirtilo obtido a partir do processamento do suco. Na Tabela 15 estão apresentados os resultados da caracterização físico-química do resíduo de mirtilo em pó (retido na peneira de 100 *mesh*) utilizado para a fabricação dos filmes à base de amido.

Tabela 15. Composição físico-química do resíduo de mirtilo (retido na peneira de 100 *mesh*) obtido a partir do processamento do suco.

Composição físico-química do resíduo de mirtilo em pó	
Umidade (g 100 g ⁻¹ b.s.)	14,0 ± 0,4
Fibras solúveis (g 100 g ⁻¹ b.s.)	17,9
Fibras insolúveis (g 100 g ⁻¹ b.s.)	35,6
Total de fibras (g 100 g ⁻¹ b.s.)	53,5
Teor de proteínas (g 100 g ⁻¹ b.s.)	9,6

Observando os resultados apresentados na Tabela 15, verificou-se que o valor de umidade encontrado é característico de produtos desidratados. O conteúdo de umidade obtido para o resíduo de mirtilo está dentro do padrão estabelecido pela ANVISA (BRASIL, 2005) para farinhas, que é de 15 g 100 g⁻¹. Valores similares aos apresentados neste estudo foram reportados por Lamounier et al. (2015) e Vieites et al. (2011) para a farinha de casca de jabuticaba, os autores determinaram teores de umidade de 16 g 100 g⁻¹ e 14 g 100 g⁻¹, respectivamente.

Quanto ao teor de proteínas, não foram encontrados valores na literatura para o resíduo de mirtilo. No entanto, foi feita uma comparação com outros resíduos secos de frutas, como o de laranja (8,4 g 100 g⁻¹) obtido por Cerqueira et al. (2008) e o de uva (12,3 g 100 g⁻¹) estudado por Teles (2014), sendo que ambos estudos apresentaram teores semelhantes ao obtido no presente estudo.

Além do teor de proteína, o conteúdo total de fibras determinado se assemelhou ao reportado por Cerqueira et al. (2008) e Teles (2014) para o bagaço de laranja ($69,5 \text{ g } 100 \text{ g}^{-1}$) e bagaço de uva ($61,25 \text{ g } 100 \text{ g}^{-1}$), respectivamente. De acordo com a Portaria nº 27 de 13 de janeiro de 1998 (BRASIL, 1998), para classificar um alimento como fonte de alto teor de fibra alimentar, ele deve apresentar o valor mínimo de $6 \text{ g } 100 \text{ g}^{-1}$ de conteúdo de fibras. Sendo assim, o resíduo de mirtilo pode ser considerado um resíduo com alto teor de fibras, e, portanto, poderia ser utilizado para enriquecer alimentos com baixo teor de fibras ou então, para elaboração de novos produtos. Segundo regulamentações da ANVISA (BRASIL, 2003), a ingestão diária recomendada (IDR) de fibras é de 25 g para uma dieta de 2000 kcal. Além disso, alguns estudos relacionam o teor de fibras na dieta alimentar com a prevenção de doenças como diverticulite, câncer de cólon, obesidade, problemas cardiovasculares, diabetes e redução dos níveis séricos de lipídios (SALGADO et al., 2008; FERREIRA et al., 2012).

Conforme exposto nos materiais e métodos, foram separadas duas frações granulométricas do resíduo de mirtilo. Os resultados da análise granulométrica do resíduo de mirtilo em pó que passou pela peneira de 100 *mesh* (C100) e do resíduo que ficou retido na peneira de 100 *mesh* (CG) estão apresentados na Tabela 16 e na Figura 30. Pela análise do tamanho de partículas do resíduo de mirtilo em pó, pode-se afirmar que a amostra que ficou retida na peneira de 100 *mesh* apresenta uma pequena dispersão granulométrica, visto que os valores de índice de dispersão foram próximos a 1,0. Diferentemente, a amostra de resíduo que passou pela peneira de 100 *mesh* apresentou valores de índice de dispersão granulométrica (SPAN) maiores do que 3,0, indicando elevado índice de dispersão de tamanho de partículas. Sendo assim, verificou-se que houve uma distribuição de tamanho de partículas mais larga nas amostras que passaram pela peneira de 100 *mesh*.

Tabela 16. Resultado da análise granulométrica do resíduo de mirtilo, que ficou retido e que passou pela peneira de 100 *mesh*, utilizados para a produção dos filmes ativos e inteligentes.

Resíduo agroindustrial	Análise granulométrica (μm)				
	D(0,1)	D(0,5)	D(0,9)	Diâmetro médio	Dispersão (SPAN)
Resíduo de mirtilo (CG)	36,8	304,5	566,8	310,7	1,7
Resíduo de mirtilo (C100)	11,1	60,2	192,3	87,2	3,0

*D(0,1 μm): diâmetro de partícula correspondente a 10% da distribuição acumulada; D(0,5 μm): diâmetro de partícula correspondente a 50% da distribuição acumulada; D(0,9 μm): diâmetro de partícula correspondente a 90% da distribuição acumulada; Diâmetro médio (μm): diâmetro médio em volume; SPAN = medida de dispersão granulométrica. **CG = resíduo de mirtilo em pó que ficou retido na peneira de 100 *mesh* e C100 = resíduo de mirtilo em pó que passou pela peneira de 100 *mesh*.

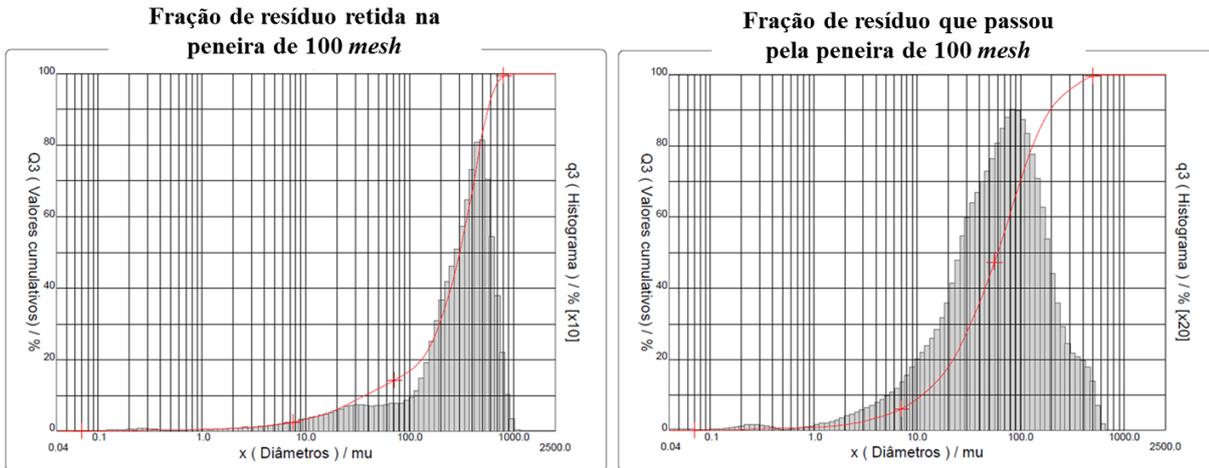


Figura 30. Distribuição de tamanho de partícula dos resíduos de mirtilo em pó: fração mais grosseira que ficou retida na peneira de 100 *mesh* (CG) e fração mais fina que passou na peneira de 100 *mesh* (C100).

Os resultados da análise do teor de antocianinas presente nos resíduos de mirtilo em pó, realizada através do método do pH diferencial e através de cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE), estão apresentados nas Tabelas 17 e 18.

Antes de comparar os resultados encontrados neste trabalho com os reportados por outros autores, é importante ressaltar que independente da metodologia de análise utilizada, pH diferencial ou CLAE, o teor de antocianinas foi superior nas amostras de resíduo de mirtilo em pó que passaram pela peneira de 100 *mesh*, provavelmente isto se deve ao menor tamanho das partículas, que permitiu maior contato entre a amostras e o solvente utilizado, facilitando, portanto, o processo de extração das antocianinas. Além disso, verificou-se que as amostras de mirtilo que passaram pelo processo de branqueamento apresentaram maior conteúdo de antocianinas. Esse resultado é condizente com o objetivo de utilização do processo de branqueamento, que é empregado para inativação das enzimas polifenoloxidasas (PPO), responsáveis pela degradação de compostos, como as antocianinas.

Tabela 17. Resultados para análise do teor de antocianinas totais pelo método do pH diferencial em espectrofotômetro (mg antocianinas / g de resíduo seco) e por CLAE (relação entre a área do pico e a massa de amostra utilizada) para as amostras de resíduo de mirtilo sem e com etapa de prévio branqueamento dos frutos.

Resíduo de mirtilo (retido 100 <i>mesh</i>) com branqueamento (CB)			Resíduo de mirtilo (retido 100 <i>mesh</i>) sem branqueamento (SB)		
Resultado da análise pelo método do pH diferencial					
17,4 ± 0,3 mg antocianinas / g de resíduo seco			14,2 ± 1,6 mg antocianinas / g de resíduo seco		
Resultado da análise dos extratos por CLAE					
Pico	Tempo de retenção (min)	área/massa	Pico	Tempo de retenção (min)	área/massa
1	2,6	7,5	1	2,5	6,1
2	12,7	641,3	2	12,7	575,6
3	13,9	151,7	3	13,9	135,5
4	15,4	923,4	4	15,4	799,5
5	16,8	206,5	5	16,8	173,4
6	17,3	419,7	6	17,3	372,2
7	18,3	300,2	7	18,3	250,1
8	18,6	157,1	8	18,6	140,5
9	20,2	372,1	9	20,2	318,8
10	21,6	1015,3	10	21,6	846,6
11	23,0	387,2	11	22,9	323,6
12	24,6	410,3	12	24,5	337,8
Total		4992,3	Total		4279,7

O método do pH diferencial proporcionou um valor absoluto de antocianinas, enquanto o método analítico de obtenção dos resultados por CLAE forneceu apenas a relação entre a área do pico e a massa total da amostra. Para as amostras de resíduo que passaram pela peneira de 100 *mesh*, utilizando o método do pH diferencial, foram encontrados valores de $31 \pm 1,0$ mg de antocianina por g de amostra seca e $17,5 \pm 0,5$ mg de antocianina por g de amostra seca para o resíduo de mirtilo, com e sem branqueamento prévio do fruto, respectivamente. A análise

cromatográfica corroborou com o método diferencial, visto que foram detectados valores de 8.733,5 e 4.434,9 para resíduo de mirtilo com e sem branqueamento do fruto, respectivamente, ou seja, os valores obtidos para o resíduo de mirtilo previamente branqueado foram aproximadamente duas vezes superiores aos obtidos para a amostra que não sofreu o branqueamento. Resultados similares foram apresentados por Rossi et al. (2003), que avaliaram o efeito do branqueamento de frutos sobre os compostos fenólicos e a atividade de antioxidante de suco de mirtilo e encontraram valores de 22 e 45 mg por g de suco, para o suco sem e com branqueamento, respectivamente.

A faixa de valores encontrada no presente trabalho está dentro da obtida por outros pesquisadores que também quantificaram o conteúdo de antocianinas do bagaço de mirtilo. Zardo (2014) encontrou aproximadamente 24 mg de antocianinas por g de bagaço seco após extração exaustiva usando água acidificada (1% de ácido cítrico). Paes et al. (2014) analisaram o teor de antocianinas do resíduo obtido a partir do processamento de mirtilo após liofilização e encontraram 16,5 mg por g de bagaço seco. Reque (2012) encontrou valores variando entre 10 e 15 mg de antocianinas por g de bagaço seco. Khanal et al. (2010) encontraram aproximadamente 17 mg de antocianinas por g de bagaço seco de mirtilo.

Cabe ressaltar que os valores encontrados para o resíduo também foram similares aos reportados para o fruto inteiro. Nicoué, Savard e Belkacemi (2007) obtiveram seu melhor resultado em antocianinas totais extraídas de mirtilos inteiros de 29 mg por g de fruta em base seca, quando utilizaram etanol e 5% de ácido fórmico na temperatura de 79 °C por 2 horas. Li et al. (2016) identificaram e quantificaram antocianinas em 17 amostras de mirtilos de diferentes variedades e de diferentes origens geográficas na China (incluindo as variedades Duke, Bluecrop, Northland, Northblue, Spartan e St. Cloud) e o teor total de antocianidina variou de 10,8 a 30 mg por g de amostra seca.

Tabela 18. Resultados para análise do teor de antocianinas totais pelo método do pH diferencial em espectrofotômetro (mg antocianinas / g de resíduo seco) e por CLAE (relação entre a área do pico e a massa de amostra utilizada) para as amostras de mirtilo em pó sem e com etapa de prévio branqueamento dos frutos após passar na peneira de 100 *mesh*.

Resíduo de mirtilo (passou peneira 100 <i>mesh</i>) com branqueamento (CB)			Resíduo de mirtilo (passou na peneira de 100 <i>mesh</i>) sem branqueamento (SB)		
Resultado da análise pelo método do pH diferencial					
31 ± 1,04 mg antocianinas / g de resíduo seco			17,5 ± 0,5 mg antocianinas / g de resíduo seco		
Resultado da leitura dos extratos por CLAE					
Pico	Tempo de retenção (min)	Área/massa	Pico	Tempo de retenção (min)	Área/massa
1	2,5	13,7	1	2,5	13,0
2	12,7	1134,7	2	12,7	784,9
3	13,9	264,7	3	13,9	144,9
4	15,4	1606,6	4	15,5	716,9
5	16,8	360,1	5	16,8	31,0
6	17,3	741,7	6	17,3	441,3
7	18,3	521,0	7	18,2	85,4
8	18,6	273,1	8	18,6	119,0
9	20,2	639,9	9	20,2	310,8
10	21,6	1778,1	10	21,6	813,4
11	22,9	666,5	11	22,9	217,3
12	24,5	713,8	12	24,5	651,7
			13	30,5	104,9
Total		8733,5	Total		4434,9

De acordo com Rossi et al. (2003), Bochi (2013) e Li et al. (2016), na análise por CLAE, o tempo de retenção de antocianinas em uma coluna de fase reversa (C-18) é determinado pelo agrupamento aglicona (hidroxila e metoxila) da estrutura, isto é, os compostos têm diferentes tempos de eluição e a ordem de eluição inicia pelo aparecimento da delphinidina, seguida de cianidina, petunidina, pelargonidina, peonidina e, finalmente, malvidina.

Os cromatogramas obtidos por CLAE (Cromatografia Líquida de Alta Eficiência) com os correspondentes picos das antocianinas presentes no resíduo de mirtilo em pó sem e com branqueamento prévio do fruto estão apresentados na Figura 31. É importante ressaltar que apesar das diferenças nos tempos de retenção devido às diferentes condições de análise (proporção da fase móvel e gradiente de injeção), os mesmos picos descritos por Li et al. (2016) foram encontrados no presente trabalho. Estes autores avaliaram o perfil das antocianinas de seis variedades de mirtilos produzidos na China usando CLAE-DAD-MS e estabeleceram a seguinte ordem de eluição: (1) Delfinidina 3-galactosídeo; (2) delfinidina 3-glucosídeo; (3) cianidina 3-galactosídeo; (4) delfinidina-3-arabinosídeo; (5) cianidina 3-glucosídeo; (6) petunidina 3-galactosídeo; (7) cianidina 3-arabinosídeo; (8) petunidina 3-glucosídeo; (9) peonidina 3-galactosídeo; (10) petunidina-3-arabinosídeo; (11) peonidina 3-glucosídeo (peonidina 3-glucosídeo co-eluído com malvidina 3-galactosídeo); (12) peonidina 3-arabinosídeo (peonidina 3-arabinosídeo co-eluído com malvidina 3-glucosídeo); e, finalmente, (13) malvidina 3-arabinosídeo.

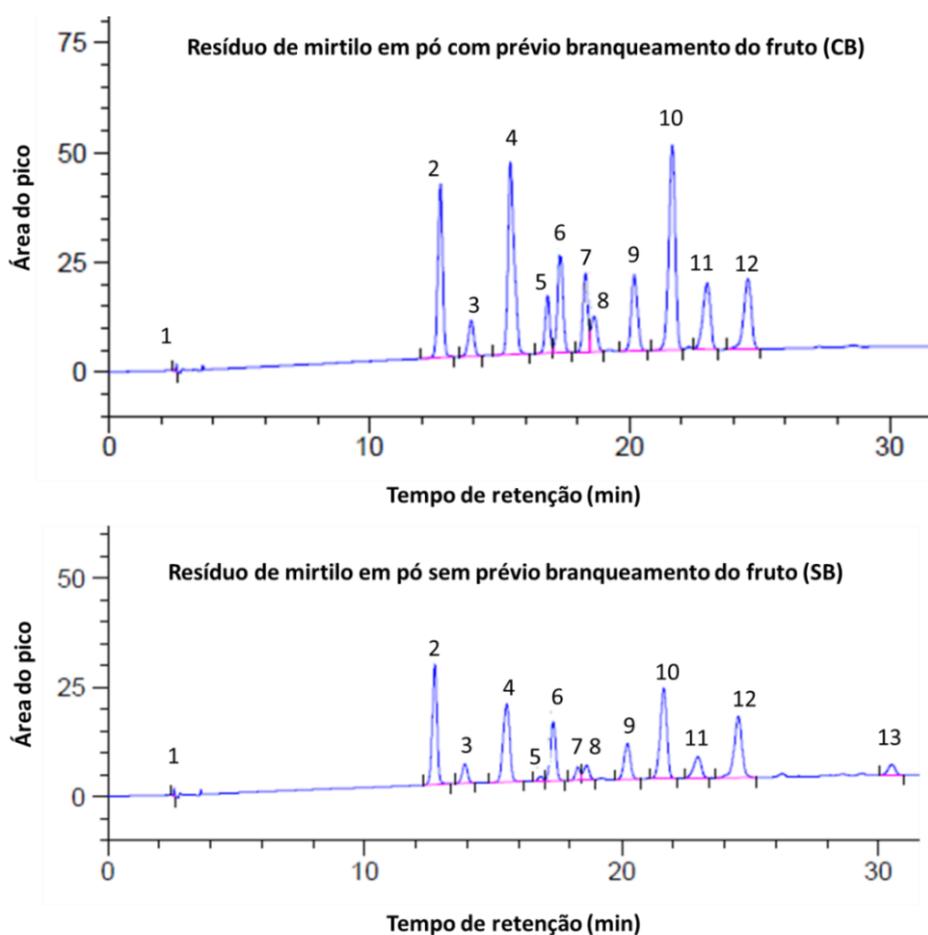


Figura 31. Cromatogramas obtidos pela análise de antocianinas por CLAE (Cromatografia Líquida de Alta Eficiência) em resíduo de mirtilo em pó sem e com branqueamento prévio do fruto.

4.2.2. Avaliação da mudança de coloração de soluções contendo resíduo de mirtilo

As diferenças de coloração dos extratos obtidos a partir do resíduo de mirtilo (utilizando a fração que passou pela peneira de 100 *mesh*) foram analisadas para validar o uso deste resíduo como um indicador de mudança de pH. A Figura 32(a) apresenta o aspecto visual da mudança de cor das soluções de resíduo de mirtilo na faixa de pH entre 2 e 11. Verificou-se que a coloração das soluções de resíduo de mirtilo apresentaram coloração avermelhada, rosa escuro, rosa claro e lilás em valores de pH inferiores a 5, e coloração ligeiramente amarelada quando o pH da solução estava entre 6 e 7. Em valores de pH mais elevados, a cor da solução de resíduo de mirtilo apresentou uma tendência de mudança, de roxo para amarelo escuro, levemente acastanhado na faixa de pH variando entre 8 e 11.

Os resultados da análise espectrofotométrica das soluções de resíduo de mirtilo permitem confirmar as mudanças de cor visualmente percebidas, uma vez que houve alteração de comprimento de onda no pico de máxima absorção, conforme mudança do pH da solução. Esses resultados estão apresentados nos espectros apresentados na Figura 32(b), (c) e (d).

Nos valores de pH ácidos (pH 2, 3 e 4), o pico de máxima absorbância foi obtido no comprimento de onda de 520 nm, característico da presença de antocianinas no extrato. À medida que houve um aumento do valor de pH (passando de 2 para 3 e 4) nas soluções de resíduo de mirtilo houve uma redução nos valores de absorbância. Em seguida, o aumento dos valores de pH (do pH 2, 3 e 4 para os valores de pH de 5, 6, 7, 8, 9, 10 e 11) promoveu uma alteração do pico de máxima absorção para o comprimento de onda de 590 nm. Nos valores de pH mais básicos (8, 9 e 10) também houve um aumento gradual dos valores de absorbância. O deslocamento do pico de máxima absorbância decorrente do aumento do valor de pH é chamado de mudança batocrômica e, geralmente, ocorre quando antocianinas estão presentes na solução avaliada (ASEN et al., 1972; BAKOWSKA et al., 2003; ZHANG et al., 2014). Resultados similares de mudanças de cor e análise espectrofotométrica UV-vis foram apresentados por Zhai et al. (2017) e Choi et al. (2017) para soluções de antocianina extraídas de roselle e da batata doce roxa, respectivamente.

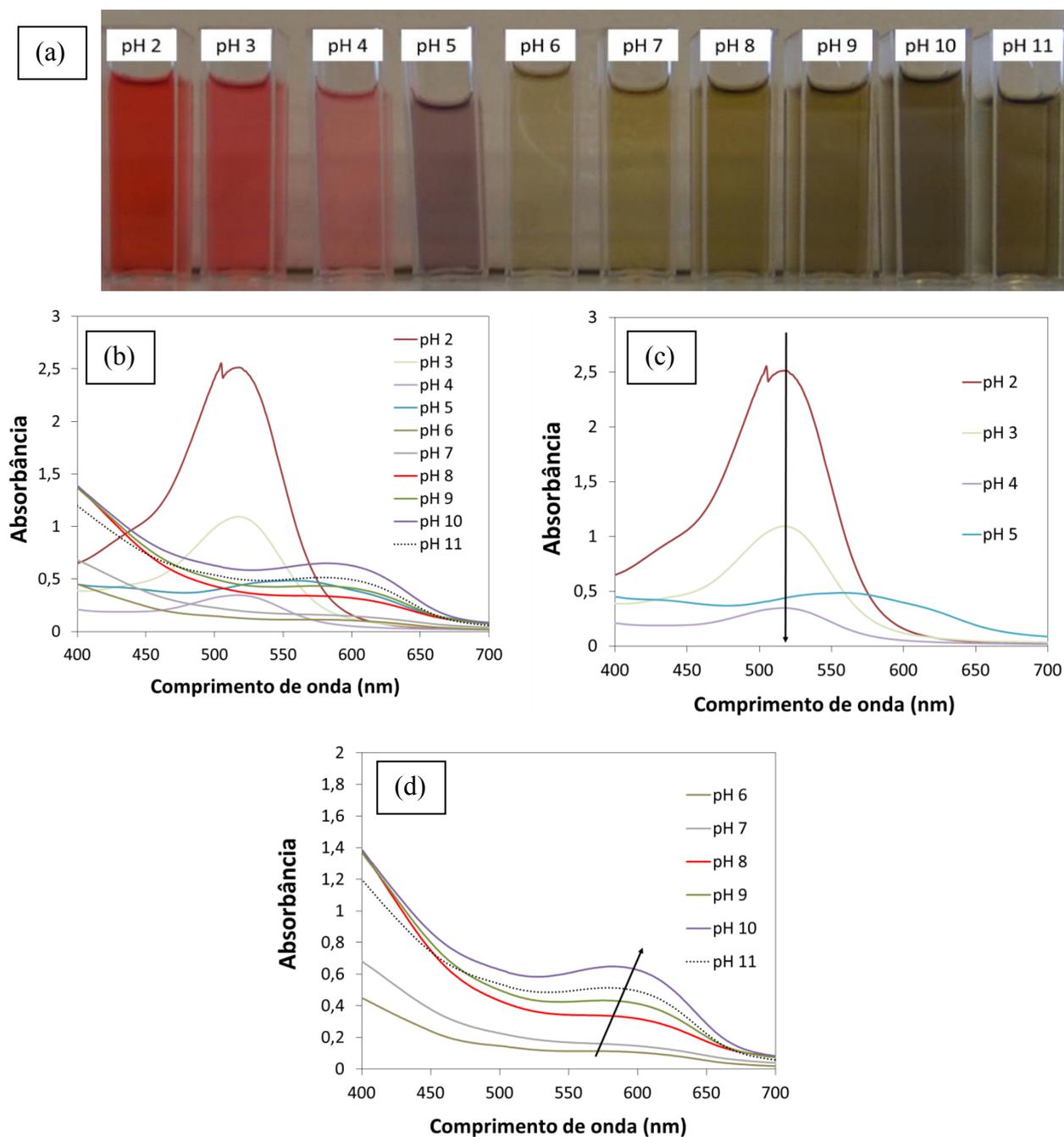


Figura 32. (a) Fotografia dos extratos de resíduo de mirtilo, indicando a mudança de cor na faixa de pH entre 2 e 11. Espectro UV-vis das soluções contendo resíduo de mirtilo em diferentes valores de pH: (b) entre 2 e 11, (c) na faixa ácida, entre 2 e 5 e (d) na faixa básica, entre 6 e 11.

4.2.3. Avaliação da capacidade de mudança de coloração de filmes à base de amido de milho contendo resíduo de mirtilo sem e com branqueamento prévio do fruto

Com o intuito de minimizar a degradação das antocianinas presentes no resíduo de mirtilo durante as etapas de processamento e formação dos filmes e determinar a influência da concentração inicial das antocianinas como indicador da deterioração de alimentos, avaliou-se a utilização do resíduo de mirtilo sem e com prévio branqueamento do fruto. A mudança de coloração foi avaliada em filmes de amido de milho (4% em massa) contendo resíduo de mirtilo, que passou pela peneira de 100 *mesh*, após imersão em soluções com diferentes valores de pH, em comparação com a coloração inicial da amostra.

Na Figura 33 está apresentado o aspecto visual dos filmes contendo resíduo de mirtilo em pó sem branqueamento prévio do fruto (SB) e com branqueamento prévio do fruto (CB). O valor de ΔE^* entre as amostras SB e CB anteriormente ao teste indicativo de mudança de cor apresentou resultado de 8,5. Este valor demonstra que houve diferenças visualmente perceptíveis ao olho humano entre essas amostras, uma vez que a diferença global de cor foi superior a 3,0 (LEE & COATES, 2003; MELGOSA et al., 2001). A diferença visual de cor pode ser confirmada pelas imagens apresentadas na Figura 33 e pode ser explicada pelo resultado da análise de quantificação do teor de antocianinas totais para os resíduos de mirtilo sem branqueamento ($17,5 \pm 0,5$ mg de antocianinas por g de amostra seca) e com prévio branqueamento (31 ± 1 mg de antocianinas por g de amostra seca), sendo este último resultado praticamente o dobro do valor encontrado para a amostra SB. Resultado semelhante foi encontrado por Rossi et al. (2003) que analisaram a quantidade de antocianinas presentes no suco de mirtilo sem e com prévio branqueamento dos frutos.

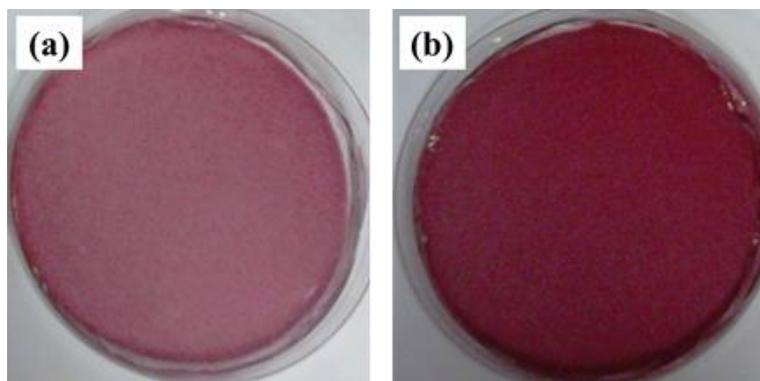


Figura 33. Aspecto visual dos filmes à base de amido de milho contendo resíduo de mirtilo em pó (a) sem branqueamento e (b) com branqueamento prévio do fruto.

Na Tabela 19 estão apresentados os resultados da análise colorimétrica para os filmes de amido de milho contendo resíduo de mirtilo sem branqueamento (SB) e com branqueamento (CB), anteriormente ao teste indicativo de mudança de cor e após a imersão dos filmes nas soluções tampão, em diferentes valores de pH.

As amostras de filmes contendo resíduo de mirtilo sem branqueamento prévio apresentaram maiores valores de L^* e b^* do que as amostras com branqueamento, enquanto os valores de a^* e o parâmetro de saturação de cor (C^*_{ab}) foram semelhantes para ambos os tratamentos. Após a imersão dos filmes em diferentes soluções tampão foi possível verificar alterações visuais de cor, mostrando-se avermelhados em pHs ácidos e azulados em pHs básicos, conforme imagens apresentadas na Figura 34. Nos testes colorimétricos, essas diferenças também foram detectadas, visto que os valores de a^* diminuíram ao se aumentar o pH da solução.

Em pHs ácidos (variando entre 2 e 5), verificou-se que os valores de ΔE^* para as amostras sem branqueamento (variaram entre 5,4 e 10,6) foram superiores aos valores de diferença global de cor para as amostras com a etapa de prévio branqueamento (de 1,7 a 5,4), fato este que também foi constatado visualmente. Isto indica que o processo de branqueamento pode ter influenciado na variação de cor dos filmes após sua imersão em diferentes soluções tampão. Entretanto, esse comportamento não foi verificado após imersão em pH neutro a básico, de forma que as amostras apresentaram valores de ΔE^* muito similares, independente do pré-tratamento dado ao fruto. Por sua vez, as amostras imersas em pH 12 apresentaram tonalidade marrom (h_{ab} aproximadamente 60°).

Além disso, os resultados da análise espectrofotométrica das soluções tampão, após a imersão dos filmes, corroboraram com os dados colorimétricos; as amostras com pH 2 e 4 apresentaram maiores valores de absorvância em 520 nm, que corresponde ao comprimento de onda de máxima detecção de antocianidinas, conforme Figura 35. Essa observação sugere que se deve evitar o contato direto desses filmes com compostos hidrofílicos, ou então, indesejavelmente, pode ocorrer à migração de pigmentos de cor para o produto. A fim de solucionar essa questão, biomateriais hidrofóbicos (FURTADO et al., 2012; MARIN et al., 2015) ou estruturas nano-reforçadas (TIAN et al., 2017) poderiam ser incorporados durante a produção de filmes para reduzir a hidrofiliabilidade do filme.

Conforme pode ser observado na Figura 34, as amostras com a etapa prévia de branqueamento (CB) apresentaram coloração visualmente mais escura (menores valores de luminosidade) enquanto as amostras sem branqueamento (SB) apresentaram coloração mais clara, com maior brilho, representada pelos maiores valores de L^* ; esse resultado pode ser corroborado pelos valores dos parâmetros colorimétricos apresentados na Tabela 19.

O espectro de cores visualmente observadas para pH ácido e neutro (variando de 2 a 7) incluiu rosa intenso, vermelho, vinho e roxo. No entanto, a coloração das amostras no pH básico (valores de pH 9, 10 e 12) foi inicialmente cinza intenso, sendo alterada para cores mais escuras, como negro e marrom, respectivamente. No pH 7, as amostras exibiram uma coloração roxo-azulada. Esta coloração foi intensificada à medida que o pH aumentou para 9 e 10, conforme mostrado na Figura 34. Isso pode ter acontecido porque, na fase aquosa, as antocianinas estão presentes como uma mistura de espécies moleculares (conforme apresentado no item 2.6.2.), cujas concentrações dependem do pH (LAPIDOT et al., 1999; LIU et al., 2017).

Para todas as amostras testadas, os valores de ΔE^* foram superiores a 3, evidenciando mudanças visualmente perceptíveis ao olho humano, exceto para a amostra branqueada submetida ao pH igual a 4. Sendo assim, independente da utilização do branqueamento como pré-tratamento, ambos os resíduos utilizados nos testes promoveram mudanças de coloração nos filmes após a imersão nas soluções tampão com diferentes valores de pH. Esses resultados demonstraram o potencial uso do resíduo de mirtilo como indicador de pH em alimentos e consequentemente, como embalagens inteligentes ou indicadores de deterioração.

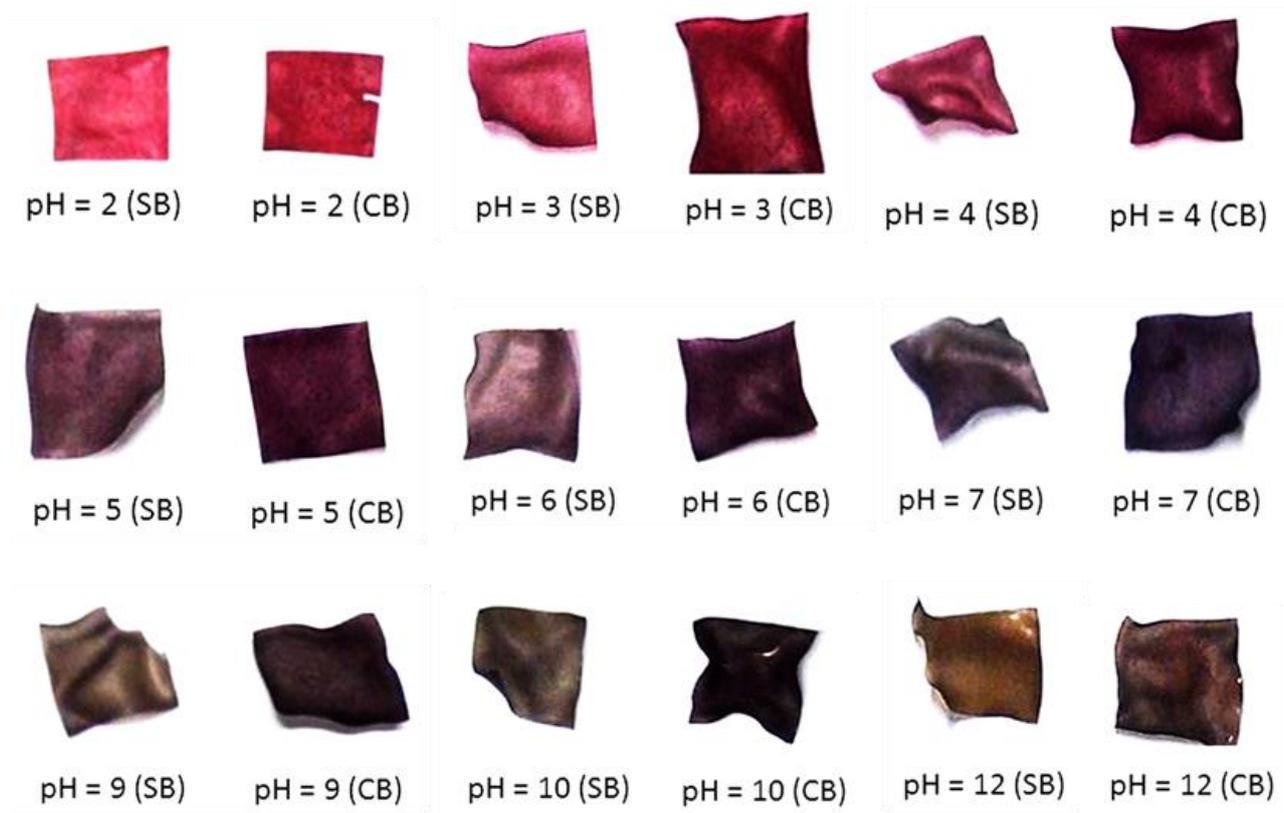


Figura 34. Aspecto visual dos filmes contendo resíduo de mirtilo após a imersão em soluções tampão com diferentes valores de pH (entre 2 e 12). SB e CB indicam que o resíduo foi feito sem e com branqueamento prévio do fruto, respectivamente.

Tabela 19. Resultados da análise colorimétrica para filmes de amido de milho contendo resíduo de mirtilo sem e com branqueamento.

Filme contendo resíduo de mirtilo sem branqueamento (SB)							Filme contendo resíduo de mirtilo com branqueamento prévio (CB)						
	L^*	a^*	b^*	ΔE^*	C^*_{ab}	h_{ab}		L^*	a^*	b^*	ΔE^*	C^*_{ab}	h_{ab}
Controle sem branqueamento	36,3	11,4	5,7	-----	12,8	26,7	Controle com branqueamento	28,9	13,4	1,9	-----	13,6	8,4
pH = 2	31,8	21,0	4,9	10,6	21,6	13,1	pH = 2	28,1	16,7	3,7	3,8	17,1	12,7
pH = 3	32,3	17,6	4,8	7,4	18,3	15,4	pH = 3	29,3	17,8	4,8	5,3	18,5	15,0
pH = 4	32,4	15,2	5,0	5,4	15,9	18,2	pH = 4	29,1	14,9	1,2	1,7	14,9	4,6
pH = 5	30,8	8,5	1,4	7,6	8,6	9,3	pH = 5	25,7	9,8	-0,56	5,4	9,8	356,7
pH = 6	32,7	6,7	4,1	6,1	7,9	31,1	pH = 6	28,0	7,1	0,15	6,6	7,1	1,2
pH = 7	31,5	3,2	3,2	9,8	4,5	44,3	pH = 7	29,6	4,2	-0,07	9,4	4,2	359,0
pH = 9	30,6	2,5	5,3	10,6	5,8	64,7	pH = 9	25,5	3,9	1,4	10,0	4,2	19,3
pH = 10	30,0	1,9	4,8	11,4	5,2	67,9	pH = 10	26,2	3,4	2,2	10,3	4,1	33,2
pH = 12	34,8	3,7	11,4	9,7	11,9	72,2	pH = 12	29,8	4,4	6,9	10,3	8,3	57,8

ΔE^* entre as amostras controle branqueada e sem branqueamento = 8,5

Os valores de ΔE^* foram calculados usando parâmetros colorimétricos (L^* , a^* e b^*) das amostras após imersão em uma solução de pH em comparação com a amostra controle.

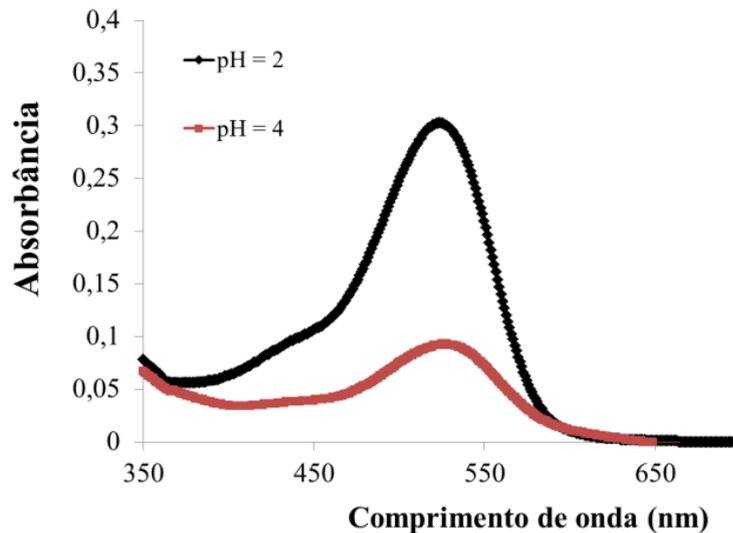


Figura 35. Espectros UV-visível das soluções tampão em diferentes pH (2 e 4) após o teste de imersão dos filmes.

Yoshida et al. (2014) utilizaram antocianinas comerciais extraídas de uvas para produzir filmes inteligentes à base de quitosana. Após a imersão dos filmes em soluções tampão com diferentes valores de pH, a cor dos filmes, que inicialmente era violeta escuro, foi alterada, variando de rosa (pH ácido) a verde azulado (pH neutro) até amarelo (pH básico). Portanto, verificou-se que a mudança de cor observada neste trabalho apresentou uma tendência semelhante àquela observada por Yoshida et al. (2014). Além disso, comparando-se os resultados obtidos com a literatura, acredita-se que as diferenças (cor amarela em comparação com a cor azul, em pH básico) de cor obtidas para todas as amostras podem ser decorrentes principalmente da fonte de antocianina utilizada e ao seu grau de pureza (AC-2-12R-WS-P), visto que, neste trabalho foram utilizadas antocianinas extraídas do resíduo de mirtilo.

Zhang et al. (2014) extraíram as antocianinas da flor *Bauhinia blakeana* Dunn e avaliaram a sua utilização em filmes à base de quitosana como indicadores/sensores colorimétricos de pH. Os autores observaram um comportamento de mudança de cor equivalente ao encontrado neste estudo em pH ácido e neutro. Nesses valores de pH foi observada uma mudança de cor de rosa para roxo e depois para verde em uma faixa de pH de 2,2 a 9,0 após 48 h de contato com carne de porco e produtos à base de peixe. No entanto, em comparação aos resultados encontrados, houve uma diferença de coloração no pH básico. Isso provavelmente ocorreu porque as antocianinas predominantes no resíduo de mirtilo e na flor de *Bauhinia Blakeana* Dunn são de natureza diferente.

Além disso, os resultados da mudança de cor apresentados em trabalhos anteriores (LUCHESE et al., 2015) usando farinha de jabuticaba (proveniente do processamento do suco) incorporada em filmes de amido de pinhão também diferem dos resultados colorimétricos encontrados. Os resultados do referido trabalho mostraram que, após a imersão em diferentes soluções tampão, a pH 2, os filmes com jabuticaba exibiram uma coloração avermelhada, no entanto, em valores de pH equivalentes a 4, 6, 7, 8 e 10, a cor das amostras tendeu para a coloração lilás. Em pH 12 (básico), uma intensa coloração marrom foi observada. Embora os resultados desse trabalho com resíduo de jabuticaba não tenham sido confirmados por análise colorimétrica, os autores acreditam que essas diferenças de coloração são fundamentalmente decorrentes da fonte de antocianina.

Os resultados apresentados nesta etapa do trabalho estão publicados no *International Journal of Biological Macromolecules* com o título “*Effect of blueberry agro-industrial waste addition to corn starch-based films for the production of a pH-indicator film*” (<https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2017.05.149>).

4.2.4. Caracterização físico-química e avaliação da capacidade de mudança de coloração de filmes à base de amido de mandioca contendo resíduo de mirtilo após imersão em soluções tampão com diferentes valores de pH, em soluções aquosas e em alimentos

A partir dos resultados obtidos, em que se verificou visualmente uma mudança de coloração mais intensa e, portanto, mais facilmente perceptível para as amostras de filmes contendo resíduo de mirtilo com branqueamento prévio do fruto, decidiu-se trabalhar nas próximas etapas do trabalho com o resíduo de mirtilo branqueado.

A fim de verificar o efeito da granulometria do resíduo de mirtilo em pó nas propriedades físico-químicas e na capacidade de mudança de coloração dos filmes à base de amido de mandioca foram utilizadas duas frações do resíduo de mirtilo com prévio branqueamento do fruto em pó: a fração que ficou retida (CG) e a fração que passou (C100) pela peneira de 100 *mesh*. Nesta etapa, os filmes foram produzidos por *casting* utilizando glicerol (30% em relação ao teor de amido) como plastificante. Os resultados desta etapa foram submetidos para a revista *Food Hydrocolloids* e atualmente estão *under review* (*Revisions Requested*). O trabalho foi intitulado “*Evaluation of blueberry residue incorporated cassava starch film as pH indicator in different solutions and foodstuffs*”.

Na Tabela 20 estão apresentados os resultados das análises de espessura, umidade, solubilidade e permeabilidade ao vapor de água dos filmes produzidos com resíduo de mirtilo com prévio branqueamento do fruto em diferentes granulometrias (a fração de resíduo que ficou retida na peneira de 100 *mesh*, CG, e a fração que passou pela peneira de 100 *mesh*, C100).

Os dados apresentados na Tabela 20 permitem verificar que, de maneira geral, a incorporação de diferentes frações do resíduo de mirtilo nos filmes de amido de mandioca não promoveu alterações significativas nos valores de umidade e solubilidade. Entretanto, maiores valores de espessura e permeabilidade ao vapor de água (PVA) foram reportados ao usar o resíduo de mirtilo nas formulações, principalmente quando foi utilizada a fração de resíduo de mirtilo que ficou retida na peneira de 100 *mesh* (CG). Apesar de alguns desses valores serem estatisticamente diferentes, não representam mudanças físicas consideráveis entre os filmes.

Tabela 20. Valores de espessura, umidade, solubilidade e permeabilidade ao vapor de água dos filmes à base de amido de mandioca produzidos por *casting* com resíduo de mirtilo em diferentes granulometrias.

Filme	Espessura (mm)	Umidade (%)	Solubilidade (%)	Permeabilidade ao vapor de água (g mm h ⁻¹ m ⁻² kPa ⁻¹)
C3G (controle)	0,11 ± 0,02 ^D	19,6 ± 0,4 ^D	15,9 ± 0,6 ^C	0,27 ± 0,04 ^{BC}
C4G (controle)	0,13 ± 0,02 ^C	23,6 ± 3,4 ^C	13,7 ± 0,9 ^D	0,23 ± 0,03 ^C
C3GMI100	0,15 ± 0,02 ^{BC}	23,8 ± 0,1 ^C	23,1 ± 0,5 ^A	0,28 ± 0,03 ^{BC}
C4GMI100	0,17 ± 0,02 ^B	28,8 ± 1,4 ^{AB}	12,9 ± 0,9 ^D	0,26 ± 0,03 ^{BC}
C3GMI	0,25 ± 0,01 ^A	28,9 ± 0,5 ^{AB}	18,3 ± 0,7 ^B	0,41 ± 0,09 ^A
C4GMI	0,26 ± 0,01 ^A	29,6 ± 0,7 ^{AB}	17,3 ± 1,1 ^B	0,46 ± 0,1 ^A

*Letras diferentes nas colunas indicam que há diferenças estatisticamente significativas ($p < 0,05$) pelo teste de Tukey entre as amostras. Os filmes são identificados pela letra C (mandioca) seguida pelo conteúdo de amido utilizado por 100 mL. A letra G corresponde ao conteúdo de 30% de glicerol em relação ao teor de amido; MI100, a fração de resíduo com prévio branqueamento do fruto que passou pela peneira de 100 *mesh* e MI, a fração de resíduo de mirtilo com prévio branqueamento do fruto que ficou retida na peneira de 100 *mesh*.

Salas-Valero, Tapia-Blácido & Menegalli (2015) produziram filmes à base de amido de milho, glicerol e farinha cañihua por *casting* e encontraram valores de permeabilidade ao vapor de água variando entre 0,09 e 0,6 g mm h⁻¹ m⁻² kPa⁻¹. Andrade, Ferreira & Gonçalves (2016) desenvolveram filmes biodegradáveis à base de amido contendo resíduos de frutas e hortaliças e encontraram valores de permeabilidade ao vapor de água variando entre

2,4 e 2,8 g mm m² h⁻¹ kPa⁻¹. Crizel et al. (2017) avaliaram a permeabilidade ao vapor de água e a solubilidade de filmes à base de gelatina e glicerol com a incorporação de resíduo de mirtilo (na forma de fibras ou extrato), e encontraram valores variando entre 0,5 e 1 g mm m⁻² h⁻¹ kPa⁻¹; os valores de solubilidade variaram entre 26 e 32,5%. Esses valores foram superiores aos encontrados no presente trabalho.

Na Figura 36, estão apresentados os resultados da análise de espectroscopia de infravermelho por transformada de Fourier (FTIR) para o amido de mandioca (4%), o resíduo de mirtilo em pó (com prévio branqueamento do fruto) e para as amostras de filmes (C4GMI e C4GMI100) produzidas com a inclusão do resíduo em diferentes granulometrias. Somente foi apresentado o resultado da análise da amostra de resíduo de mirtilo que passou pela peneira de 100 *mesh*, uma vez que, ambas as frações, apresentaram exatamente o mesmo espectro de FTIR.

É possível verificar que os espectros de FTIR do amido nativo de mandioca e dos filmes à base de amido contendo resíduo de mirtilo apresentaram as bandas características do amido em 3300 cm⁻¹ (estiramento O–H), 2950 cm⁻¹ (C–H dos grupos alquila) e 1050 cm⁻¹ (estiramento C–O).

A absorção em torno de 1640 cm⁻¹ é uma banda típica que corresponde ao amido e seus derivados, relacionada à água fortemente ligada (SELIGRA et al., 2016; YU et al., 2010; ZHANG et al., 2012). No espectro de FTIR do resíduo de mirtilo, o sinal correspondente ao estiramento do anel aromático, devido à presença de compostos fenólicos pode ser visto em 1615 cm⁻¹. Em contraste com os outros espectros, no FTIR do resíduo de mirtilo, um sinal em 1720 cm⁻¹ também foi detectado e atribuído à vibração de grupos C=O de ácidos carboxílicos (PIÑEROS-HERNANDEZ et al., 2017). Este pico não aparece nos espectros de filmes contendo resíduo de mirtilo (C4GMI e C4GMI100), possivelmente decorrente de uma interação (VU & LUMDUBWONG, 2016) entre o grupo C=O do ácido carboxílico e a matriz polimérica do amido devido à formação de uma banda mais alargada em 1620 cm⁻¹ quando comparado ao espectro de amido de mandioca sem adição de resíduo. Apesar das diferenças visuais de heterogeneidade entre os filmes de amido de mandioca contendo diferentes frações de resíduo de mirtilo, os filmes C4GMI e C4GMI100, respectivamente, não apresentaram diferenças na análise de FTIR.

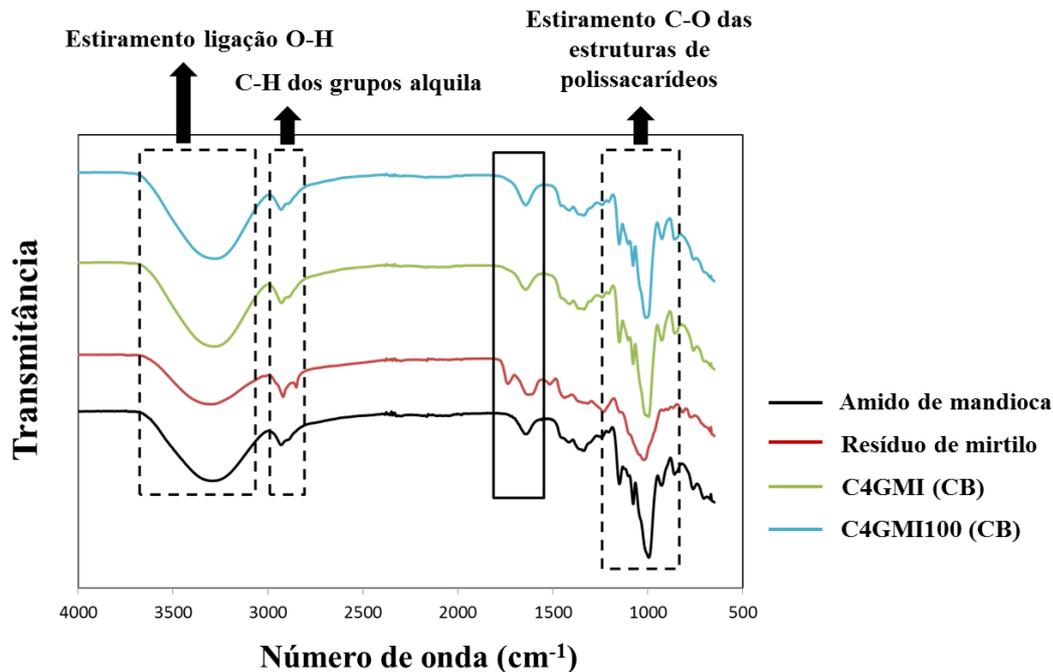


Figura 36. Espectros de FTIR do filme de amido de mandioca, do resíduo de mirtilo e dos filmes à base de amido de mandioca (4%) contendo resíduo de mirtilo branqueado com diferentes granulometrias. O filme C4GMI contém a fração retida na peneira de 100 *mesh* e o filme C4GMI100 contém a fração que passou pela peneira de 100 *mesh*.

Na Tabela 21 estão apresentados os resultados para análise de espessura e propriedades mecânicas (tensão de ruptura, TS em MPa; percentual de alongamento, E em %; e módulo elástico, MY em MPa) para os filmes de amido de mandioca contendo as diferentes frações de resíduo de mirtilo (com prévio branqueamento do fruto). A adição de resíduo de mirtilo em pó promoveu um aumento da espessura do filme em comparação com o filme controle (C4G). Além disso, esse aumento foi mais pronunciado para os filmes contendo a fração de resíduo de mirtilo retida na peneira de 100 *mesh* (C4GMI).

É possível verificar pelos dados apresentados na Tabela 21 que os filmes contendo a fração de resíduo de mirtilo que ficou retida na peneira (C4GMI) apresentou um decréscimo nos valores de tensão de ruptura e módulo de elasticidade. A sinergia entre os diferentes componentes da matriz filmogênica é muito importante e influencia nos resultados de propriedades mecânicas, particularmente quando os materiais contem partículas heterogêneas que não possuem completa compatibilidade com o biopolímero utilizado.

O percentual de alongações foi significativamente ($p < 0,05$) reduzido para as amostras testadas após adição do resíduo de mirtilo em pó em comparação com a amostra controle contendo amido. A adição de fibras, em geral, promove um aumento nos valores do

módulo de elasticidade e uma redução no percentual de alongação. Portanto, conforme esperado, os filmes contendo a fração de resíduo de mirtilo que passou pela peneira de 100 *mesh* (C4GMI100) apresentaram um aumento significativo ($p < 0,05$) na rigidez (módulo de elasticidade) e uma diminuição no percentual de alongação em comparação com os filmes controle contendo amido (C4G). Entretanto, as amostras contendo a fração de resíduo de mirtilo que ficou retida na peneira de 100 *mesh* (C4GMI) apresentaram valores de módulo de elasticidade menores em comparação com os filmes controle (C4G), provavelmente devido à heterogeneidade da estrutura filmogênica formada que resultou na formação de pontos frágeis, suscetíveis a rupturas e/ou descontinuidades.

Tabela 21. Valores de espessura (mm) e resultado da análise de propriedades mecânicas (resistência à tração, TS [MPa], percentual de alongação, E [%] e módulo de elasticidade, MY [MPa]) dos filmes à base de amido de mandioca, glicerol (30% em relação à massa de amido) e resíduo de mirtilo produzidos por *casting*.

	Propriedades mecânicas			
	Espessura (mm)	TS (MPa)	E (%)	MY (MPa)
C4G	0,12 ± 0,005 ^C	1,3 ± 0,2 ^A	106 ± 18 ^A	5,8 ± 0,7 ^B
C4GMI100	0,18 ± 0,02 ^B	1,1 ± 0,3 ^A	19 ± 6 ^C	9,6 ± 1,4 ^A
C4GMI	0,26 ± 0,02 ^A	0,5 ± 0,1 ^B	47 ± 4 ^B	3,2 ± 0,9 ^C

* C4G = filme de amido de mandioca (4%); C4GMI = filme de amido de mandioca contendo a fração de resíduo de mirtilo com prévio branqueamento do fruto que ficou retida na peneira de 100 *mesh* e C4GMI100 = filme de amido de mandioca contendo a fração de resíduo de mirtilo com prévio branqueamento do fruto que passou na peneira de 100 *mesh*.

**Resistência máxima à ruptura [TS; MPa], alongação máxima de ruptura [E; %] e módulo de elasticidade [MY; MPa].

***Letras diferentes nas colunas indicam que há diferenças estatisticamente significativas ($p < 0,05$) pelo teste de Tukey entre as amostras.

De modo geral, a incorporação do resíduo promoveu uma redução no percentual de alongação dos filmes em relação ao filme controle e um aumento no módulo de elasticidade, ou rigidez dos filmes, provavelmente devido ao elevado teor de fibras presentes. Esse comportamento também foi observado por outros autores que trabalharam com adição de fibras (celulose, cana-de açúcar, etc.) em filmes de amido. Müller, Laurindo & Yamashita (2009) destacaram que a adição de fibras em filmes de amido diminuiu significativamente o percentual de alongação máxima na ruptura, indicando que estes filmes se tornaram menos extensíveis do que os filmes controle. De acordo com os autores, isto pode

estar associado à redução das interações intermoleculares dos diferentes componentes presentes na matriz filmogênica.

Moraes (2009) avaliou a incorporação de nanoargilas e fibras de celulose em filmes de amido de mandioca. Os resultados encontrados demonstraram que a adição de fibras e nanoargila promoveu um aumento da tensão de ruptura dos filmes em 8,5 vezes e do módulo de Young em 24 vezes, mas reduziu a capacidade de alongamento em 14 vezes. De Souza et al. (2012) produziram filmes de amido de mandioca com adição de polpas de manga e de acerola e também verificaram que o percentual de alongamento dos filmes com polpa foi inferior ao dos filmes sem polpa, os autores atribuem este resultado à presença de fibras nessas polpas.

Veiga-Santos, Ditchfield & Tadini (2011) produziram filmes à base de fécula de mandioca incorporados com extratos aquosos de espinafre e uva, como fonte de clorofila e antocianina, respectivamente. A concentração máxima adicionada foi 0,5 g de extrato de espinafre por 100 g de solução filomogência e 3,8 g de extrato de uva por 100 g de solução filomogência e encontraram resistência máxima à tração variando entre 1,8 e 4,2 MPa.

Resultados similares de espessura, permeabilidade ao vapor de água e propriedades mecânicas foram obtidos por Yan et al. (2013) após a incorporação de extratos de alecrim em filmes à base de amido/alginato, por Crizel et al. (2016) após adição de fibras do bagaço de mirtilo em filmes de gelatina e por Piñeros-Hernandez et al. (2017) após a incorporação de extratos de alecrim em filmes de amido de mandioca. Em geral, os filmes com adição de extratos (provenientes do resíduo de mirtilo e das folhas de alecrim) apresentaram maiores valores de espessura e de permeabilidade ao vapor de água. Além disso, em geral, filmes compósitos apresentam um decréscimo na tensão de ruptura e no percentual de alongação e um aumento no módulo de elasticidade quando comparados com o filme controle que contém apenas amido (CRIZEL et al., 2016; PIÑEROS-HERNANDEZ et al., 2017).

Além da caracterização físico-química dos filmes, foram realizados testes para avaliação da capacidade de mudança de coloração após imersão das amostras em soluções tampão com diferentes valores de pH, em soluções aquosas e em contato direto com alimentos. Os filmes contendo a fração de resíduo de mirtilo mais grosseira (C4GMI) apresentaram-se visualmente mais heterogêneos em comparação aos filmes produzidos utilizando a fração mais fina (C4GMI100) de resíduo de mirtilo, que se apresentaram aparentemente mais uniformes e homogêneos, conforme pode ser visualizado na Figura 37. Além disso, independentemente da fração de resíduo de mirtilo utilizada na formulação do

filme, verificou-se que todas as amostras imersas em soluções tampão (valores de pH: 4, 5, 6 e 7) apresentaram valores de diferença total de cor (ΔE^*) superiores a 5, indicando que houve mudança de coloração visivelmente perceptível ao olho humano (MELGOSA et al., 2001). O valor de ΔE^* foi calculado em relação à amostra controle, ou seja, anteriormente à imersão dos filmes C4GMI100 e C4GMI nas soluções tampão.

Adicionalmente, é possível verificar que o filme contendo resíduo de mirtilo em pó com maiores tamanhos de partícula (C4GMI) apresentou uma pigmentação menos intensa quando comparado ao filme C4GMI100, provavelmente devido ao menor conteúdo de antocianinas ($17,4 \pm 0,3$ mg antocianinas / g de resíduo seco) presente nessa fração de resíduo. No entanto, algumas mudanças de coloração, após imersão em diferentes valores de pH, foram mais facilmente percebidas (maiores valores de ΔE^*), na amostra C4GMI do que na amostra C4GMI100.

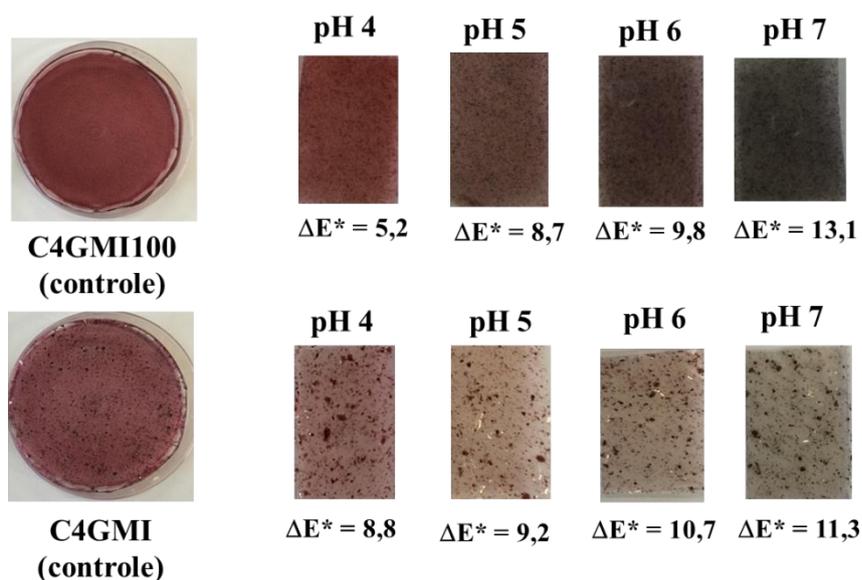


Figura 37. Aspecto visual da mudança de cor das amostras e valores de diferença total de cor (ΔE^*) dos filmes controle e após imersão em diferentes valores de pH (4, 5, 6 e 7).

Conforme mencionado anteriormente, foi possível estabelecer uma correlação (valores de ΔE^*) entre a mudança de coloração após a imersão dos filmes em soluções tampão, em soluções aquosas usadas como simulantes e em alguns produtos alimentícios. Os valores de ΔE^* apresentados na Tabela 22 foram calculados usando como padrão os parâmetros colorimétricos, L^* , a^* e b^* , (dados apresentados no APÊNDICE V) obtidos para os filmes C4GMI e C4GMI100 imersos em soluções tampão, nos respectivos valores de pH. Portanto, os valores de ΔE^* correspondem à diferença de cor entre o filme imerso em solução tampão e

entre a solução aquosa usada como simulante e/ou o alimento no respectivo valor de pH. Sendo assim, valores de diferença global de cor (ΔE^*) inferiores ou próximos a 6,0 indicam que foi estabelecido uma boa correlação entre a mudança de coloração das amostras após imersão nas soluções aquosas em comparação com a coloração das amostras após imersão em solução tampão, no respectivo valor de pH.

Após o teste de aplicação em soluções aquosas e alimentos, verificou-se que, em geral, os filmes contendo a fração de resíduo de mirtilo que passou pela peneira de 100 *mesh* (C4GMI100) apresentaram maiores valores de diferença global de cor (ΔE^*) em comparação com os filmes contendo a fração de resíduo que ficou retida na peneira (C4GMI). Após imersão em água destilada, os valores de ΔE^* para os filmes C4GMI e C4GMI100 indicaram diferenças de cor visualmente perceptíveis. Este efeito pode ter sido causado pela lixiviação dos componentes coloridos do resíduo de mirtilo presentes na matriz filmogênica, uma vez que as antocianinas são hidrossolúveis.

Após imersão nas soluções aquosas (proteína de soja e proteína do leite) houve uma diferença de coloração pouco perceptível (valores de ΔE^* inferiores a 6,0). Entretanto, as amostras que foram imersas em soluções salinas e de sacarose apresentaram valores de diferença global de cor igual ou maiores do que 6,0, demonstrando que uma fraca correlação entre esses valores foi obtida. É importante enfatizar que independente da concentração das soluções de sacarose e sal (5 e 10%), os mesmos resultados colorimétricos foram obtidos. Este comportamento ocorreu possivelmente devido à baixa concentração da solução utilizada.

Tabela 22. Valores de ΔE^* (diferença global de cor) calculados após o contato da amostra com soluções aquosas e em base oleosa, nos respectivos valores de pH.

Amostra	pH	ΔE^* (C4GMI)	ΔE^* (C4GMI100)
Água destilada	6	3,8	8,2
Solução de sacarose (5 e 10%)	6	7,7	7,4
Solução salina (5 e 10%)	7	6,2	9,8
Solução de proteína de soja (5%)	6	2,1	5,7
Solução de proteína do leite (5%)	6	4,7	1,3
Óleo de milho	6	11,9	8,9

*Filmes de amido de mandioca (4%) contendo a fração de resíduo de mirtilo, com prévio branqueamento do fruto, que ficou retida na peneira de 100 *mesh* (C4GMI) e que passou pela peneira de 100 *mesh* (C4GMI100). Os valores de ΔE^* correspondem a diferença de cor entre o filme imerso em solução tampão e entre a solução/alimento no mesmo valor de pH.

Após imersão das amostras em uma base oleosa (óleo de milho), independente da granulometria do resíduo de mirtilo utilizada para desenvolvimento dos filmes; as estruturas dos filmes se tornaram brilhosas e quebradiças, e os valores de diferença global de cor (ΔE^*) foram superiores a 6,0, demonstrando que houve uma fraca correlação entre este resultado e àquele obtido após imersão em solução tampão pH 6. Um esquema representativo das mudanças de coloração observadas após a imersão em óleo de milho está apresentado na Figura 38; foi possível verificar que o óleo de milho permaneceu presente na superfície do filme, conferindo ao filme um aspecto visual brilhoso.

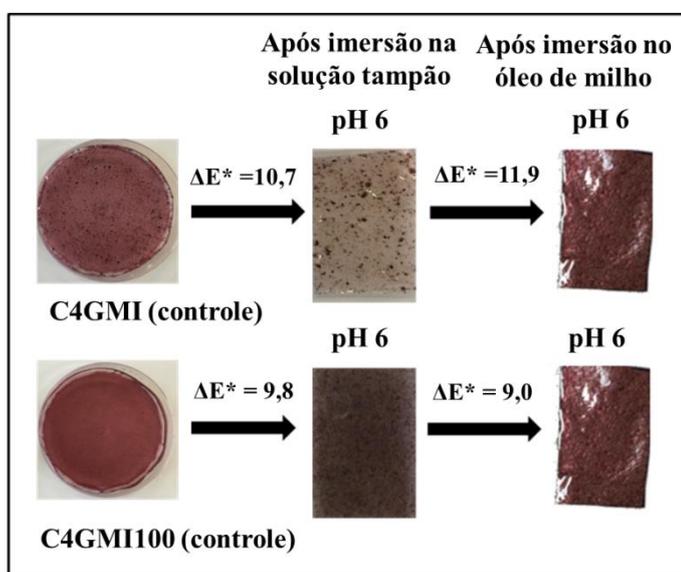


Figura 38. Mudança de coloração visual e diferença global de cor (valores de ΔE^*) dos filmes após imersão em soluções tampão e em base oleosa (óleo de milho).

Além dos alimentos citados, foi realizado um teste preliminar com pedaços de frango, visto que a deterioração de produtos cárneos promove um aumento do valor de pH devido à liberação de nitrogênio básico volátil total, pois existe uma estreita relação entre o valor de pH e o índice de frescor de um produto alimentício. Diante desta perspectiva, o desenvolvimento de um filme contendo um tipo de indicador que pode ser usado para monitorar o processo de deterioração de produtos cárneos apresenta-se como uma área de estudo bastante promissora. Neste estudo preliminar, foram analisadas duas configurações distintas: (a) embalagem colocada diretamente em contato com as amostras e (b) embalagem em contato indireto com o produto alimentício, ou seja, o frango foi colocado dentro de um bquer nas proximidades do filme indicador. Na Figura 39 estão apresentadas as fotografias com a configuração dos dois sistemas. Os pedaços de frango foram armazenados durante

10 dias e a aparência visual dos mesmos após 1 e 10 dias sob refrigeração ($T = 6\text{ }^{\circ}\text{C}$) está apresentada na Figura 39.

Quando os filmes foram colocados diretamente em contato com as amostras de frango, foi possível observar o fenômeno de migração do pigmento de cor roxa presente no resíduo de mirtilo em direção ao produto alimentício, portanto, a diferença total de cor (ΔE^*) não pode ser claramente visualizada. Isto pode ser explicado pela elevada hidrofiliicidade dos filmes à base de amido de mandioca. Consequentemente, os resultados de mudança de coloração não são considerados válidos e, portanto, não foram apresentados.

A adição de compostos hidrofóbicos na formulação de filmes pode contribuir positivamente para minimizar a migração de compostos dos filmes contendo resíduo de mirtilo e, assim, auxiliar na resolução do problema. Algumas alternativas para reduzir a hidrofiliicidade dos filmes à base de amido foram sugeridas por Flores et al. (2010), tais como: o uso de compatibilizantes, amidos modificados ou nanopartículas na matriz filmogênica de amido, ou a produção de filmes multicamadas. Alternativamente, Bastos et al. (2009) avaliaram a possibilidade de reduzir a sensibilidade à água dos filmes de amido de milho pelo tratamento com plasma e utilizaram microscopia confocal a laser e microscopia de força atômica para analisar as principais modificações na superfície dos filmes. Os resultados indicaram que houve a formação de ligações cruzadas (*crosslinking*) no amido e, portanto, mesmo após contato com a água por 10 min, as amostras permaneceram hidrofóbicas, apresentando valores de ângulo de contato superiores a 100° . A partir destas pesquisas é possível inferir que modificações adequadas na formulação dos filmes, de modo a torna-los mais hidrofóbicos, podem permitir sua utilização para monitorar a deterioração de pedaços de frango, ou outro alimento similar, por inspeção visual direta.



Figura 39. Fotografias evidenciando a aplicação das embalagens nos pedaços de frango de maneira (a) indireta (pedaço de frango na parte interna do béquer), (b) direta (o filme foi diretamente enrolado no pedaço de frango) e (c) aspecto visual dos filmes de amido de mandioca (4%) e resíduo de mirtilo após 10 dias de contato, mantidos na temperatura de refrigeração de $6\text{ }^{\circ}\text{C}$.

4.2.5. Avaliação da influência da adição de resíduo de mirtilo na biodegradabilidade dos filmes de amido de mandioca

A fim de avaliar a biodegradabilidade dos filmes de amido incorporados com resíduo de mirtilo, foi realizado um estudo qualitativo da degradação dos materiais em função do tempo para amostras enterradas em um composto vegetal (solo). Na Figura 40 estão apresentados os resultados da análise de biodegradabilidade (até 30 dias) dos filmes à base de amido de mandioca (contendo 4 g de amido por 100 mL) com diferentes granulometrias do resíduo de mirtilo em pó (com branqueamento prévio do fruto), ou seja, com a fração mais grosseira que ficou retida na peneira de 100 *mesh*, e com a fração mais fina que passou pela peneira de 100 *mesh*.

Pode ser visto, que, após 7 dias de armazenamento em composto vegetal, todos os filmes apresentaram mudanças na cor, na tonalidade e na integridade, com alguns danos físicos, indicando o início do processo de degradação. As amostras contendo resíduo de mirtilo apresentaram intensa mudança de coloração visual, visto que em ambiente básico, como o do solo (pH~8,6), as antocianinas adquirem coloração diferente. Além disso, visualmente verificou-se que os filmes de amido de mandioca contendo resíduo de mirtilo apresentaram-se mais íntegros após 30 dias de estudo, principalmente o filme contendo a fração de resíduo de mirtilo que passou pela peneira de 100 *mesh*.

Jaramillo et al. (2016) verificaram que a decomposição dos filmes de amido de mandioca sem e com adição de extrato de erva mate ocorreu quase inteiramente após 12 dias. Além disso, aparentemente, a incorporação do extrato de erva-mate em filmes de amido-glicerol acelerou o processo de biodegradação, provavelmente devido à presença de compostos de baixa massa molar no extrato de erva-mate, que sofreram degradação antes do amido.

Piñeros-Hernandez et al. (2017) avaliaram a influência da adição de extratos de alecrim na biodegradabilidade de filmes de amido mandioca. Esses autores observaram a desintegração completa dos filmes em duas semanas de compostagem, no entanto, diferentemente dos resultados apresentados por Jaramillo et al. (2016), a integridade dos filmes contendo extrato de alecrim foi melhor preservada em comparação com os filmes sem extrato. Provavelmente, esse comportamento está relacionado à presença de compostos

fenólicos naturais que podem ter afetado a atividade dos microrganismos presentes no ambiente de compostagem (CERRUTI et al., 2011), similar ao que ocorreu neste estudo.

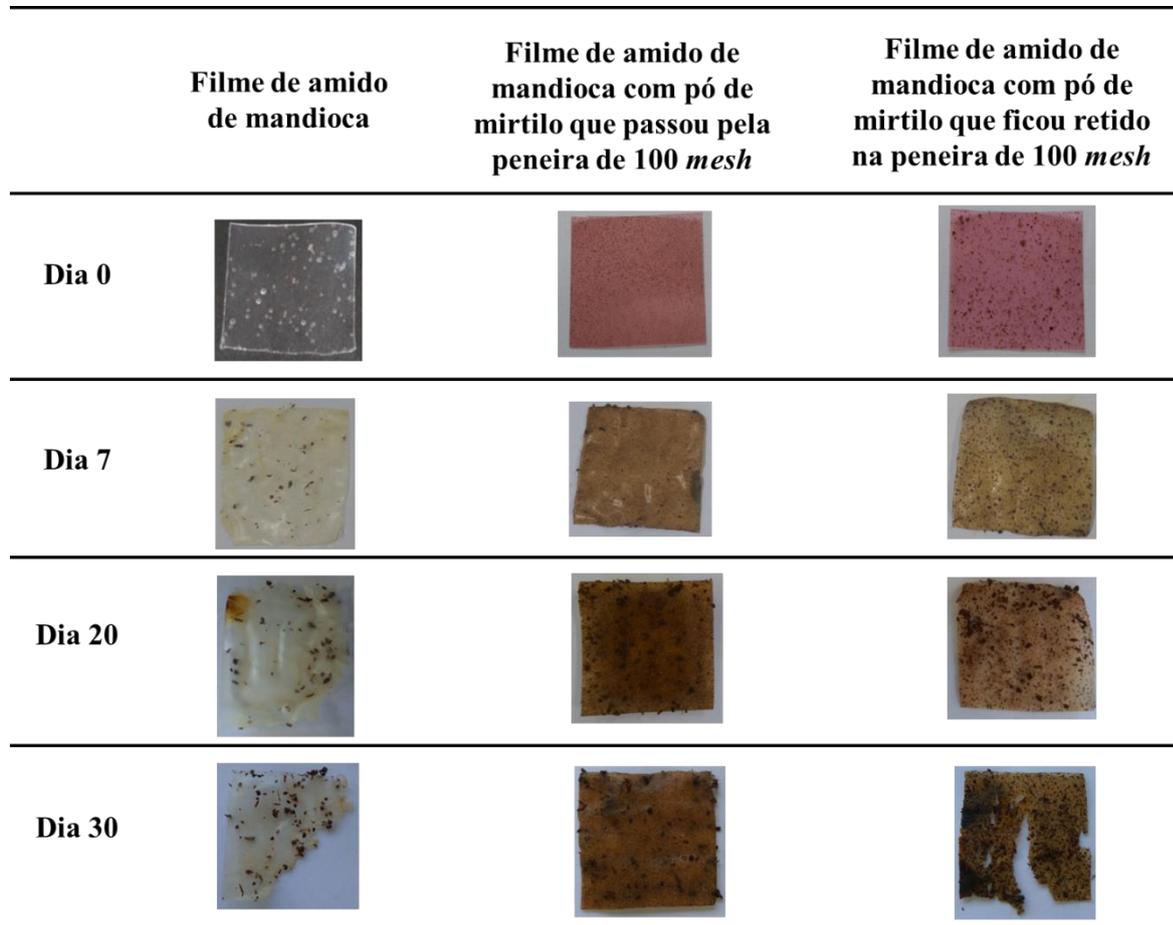


Figura 40. Fotografias mostrando o aspecto visual dos filmes de amido de mandioca (4%) sem e com resíduo de mirtilo em diferentes granulometrias durante a análise de biodegradabilidade após 7, 20 e 30 dias enterrados em solo.

4.3. Parte III – Desenvolvimento e caracterização de filmes de amido de mandioca e sorbitol com diferentes teores de resíduo de mirtilo

Essa parte do trabalho foi realizada no Programa de Doutorado em Engenharia de Materiais Renováveis do Departamento da Engenharia Química e do Meio Ambiente da Escola de Engenharia de Gipuzkoa, na Universidade do País Vasco / Euskal Herriko Unibertsitatea (UPV / EHU) em San Sebastián, na Espanha, durante o doutorado sanduíche.

4.3.1. Filmes produzidos por casting

Nesta etapa foram desenvolvidos filmes de amido de mandioca (CS; 4%) e sorbitol com incorporação de resíduo de mirtilo (com prévio branqueamento do fruto) que passou na peneira de 100 *mesh*. Os filmes fabricados por *casting* foram designados como CS0BW, CS4BW, CS8BW e CS12BW como função do conteúdo de resíduo de mirtilo (BW) adicionado, sendo, portanto, incorporados 0, 4, 8 e 12% em relação ao teor de amido, respectivamente.

Macroscopicamente, todos os filmes apresentaram características homogêneas, foram transparentes, inodoros e fáceis de manusear. A adição de BW afetou significativamente ($p < 0,05$) a espessura do filme, que variou de 91,3 a 124,3 μm , conforme dados apresentados na Tabela 23. Os resultados da análise de permeabilidade ao vapor de água (PVA) para todas as amostras analisadas também estão apresentados na Tabela 23, que variaram entre 0,667 e 0,959 $\text{g mm m}^{-2} \text{h}^{-1} \text{kPa}^{-1}$ e foram semelhantes aos resultados apresentados por outros autores (MALI et al., 2005; SALAS-VALERO et al., 2015; SANTACRUZ et al., 2015; CRIZEL et al., 2016; PIÑEROS-HERNANDEZ et al., 2017) para filmes contendo amido. As propriedades de barreira não foram significativamente ($p > 0,05$) afetadas pela adição do resíduo de mirtilo (4% a 12%), indicando que houve uma boa compatibilidade entre os componentes.

Adicionalmente, na Tabela 23 estão apresentados os resultados da análise de ângulo de contato (WCA) para os filmes de mandioca produzidos com diferentes conteúdos de resíduo de mirtilo. Pode-se verificar que independentemente do conteúdo do teor de resíduo de mirtilo em pó adicionado houve uma diminuição na hidrofobicidade dos filmes de amido de mandioca em relação ao controle.

Tabela 23. Valores de espessura (μm), permeabilidade ao vapor de água e ângulo de contato (WCA) para os filmes à base de amido de mandioca produzidos com diferentes conteúdos de resíduo de mirtilo.

	Espessura (μm)	Permeabilidade ao vapor de água ($\text{g mm m}^{-2} \text{h}^{-1} \text{kPa}^{-1}$)	WCA ($^\circ$)
CS0BW	91,3 \pm 10,2 ^C	0,667 \pm 0,008 ^B	90,9 \pm 3,6 ^A
CS4BW	115,0 \pm 4,7 ^B	0,919 \pm 0,026 ^{AB}	63,4 \pm 5,9 ^B
CS8BW	122,6 \pm 10,9 ^{AB}	0,959 \pm 0,137 ^A	58,5 \pm 6,4 ^B
CS12BW	124,3 \pm 8,6 ^A	0,893 \pm 0,026 ^{AB}	60,4 \pm 6,2 ^B

*CS0BW, CS4BW, CS8BW e CS12BW representam os filmes de amido de mandioca (CS) com diferentes conteúdos de resíduo de mirtilo (BW): 0, 4, 8 e 12% em relação ao teor de amido, respectivamente.

*Letras diferentes nas colunas indicam que houve diferença estatisticamente significativa ($p < 0,05$).

Os termogramas obtidos por Calorimetria Diferencial de Varredura (DSC) estão apresentados na Figura 41. Conforme indicado por Alvani et al. (2011), os valores de entalpia (ΔH) podem ser considerados um indicador da perda de ordem molecular devido à ruptura das ligações de hidrogênio. A perda de ordem molecular foi confirmada pelos valores de ΔH determinados para filmes de amido de mandioca: 35,3, 30,5, 29,1 e 25,3 J.g^{-1} para CS0BW, CS4BW, CS8BW e CS12BW, respectivamente. Kadam et al. (2015) e Sun et al. (2017) também encontraram uma diminuição dos valores de entalpia após extração de algas marinhas (*Ascophyllum nodosum*) e adição de polifenóis de maçã em filmes de gelatina/caseína e quitosana, respectivamente. Esta diminuição nos valores de ΔH pode estar relacionada com a diminuição das interações inter- e intra-moleculares após a adição do extrato contendo polifenóis (RATTAYA et al., 2009; KADAM et al., 2015).

Além dos valores de entalpia, a temperatura máxima dos picos DSC também foi analisada. Para o filme de amido de mandioca, a máxima temperatura foi de 80 $^\circ\text{C}$, enquanto para os filmes preparados com resíduo de mirtilo, este pico apresentou temperaturas mais altas, até 96 $^\circ\text{C}$. Esses resultados indicaram que é necessária uma temperatura mais alta para que ocorra a degradação dos filmes contendo resíduo de mirtilo em comparação com os filmes que sem adição de resíduo. Isso porque o resíduo de mirtilo possui temperatura de

fusão superior ($T = 115\text{ }^{\circ}\text{C}$, APÊNDICE VI) à temperatura de fusão do filme de amido de mandioca sem resíduo, promovendo um aumento na temperatura de fusão do filme após a adição de resíduo de mirtilo.

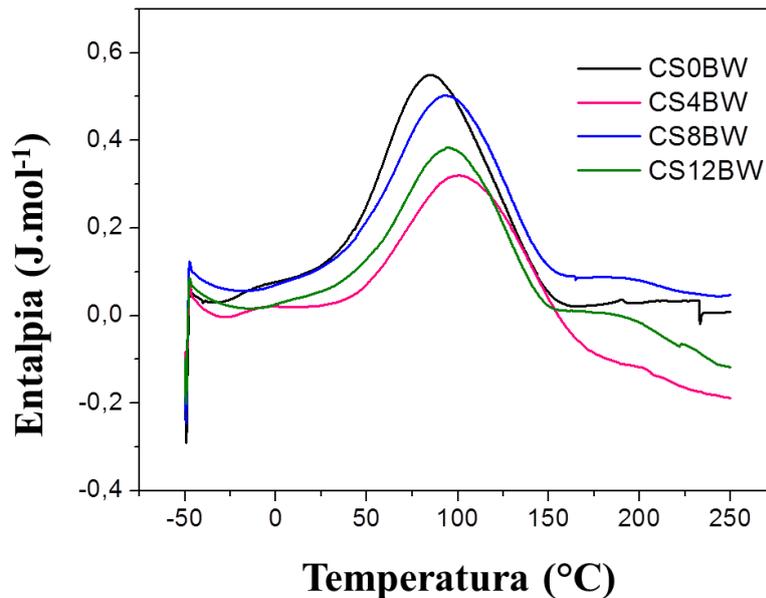


Figura 41. Termogramas dos filmes de amido de mandioca (CS) com diferentes teores de resíduo de mirtilo (BW: 0, 4, 8 e 12% em relação ao teor de amido, respectivamente) obtidos por Calorimetria Diferencial de Varredura (DSC).

Em relação à degradação térmica dos filmes, as curvas TGA e DTGA são mostradas na Figura 42, onde dois estágios de perda de massa são exibidos. Como pode ser observado, houve uma ligeira perda de massa na temperatura próxima a $100\text{ }^{\circ}\text{C}$, o que pode ser atribuído ao teor de umidade das amostras. Esta primeira etapa está associada à perda de água livre do filme. Depois disso, as amostras apresentaram alta estabilidade térmica, mantendo sua massa quase inalterada até $150\text{ }^{\circ}\text{C}$ (retenção de massa superior a 85%). A perda de massa devido à decomposição térmica do amido de mandioca na temperatura de $307\text{ }^{\circ}\text{C}$ foi a principal fase (LIU et al., 2009; WANG et al., 2017), e permaneceu praticamente constante para todas as formulações estudadas.

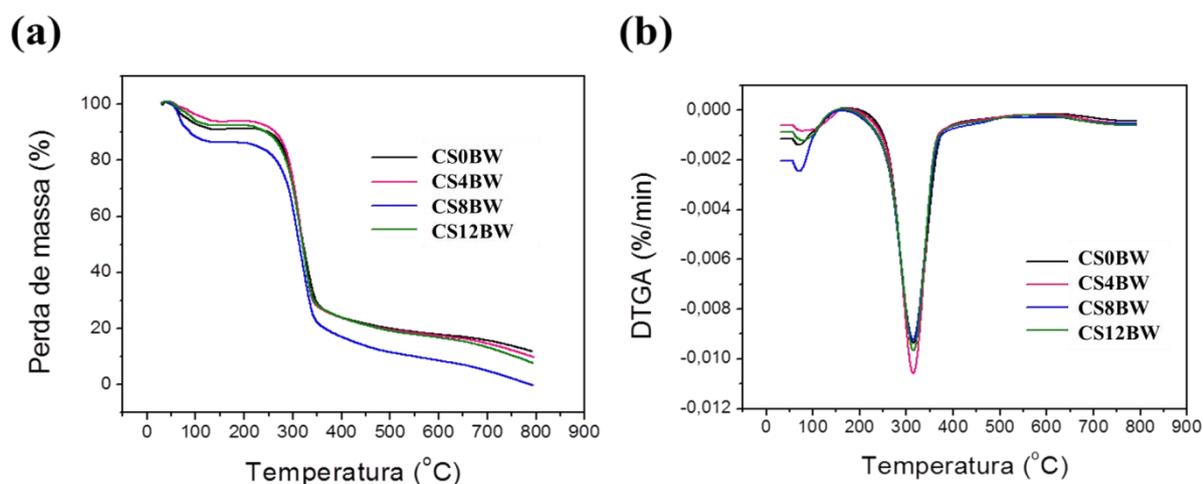


Figura 42. Resultado da análise de (a) perda de massa com aumento da temperatura e (b) DTGA, derivada da curva de perda de massa, para filmes de amido de mandioca (CS) com diferentes teores de resíduo de mirtilo (BW: 0, 4, 8 e 12% em relação ao teor de amido, respectivamente).

A absorção de luz UV-vis foi medida no comprimento de onda de 200-800 nm e os resultados estão apresentados na Figura 43. Foi possível observar que houve uma diferença considerável entre os filmes de amido de mandioca com e sem resíduo de mirtilo. No entanto, independentemente do teor de resíduo adicionado, não houve variação significativa no espectro de absorção dos filmes. A adição de resíduo de mirtilo promoveu um aumento da absorção de luz abaixo de 300 nm, indicando que os filmes com resíduo são capazes de proteger o produto embalado contra os efeitos da luz UV, evitando o processo de deterioração (oxidação lipídica) causado pela radiação UV/vis. Bittencourt et al. (2014) e Crizel et al. (2016) relataram resultados similares após a adição de resíduos de curcuma e mirtilo, respectivamente, em filmes à base de gelatina devido à presença de compostos fenólicos. Além disso, no espectro da amostra com resíduo de mirtilo foi observada a formação de um ombro no comprimento de onda de 280 nm devido à presença de compostos aromáticos (CHANWITHEESUK et al., 2005; ETXABIDE et al., 2017). É importante ressaltar que os valores de barreira de luz UV apresentados neste trabalho para filmes de amido de mandioca fabricados com resíduo de mirtilo foram maiores do que os encontrados para polímeros sintéticos, como polipropileno orientado (PPO) e polietileno de baixa densidade (PEBD) (GUERRERO et al., 2010).

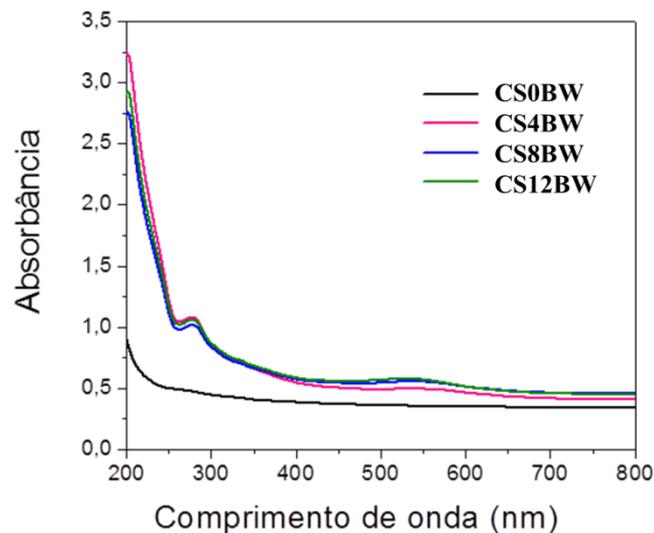


Figura 43. Curvas de absorvância na região UV-vis para os filmes de amido de mandioca (CS) com diferentes teores de resíduo de mirtilo (BW: 0, 4, 8 e 12% em relação ao teor de amido, respectivamente).

No entanto, a adição de resíduo de mirtilo reduziu a transparência dos filmes, como também é mostrado por outros autores ao adicionar esse resíduo para formação de filmes biopoliméricos (BITTENCOURT et al. 2014; CRIZEL et al., 2016), uma vez que os pigmentos derivados de antocianina presentes no resíduo estão diretamente relacionados com a absorção de luz neste comprimento de onda (DIPALMO et al., 2016). Os valores de transparência são mostrados na Tabela 24, onde também estão apresentados os parâmetros de cor (L^* , a^* , b^* , C^* , h^* e ΔE^*) correspondentes à leitura na escala $CIE Lab^*$. É possível verificar pelo aumento significativo dos valores de a^* que o resíduo de mirtilo conferiu uma coloração avermelhada aos filmes, similar aos resultados apresentados por DIPALMO et al., 2016.

De acordo com os resultados apresentados na Tabela 24, à adição de resíduo de mirtilo aos filmes de amido de mandioca promoveu uma diminuição no parâmetro L^* e um aumento nos valores de a^* , b^* e ΔE^* . Além disso, houve maior influência nos parâmetros de cor quando uma maior quantidade de resíduo de mirtilo foi adicionada. A amostra controle (CS0BW) apresentou coloração mais próxima do amarelo, enquanto os filmes contendo resíduo apresentaram uma tonalidade mais avermelhada, devido à presença dos pigmentos derivados das antocianinas contidos no resíduo de mirtilo, o que também causou aumento da

opacidade ou diminuição da transparência, conforme demonstrado anteriormente pela análise de espectroscopia UV-vis.

Tabela 24. Propriedades óticas dos filmes à base de amido de mandioca produzidos com diferentes teores de resíduo de mirtilo: parâmetros colorimétricos (L^* , a^* , b^* , C^* , h^* e ΔE^*), e valores de opacidade.

	L^*	a^*	b^*	ΔE^*
CS0BW	96,7 ± 0,07 ^A	0,05 ± 0,03 ^D	2,3 ± 0,1 ^C	-
CS4BW	85,8 ± 0,5 ^B	6,6 ± 0,4 ^C	2,5 ± 0,08 ^B	12,6 ± 0,6 ^C
CS8BW	71,6 ± 0,5 ^C	18,1 ± 0,6 ^B	1,6 ± 0,1 ^D	30,9 ± 0,7 ^B
CS12BW	61,1 ± 0,5 ^D	26,7 ± 0,4 ^A	5,4 ± 0,06 ^A	44,6 ± 0,6 ^A
	C^*	h^*	Opacidade	
CS0BW	2,3 ± 0,1 ^D	88,7 ± 0,7 ^A	10,8	
CS4BW	7,0 ± 0,4 ^C	20,5 ± 1,3 ^B	28,5	
CS8BW	18,1 ± 0,6 ^B	4,9 ± 0,4 ^D	16,6	
CS12BW	27,2 ± 0,4 ^A	11,5 ± 0,2 ^C	17,2	

*CS0BW, CS4BW, CS8BW e CS12BW representam os filmes de amido de mandioca (CS) com diferentes conteúdos de resíduo de mirtilo (BW): 0, 4, 8 e 12% em relação ao teor de amido, respectivamente.

*Letras diferentes nas colunas indicam que houve diferença estatisticamente significativa ($p < 0,05$).

Testes de inchamento (*swelling*) foram realizados e os resultados dessa análise estão apresentados na Figura 44. É importante destacar que todas as amostras mantiveram sua integridade estrutural após imersão em água por 440 min (24 h), conforme pode ser visto na Figura 44(a). A cinética de inchamento também foi determinada, conforme curvas apresentadas na Figura 44(b). Na primeira hora, o percentual de inchamento para todos os filmes variou entre 157 e 177%; aumentaram até 360 min em 6 h de contato, chegando a 270%, após esse período de tempo, os valores de inchamento permaneceram praticamente constantes. Além disso, durante todo o teste, o inchamento máximo detectado foi inferior a 300% (máximo de 292% para a amostra CS12BW após 600 min).

Shi et al. (2006) e Suput et al. (2016) estudaram o inchamento em água de filmes de amido de milho nativo e modificado contendo goma guar, goma xantana e glicerol como plastificante e encontraram valores de aproximadamente 180% (após 180 min) e 231% (após 24 h), respectivamente, resultados semelhantes aos deste estudo. Além disso, as curvas cinéticas de inchamento apresentaram comportamento exponencial. Todas as curvas amostrais foram adequadamente ajustadas, apresentando valores de coeficiente de determinação

superiores a 0,9 ($R^2 > 0,9$). Os valores de inchamento para os filmes contendo resíduo de mirtilo foram ligeiramente superiores àqueles encontrados para o filme sem adição de resíduo, indicando que o resíduo afetou a capacidade de absorção de água dos filmes, provavelmente devido à presença de fibras, conforme discutido anteriormente.

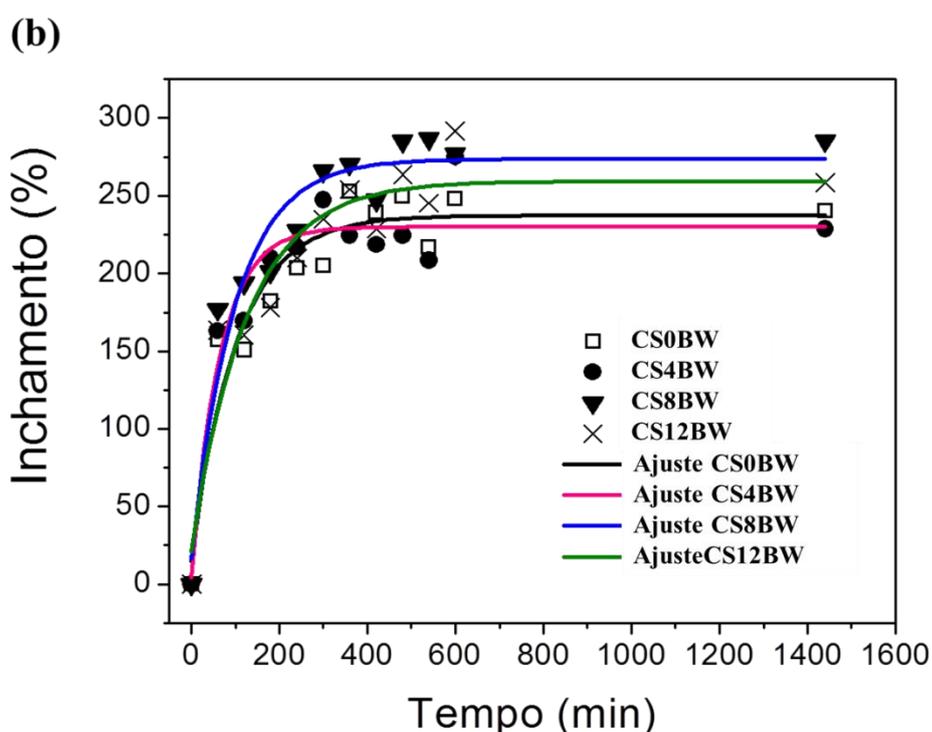
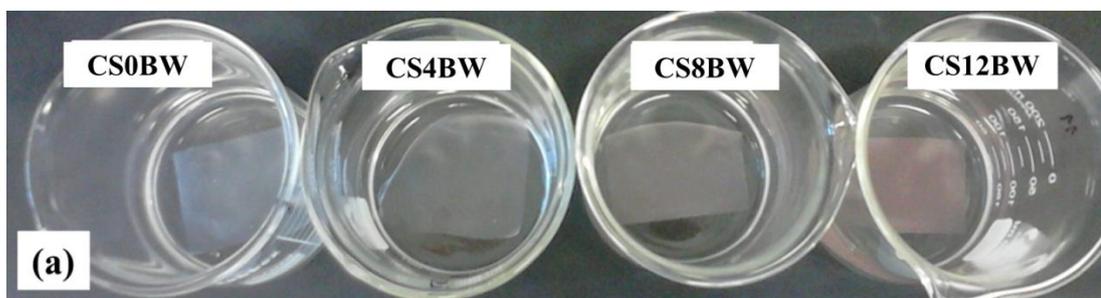


Figura 44. (a) Aspecto visual dos filmes de amido de mandioca (CS) com diferentes teores de resíduo de mirtilo (BW: 0, 4, 8 e 12% em relação ao teor de amido, respectivamente) após 24 h de imersão em água e (b) comportamento dessas amostras durante a análise de inchamento. Os símbolos representam dados experimentais, enquanto as linhas correspondem ao ajuste exponencial.

Esse comportamento pode ser considerado como uma vantagem para a liberação de compostos ativos. Para analisar a taxa de liberação *in vitro* dos compostos fenólicos presentes no resíduo de mirtilo, realizaram-se ensaios de migração. Esta análise foi realizada através da imersão total do filme em solventes simulantes de alimentos, que são líquidos que podem

simular o comportamento de alimentos reais, como simulantes de alimentos aquosos (solução de ácido acético 3%) ou simulante para alimentos gordurosos (solução de etanol 96%). Na Figura 45 está apresentado o aspecto visual dos filmes à base de amido de mandioca (CS) com diferentes teores de resíduo de mirtilo (BW: 0, 4, 8 e 12% em relação ao teor de amido, respectivamente) após 10 dias de imersão em soluções simulantes de (a) ácido acético (3%) e (b) etanol (96%), como também as curvas de absorvância de luz ultravioleta (UV) das soluções simulantes após 10 dias de ensaio de migração em (c) ácido acético e (d) etanol. Como pode ser observado, ao final do ensaio de migração, ou seja, após 10 dias, os filmes não apresentaram qualquer deterioração ou desintegração e todas as amostras permaneceram intactas (Figura 45a e b). Conforme pode ser observado houve maior liberação de compostos fenólicos dos filmes contendo resíduo de mirtilo quando os mesmos foram imersos em solução de ácido acético (Figura 45c). Em contraste, uma menor quantidade de compostos fenólicos foi detectada quando o etanol foi utilizado como solução simulante de alimentos gordurosos (Figura 45d). De acordo com Buonocore et al. (2003), alguns fatores podem influenciar no comportamento migratório de compostos ativos a partir de filmes, incluindo sua composição química, estrutura da matriz e meio circundante, entre outros.

Conforme já comentado, as antocianinas apresentam mudança de coloração conforme o pH do meio. Logo, os filmes submersos em solução de etanol (pH 5) ou ácido acético (pH 2) apresentaram diferentes colorações devido às diferenças de pH do meio de imersão. As curvas de absorvância UV/vis das soluções simulantes de ácido acético e etanol após a imersão e retirada de todos os filmes estão exibidas nas Figuras 45(c) e (d), respectivamente. Houve um aumento na liberação de compostos fenólicos ($\lambda = 280$ nm) com o aumento do conteúdo de resíduo de mirtilo adicionado. Além disso, usando a solução de ácido acético como simulante, houve também um aumento na absorvância a 525 nm devido à presença de antocianinas no resíduo de mirtilo. A migração dos compostos fenólicos após imersão na solução de ácido acético foi maior em comparação com a liberação após imersão em solução de etanol. Além das diferenças de cor, observou-se visualmente que os filmes imersos em solução de ácido acético apresentaram um inchamento levemente superior em comparação com as amostras imersas em solução de etanol.

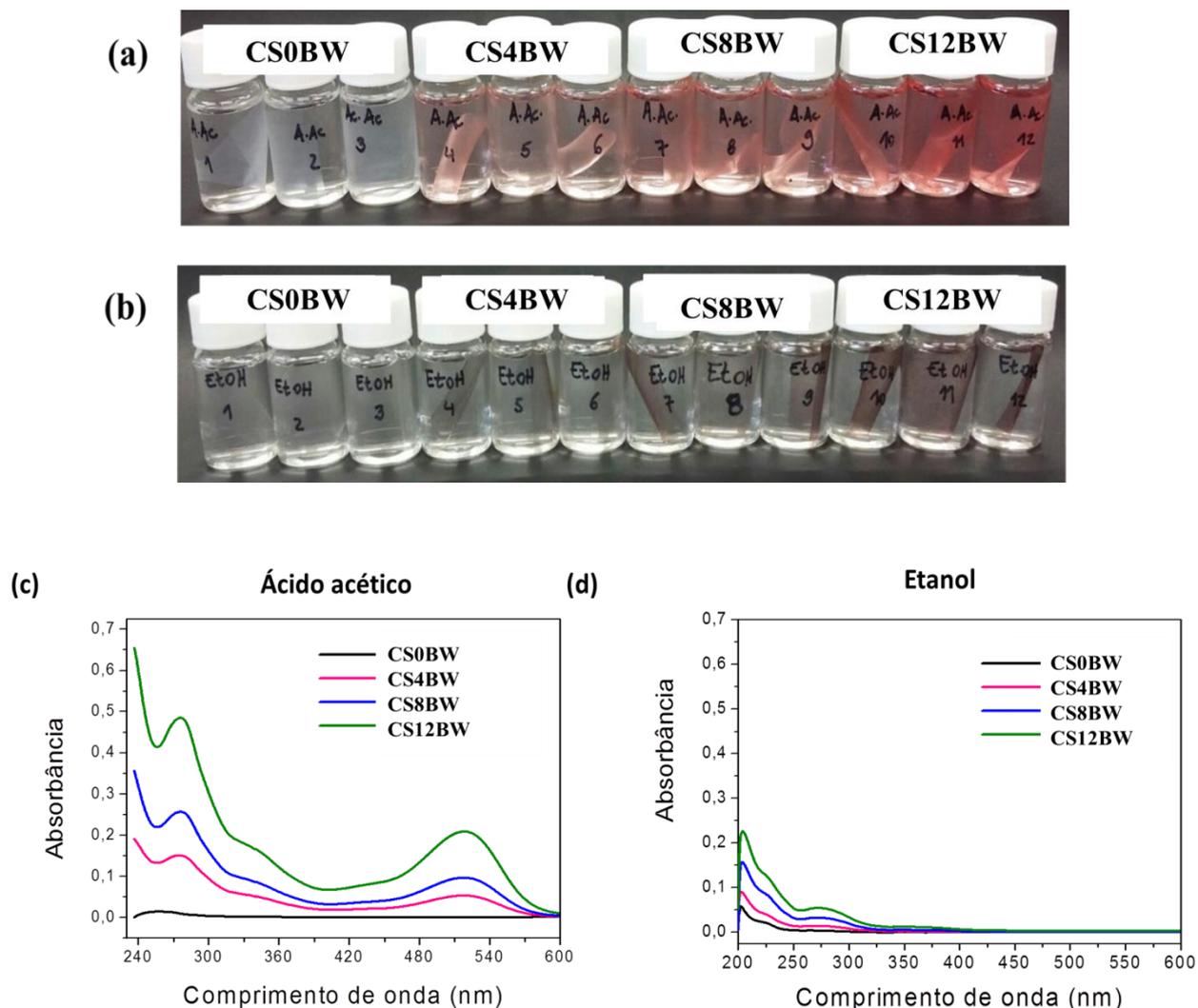


Figura 45. Aspecto visual dos filmes de amido de mandioca (CS) com diferentes teores de resíduo de mirtilo (BW: 0, 4, 8 e 12% em relação ao teor de amido, respectivamente) após 10 dias de imersão em soluções simulantes de (a) ácido acético (3%) e (b) etanol (96%). Curvas de absorvância de luz ultravioleta (UV) das soluções simulantes após 10 dias de ensaio de migração em (c) ácido acético e (d) etanol. Os números 1, 2 e 3 representam as amostras CS0BW; 4, 5 e 6, as amostras CS4BW; 7, 8 e 9, as amostras CS8BW, e 10, 11 e 12, as amostras CS12BW.

Essa parte do trabalho encontra-se publicada no *International Journal of Biological Macromolecules*, com o título “Development and characterization of cassava starch films incorporated with blueberry pomace” (<https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2017.08.083>).

4.3.2. Filmes produzidos por termocompressão

Nesta etapa foram desenvolvidos filmes de amido de mandioca (CS) e sorbitol com incorporação de resíduo de mirtilo (com prévio branqueamento do fruto), que passou na peneira de 100 *mesh*. Os filmes fabricados por termocompressão (*compression molding*) foram designados como CS0BW, CS4BW, CS8BW e CS12BW em função do conteúdo de resíduo de mirtilo (BW) adicionado, sendo, portanto, incorporados 0, 4, 8 e 12% em relação ao teor de amido, respectivamente.

Todos os filmes foram visualmente homogêneos e apresentaram valores de espessura em torno de 160 μm para os filmes controle (CS0BW) e em torno de 180 μm para os filmes preparados com BW, independentemente do percentual de resíduo empregado. Os valores de conteúdo de umidade também permaneceram constantes, cerca de 8%, para todos os filmes preparados por termocompressão. Conforme os resultados da análise termogravimétrica, apresentados na Figura 46, houve uma pequena perda de massa próxima a 100 °C atribuída ao teor de umidade nos filmes. No entanto, a principal perda de massa devido à decomposição térmica dos filmes ocorreu em aproximadamente 312 °C, independentemente do conteúdo de resíduo adicionado, indicando a elevada estabilidade térmica dos filmes produzidos. Além disso, a existência de um único pico na análise de TGA indica que houve boa compatibilidade entre todos os componentes.

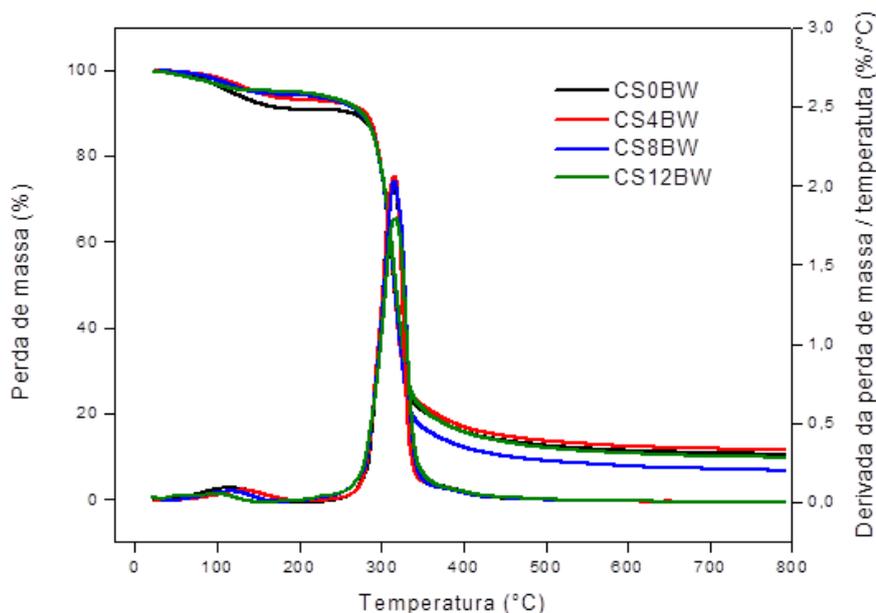


Figura 46. Resultados de perda de massa (TGA) e curvas derivadas (DTGA) da perda de massa pela temperatura, para os filmes de amido de mandioca (CS) com diferentes teores de resíduo de mirtilo (BW: 0, 4, 8 e 12% em relação ao teor de amido, respectivamente) por termocompressão.

Além da elevada estabilidade térmica, os filmes também apresentaram estabilidade estrutural após imersão em soluções com diferentes pHs. Como pode ser visualizada pelos resultados apresentados na Tabela 25, a matéria solúvel total (TSM) dos filmes com a incorporação de resíduo de mirtilo diminuiu significativamente ($p < 0,05$), independentemente do conteúdo adicionado nas formulações, mantendo sua integridade após serem removidas das soluções. Esta diminuição nos valores de TSM pode ter ocorrido devido às interações dos compostos fenólicos presentes no resíduo de mirtilo com os grupos hidroxila do amido e do sorbitol. Além disso, esse comportamento pode estar relacionado ao caráter hidrofóbico apresentado pelos filmes preparados por compressão, conforme mostrado pelos resultados das análises de ângulo de contato das amostras ($WCA > 90^\circ$), apresentados na Tabela 25. Vale ressaltar que a superfície hidrofóbica foi desenvolvida devido à combinação de calor e pressão aplicados durante o processo de termomoldagem, uma vez que os valores de WCA medidos para filmes de amido de mandioca contendo resíduo de mirtilo preparados por *casting* foram inferiores a 90° (LUCHESE et al., 2017), indicando uma maior hidrofilicidade dos filmes.

Tabela 25. Matéria solúvel total (TSM) determinada após imersão em água destilada, soluções ácidas e soluções básicas e os valores do ângulo de contato com a água (WCA) dos filmes de amido de mandioca (CS) com diferentes teores de resíduo de mirtilo (BW) por termocompressão.

Filme	TSM (%) (pH = 2,5)	TSM (%) (pH = 7,0)	TSM (%) (pH = 10)	WCA (°)	Opacidade
CS0BW	40,5 ± 1,4 ^A	41,4 ± 6,5 ^A	41,2 ± 1,2 ^A	98,5 ± 4,9 ^A	3,3
CS4BW	27,5 ± 1,2 ^B	25,2 ± 1,6 ^B	27,3 ± 1,7 ^B	98,3 ± 3,3 ^A	3,4
CS8BW	28,2 ± 0,7 ^B	29,2 ± 1,0 ^B	27,7 ± 1,7 ^B	95,5 ± 4,8 ^A	6,8
CS12BW	26,7 ± 1,2 ^B	28,5 ± 1,1 ^B	25,8 ± 0,2 ^B	106,1 ± 2,8 ^B	6,4

*CS0BW, CS4BW, CS8BW e CS12BW representam os filmes de amido de mandioca (CS) com diferentes conteúdos de resíduo de mirtilo (BW): 0, 4, 8 e 12% em relação ao teor de amido, respectivamente.

*Letras diferentes nas colunas indicam que houve diferença estatisticamente significativa ($p < 0,05$).

As propriedades óticas, como cor e brilho (“*gloss*”), são muito relevantes devido à sua influência na aparência do filme, influenciando diretamente no processo de aceitação ou rejeição de um produto pelos consumidores (GARRIDO et al., 2013). Os resultados da análise de propriedades óticas estão apresentados na Tabela 26. Os resultados demonstraram que a

adição de diferentes teores de resíduo de mirtilo diminuiu os valores de luminosidade (L^*) do filme; além disso, houve um aumento da coloração avermelhada (representado pelo aumento do valor do parâmetro a^*) e também um aumento da intensidade da cor amarela (representado pelo aumento do valor do parâmetro b^*). Esse aumento ocorre devido à presença de pigmentos coloridos das antocianinas presentes no BW (WEI et al., 2017). Essas mudanças causaram um aumento na diferença de cor total (ΔE^*) ao comparar os filmes com resíduo de mirtilo com os filmes contendo somente amido de mandioca (controle).

Em relação aos resultados da análise de brilho, a incorporação de resíduos de mirtilo promoveu a diminuição nos valores de “*gloss*”. Uma vez que os valores de brilho e a rugosidade da superfície estão inversamente relacionados (MONEDERO et al., 2009), é possível obter uma correlação entre essas propriedades. Verificou-se que o aumento no teor de resíduo de mirtilo (BW) incorporado às formulações filmogênicas promoveu uma redução dos valores de brilho, indicando que houve um aumento da rugosidade da superfície das amostras.

Tabela 26. Propriedades óticas dos filmes de amido de mandioca (CS) com diferentes teores de resíduo de mirtilo (BW) por termocompressão: parâmetros de cor (L^* , a^* , b^* , ΔE^*) e e brilho (“*gloss*” medido no ângulo de 60°)..

Filme	L^*	a^*	b^*	ΔE^*	<i>Gloss</i> (60°)
CS0BW	95,6 ± 0,3 ^A	0,08 ± 0,02 ^D	2,8 ± 0,1 ^D	-	14,0 ± 1,0 ^A
CS4BW	85,0 ± 0,5 ^B	5,2 ± 0,3 ^C	7,0 ± 0,1 ^A	12,5 ± 0,5 ^C	9,1 ± 0,8 ^B
CS8BW	83,7 ± 0,3 ^C	6,9 ± 0,1 ^B	6,4 ± 0,2 ^B	14,2 ± 0,3 ^B	7,5 ± 2,9 ^{BC}
CS12BW	70,1 ± 0,7 ^D	15,9 ± 0,5 ^A	4,8 ± 0,2 ^C	30,1 ± 0,8 ^A	6,7 ± 1,6 ^C

*CS0BW, CS4BW, CS8BW e CS12BW representam os filmes de amido de mandioca (CS) com diferentes conteúdos de resíduo de mirtilo (BW): 0, 4, 8 e 12% em relação ao teor de amido, respectivamente.

*Letras diferentes nas colunas indicam que houve diferença estatisticamente significativa ($p < 0,05$).

Os resultados da análise de microscopia eletrônica de varredura (MEV) da superfície dos filmes, apresentados na Figura 47, confirmaram que houve um aparente aumento da rugosidade das amostras com o aumento do teor de resíduo de mirtilo incorporado nas matrizes filmogênicas, corroborando os resultados encontrados na análise de brilho. Em relação ao resultado da análise da seção transversal dos filmes, a incorporação de maiores conteúdos de resíduo de mirtilo promoveu uma matriz estruturalmente mais porosa, conforme

está mostrado na Figura 48. Esses resultados podem ser atribuídos às interações dos compostos fenólicos presentes no resíduo de mirtilo com os outros componentes utilizados: amido e sorbitol. Provavelmente ocorreu uma redução das interações intramoleculares no amido pela inclusão do resíduo e, promovendo, com isso um aumento no volume livre entre as cadeias poliméricas. Resultados semelhantes foram observados por Prietto et al. (2017) ao incorporar compostos fenólicos (provenientes de feijão preto e repolho roxo) em filmes de amido de milho usando glicerol como plastificante.

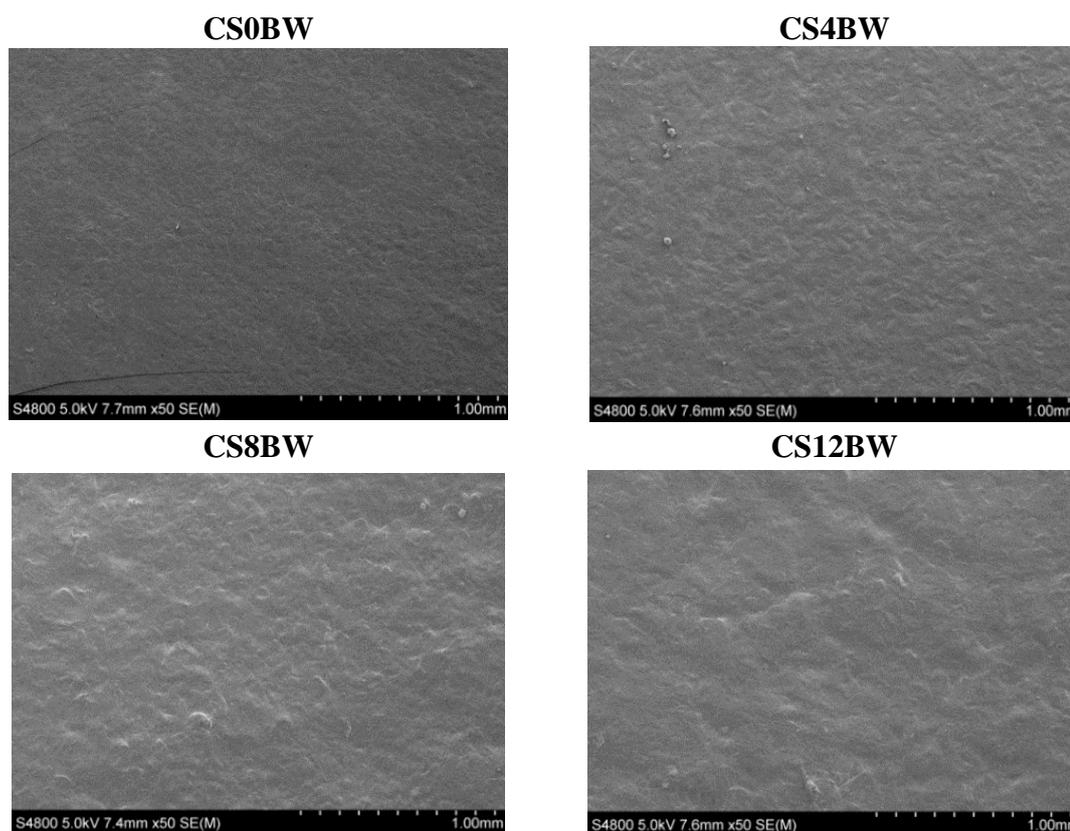


Figura 47. Microscopia eletrônica de varredura da superfície dos filmes de amido de mandioca (CS) contendo diferentes teores de resíduo de mirtilo (BW: 0, 4, 8 e 12% em relação ao teor de amido, respectivamente) produzidos por termocompressão.

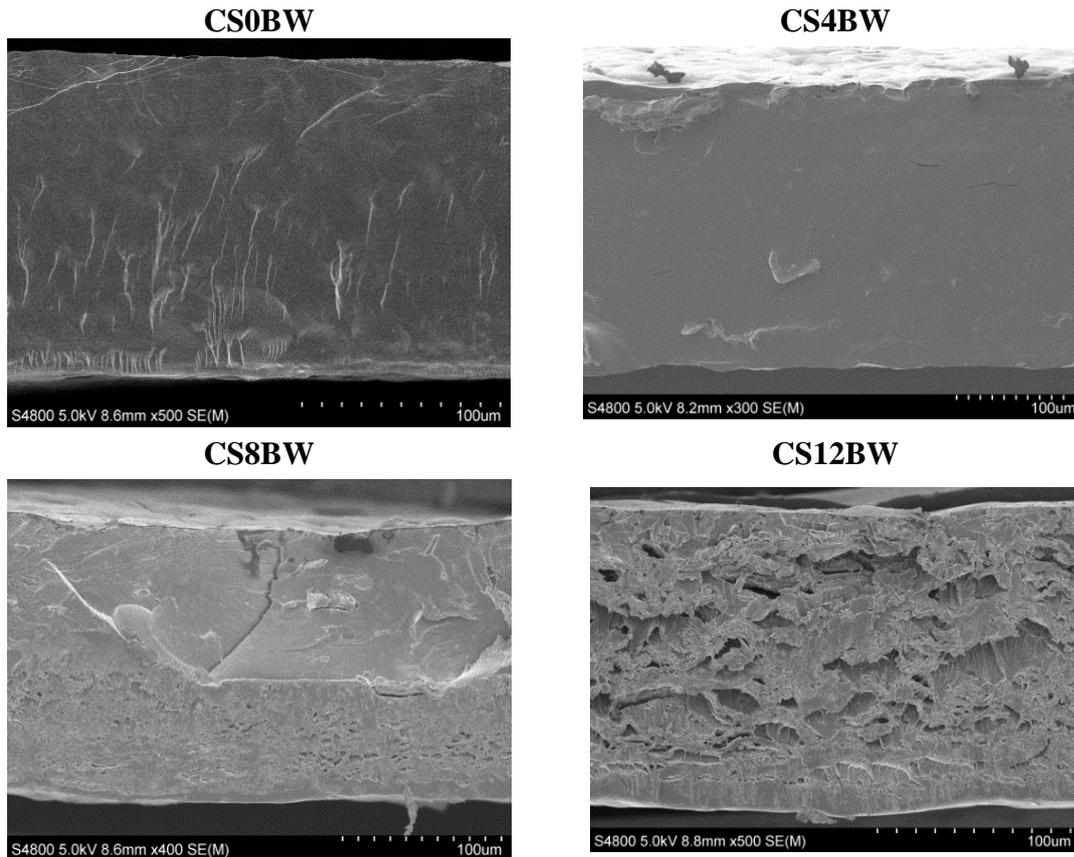


Figura 48. Microscopia eletrônica de varredura da seção transversal dos filmes de amido de mandioca (CS) contendo diferentes teores de resíduo de mirtilo (BW: 0, 4, 8 e 12% em relação ao teor de amido, respectivamente) produzidos por termocompressão.

Adicionalmente, vale ressaltar que visualizando os resultados da microestrutura tanto da superfície quanto da seção transversal dos filmes produzidos por termocompressão verificou-se que houve a formação de estruturas homogêneas com ausência de grânulos de amido remanescentes, demonstrando que o processo de moldagem por compressão foi efetivo em promover a desestruturação completa dos grânulos nativos do amido de mandioca. Essas observações foram consistentes e os resultados puderam ser corroborados pelos resultados da análise de difração de raios X, apresentados na Figura 49, para os filmes de amido de mandioca incorporados com resíduo de mirtilo. Para fins de comparação e comprovação do resultado obtido, no APÊNDICE VII está apresentado o resultado da análise de difração de raios-X para as mesmas formulações produzidas por *casting*, evidenciando uma maior desestruturação dos grânulos após o processamento por termocompressão em comparação com as amostras desenvolvidas utilizando o processo de espalhamento (*casting*).

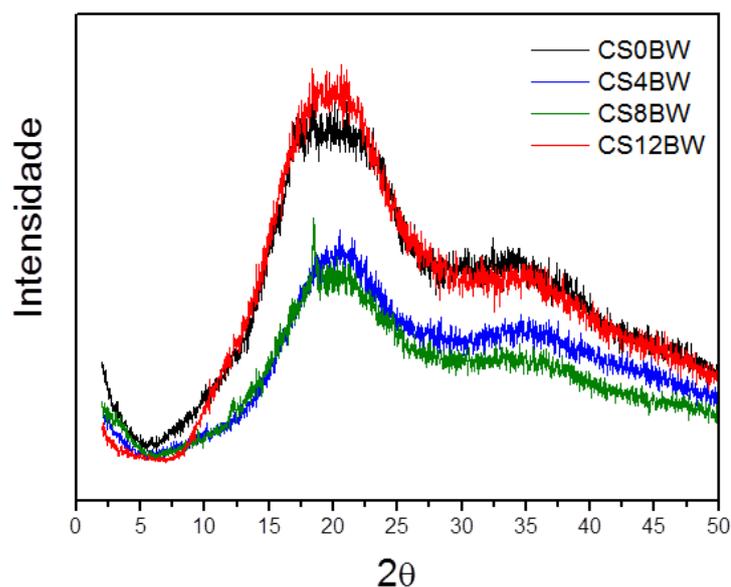


Figura 49. Padrões XRD de filmes de amido de mandioca (CS) com diferentes teores de resíduo de mirtilo (BW: 0, 4, 8 e 12% em relação ao teor de amido, respectivamente) por termocompressão.

Os grânulos nativos de amido de mandioca foram desestruturados durante o processo de termocompressão, conforme os difratogramas apresentados na Figura 49. Esse resultado pode ser representado pela ausência dos picos de cristalinidade correspondentes à estrutura cristalina do tipo C, característica do amido de mandioca (HOOVER, 2001; HORNUNG et al., 2016). López et al. (2014) e Chung et al. (2017) relacionaram a ocorrência desse fenômeno ao tratamento de calor e pressão aplicados durante o processo de moldagem por compressão.

A fim de analisar possíveis mudanças nas propriedades térmicas decorrentes da adição de resíduo de mirtilo na matriz filmogênica à base de amido de mandioca, realizou-se uma análise térmica mecânico-dinâmica (DMTA). Sabe-se que o máximo valor de $\tan \delta$ na análise de DMTA corresponde à temperatura de transição vítrea. Dois picos foram observados para o filme de amido de mandioca analisado neste estudo e os valores estão mostrados na Tabela 27. O primeiro pico (T_{g1}), correspondente à fase rica em plastificante, apareceu em torno de $-10\text{ }^{\circ}\text{C}$ para o filme de amido controle (CS0BW) e este valor sofreu um aumento até $3\text{ }^{\circ}\text{C}$, após a incorporação de resíduo de mirtilo nas formulações, independente do conteúdo adicionado, indicando uma boa compatibilidade entre os componentes da mistura. Além disso, observou-se uma segunda transição vítrea (T_{g2}), correspondente à fase rica em amido, variando de 29 a $40\text{ }^{\circ}\text{C}$. Os valores encontrados foram superiores aos reportados por Vu & Lumdubwong (2016) para filmes de amido de mandioca plastificados com sorbitol, provavelmente devido à presença de resíduo de mirtilo na formulação; uma vez que o resíduo

é rico em compostos fenólicos que podem interagir através de ligações de hidrogênio com o amido e o sorbitol.

Tabela 27. Valores das temperaturas de transição vítrea (T_{g1} e T_{g2}) obtidos da análise térmica dinâmico-mecânica, DMTA, para os filmes de amido de mandioca (CS; 4%) com diferentes teores de resíduo de mirtilo (BW) produzidos por termocompressão.

Filme	T_{g1} (°C)	T_{g2} (°C)
CS0BW	-10	29
CS4BW	3	33
CS8BW	3	37
CS12BW	3	40

*CS0BW, CS4BW, CS8BW e CS12BW representam os filmes de amido de mandioca (CS) com diferentes conteúdos de resíduo de mirtilo (BW): 0, 4, 8 e 12% em relação ao teor de amido, respectivamente.

Essa parte do trabalho também foi realizada em parceria com a Universidade do País Vasco / Euskal Herriko Unibertsitatea, UPV/EHU, Espanha sob supervisão da Professora Koro de la Caba Ciriza e atualmente, encontra-se *under review* na revista **Carbohydrate Polymers**, Ref. CARBPOL-D-17-03361. O trabalho foi intitulado: “*Hydrophobic cassava starch films prepared with blueberry waste by compression molding*”.

Capítulo 5 - Conclusão e Sugestões para Trabalhos Futuros

5.1. Conclusão

Filmes à base amido de milho, trigo ou mandioca foram produzidos com sucesso durante o presente trabalho. Entretanto, a formação de filmes contínuos utilizando amido de batata não foi possível, para as condições avaliadas. A etapa de caracterização dos amidos permitiu elucidar as semelhanças e as diferenças entre as características das matérias-primas utilizadas. Adicionalmente, a etapa de caracterização dos filmes contendo teor fixo de glicerol permitiu verificar que, em geral, o aumento no teor de amido promove aumento na espessura dos filmes, redução no conteúdo de umidade, diminuição dos valores de permeabilidade, além de maiores valores de tensão ruptura (TS), alongação máxima (E) e do módulo de Young ou módulo de elasticidade (MY). Os filmes contendo a mesma relação glicerol/amido na formulação apresentaram maiores valores de permeabilidade ao vapor de água (PVA) e, de uma maneira geral, aumento no percentual de alongação e redução na tensão máxima de ruptura e no módulo de elasticidade.

A análise de componentes principais permitiu verificar que os filmes de amido de trigo apresentaram os maiores valores de permeabilidade ao vapor de água e os menores valores correspondentes às propriedades mecânicas (TS, E, MY). Diferentemente, os filmes de amido de mandioca apresentaram os menores valores de permeabilidade ao vapor de água e os maiores valores percentuais de alongação. Os filmes de amido de milho, por sua vez, apresentaram os maiores valores de tensão máxima de ruptura e módulo de elasticidade ou

rigidez. Em comparação com os filmes atualmente comercializados, os filmes à base de amido contendo 3 e 4 g apresentaram propriedades mecânicas comparáveis às dos filmes de PEBD.

A adição de resíduo de mirtilo promoveu uma tonalidade de coloração avermelhada (caracterizada pelo aumento dos valores de a^*) nos filmes compósitos. Porém, após a imersão em soluções tampão com diferentes valores de pH apresentaram valores de diferença global de cor (ΔE^*) superiores a 3, indicando que as diferenças de cor foram visivelmente perceptíveis ao olho humano.

É importante mencionar que nos ensaios de mudança de cor foi observada uma forte influência do tamanho de partícula do resíduo de mirtilo em pó; os filmes produzidos com a fração de resíduo de mirtilo de menor tamanho de partícula apresentaram mudanças de coloração mais uniformes e homogêneas em comparação com os filmes contendo a fração de resíduo de mirtilo com os maiores tamanhos de partícula. Além disso, foi possível estabelecer uma correlação entre a mudança de cor e o valor do pH para todas as amostras testadas. Os resultados destacam o uso potencial desses filmes como indicadores de mudança de pH após imersão em diferentes soluções tampão, e diferentes meios (soluções simulantes e alguns produtos alimentares) ou como sensores de deterioração.

Os resultados indicam que a adição de mirtilo em pó promoveu a formação de filmes de amido de mandioca mais resistentes e menos flexíveis (menor percentual de alongação), com maiores valores de espessura e de permeabilidade ao vapor de água. No entanto, mais pesquisas são necessárias durante o armazenamento dos produtos, a fim de correlacionar as mudanças de cor com o crescimento de microrganismos.

Na terceira e última etapa do trabalho, realizada em parceria com a UPV / EHU, as propriedades térmicas, óticas e físico-químicas dos filmes contendo amido de mandioca com incorporação de resíduo de mirtilo foram investigadas. Os resultados indicaram que a inclusão do resíduo de mirtilo em filmes à base de amido melhorou a estabilidade térmica, visto que foi necessária uma temperatura de degradação mais elevada. Vale ressaltar que todas as amostras mantiveram sua integridade estrutural após a imersão em água (24 h) e o inchamento máximo dos filmes apresentou valores inferiores a 300%. Os filmes com incorporação de resíduo de mirtilo apresentaram elevada resistência à radiação UV devido à presença de compostos aromáticos no resíduo de mirtilo que absorvem na faixa de comprimento de onda de aproximadamente 280 nm e, portanto, podem retardar a deterioração dos alimentos causada pela radiação UV, estendendo o tempo de vida útil dos alimentos embalados. Além disso, houve maior liberação de compostos bioativos (após 10 dias) quando os filmes foram imersos

em meio ácido (solução de ácido acético) em comparação com a imersão em solução de etanol, nos ensaios de migração, indicando a viabilidade desses filmes para utilização como embalagens ativas para alimentos aquosos. Os resultados destacam o potencial do amido de mandioca e do resíduo de mirtilo no desenvolvimento de produtos renováveis e biodegradáveis visando alcançar uma produção sustentável de embalagens para alimentos.

Além da produção por *casting*, filmes contendo amido de mandioca, sorbitol e resíduo de mirtilo foram produzidos por termocompressão e apresentaram uma microestrutura homogênea (superfície e seção transversal), indicando que houve uma boa compatibilização entre os componentes utilizados nas formulações. Os filmes desenvolvidos também apresentaram elevada estabilidade térmica e mantiveram sua integridade após a imersão em diferentes meios (soluções com diferentes valores de pH). Além do caráter hidrofóbico dos filmes, que apresentaram ângulos de contato com a água superiores a 90°, a adição de resíduo de mirtilo promoveu uma melhora nas propriedades de proteção contra a luz UV.

Na fabricação de filmes observou-se que a utilização de diferentes tipos de processamento (*casting* ou compressão) afetou algumas propriedades dos filmes com incorporação de resíduo de mirtilo. Sendo que os filmes produzidos parecem ser mais adequados como embalagens ativas para produtos aquosos do que como embalagens inteligentes devido à migração de compostos. No entanto, a mudança de coloração visualmente perceptível dos filmes contendo resíduo de mirtilo indica seu elevado potencial para utilização como indicador. Sendo assim, é possível vislumbrar um elevado potencial de utilização como embalagem inteligente caso a estrutura filmogênica desenvolvida seja utilizada como marcador ou indicador de mudança de cor, uma vez que os resultados comprovaram que a coloração dos filmes pode ser alterada (devido à alteração dos valores de pH) por contato indireto com o produto a ser embalado. Nesse caso, algumas propriedades físico-químicas (tais como, umidade, solubilidade e permeabilidade ao vapor de água) avaliadas durante o desenvolvimento de embalagens acabam não sendo categóricas na determinação da aplicação final, e portanto, outros materiais poderiam ser utilizados no desenvolvimento da embalagem que permanece em contato direto com o produto. Assim, os resultados expostos no presente trabalho sugerem que os filmes contendo resíduo de mirtilo poderiam ser utilizados como marcadores de mudança de cor de forma acoplada com outros materiais (com propriedades físico-químicas adequadas para o determinado tipo de produto a ser embalado) usados como embalagem e, portanto, sua utilização como indicadores de

mudança de coloração para embalagem de produtos cárneos, por exemplo, parece ser uma alternativa adequada.

É importante relatar que a utilização de glicerol, como plastificante, para a produção de filmes parece ser uma alternativa viável, uma vez que melhora a capacidade de formação das estruturas filmogênicas. Além disso, por ser um subproduto da produção de diesel, sua reutilização pode auxiliar a viabilizar economicamente viável o desenvolvimento de novos produtos. Enquanto, a utilização de sorbitol como plastificante apresentou elevado potencial no desenvolvimento de filmes, uma vez que este composto é comumente utilizado como conservante na indústria de alimentos. Entretanto, ensaios de migração desses compostos da embalagem para o produto embalado são requeridos a fim de consolidar sua utilização na área de embalagens.

Finalmente, os resultados encontrados no presente trabalho permitiram melhor compreender e elucidar as semelhanças e as principais diferenças nas características e propriedades dos filmes à base de diferentes tipos de amido. Assim como, avaliar as modificações físico-químicas e estruturais da utilização de um subproduto agroindustrial gerado durante o processamento do suco de mirtilo para o desenvolvimento de novos produtos utilizando diferentes técnicas de produção.

5.2. Sugestões para trabalhos futuros

Com base nos resultados obtidos neste trabalho as seguintes análises e ensaios podem ser sugeridos para trabalhos futuros.

- Na etapa de caracterização dos amidos sugere-se realizar a análise de determinação da massa molar, através da utilização da técnica de cromatografia de permeação em gel (GPC) a fim de correlacionar essas respostas com as propriedades dos filmes formados. Além disso, sugere-se analisar a viscosidade das soluções filmogênicas após a gelatinização do amido a fim de avaliar a influência desse parâmetro nas características dos filmes obtidos.
- Utilizar como matéria-prima os resíduos provenientes da produção de amido, como a manípueira, proveniente do processamento de amido de mandioca, a fim de viabilizar ainda mais a produção de filmes à base de amido.
- Realizar a avaliação da aplicabilidade dos filmes como indicador de mudança de pH em produtos alimentícios, por exemplo produtos cárneos (frango ou peixe),

acompanhado pela análise colorimétrica e análise microbiológica para fins de correlação dos resultados.

- Avaliar possíveis modificações da matriz filmogênica ou a utilização de outros processos para produção dos filmes como alternativas para o desenvolvimento de filmes inteligentes à base de amido.
- Testar a solubilidade em água dos filmes contendo resíduo de mirtilo na temperatura de aproximadamente 80 °C, visando avaliar sua utilização como sachê para acondicionamento de ervas, ou extratos para chá, objetivando minimizar a geração desse tipo de resíduo contendo borra, uma vez que todos os ingredientes usados são comestíveis.
- Realizar avaliação da ecotoxicidade dos filmes à base de amido sem e com incorporação de resíduo de mirtilo. Além disso, é importante fazer a avaliação do ciclo de vida (LCA) dos filmes de amido produzidos. A avaliação do ciclo de vida pode ser usada para comparar alternativas de sustentabilidade, por exemplo, para avaliar a viabilidade da utilização do amido proveniente de diferentes fontes (trigo, mandioca, batata, milho, etc.). É importante destacar que a avaliação da biodegradabilidade, da ecotoxicidade e avaliação do ciclo de vida (*Life Cycle Assessment* - LCA) dos sistemas de embalagens produzidos dificilmente são encontradas na literatura. No entanto, a preocupação em relação a este assunto deveria ser mais estudada a fim de avaliar os aspectos ambientais associados aos produtos utilizados para a produção das embalagens, desde o processo de extração das matérias-primas, até o seu processo produtivo e também sua utilização, até à sua disposição final.

Referências Bibliográficas

ABRE (2014). Associação Brasileira de embalagens. Disponível em <http://www.abre.org.br/>, acessado em 13.11.2017.

ABREU, A.S.; OLIVEIRA, M.; SÁ, A.; RODRIGUES, R.M.; CERQUEIRA, M.A.; VICENTE, A.A.; MACHADO, A.V. (2015). Antimicrobial nanostructured starch based films for packaging. **Carbohydrate Polymers**, v. 129, p. 127-134.

AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA. (1999). Resolução N° 105, de 19 de MAIO de 1999. *Diário Oficial Da União*, Brasil.

AHVENAINEN, R. (2003). Active and intelligent packaging. In: AHVENAINEN, R. **Novel food packaging technique**. Boca Raton, FL: CRC PRESS. p. 5-21.

ALEZANDRO, M.R.; DUBÉ, P.; DESJARDINS, Y.; LAJOLO, F.M.E.; GENOVESE, M.I. (2013). Comparative study of chemical and phenolic compositions of two species of jaboticaba: *Myrciaria jaboticaba* (Vell.) Berg and *Myrciaria cauliflora* (Mart.) O. Berg. **Food Research International**, v. 54, p. 468-477.

ALVES, L.F.P.; SOUZA, A.L.B.; CARMO, Q.D.S.; SILVA, T.; ALVES, T.F.P. (2013). Beneficiamento e Processamento para a produção da Farinha de Trigo. In: VII EEPA - **Encontro de Engenharia de Produção Agroindustrial**, p. 10.

ANDRADE, R.M.S., FERREIRA, M.S.L., GONÇALVES, E.C.B.A. (2016). Development and Characterization of Edible Films Based on Fruit and Vegetable Residues. **Journal of Food Science**, v. 81, n°2, p. E412–E418.

ANDRADE-MOLINA, T.P., SHIRAI, M.A., GROSSMANN, M.V.E., YAMASHITA, F. (2013). Active biodegradable packaging for fresh pasta. **LWT – Food Science and Technology**, v. 54, p. 25-29.

ANTUNES, L.E.C.; RASEIRA, M.C.B. (2006). Cultivo do mirtilo (*Vaccinium spp*). **Embrapa Clima Temperado**. Sistemas de produção, v. 8.

AOAC (1990). Association of Official Analytical Chemists. Official Methods of analysis: 930.04. Moisture Content in Plants, 1, p. 40.

AOAC (2000). Official Method 994.12 Amino acids in feeds, AOAC, Official Methods Analytical (2000), p. 5-15.

- APPENDINI, P.; HOTCHKISS, J.H. (2002). Review of antimicrobial food packaging. **Innovative Food Science & Emerging Technologies**, v. 3, n^o2, p. 113-126.
- ARENAS, A.M.Z. (2012). Filme biodegradável à base de fécula de mandioca como potencial indicador de mudança de pH. **Dissertação de Mestrado**. Escola Politécnica da Universidade de São Paulo, Brasil.
- ARVANITOYANNIS, I.S., BOSNEA, L. (2004). Migration of Substances from Food Packaging Materials to Foods. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v. 44, p. 63-76.
- ASSIS, R.Q.; LOPES, S.M.; COSTA, T.M.H.; FLÔRES, S.H.; RIOS, A.O. (2017). Active biodegradable cassava starch films incorporated lycopene nanocapsules. **Industrial Crops and Products**, v. 109, p. 818-827.
- ASTM (2000) - American Society for Testing and Materials - Water Vapour Permeability (WVP) - E96; Annual Book of ASTM Standards, ASTM: Philadelphia.
- ASTM (2012) - American Society for Testing and Materials - Mechanical Properties - D882; Annual Book of ASTM Standards, ASTM: Philadelphia.
- ASTM (2014). Standard test method for specular gloss, D 523. Annual Book of ASTM Standards, American Society for Testing and Materials, Philadelphia, PA.
- AVÉROUS L. (2004). "Biodegradable multiphase systems based on plasticized starch: a review." **Journal of Macromolecular Science - Part C, Polymer Reviews**, v. C4, n^o3, p. 231-274.
- ÁVILA, A. (2011). Plástico 100% biodegradável pode ser alternativa em material proibido em BH. UFMG. Disponível em: <<https://www.ufmg.br/online/arquivos/018964.shtml>>, acesso em 8 de outubro de 2015.
- BALAKRISHNAN, P.; GOPI, S.; THOMAS, S. (2017). UV resistant transparent bionanocomposite films based on potato starch/cellulose for sustainable packaging. **Starch/Stärke**, p. 1-34.
- BALL, S.G.; VAN DE WAL, M.H.B.J.; VISSER, R.G.F. (1998). Progress in understanding the biosynthesis of amylose. **Trends in Plant Science**, v. 3, n^o12, p. 462-467.
- BANER, A, BIEBER, W., FIGGE, K., FRANZ, R., PIRINGER, O. (1992). Alternative fatty food simulants for migration testing of polymeric food contact materials. **Food Additives and Contaminants**, v. 9, n^o2, p. 137-148.
- BAO, J. S., XIAO, P., HIRATSUKA, M., SUN, M., UMEMOTO, T. (2009). Granule-bound SSIIa protein content and its relationship with amylopectin structure and gelatinization temperature of rice starch. **Starch/Stärke**, v. 61, p. 431-437.
- BARTZ, J.; MADRUGA, K.M.; KLEIN, B.; PINTO, V.Z.; DIAS, A.R.Z. (2012). Propriedades de pasta de amidos de arroz nativo e acetilados. **Brazilian Journal of Food Technology**, Campinas, v. 15, p. 78-83.
- BASIAK, E.; DEBEAUFORT, F.; LENART, A. (2016). Effect of oil lamination between plasticized starch layers on film properties. **Food Chemistry**, v. 195, p. 56-63.
- BASTOS, D.C.; SANTOS, A.E.F.; DA SILVA, M.L.V.J.; SIMÃO, R.A. (2009). Hydrophobic corn starch thermoplastic films produced by plasma treatment. **Ultramicroscopy**, v. 109, n^o8, p. 1089-1093.

- BERTOLINI, A.C. (2009). Starches - Characterization, Properties, and Applications.
- BERTUZZI, M.A.; ARMADA, M.; GOTTIFREDI J.C. (2007). Physicochemical characterization of starch based films. **Journal of Food Engineering**, v. 82, p. 17-25.
- BIALOPIOTROWICZ, T. (2003). Wettability of starch gel films. **Food Hydrocolloids**, v. 17, p. 141-147.
- BIANCHI, V.L.D.; CEREDA, M. P. (1999). Balanço de massa de uma fábrica de farinha de mandioca de médio porte do estado de São Paulo. **Revista Energia na Agricultura**, v. 14, nº3, p. 34-48.
- BIFANI, V.; RAMÍREZ, C.; IHLA, M.; RUBILARA, M.; GARCÍA, A.; ZARITZKY, N. (2007). Effects of murta (*Ugni molinae Turcz*) extract on gas and water vapor permeability of carboxymethylcellulose-based edible films. **LWT – Food Science and Technology**, v. 40, p. 1473-1481.
- BITTENCOURT, C.M., FÁVARO-TRINDADE, C.S., SOBRAL, P.J.A., CARVALHO, R.A. (2014). Gelatin-based films additivated with curcuma ethanol extract: antioxidant activity and physical properties of films. **Food Hydrocolloids**, v. 40, p. 145-152.
- BOBBIO, F.O.; BOBBIO, P.A. (2003). **Introdução à Química de Alimentos** (3ª edição). Editora e Livraria Varela LTDA, p. 59-65.
- BOCHI, V.C. (2013). Chemical characterization and biological activity of Ceylon gooseberry (*Dovyalis hebecarpa*) in different ripening stage. **Tese de Doutorado**, Campinas, SP, p. 209.
- BOMAR, M.T. (1985). Rapid method for the determination of bacterial surface contamination in carcasses. **Alimenta**, v. 24, nº3, p. 55-57.
- BORTNOWSKA, G.; BALEJKO, J.; SCHUBE, V.; TOKARCZYK, G.; KRZEMINSKA, N.; MOJKA, K. (2014). Stability and physicochemical properties of model salad dressings prepared with pregelatinized potato starch. **Carbohydrate Polymers**, v. 111, p. 624-632.
- BOURBON, A.I.; PINHEIRO, A.C.; CERQUEIRA, M.A.; ROCHA, C.M.; AVIDES, M.C.; QUINTAS, M.A.; VICENTE, A.A. (2011). Physico-chemical characterization of chitosan-based edible films incorporating bioactive compounds of different molecular weight. **Journal of Food Engineering**, v. 106, p. 111-118.
- BRAVIN, B.; PERESSINI, D.; SENSIDONI, A. (2006). Development and application of polysaccharide–lipid edible coating to extend shelf-life of dry bakery products. **Journal of Food Engineering**, v. 76, p. 280-290.
- BRIASSOULIS, D. (2007). Analysis of the mechanical and degradation performances of optimised agricultural biodegradable films. **Polymer Degradation & Stability**, v. 92, p. 1115-1132.
- BROUILLARD, R.; IACOBUCCI, G.A.; SWEENEY, J.G. (1982). Chemistry of anthocyanin pigments. Chapter 9. UV-visible spectrophotometric determination of the acidity constants of apigeninidin and three related 3-deoxyflavylium salts. **Journal of the American Chemical Society**, v. 104, nº26, p. 7585-7590.
- BUNEA, A.; RUGINĂ, D.; SCONȚA, Z.; POP, R.M.; PINTEA, A.; SOCACIU, C.; VANCAMP, J. (2013). Anthocyanin determination in blueberry extracts from various cultivars and their antiproliferative and apoptotic properties in B16-F10 metastatic murine melanoma cells. **Phytochemistry**, v. 95, p. 436-444.

- CACACE, J. E.; MAZZA, G. (2003) Optimization of Extraction of Anthocyanins from Black Currants with Aqueous Ethanol. **Journal of Food Science**, v. 68, p. 240-248.
- CALDAS, A.F. (2014). Avaliação das Propriedades Antioxidantes do Bagaço de Mirtilo como Potencial Conservante Alimentar. **Mestrado em Ciências do Consumo e Nutrição**. Faculdade de Ciências da Universidade do Porto, FCUP, p. 54.
- CANER, C.; VERGANO, P.J.; WILES, J.L. (1998). Chitosan film mechanical and permeation properties as affected by acid, plasticizer and storage. **Journal of Food Science**, v. 63, p. 1049-1053.
- CANO, A.; JIMÉNEZ, A.; CHÁFER, M.; GÓNZALEZ, C.; CHIRALT, A. (2014). Effect of amylose:amylopectin ratio and rice bran addition on starch films properties. **Carbohydrate Polymers**, v. 111, p. 543-555.
- CARRILLO-NAVAS, H.; AVILA-DE LA ROSA, G.; GÓMEZ-LURÍA D.; MERAZ, M.; ALVAREZ-RAMIREZ, J.; VERNON-CARTER, E.J. (2014) Impact of ghosts on the viscoelastic response of gelatinized corn starch dispersions subjected to small strain deformations. **Carbohydrate Polymers**, v. 110, p. 156-162.
- CASTAÑEDA-OVANDO, A.; PACHECO-HERNÁNDEZ, M.L.; PÁEZ-HERNÁNDEZ, M.E.; RODRÍGUEZ, J.A.; GALÁN-VIDAL, C.A. (2009). Chemical studies of anthocyanins: A review. **Food Chemistry**, v. 113, p. 859-871.
- CASTILLO, L.A.; LÓPEZ, O.V.; GHILARDI, J.; VILLAR, M.A.; BARBOSA, S.E.; GARCÍA, M.A. (2015). Thermoplastic starch/talc bionanocomposites. Influence of particle morphology on final properties. **Food Hydrocolloids**, v. 51, p. 432-440.
- CERRUTI, P.; SANTAGATA, G.; GOMEZ D'AYALA, G.; AMBROGI, V.; CARFAGNA, C.; MALINCONICO, M.; PERSICO, P. (2011). Effect of a natural polyphenolic extract on the properties of a biodegradable starch-based polymer. **Polymer Degradation & Stability**, v. 96, p. 839-846.
- CERRUTI, P.; SANTAGATA, G.; GOMEZ D'AYALA, G.; AMBROGI, V.; CARFAGNA, C.; MALINCONICO, M.; PERSICO, P. (2011). Effect of a natural polyphenolic extract on the properties of a biodegradable starch-based polymer. **Polymer Degradation and Stability**, v. 96, p. 839-846.
- CHANG, Y.P.; KARIM, A.A.; SEOW, C.C. (2006). Interactive plasticizing-antiplasticizing effects of water and glycerol on the tensile properties on tapioca starch films. **Food Hydrocolloids**, v. 20, p. 1-8.
- CHANWITHEESUK, A.; TEERAWUTGULRAG, A.; RAKARIYATHAM, N. (2005). Screening of antioxidant activity and antioxidant compounds of some edible plants of Thailand. **Food Chemistry**, v. 92, p. 491-497.
- CHENG, L.; KARIM, A.; SEOW. (2008). Characterization of composite films made of konjac glucomannan (KGM), carboxymethyl cellulose (CMC) and lipid. **Food Chemistry**, v. 107, p. 411-418.
- CHOI, I.; LEE, J.Y.; LACROIX, M.; HAN, J. (2017). Intelligent pH indicator film composed of agar/potato starch and anthocyanin extracts from purple sweet potato. **Food Chemistry**, v. 218, p. 122-128.
- CHUANG, L.; PANYOYAI, N.; SHANKS, R.A.; KASAPIS, S. (2017). Effect of salt on the glass transition of condensed tapioca starch systems. **Food Chemistry**, v. 229, p. 120-126.

CIE (1978). Recommendations on uniform colour spaces, colour difference equations, psychometric colour terms, CIE publication no. 15 (E-1.3.1) 1971, Supplement 2. Viena: Bureau Central de la CIE.

COLUSSI, R.; PINTO, V.Z.; EL HALAL, S.L.M.; BIDUSKI, B.; PRIETTO, L.; CASTILHOS, D.D.; ZAVAREZE, E.R.; GUERRA, A.R. (2017) Acetylated rice starches films with different levels of amylose: Mechanical, water vapor barrier, thermal, and biodegradability properties. **Food Chemistry**, v. 221, p. 1614-1620.

COPELAND, L.; BLAZEK, J.; SALMAN, H.; TANG, M.C. (2009). Form and functionality of starch. **Food Hydrocolloids**, v. 23, p. 1527-1534.

COUTINHO, F.M.B.; MELLO, I.L.; MARIA, L.C.S. (2003). Polietileno: principais tipos, propriedades e aplicações. **Polímeros**, v. 13, p. 1-13.

CRIZEL, T.M.; COSTA, T.M.H.; RIOS, A.O.; FLÔRES, S.H. (2016). Valorization of food-grade industrial waste in the obtaining active biodegradable films for packaging. **Industrial Crops and Products**, v. 87, p. 218-228.

CRIZEL, T.M.; RIOS, A.O.; ALVES, V.D.; BANDARRA, N.; MOLDÃO-MARTINS, M.; FLÔRES, S.H. (2018). Active food packaging prepared with chitosan and olive pomace. **Food Hydrocolloids**, v. 74, p. 139-150.

DA COSTA, Leila Aparecida (2004). Caracterização do resíduo da fabricação de farinha de mandioca e seu aproveitamento no desenvolvimento de alimento em barra. **Dissertação de Mestrado**. Programa de Pós-Graduação em Ciências dos Alimentos da Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, SC, Brasil.

DAS, P.; TIWARI, P. (2018). Valorization of packaging plastic waste by slow pyrolysis. **Resources, Conservation & Recycling**, v. 128, p. 69-77.

DE SOUZA, C.O.; SILVA, L.T.; DRUZIAN, J.I. (2012). Estudo comparativo da caracterização de filmes biodegradáveis de amido de mandioca contendo polpas de manga e de acerola. **Química Nova**, v. 35, p. 262-267.

DEBEAUFORT, F.; QUEZADA-GALLO, J. A.; VOILLEY, A. (1998). Edible Films and Coatings: Tomorrow's Packagings: A Review. **Critical Reviews in Food Science**, v. 38, n^o4, p. 299-313.

DENARDIN, C. C.; SILVA, L. P. (2009). Estrutura dos grânulos de amido e sua relação com propriedades físico-químicas. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.39, n^o3, p. 945-954.

DIPALMO, T.; CRUPI, P.; PATI, S.; CLODOVEO, M. L.; DI LUCCIA, A. (2016). Studying the evolution of anthocyanin-derived pigments in a typical red wine of Southern Italy to assess its resistance to aging. **LWT - Food Science and Technology**, v. 71, p. 1-9.

DU, W.; AVENA-BUSTILLOS, R. J.; WOODS, R.; BREKSA, A. P.; MCHUGH, T.H.; FRIEDMAN, M.; LEVIN, C. E.; MANDRELL, R. (2012). Sensory Evaluation of Baked Chicken Wrapped with Antimicrobial Apple and Tomato Edible Films Formulated with Cinnamaldehyde and Carvacrol. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 60, p. 7799-7804.

DU, Y.; CHEN, F.; ZHANG, Y.; REMPEL, C.; THOMPSON, M.R.; LIU, Q. (2015). Potato protein isolate-based biopolymers. **Journal of Applied Polymer Science**, v. 132, p. 42723-42730.

- EMBRAPA (2012). Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária - Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. DOI: ISSN 1679-012X (Acesso em 03.02.2017).
- EMBRAPA (2016). Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária - Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. URL <https://www.embrapa.br/trigo/cultivos> (Acesso em 03.02.2017).
- ETXABIDE, A.; URANGA, J.; GUERRERO, P.; CABA, K. DE. (2017). Food Hydrocolloids Development of active gelatin films by means of valorisation of food processing waste : A review. **Food Hydrocolloids**, v. 68, p. 192-198.
- FACHINELLO, J.C. (2008). Mirtilo. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 30, n^o2, p. 285-576.
- FAKHOURI, F.M.; FONTES, L.C.B.; GONÇALVES, P.V.M.; MILANEZ, C.R.; STEEL, C.J.; COLLARES-QUEIROZ, F.P. (2007). Films and edible coatings based on native starches and gelatin in the conservation and sensory acceptance of Crimson grapes. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 27, p. 369-375.
- FANG, Z.; ZHAO, Y.; WARNERA, R.D.; JOHNSON, S.K. (2017). Active and intelligent packaging in meat industry - Review. **Trends in Food Science & Technology**, v. 61, p. 60-71.
- FAO (2016). Site FAOSTAT, Food and Agriculture Organization of the United Nations. disponível em: <http://www.fao.org/faostat/en/#data/QC>. (Acesso em 09.11.2017).
- FEIL, H. (1995). Biodegradable plastics from vegetable raw materials. **Agro-Food-Industry Hi-Tech**, p. 25-32.
- FIORDA, F.A.; SOARES JR., M.S.; SILVA, F.A.; MOURA, C.M.A.; GROSSMANN, M.V.E. (2015). Physical quality of snacks and technological properties of pre-gelatinized flours formulated with cassava starch and dehydrated cassava bagasse as a function of extrusion variables. **LWT - Food Science and Technology**, v. 62, p. 1112-1119.
- FLORES, S.K.; COSTA, D.; YAMASHITA, F.; GERSCHENSON, L.N.; GROSSMANN, M.V. (2010). Mixture design for evaluation of potassium sorbate and xanthan gum effect on properties of tapioca starch films obtained by extrusion. **Materials Science and Engineering C**, v. 30, p. 196-202.
- FORSSELL, P. M.; HULLEMAN, S.; MYLLÄRINEN, P.; MOATES, G. K.; PARKER, R. (1999). Ageing of rubbery thermoplastic barley and oat starches. **Carbohydrate Polymers**, v. 39, p. 43-51.
- FRANCIS, F.J., MARKAKIS, P.C. (1989). Food colorants: Anthocyanins. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v. 28, n^o4, p. 273-314.
- FURTADO, R.F.; ALVES, C.R.; MOREIRA, A.C.O.; AZEVEDO, R.M.; DUTRA, R.F. (2012). A novel xyloglucan film-based biosensor for toxicity assessment of ricin in castor seed meal. **Carbohydrate Polymers**, v. 89, n^o2, p. 586-591.
- GALDEANO, M.C. (2007). Filmes e laminados biodegradáveis de amido de aveia com diferentes plastificantes, produzidos por *casting* e extrusão. **Tese de Doutorado em Ciência de Alimentos** – Universidade Estadual de Londrina, PR, Brasil, p. 170.
- GALLANT, D. J.; BOUCHET, B.; BALDWIN, P. M. (1997). Microscopy of starch: evidence of a new level of granule organization. **Carbohydrate Polymers**, v.32, p.177-191.

- GAO, L.; MAZZA, G. (1994) Quantitation and distribution of simple and acylated anthocyanins and other phenolics in blueberries. **Journal of Food Science**, v. 59, n°5, p. 1057-1059.
- GARCÍA, M.A.; MARTINO, M.N.; ZARITZKY, N.Z. (2000). Microstructural characterization of plasticized starch based films. **Starch/Stärke**, v. 52, p. 118-124.
- GARCIA, M.A.; MARTINO, M.N.; ZARITZKY, N.E. (2000). Lipid addition to improve barrier properties of edible starch-based films and coatings. **Journal of Food Science**, v. 65, n°6, p. 941-947.
- GARCÍA, M.A.; MARTINO, M.N.; ZARITZKY, N.E. (2000). Lipid addition to improve barrier properties of edible starch-based films and coatings. **Journal of Food Science**, v. 65, p. 941-947.
- GARCÍA, M.A.; MARTINO, M.N.; ZARITZKY, N.E. (2001). Composite starch-based coatings applied to strawberries (*Fragaria ananassa*). **Nahrung**, v. 45, no4, p. 267-272.
- GARDE, J. A., CATALÁ, R., GAVARA, R., HERNANDEZ, R. J. (2001). Characterizing the migration of antioxidants from polypropylene into fatty food simulants. **Food Additives & Contaminants**, v. 18, p. 750-762.
- GARRIDO, T., LECETA, I., CABEZUDO, S., GUERRERO, P., DE LA CABA, K. (2016). Tailoring soy protein film properties by selecting casting or compression as processing methods. **European Polymer Journal**, v. 85, p. 499-507.
- GARRIDO, T.; ETXABIDE, A.; PEÑALBA, M.; CABA, K. DE LA; GUERRERO, P. (2013) Preparation and characterization of soy protein thin films: Processing-properties correlation. **Materials Letters**, v. 105, p. 110-112.
- GARRIDO, T.; ETXABIDE, A.; PEÑALBA, M.; DE LA CABA, K.; GUERRERO, P. (2013). Preparation and characterization of soy protein thin films: Processing-properties correlation. **Materials Letters**, v. 105, p. 110-112.
- GIANCONE, T.; TORRIERI, E.; DI PIERRO, P.; MARONIELLO, L.; MORESI, M.; PORTA, R.; MASI, P. (2008). Role of constituents on the network formation of hydrocolloid edible films. **Journal of Food Engineering**, v. 89, n°2, p. 195-203.
- GIUSTI, M.M.; WROLSTAD, R.E. (2001). Characterization and Measurement of Anthocyanins by UV-Visible Spectroscopy. **Current Protocols in Food Analytical Chemistry**, F1.2.1-F1.2.13.
- GODBILLOT, L.; DOLE, P.; JOLY, C.; ROGÉ, B.; MATHLOUTHI, M. (2006). Analysis of water binding in starch plasticized films. **Food Chemistry**, v. 96, p. 380-386.
- GOLASZ, L.B.; SILVA, J.; SILVA, S.B. (2013). Film with anthocyanins as an indicator of chilled pork deterioration. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 33, p. 155-162.
- GOLDMEYER, B.; PENNA, N.G.; MELO, A.; ROSA, C.S. (2014). Características físico-químicas e propriedades funcionais tecnológicas do bagaço de mirtilo fermentado e suas farinhas. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal - SP, v. 36, n°4, p. 980-987.
- GÓMEZ, E.F.; MICHEL JR., F.C. (2013). Biodegradability of conventional and bio-based plastics and natural fiber composites during composting, anaerobic digestion and long-term soil incubation. **Polymer Degradation and Stability**, v. 98, p. 2583-2591.

- GÓMEZ-ESTACA, J.; LÓPEZ-DE-DICASTILLO, C.; HERNÁNDEZ-MUÑOZ, P.; CATALÁ, R.; GAVARA, R. (2014). Advances in antioxidant active food packaging. **Trends in Food Science & Technology**, v. 35, p. 42-51.
- GOODFELLOW, B.J.; WILSON, R.H. (1990). A Fourier transform infrared study of the gelation of amylose and amylopectin. **Biopolymers**, v. 30, p. 1183-1189.
- GUERRERO, P.; GARRIDO, T.; LECETA, I.; CABA, K. DE LA (2013). Films based on proteins and polysaccharides: preparation and physical-chemical characterization. **European Polymer Journal**, v. 49, p. 3713-3721.
- GUERRERO, P.; RETEGI, A.; GABILONDO, N.; CABA, K. De Le. (2010). Mechanical and thermal properties of soy protein films processed by casting and compression. **Journal of Food Engineering**, v. 100, p. 145-151.
- GUTIÉRREZ, T.J.; TAPIA, M.S.; PÉREZ, E.; FAMÁ, L. (2015). Structural and mechanical properties of edible films made from native and modified cush-cush yam and cassava starch. **Food Hydrocolloids**, v. 45, p. 211-217.
- HAN, J.H.; HO, C.H.L.; RODRIGUES, E.T. (2005). Intelligent packaging. **Innovations in Food Packaging**. Elsevier Ltd.
- HOOVER, R. (1995). Starch retrogradation. **Food Reviews International**, v. 11, p. 331-346.
- HOOVER, R. (2001). Composition, molecular structure, and physicochemical properties of tuber and root starches: a review. **Carbohydrate Polymers**, v. 45, p. 253-267.
- HORNUNG, P.S.; DE OLIVEIRA, C.S.; LAZZAROTTO, M.; DA SILVEIRA LAZZAROTTO, S.R.; SCHNITZLER, E. (2016). Investigation of the photo-oxidation of cassava starch granules. **Journal of Thermal Analysis and Calorimetry**, v. 123, p. 1-11.
- HOSSEINI, M.H.; RAZAVI, S.H.; MOUSAVI, M.A. (2009). Antimicrobial, physical and mechanical properties of chitosan-based films incorporate with thyme, clove and cinnamon essential oils. **Journal of Food Processing and Preservation**, v. 33, p. 727-743.
- HULLEMAN, S.H.D.; KALISVAART, M.G.; JANSSEN, F.H.P.; FEIL, H.; VLIEGENTHART, J.F.G. (1999). Origins of by-type crystallinity in glycerol-plasticised, compression-moulded potato starches. **Carbohydrate Polymers**, v. 39, p. 351-360.
- IAHNKE, A.O.S.; COSTA, T.M.H.; RIOS, A.O.; FLÔRES, S.H. (2015). Residues of minimally processed carrot and gelatin capsules: Potential materials for packaging films. **Industrial Crops and Products**, v. 76, p. 1071-1078.
- IAHNKE, A.O.S.; COSTA, T.M.H.; RIOS, A.O.; FLÔRES, S.H. (2016). Antioxidant films based on gelatin capsules and minimally processed beet root (*Beta vulgaris* L. var. Conditiva) residues. **Journal of Applied Polymer Science**, v. 43094, p. 1-10.
- IMBERTY, A.; BULEÓN, A.; TRAN, V.; PEREZ, S. (1991). Recent advances in knowledge of starch structure. **Starch/Stärke**, v. 43, p. 375-384.
- IMBERTY, A.; CHANZY, H.; PÉREZ, S.; BULÈON, A.; TRAN, V. (1988). The double-helical nature of the crystalline part of A-starch. **Journal of Molecular Biology**, v. 201, p. 365-378.
- JANE, J.; CHEN, Y. Y.; LEE, L. F.; MCPHERSON, A. E.; WONG, K. S.; RADOSAVLJEVIC, M.; KASEMSUWAN, T. (1999). Effects of amylopectin branch chain

length and amylose content on the gelatinization and pasting properties of starch. **Cereal Chemistry**, v. 76, n°5, p. 629-637.

JARAMILLO, C.M.; GUTIÉRREZ, T.J.; GOYANES, S.; BERNAL, C.; FAMÁ, L. (2016). Biodegradability and plasticizing effect of yerba mate extract on cassava starch edible films. **Carbohydrate Polymers**, v. 151, p. 150-159.

JENKINS, P.J.; CAMERON, R.E.; DONALD, A.M. (1993). A universal feature in the structure of starch granules from different botanical sources. **Starch/Stärke**, v. 45, p. 417-420.

JIPING, P.; SHUJUN, W.; JINGLIN, Y.; HONGYAN, L.; JIUGAO, Y.; WENYUAN, G. (2007). Comparative studies on morphological and crystalline properties of B-type and C-type starches by acid hydrolysis. **Food Chemistry**, v. 105, p. 989-995.

KADAM, S.U.; PANKAJ, S.K.; TIWARI, B.K.; CULLEN, P.J.; O'DONNELL, C.P. (2015). Development of biopolymer-based gelatin and casein films incorporating brown seaweed *Ascophyllum nodosum* extract. **Food Packaging and Shelf Life**, v. 6, p. 68-74.

KARLSSON, S.; ALBERTSSON, A.C. (1998). Biodegradable polymers and environmental interaction. **Polymer Engineering and Science**, v. 38, p. 1251-1253.

KECHINSKI, C.P. (2011). Estudos de diferentes formas de processamento do mirtilo visando à preservação dos compostos antociânicos. **Tese de Doutorado**. Universidade Federal do Rio Grande do Sul, UFRGS, Porto Alegre, RS, 320 p.

KHANAL, R.C.; HOWARD, L.R.; PRIOR, R.L. (2010). Effect of heating on the stability of grape and blueberry pomace procyanidins and total anthocyanins. **Food Research International**, v. 43, p. 1464-1469.

KIM, S.R.B.; CHOI, Y.-G.; KIM, J.-Y.; LIM, S.-T. (2015). Improvement of water solubility and humidity stability of tapioca starch film by incorporating various gums. **LWT - Food Science and Technology**, v. 64, p. 475-482.

KONCZAK, I.; ZHANG, W. (2004). Anthocyanins - More than nature's colours. **Journal of Biomedicine and Biotechnology**, v. 5, p. 239-240.

KRUIJF, N.; VAN BEEST, M.D. (2003). **Encyclopedia of Agricultural Food and Biological Engineering**; Marcel Dekker Inc, NY.

LAI, L.S.; KOKINI, J.L. (1991). Physicochemical changes and rheological properties of starch during extrusion (a review) – **Biotechnology Progress**, v. 7, p. 251-266.

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

LAPIDOT, T.; HAREL, S.; AKIRI, B.; GRANIT, R.; KANNER, J. (1999). pH-dependent forms of red wine anthocyanins as antioxidants. **Journal of Agricultural & Food Chemistry**, v. 47, p. 67-70.

LAROTONDA, F.D.S. (2002). Desenvolvimento de biofilmes a partir da fécula de mandioca. **Dissertação de Mestrado**. Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 77 p.

LEE, H.S., COATES, G.A. (2003). Effect of thermal pasteurization on Valencia orange juice color and pigments. **Lebensmittel-Wissenschaft und Technologie**, v. 36, p. 153-156.

- LEE, J.; DURST, R.W.; WROLSTAD, R.E. (2005). Determination of Total Monomeric Anthocyanin Pigment Content of Fruit Juices, Beverages, Natural Colorants, and Wines by the pH Differential Method: Collaborative Study. **Journal of AOAC International**, v. 88, n°5, p. 1269-1278.
- LI, D.; MENG, X.; LI, B. (2016). Profiling of anthocyanins from blueberries produced in China using HPLC-DAD-MS and exploratory analysis by principal component analysis. **Journal of Food Composition & Analysis**, v. 47, p. 1-7.
- LI, J.-Y.; YEH, A.-I. (2001). Relationships between thermal, rheological characteristics and swelling power for various starches. **Journal of Food Engineering**, v. 50, p. 141-148.
- LIU, B.; XU, H.; ZHAO, H.; LIU, W.; ZHAO, L.; LI Y. (2017). Preparation and characterization of intelligent starch/PVA films for simultaneous colorimetric indication and antimicrobial activity for food packaging applications. **Carbohydrate Polymers**, v. 157, p. 842-849.
- LIU, H.; XIE, F.; YU, L.; CHEN, L.; LI, L. (2009). Thermal processing of starch-based polymers. **Progress in Polymer Science**, v. 34, n°12, p. 1348-1368.
- LIU, Z.; HAN, J.H. (2005). Film-forming characteristics of starches. **Journal of Food Science**, Malden, v. 70, p. E31-36.
- LOPEZ, O.; GARCIA, M.A.; VILLAR, M.A.; GENTILI, A.; RODRIGUEZ, M.S.; ALBERTENGO, L. (2014). Thermo-compression of biodegradable thermoplastic corn starch films containing chitin and chitosan. **LWT - Food Science and Technology**, v. 57, p. 106-115.
- LÓPEZ, O.V.; VERSINO, F.; VILLAR, M.A.; GARCÍA, M.A. (2015). Agro-industrial residue from starch extraction of *Pachyrhizus ahipa* as filler of thermoplastic corn starch films. **Carbohydrate Polymers**, v. 134, p. 324-332.
- LUCHESE, C.L., FRICK, J.M., PATZER, V.L., SPADA, J.C.; TESSARO, I.C. (2015). Synthesis and characterization of biofilms using native and modified *pinhão* starch. **Food Hydrocolloids**, v. 45, p. 203-210.
- LUCHESE, C.L., SPADA, J.C., TESSARO, I.C. (2017). Starch content affects physicochemical properties of corn and cassava starch-based films. **Industrial Crops and Products**, v. 109, p. 619-626.
- LUCHESE, C.L.; BRUM, L.F.M.; PIOVESANA, A.; CAETANO, K; FLÔRES, S.H. (2018). Bioactive compounds incorporation into the production of functional biodegradable films - A review. **Polymers from Renewable Resources**. Accepted, "in press".
- LUCHESE, C.L.; FRICK, J.M.; PATZER, V.L.; SPADA, J.C.; TESSARO, I.C. (2015). Synthesis and characterization of biofilms using native and modified *pinhão* starch. **Food Hydrocolloids**, v. 45, p. 203-210.
- LUCHESE, C.L.; GARRIDO, T.; SPADA, J.C.; TESSARO, I.C.; DE LA CABA, K. (2017). Development and characterization of cassava starch films incorporated with blueberry pomace. **International Journal of Biological Macromolecules**. Accepted, "in press".
- LUCHESE, C.L.; SPADA, J.C.; TESSARO, I.C. (2017). Starch content affects physicochemical properties of corn and cassava starch-based films. **Industrial Crops and Products**, v. 109, p. 619-626.

- LUCHESE, C.L.; SPEROTTO, N.; SPADA, J.C.; TESSARO, I.C. (2017). Effect of blueberry agro-industrial waste addition to corn starch-based films for the production of a pH-indicator film. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 104, p. 11-18.
- MA, Q.; DU, L.; WANG, L. (2017). Tara gum/polyvinyl alcohol-based colorimetric NH₃ indicator films incorporating curcumin for intelligent packaging. **Sensors and Actuators, B: Chemical**, v. 244, p. 759-766.
- MA, X.F.; YU, J.G.; WAN, J.J. (2006). Urea and ethanolamine as a mixed plasticizer for thermoplastic starch. **Carbohydrates Polymers**, v. 64, p. 267-273.
- MÄÄTTÄ-RIIHINEN, K.R.; KAMAL-ELDIN, A.; MATTILA, P.H.; GONZÁLEZ-PARAMÁS, A.M.; TÖRRÖNEN, A.R. (2004). Distribution and contents of phenolic compounds in eighteen Scandinavian berry species. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 52, n^o(14), p. 4477-4486.
- MACHADO, A.P.D.F.; PEREIRA, A.L.D.; BARBERO, G.F.; MARTÍNEZ, J. (2017). Recovery of anthocyanins from residues of *Rubus fruticosus*, *Vaccinium myrtillus* and *Eugenia brasiliensis* by ultrasound assisted extraction, pressurized liquid extraction and their combination. **Food Chemistry**, v. 231, p. 1-10.
- MACIEL, V.B.V.; YOSHIDA, C.M.P.; FRANCO, T.T. (2012). Development of a prototype of a colourimetric temperature indicator for monitoring food quality. **Journal of Food Engineering**, v. 111, p. 21-27.
- MAJZOBI, M.; BEPARVA, P. (2014). Effects of acetic acid and lactic acid on physicochemical characteristics of native and cross-linked wheat starches. **Food Chemistry**, v. 147, p. 312-317.
- MALI, L.B. KARAM, L. PEREIRA-RAMOS, M.V.E. (2004). Relationships among the composition and physicochemical properties of starches with the characteristics of their films. **Journal of Agriculture and Food Chemistry**, v. 52, p. 7720-7725.
- MALI, S.; GROSSMANN, M.V.E.; GARCIA, M.A.; MARTINO, M.N.; ZARITZKY, N.E. (2002). Microstructural characterization of yam starch films. **Carbohydrate Polymers**, v. 50, p. 379-386.
- MALI, S.; GROSSMANN, M.V.E.; YAMASHITA, F. (2010). Starch films: production, properties and potential of utilization. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v. 31, p. 137-156.
- MALI, S.; SAKANAKA, L.S.; YAMASHITA, F.; GROSSMANN, M.V.E. (2005). Water sorption and mechanical properties of cassava starch films and their relation to plasticizing effect. **Carbohydrate Polymers**, v. 60, p. 283-289.
- MARIN, L.; AILINCAI, D.; MARES, M.; PASLARU, E.; CRISTEA, M.; NICA, V.; SIMIONESCU, B.C. (2015). Imino-chitosan biopolymeric films. Obtaining, self-assembling, surface and antimicrobial properties. **Carbohydrate Polymers**, v. 117, p. 762-770.
- MARTINEZ, C.Y.; CUEVAS, F. (1989). Evaluación de la calidad culinaria y molinera del arroz. **Guía del estudio**. Cali: CIAT, p. 75.
- MATSUGUMA, L.S. (2006). Caracterização do amido de mandiocinha salsa (*Arracacia xanthorrhiza*) nativo e modificado por oxidação. **Dissertação de Mestrado**. Universidade Estadual de Ponta Grossa, Ponta Grossa, PR, p. 112.

- MATTA, M.D. (2009). Caracterização de biofilmes obtidos a partir do amido de ervilha (*Pisum sativum*) associado à goma xantana e glicerol. 113 p. **Dissertação de Mestrado**. Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Piracicaba, SP.
- McHUGH, T. H; KROCHTA, J. M. (1994). Sorbitol- vs glycerol – plasticized whey protein edible films: integrated oxygen permeability and tensile property evaluation. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Washington, v. 42, n^o4, p. 841-845.
- MELGOSA, M.; PÉREZ, M. M.; YEBRA, A.; HUERTAS, R.; HITA, E. (2001). Some reflections and recent international recommendations on color-difference evaluation. **Optica Pura y Aplicada**, v. 34, p. 1-10.
- MILTZ, J. (1992). Food packaging. In: HELDMAN, D.R., LUND, D.B. (Ed); **Handbook of Food Engineering**. Marcel Dekker, Inc. New York, p. 667-718.
- MIRABELLA, N.; CASTELLANI, V.; SALA, S. (2014). Current options for the valorization of food manufacturing waste: A review. **Journal of Cleaner Production**, v. 65, p. 28-41.
- MOHEE, R.; UNMAR, G.D.; MUDHOO, A.; KHADOO, P. (2008). Biodegradability of biodegradable/degradable plastic materials under aerobic and anaerobic conditions. **Waste Management**, v. 28, p. 1624-1629.
- MONEDERO, F.M.; FABRA, M.J.; TALENS, P.; CHIRALT, A. (2009). Effect of oleic acid-beeswax mixtures on mechanical, optical and water barrier properties of soy protein isolate based films. **Journal of Food Engineering**, v. 91, p. 509-515.
- MONTERO, B.; RICO, M.; RODRÍGUEZ-LLAMAZARES, S.; BARRAL, L.; BOUZA R. (2017). Effect of nanocellulose as a filler on biodegradable thermoplastic starch films from tuber, cereal and legume. **Carbohydrate Polymer**, v. 157, p. 1094-1104.
- MORAES, J.O. (2009). Propriedades de filmes de amido incorporados de nanoargilas e fibras de celulose. **Dissertação de Mestrado**. Programa de pós-graduação em Engenharia de Alimentos UFSC. Florianópolis/SC, 88 p.
- MORAES, J.O.; PERTUZATTI, P.B.; CORRÊA, F.V.; SALAS-MELLADO, M.M. (2007). Estudo do mirtilo (*Vaccinium ashei* Reade) no processamento de produtos alimentícios. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, p. 18-22.
- MORENO, O., ATARÉS, L., CHIRALT, A. (2015). Effect of the incorporation of antimicrobial/antioxidant proteins on the properties of potato starch films. **Carbohydrate Polymers**, v. 133, p. 353-364.
- MÜLLER, C.M.O.; LAURINDO, J. B.; YAMASHITA, F. (2009). Effect of cellulose fibers addition on the mechanical properties and water vapor barrier of starch-based films. **Food Hydrocolloids**, v. 23, n^o5, p. 1328-1333.
- MÜLLER, C.M.O.; LAURINDO, J.B.; YAMASHITA, F. (2009). Effect of cellulose fibers on the crystallinity and mechanical properties of starch-based films at different relative humidity values. **Carbohydrate Polymers**, v. 77, p. 293-299.
- MUÑOZ, L.A.; PEDRESCHI, F.; LEIVA, A.; AGUILERA, J.M. (2015). Loss of birefringence and swelling behavior in native starch granules: Microstructural and thermal properties. **Journal of Food Engineering**, v. 152, p. 65-71.
- MUÑOZ-BONILLA, A.; FERNÁNDEZ-GARCÍA, M. (2012). Polymeric materials with antimicrobial activity. **Progress in Polymer Science**, v. 37, n^o2, p. 281-339.

- MYLLÄRINEN, P.; BULÉON, A.; LAHTINEN, R.; FORSELL, P. (2002). The crystallinity of amylose and amylopectin films. **Carbohydrate Polymer**, v. 48, p. 41-48.
- NGUYEN VU, H.P.; LUMDUBWONG, N. (2016). Starch behaviors and mechanical properties of starch blend films with different plasticizers. **Carbohydrate Polymers**, v. 154, p. 112-120.
- NICOUÉ, E. É.; SAVARD, S.; BELKACEMI, K. (2007). Anthocyanins in Wild Blueberries of Quebec. Extraction and Identification. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 55, n°14, p. 5626-5635.
- NINAGO, M.D.; LÓPEZ, O.V.; LENCINA, M.M.S.; GARCÍA, M.A.; ANDREUCETTI, N.A.; CIOLINO, A.E.; VILLAR, M.A. (2015) Enhancement of thermoplastic starch final properties by blending with poly(ϵ -caprolactone). **Carbohydrate Polymer**, v. 134, p. 205-212.
- NODA, T.; NISHIBA, Y.; SATO, T.; SUDA, I. (2003). Properties of starches from several low-amylose rice cultivars. **Cereal Chemistry**, v. 80, p. 193-197.
- ORTEGA-TORO, R.; JIMÉNEZ, A.; TALENS, P.; CHIRALT, A. (2014). Properties of starch-hydroxypropyl methylcellulose based films obtained by compression molding, **Carbohydrate Polymer**, v. 109, p. 155-165.
- OTONI, C.G.; ESPITIA, P.J.P.; AVENA-BUSTILLOS, J.; McHUGH, T.H. (2016). Trends in antimicrobial food packaging systems: Emitting sachets and absorbent pads. **Food Research International**, v. 83, p. 60-73.
- OZDEMIR, M.; FLOROS, J.D. (2004). Active Food Packaging Technologies. **Critical Review in Food Science and Nutrition**, v. 44, n°3, p. 185-193.
- PACQUIT, A.; FRISBY, J.; DIAMOND, D.; LAU, K.T.; FARRELL, A.; QUILTY, B.; DIAMOND, D. (2007). Development of a smart packaging for the monitoring of fish spoilage. **Food Chemistry**, v. 102, p. 466-470.
- PACQUIT, A.; LAU, K.T.; McLAUGHLIN, H.; BRIDQUILTY, J.F.; DIAMOND, D. (2006). Development of a volatile amine sensor for the monitoring of fish spoilage. **Talanta**, v. 69, p. 515-520.
- PAES, J.; DOTTA, R.; BARBERO, G.F.; MARTÍNEZ, J. (2014). Extraction of phenolic compounds and anthocyanins from blueberry (*Vaccinium myrtillus* L.) residues using supercritical CO₂ and pressurized liquids. **The Journal of Supercritical Fluids**, v. 95, p. 8-16.
- PAGELLA, C.; SPIGNO, G.; DE FAVERI, D.M. (2002). Characterization of Starch Based Edible Coatings. **Food and Bioproducts Processing**, v. 80, p. 193-198.
- PAGNO, C.H.; COSTA, T.M.H.; DE MENEZES, E.W.; BENVENUTTI, E.V.; HERTZ, P.F.; MATTE, C.R.; TOSATI, J.V.; MONTEIRO, A.R.; RIOS, A.O.; FLÓRES, S.H. (2015). Development of active biofilms of quinoa (*Chenopodium quinoa* W.) starch containing gold nanoparticles and evaluation of antimicrobial activity. **Food Chemistry**, v. 173, p. 755-762.
- PARK, H.J.; CHINNAN, M.S.; SHEWFELT, R.L. (1994) Edible coating effects on storage life and quality of tomatoes. **Journal of Food Science**, v. 59, p. 568-570.
- PARRA, D.F.; TADINI, C.C.; PONCE, P.; LUGÃO, A.B. (2004). Mechanical properties and water vapor transmission in some blends of cassava starch edible films. **Carbohydrate Polymers**, v. 58, n°4, p. 475-481.

- PEREDA, M.; AMICA, G.; MARCOVICH, N.E. (2012). Development and characterization of edible chitosan/olive oil emulsion films. **Carbohydrate Polymers**, v. 87, p. 1318-1325.
- PEREIRA, V.A.; ARRUDA, I.N.Q.D.; STEFANI, R. (2015). Active chitosan/PVA films with anthocyanins from *Brassica oleraceae* (Red Cabbage) as Time-Temperature Indicators for application in intelligent food packaging. **Food Hydrocolloids**, v. 43, p. 180-188.
- PERIOTTO, D. (2012). Tabela de Valores de Absorção no Espectro de Infravermelho para Compostos Orgânicos. **UFSCar**, Universidade Federal de São Carlos, SP, Brasil.
- PHAN, T.D.; DEBEAUFORT, F.; LUU, D.; VOILLEY, A. (2005). Functional Properties of Edible Agar-Based and Starch-Based Films for Food Quality Preservation. **Journal of Agricultural and Chemistry**, v. 53, p. 973-981.
- PIÑEROS-HERNANDEZ, D.; MEDINA-JARAMILLO, C.; LÓPEZ-CÓRDOBA, A.; GOYANES, S. (2017). Edible cassava starch films carrying rosemary antioxidant extracts for potential use as active food packaging. **Food Hydrocolloids**, v. 63, p. 488-495.
- PINHEIRO, A.C.; CERQUEIRA, M.A.; SOUZA, B.W.S.; MARTINS, J.T.; TEIXEIRA, J.A.; VICENTE, A.A. (2010). Utilização de revestimento/filmes edíveis para aplicações alimentares. **Boletim de Biotecnologia**, p. 18-28.
- PIZARRO, C.; ESTEBAN-DÍEZ, I.; RODRÍGUEZ-TECEDOR, S.; GONZÁLEZ-SÁIZ, J.M. (2013). Determination of the peroxide value in extra virgin olive oils through the application of the stepwise orthogonalisation of predictors to mid-infrared spectra. **Food Control**, v. 34, p.158-167.
- PLASTICS EUROPE. (2015). Plastics - The facts 2015. An analysis of European plastics production, demand and waste data. Available from: <http://www.plasticseurope.org/Document/plasticse-the-facts-2015.aspx?Page¼DOCUMENT&FolID¼42> (Acesso em 05.11.2017).
- PODSHIVALOV, A.; ZAKHAROVA, M.; GLAZACHEVA, E.; USPENSKAYA, M. (2017). Gelatin/potato starch edible biocomposite films: Correlation between morphology and physical properties, **Carbohydrate Polymers**, v. 157, p. 1162-1172.
- PRANOTO, Y.; SALOKHE, V.M.; RAKSHIT, S.K. (2005). Physical and antibacterial properties of alginate-based edible film incorporated with garlic oil. **Food Research International**, v. 38, p. 267-272.
- PRIETTO, L.; MIRAPALHETE, T.C.; PINTO, V.Z.; HOFFMANN, J.F.; VANIER, N.L.; LIM, L.T.; DIAS, A.R.G.; DA ROSA ZAVAREZE, E. (2017). pH-sensitive films containing anthocyanins extracted from black bean seed coat and red cabbage. **LWT - Food Science and Technology**, v. 80, p. 492-500.
- PULIGUNDLA, P.; JUNG, J.; KO, S. (2012). Carbon dioxide sensors for intelligent food packaging applications. **Food Control**, v. 25, p. 328-333.
- QUINTAVALLA, S.; VICINI, L. (2002). Antimicrobial food packaging in meat industry. **Meat Science**, v. 62, n°3, p. 373-380.
- RATTAYA, S.; BENJAKUL, S.; PRODPRAN, T. (2009). Properties of fish skin gelatin film incorporated with seaweed extract. **Journal of Food Engineering**, v. 95, p. 151-157.
- REQUE, P.M. (2012). Frutos de mirtilo (*Vaccinium* spp.) e produtos derivados: caracterização e estabilidade de suas propriedades bioativas. **Dissertação de Mestrado**. Instituto de Ciência e Tecnologia de Alimentos, UFRGS, Porto Alegre/RS, 121 p.

- REQUE, P.M.; STEFFENS, R.S.; JABLONSKI, A.; FLÔRES, S.H.; RIOS, A. DE O.; DE JONG, E.V. (2014). Cold storage of blueberry (*Vaccinium* spp.) fruits and juice: Anthocyanin stability and antioxidant activity. **Journal of Food Composition & Analysis**, v. 33, p. 111-116.
- RESTUCCIA, D.; SPIZZIRRI, U.G.; PARISI, O.I.; CIRILLO, G.; CURCIO, M.; IEMMA, F.; PUOCI, F.; VINCI, G.; PICCI, N. (2010). New EU regulation aspects and global market of active and intelligent packaging for food industry applications. **Food Control**, v. 21, n°11, p. 1425-1435.
- RIBEIRO-SANTOS, R., SANCHES-SILVA, A., MOTTA, J. F. G., ANDRADE, M., NEVES, I. DE A., TEÓFILO, R. F., MELO, N. R. DE. (2017). Combined use of essential oils applied to protein base active food packaging: Study in vitro and in a food simulant. **European Polymer Journal**, v. 93, p. 75-86.
- RINDLAV, A.; HULLEMAN, S.H.D.; GATENHOLM, P. (1997). Formation of starch films with varying crystallinity. **Carbohydrate Polymers**, v. 34, p. 25-30.
- RINDLAV-WESTLING, A.; STADING, M.; HERMANSSON, A-M; GATENHOLMA, P. (1998). Carbohydrate Polymers Structure, mechanical and barrier properties of amylose and amylopectin films. **Carbohydrate Polymers**, v. 36, p. 217-224.
- RITZL, A.; REGEV, O.; YERUSHALMI-ROZEN, R. (1998). Structure and interfacial interactions of thin films of amylopectin. **Acta Polymerica**, v. 49, p. 566-573.
- ROLLAND-SABATÉ, A.; SÁNCHEZ, T.; BULÉON, A.; COLONNA, P.; JAILLAIS, B.; CEBALLOS, H.; DUFOUR, D. (2012). Structural characterization of novel cassava starches with low and high-amylose contents in comparison with other commercial sources. **Food Hydrocolloids**, v. 27, p. 161-174.
- ROONEY, M.L. (1995). Active food packaging. **“Overview of Active Food Packaging”**. Blackie Glasgow, UK.
- ROSSI, M.; GIUSSANI, E.; MORELLI, R.; LO SCALZO, R.; NANI, R.C.; TORREGGIANI, D. (2003). Effect of fruit blanching on phenolics and radical scavenging activity of highbush blueberry juice. **Food Research International**, v. 36, p. 999-1005.
- SABERI, B.; CHOCKCHAIWASDEE, S.; GOLDING, J.B.; SCARLETT, C.J.; STATHOPOULOS, C.E. (2017). Physical and mechanical properties of a new edible film made of pea starch and guar gum as affected by glycols, sugars and polyols. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 104, p. 345-359.
- SAJILATA, M.G.; SINGHAL, R.S.; KULKARNI, P.R. (2006). Resistant starch - A review. **Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety**, v. 5, p. 1-17.
- SALAS-VALERO, L.M.; TAPIA-BLÁCIDO, D.R.; MENEGALLI, F.C. (2015). Biofilms based on canihua flour (*Chenopodium Pallidicaule*): Design and Characterization. **Química Nova**, v. 38, p. 14-21.
- SANITÁRIA, A. N. de V. (2010). RESOLUÇÃO - RDC N° 51, de 06 de outubro de 2010, 7.
- SANTACRUZ, S.; RIVADENEIRA, C.; CASTRO, M. (2015). Edible films based on starch and chitosan. Effect of starch source and concentration, plasticizer, surfactant's hydrophobic tail and mechanical treatment. **Food Hydrocolloids**, v. 49, p. 89-94.
- SANTOS, A.M. Dos (2007). Sistema de produção do mirtilo. **Embrapa Clima Temperado**.

- SANTOS, T.P.R.; LEONEL, M.; GARCIA, E.L.; CARMO, E.L.; FRANCO, C.M.L. (2016). Crystallinity, thermal and pasting properties of starches from different potato cultivars grown in Brazil. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 82, p. 144-149.
- SARANTÓPOULOS, C.I.G.L.; OLIVEIRA, L.M.; CANAVESI, E. (2001). **Requisitos de conservação de alimentos em embalagens flexíveis**. CETEA/ITAL, 213 p.
- SARANTÓPOULOS, C.I.G.L.; OLIVEIRA, M.L.; COLTRO, L.; VERCELINO, A.R.M.; CORRÊA, G.E.E. (2002). **Embalagens plásticas flexíveis: principais polímeros e avaliação de propriedades**. Campinas: CETEA/ITAL, 267 p.
- SARKO, A.; WU, H.-C. (1978). The crystal structures of A-, B- and C-polymorphs of amylose and starch. **Starch/Stärke**, v. 30, p. 73-78.
- SCHMITT, H.; GUIDEZ, A.; PRASHANTHA, K.; SOULESTIN, J.; LACRAMPE, M.F.; KRAWCZAK, P. (2015). Studies on the effect of storage time and plasticizers on the structural variations in thermoplastic starch. **Carbohydrate Polymers**, v. 115, p. 364-372.
- SCHWARTZBERG, H.G. (1986). Modeling of gas vapor transport through hydrophilic films. In: MATHLOUTHI, M. (Ed.). **Food packaging and preservation**. New York, USA: *Elsevier Science Publishing Co.*, p. 115-135.
- SEBRAE (2015). <http://www.sebraemercados.com.br/panorama-do-setor-de-embalagens/>. (Acesso em 19.01.2016).
- SELIGRA, P.G.; JARAMILLO, C.M.; FAMÁ, L.; GOYANES, S. (2016). Biodegradable and non-retrogradable eco-films based on starch–glycerol with citric acid as crosslinking agent. **Carbohydrate Polymers**, v. 138, p. 66-74.
- SHI, R.; DING, T.; LIU, Q.; HAN, Y.; ZHANG, L.; CHEN, D.; TIAN, W. (2006). In vitro degradation and swelling behaviour of rubbery thermoplastic starch in simulated body and simulated saliva fluid and effects of the degradation products on cells. **Polymer Degradation and Stability**, v. 91, n°12, p. 3289-3300.
- SILVA, J.D.F.; MADRUGA, N.A.; BEHLING, B.D.S.; PEREIRA, E.O.; MILCZARSKI, A.C.R.; RODRIGUES, R.S.; MACHADO, M.R.G. (2014). Avaliação sensorial, físico-química e microbiológica de bebida láctea fermentada adicionada de resíduo do processamento de suco de mirtilo (*Vaccinium myrtillus*, L.). **Anais XX Congresso Brasileiro de Engenharia Química**, Florianópolis/SC.
- SILVA, W.A.; PEREIRA, J.; CARVALHO, C.W.P.; FERRUA, F.Q. (2007). Determination of color, topographic superficial image and contact angle of the biofilms of different starch sources. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 31, p. 154-163.
- SILVA-PEREIRA, M.P.; TEIXEIRA, J.A.; PEREIRA-JÚNIOR, V.A.; STEFANI, R. (2015). Chitosan/corn starch blend films with extract from *Brassica oleraceae* (red cabbage) as a visual indicator of fish deterioration. **LWT – Food Science and Technology**, v. 61, p. 258-262.
- SINGH, N.; CHAWLA, D.; SINGH, J. (2004). Influence of acetic anhydride on physicochemical, morphological and thermal, rheological properties of corn and potato starch. **Food Chemistry**, v. 86, p. 601-608.
- SINGH, N.; KAUR, L.; SANDHU, K.S.; KAUR, J.; NISHINARI, K. (2006). Relationships between physicochemical, morphological, thermal, rheological properties of rice starches. **Food Hydrocolloids**, v. 20, p. 532-542.

SINGH, N.; SINGH, J. KAUR, L.; SODHI, N.S.; GILL, B.S. (2003). Morphological, thermal and rheological properties of starches from different botanical sources- Review. **Food Chemistry**, v. 81, p. 219-231.

SOBRAL, P.J.A. (2000). Influência da espessura de biofilmes feitos à base de proteínas miofibrilares sobre suas propriedades funcionais. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 35, p. 1-14.

SONG, X.; ZUO, G.; CHEN, F. (2017). Effect of essential oil and surfactant on the physical and antimicrobial properties of corn and wheat starch films. **International Journal of Biological Macromolecules**. "in press".

SOTERO, A.P. (2000) Plásticos biodegradáveis trazem melhoria ambiental. **Jornal de Plásticos**, 1017/1018.

SOTHORNVIT, R.; KROCHTA, J.M. (2000). Plasticizer effect on oxygen permeability of β -lactoglobulin films. **Journal of Agricultural Food Chemistry**, v. 48, p. 6298-6302.

SOTHORNVIT, R.; PITAK, N. (2007). Oxygen permeability and mechanical properties of banana films. **Food Research International**, v. 40, n^o3, p. 365-370.

SOUZA, A.C.; DITCHFIELD, C.; TADINI, C.C. (2010). Biodegradable films based on biopolymer for food industries. In: **M.L. Passos & C.P. Ribeiro (Eds). Innovation in Food Engineering: New techniques and products**, Boca Raton, FL: CRC Press, p. 511-537.

SOUZA, R.C.R.; ANDRADE, C.T. (2000). Investigação dos processos de gelatinização e extrusão de amido de milho. **Polímeros: Ciência e Tecnologia**, v. 10, p. 24-30.

SPADA, J. C.; SILVA, E. M.; TESSARO, I. C. (2014). Production and characterization of *pinhão* starch biofilms. **Brazilian Journal of Agricultural Sciences / Revista Brasileira de Ciências Agrárias**, v. 9, p. 365-369.

SU, M.S.; CHIEN, P.J. (2007). Antioxidant activity, anthocyanins, and phenolics of rabbiteye blueberry (*Vaccinium ashei*) fluid products as affected by fermentation. **Food Chemistry**, v. 104, p. 182-187.

SUCIU, N.A.; TIBERTO, F.; VASILEIADIS, S.; LAMASTRA, L.; TREVISAN, M. (2013). Recycled paper-paperboard for food contact materials: Contaminants suspected and migration into foods and food simulant. **Food Chemistry**, v. 141, n^o4, p. 4146-4151.

SUI, X.; ZHANG, Y.; ZHOU, W. (2016). Bread fortified with anthocyanin-rich extract from black rice as nutraceutical sources: Its quality attributes and in vitro digestibility. **Food Chemistry**, v. 196, p. 910-916.

SUN, L.; SUN, J.; CHEN, L.; NIU, P.; YANG, X.; GUO, Y. (2017). Preparation and characterization of chitosan film incorporated with thinned young apple polyphenols as an active packaging material. **Carbohydrate Polymers**, v. 163, p. 81-91.

ŠUPUT, D.; LAZIĆ, V.; PEZO, L.; MARKOV, S.; VAŠTAG, Z.; POPOVIĆ, L.; RADULOVIĆ, A.; OSTOJIĆ, S.; ZLATANOVIĆ, S.; POPOVIĆ, S. (2016). Characterization of Starch Edible Films with Different Essential Oils Addition. **Polish Journal of Food and Nutrition Sciences**, v. 66, n^o4, p. 277-285.

SWINKELS, J.J.M. (1985). Composition and properties of commercial native starches. **Starch/Stärke**, v. 37, p.1-5.

- TALJA, R.A.; HELEN, H.; ROOS, Y.; JOUPLIA, K. (2008). Effect of type and content of binary polyol mixtures on physical and mechanical properties of starch-based edible films. **Carbohydrate Polymers**, v. 71, p. 269-276.
- TATARA, R.A. (2017). Compression Molding. *Applied Plastics Engineering Handbook (Second Edition)*. In **Processing, Materials, and Applications**, Chapter 14, p. 291-320.
- TERCI, D.B.L.; ROSSI, A.V. (2002). Indicadores naturais de pH: usar papel ou solução? **Química Nova**, v. 25, n^o4, p. 684-688.
- THARANATHAN, R. N. (2003). Biodegradable films and composite coatings: past, present and future. **Trends in Food Science and Technology**, Oxford, v. 14, n^o3, p. 71-78.
- THIRÉ, R.M.S.M.; SIMÃO, R.A.; ANDRADE, C.T. (2003) High resolution imaging of the microstructure of maize starch films. **Carbohydrate Polymers**, v. 54, p. 149-158.
- TIAN, Y.; ZHANG, H.; ZHANG, Z. (2017). Influence of nanoparticles on the interfacial properties of fiber-reinforced-epoxy composites. **Composites Part A: Applied Science and Manufacturing**, v. 98, p. 1-8.
- TIMBERLAKE, C. F.; BRIDLE, P. (1975). *The Flavonoids*; Harbone, J. B.; Mabry, T. J.; Mabry, H., ed.; Academic Press: New York, 223 p.
- TONGDEESOONTORN, W.; MAUER, L.J.; WONGRUONG, S.; SRIBURI, P.; RACHTANAPUN, P. (2011). **Chemistry Central Journal**, v.5, n^o6, p.1-8.
- TORRES, F.G., TRONCOSO, O.P., TORRES, C., DÍAZ, D.A., AMAYA, E. (2011). Biodegradability and mechanical properties of starch films from Andean crops. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 48, n^o4, p. 603-606.
- TOVAR, L.; SALAFRANCA, J.; SANCHEZ, C.; NERIN, C. (2005). Migration studies to assess the safety in use of a new antioxidant active packaging. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 53, p. 5270-5275.
- TREVISAN, M.G.; POPPI, R.J. (2006). Química Analítica de Processos. **Química Nova**, v. 29, n^o5, p. 1065-1071. ISSN 0100-4042.
- TSAI, M.L.; LI, C.F.; LII, C.Y. (1997). Effects of granular structures on the pasting behaviors of starches. **Cereal Chemistry**, v. 74, n^o6, p. 750-757.
- UE N^o 10 (2011). EU 2016/1416. REGLAMENTO DE LA UNIÓN EUROPEA (UE) DE LA COMISIÓN de 14 de enero de 2011 sobre materiales y objetos plásticos destinados a entrar en contacto con alimentos. Directives 80/590/EEC and 89/109/EEC. **Official Journal of the European Union (2004)**, p. L338/4.
- VALENZUELA, C.; ABUGOCH, L.; TAPIA, C. (2013). Quinoa protein-chitosan-sunflower oil edible film: Mechanical, barrier and structural properties. **LWT - Food Science and Technology**, v. 50, p. 531-537.
- VAN SOEST, J.G.; Vliegenthart, J.F.G. (1997). Crystallinity in starch plastics: consequences for material properties. **TIBTECH**, v. 15, p. 208-213.
- VANDERROOST, M.; RAGAERT, P.; DEVLIEGHERE, F.; DE MEULENAER, B. (2014): Intelligent food packaging: The next generation. **Trends in Food Science & Technology**, v. 39, p. 47-62.

- VARGAS, M.; ALBORS, A.; CHIRALT, A.; GONZÁLEZ-MARTÍNEZ, C. (2009). Characterization of chitosan-oleic acid composite films. **Food Hydrocolloids**, 23, 536-547.
- VEIGA-SANTOS, P.; DITCHFIELD, C.; TADINI, C.C. (2011). Development and evaluation of a novel pH indicator biodegradable film based on cassava starch. **Journal of Applied Polymer Science**, v. 120, p. 1069-1079.
- VELASQUEZ, D.; PAVON-DJAVID, G.; CHAUNIER, L.; MEDDAHI-PELLÉ, A.; LOURDIN, D. (2015). Effect of crystallinity and plasticizer on mechanical properties and tissue integration of starch-based materials from two botanical origins. **Carbohydrate Polymers**, v. 124, p. 180-187.
- VICENTINI, N.M. (2003). Elaboração e caracterização de filmes comestíveis à base de fécula de mandioca para uso em pós-colheita. **Doutorado em Agronomia** – Faculdade de Ciências Agrônômicas, Universidade Estadual Paulista, Botucatu, 198 p.
- VIEIRA, M.G.A.; DILVA, M.A.; DOS SANTOS, L.O.; BEPPU, M.M. (2011). Natural-based plasticizers and biopolymer films: A review. **European Polymer Journal**, v. 47, p. 254-263.
- VILPOUX, O. (2016). Pesquisador do CeTeAgro/UCDB; <http://bioplasticnews.blogspot.com.br/2009/08/o-mercado-de-amido-no-mundo-materia.html>, acesso em 11 de maio de 2017.
- WANG, G.; YU, W.; HU, H.; HAN, Y.; WEI, X.; YE, T.; PING, K.; XU, X.; LIAN, Z.; HONG, G. (2017). Evaluation of the spoilage potential of bacteria isolated from chilled chicken in vitro and in situ. **Food Microbiology**, v. 63, p. 139-146.
- WANG, J.; ZHENGYU, J.; XIAOPING, Y. (2007). Preparation of resistant starch from starch–guar gum extrudates and their properties. **Food Chemistry**, v. 101, p. 20-25.
- WANG, W.; WANG, K.; XIAO, J.; LIU, Y.; ZHAO, Y.; LIU, A. (2017). Performance of high amylose starch-composited gelatin films influenced by gelatinization and concentration. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 94, p. 258-265.
- WEBER, F.H.; COLLARES-QUEIROZ, F.P.; CHANG, Y.K. (2009). Caracterização físico-química, reológica, morfológica e térmica dos amidos de milho normal, ceroso e com alto teor de amilose. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 29, n^o4, p. 748-753.
- WEI, Y.C.; CHENG, C.H.; HO, Y.C.; TSAI, M.L.; MI, F.L. (2017). Active gellan gum/purple sweet potato composite films capable of monitoring pH variations. **Food Hydrocolloids**, v. 69, p. 491-502.
- XING, J.; JIE, L.; WANG, D.; JUN, L.; ADHIKARI, B. (2017). Relationship between biphasic endotherms and multi-stage gelatinization of corn starch in excess water. **LWT - Food Science and Technology**, v. 81, p. 335-342.
- XIONG, H., TANG, S., TANG, H., ZOU, P. (2008). The structure and properties of a starch-based biodegradable film. **Carbohydrate Polymers**, v.71, p. 263–268.
- YAKIMETS, I.; PAES, S.S.; WELLNER, N.; SMITH, A.C.; WILSON, R.H.; MITCHELL, J.R. (2007) Effect of water content on the structural reorganization and elastic properties of biopolymer films: A comparative study. **Biomacromolecules**, v. 8, p. 1710-1722.
- YAM, K. L., TAKHISTOV, P. T. E MILTZ, J. (2005). Intelligent packaging: Concepts and applications. **Journal of Food Science**, v. 70, p. 1-10.

- YAN, Q.; ZHANG, J.; DONG, H.; HOU, H.; GUO, P. (2013). Properties and antimicrobial activities of starch-sodium alginate composite films incorporated with sodium dehydroacetate or rosemary extract. **Journal of Applied Polymer Science**, v. 127, n^o3, 1951-1958.
- YANG, Y.; LI, Q.; YU, X.; CHEN, X.; WANG, Y. (2014). A novel method for determining peroxide value of edible oils using electrical conductivity. **Food Control**, v. 39, p. 198-203.
- YOSHIDA, C.M.P.; MACIEL, V.B.V.; MENDONÇA, M.E.D.; FRANCO, T.T. (2014). Chitosan biobased and intelligent films: Monitoring pH variations. **LWT – Food Science and Technology**, v. 55, p. 83-89.
- YU, J.; CHANG, P.R.; MA, X. (2010). The preparation and properties of dialdehyde starch and thermoplastic dialdehyde starch. **Carbohydrate Polymers**, v. 79, p. 296-300.
- ZAFRA-STONE, S.; YASMIN, T.; BAGCHI, M.; CHATTERJEE, A.; VINSON, J. A.; BAGCHI, D. (2007). Berry anthocyanins as novel antioxidants in human health and disease prevention. **Molecular Nutrition and Food Research**, v. 51, n^o6, p. 675-683.
- ZAIDUL, I.S.M.; ABSAR, N.; KIM, S.J.; SUZUKI, T.; KARIM, A.A.; YAMAUCHI, H.; NODA, T. (2008). DSC study of mixtures of wheat flour and potato, sweet potato, cassava, and yam starches. **Journal of Food Engineering**, v. 86, p. 68-73.
- ZARDO, I. (2014). Extração e microencapsulação de compostos antociânicos do bagaço de mirtilo (*Vaccinium corymbosum* L.). **Dissertação de Mestrado**. Programa de Pós-Graduação em Engenharia Química, UFRGS, Porto Alegre, RS, 118 p.
- ZAVAREZE, E.R.; EL HALAL; S.L.M.; PEREIRA, J.M.; RADUNZ, A.L.; ELIAS, M.C.; DIAS, A.R.G. (2009). Caracterização química e rendimento de extração de amido de arroz com diferentes teores de amilose. **Brazilian Journal of Food Technology**, v. 3, p. 24-30.
- ZHAI, X.; SHI, J.; ZOU, X.; WANG, S.; JIANG, C.; ZHANG, J.; HUANG, X.; ZHANG, W.; HOLE, M. (2017). Novel colorimetric films based on starch/polyvinyl alcohol incorporated with roselle anthocyanins for fish freshness monitoring. **Food Hydrocolloids**, v. 69, p. 308-317.
- ZHANG, X.; LU, S.; CHEN, X. (2014). A visual pH sensing film using natural dyes from *Bauhinia blakeana* Dunn. **Sensors and Actuators B: Chemical**, v. 198, p. 268-273.
- ZHANG, Y.; HAN, J.H. (2006). Plasticization of Pea Starch Films with Monosaccharides and Polyols. **Journal of Food Science**, v. 71, p. E253-E261.
- ZHANG, L.; ZHANG, S.; DONG, F.; CAI, W.; SHAN, J. (2014). Antioxidant activity and in vitro digestibility of dialdehyde starches as influenced by their physical and structural properties. **Food Chemistry**, v. 149, p. 296-301.
- ZHANG, Y.R.; WANG, X.L.; ZHAO, G.M.; WANG, Y.Z. (2012). Preparation and properties of oxidized starch with high degree of oxidation. **Carbohydrate Polymers**, v. 87, p. 2554-2562.
- ZHAO, M.; WANG, P.; ZHU, Y.; LIU, X.; HU, X.; CHE, F. (2015). Blueberry anthocyanins extract inhibits acrylamide-induced diverse toxicity in mice by preventing oxidative stress and cytochrome P450 2E1 activation. **Journal of Functional Foods**, v. 14, p. 95-101.
- ZHOU, Z.; ROBARDS, K.; HELLIWELL, S.; BLANCHARD, C. (2002). Composition and functional properties of rice. **International Journal of Food Science & Technology**, v. 37, p. 849-868.

Apêndice I

Dados complementares - Metodologia para determinação do conteúdo de amilose

Reagentes:

- Álcool etílico 96% GL
- NaOH 1 M
- Ácido acético 1 M
- Solução de iodo (2%) - preparada três horas antes da análise

Curva padrão

Solução A

- 40 mg de amilose (Fazer em um erlenmeyer fechado)
- 1 mL de álcool etílico 96% GL
- 9 mL de solução de NaOH 1 N
- Aquecimento → banho-maria a 100°C por 10 min
- Resfriamento → 30 min
- Transferir para balão de 100 mL
- Completar com água destilada

Solução B (balão de 100 mL)

Solução A	1 mL	2 mL	3 mL	4 mL	5 mL
Ácido acético	0,2 mL	0,4 mL	0,6 mL	0,8 mL	1 mL
Iodo	0,4 mL	0,8 mL	1,2 mL	1,6 mL	2 mL

- Completar o balão com água destilada.

Amostra

Solução A

- 100 mg de amostra
- 1 mL de álcool etílico 96% GL
- 9 mL de solução de NaOH 1 N
- Aquecimento → banho-maria a 100°C por 10 min
- Resfriamento → 30 min
- Transferir solução para balão de 100 mL (solução A)
 - Completar com água destilada

Solução B (prepara em balão de 100 mL)

- 5 mL da solução A
- 1 mL de ácido acético 1 N
- 2 mL de solução de iodo (2%) preparada três horas antes da análise,
- completar com água destilada

O conteúdo de amilose dos amidos foi caracterizado pelo método colorimétrico, conforme Martinez e Cuevas (1989). Uma amostra de 100 mg foi transferida para um béquer de 50 mL, sendo acrescida de 1 mL de álcool etílico 96% GL e 9 mL de solução de NaOH 1 N e colocada em banho-maria a 100 °C por 10 min, e após resfriada durante 30 min. Em seguida, a solução foi transferida para um balão volumétrico de 100 mL e o volume completado com água destilada. Após, foi retirada uma alíquota de 5 mL e transferida, novamente, para balão volumétrico de 100 mL, em que foi adicionado 1 mL de ácido acético 1 N e 2 mL de solução de iodo (2 %) preparada três horas antes da análise, então, o volume de cada balão foi completado com água destilada. Para a construção da curva padrão, foram utilizados 40 mg de amilose (Amylose from potato A0512 – Sigma Aldrich) que foi submetida ao mesmo procedimento utilizado nas amostras. Foram retiradas alíquotas de 1, 2, 3, 4 e 5 mL do balão volumétrico e foram acrescidos de 0,2; 0,4; 0,6; 0,8 e 1 mL de ácido acético e de 0,4; 0,8; 1,2; 1,6 e 2 mL de iodo, respectivamente, completando-se o volume a 100 mL com água destilada. A leitura de absorbância foi realizada 30 min após adição da solução de iodo a 610 nm.

Apêndice II

Dados complementares – Metodologia para determinação do teor de antocianinas totais – Método de pH diferencial

Preparo das soluções

Tampão cloreto de potássio 0,025 M, pH 1,0: Dissolva 1,86 g de KCl em 950 mL de água ultrapura. Ajuste o pH 1,0 com HCl concentrado. Transfira a solução para balão volumétrico de 1L e complete o volume com água ultrapura.

Tampão acetato de sódio 0,4 M, pH 4,5: Dissolva 54,43 g de $\text{CH}_3\text{CO}_2\text{Na}\cdot 3\text{H}_2\text{O}$ em 850 mL de água ultrapura. Ajuste o pH 4,5 com HCl concentrado. Transfira a solução para balão volumétrico de 1L e complete o volume com água ultrapura.

OBS: Armazenar as soluções em frasco de vidro sob refrigeração. Esta solução pode ser utilizada por 1 mês, sendo que antes do uso deve ser verificado o pH (tomar cuidado para fazer a leitura em temperatura ambiente).

Procedimento

a) Diluir o extrato com Tampão cloreto de potássio (pH 1) até que apresente uma absorbância entre 0,2 e 0,8 no comprimento de onda de máxima absorção das antocianinas (~520 nm);

OBS: para não exceder a capacidade tamponante, a amostra não deve exceder 20% do volume total. Exemplo: testar a maior concentração da amostra usando 400 μL de amostra e 1600 μL de tampão.

b) Após definir a diluição da amostra, preparar a amostra em Tampão cloreto de potássio (pH 1) em tubo de ensaio, agitar em vortex e armazenar por 10 minutos no escuro;

c) Também preparar a amostra em Tampão acetato de sódio (pH 4,5) em tubo de ensaio, agitar em vortex e armazenar por 10 minutos no escuro;

d) Medir a absorbância no comprimento de máxima absorção das antocianinas (~520 nm) e a 700 nm, em pH 1 e pH 4,5.

OBS 1: todas as leituras devem ser feitas entre 15 minutos e 1 hora após o preparo da amostra, pois períodos mais longos tendem a aumentar a leitura das amostras.

OBS 2: as amostras não devem conter sedimentos. No entanto, alguns materiais coloidais podem estar suspensos na amostra, causando difusão de luz e turbidez. Esse erro será corrigido por leituras em λ onde nenhuma absorbância da amostra ocorre (700 nm).

e) Calcule a absorbância da amostra diluída (A):

$$A = (A_{\lambda_{\text{máx}}} - A_{700})_{\text{pH } 1,0} - (A_{\lambda_{\text{máx}}} - A_{700})_{\text{pH } 4,5}$$

f) Cálculo da concentração de antocianinas monoméricas:

$$\text{ATM (mg/L)} = (A \times \text{MM} \times \text{FD} \times 1000) / (\epsilon \times 1)$$

Sendo:

A= absorbância

MM= massa molar da antocianina predominante na amostra

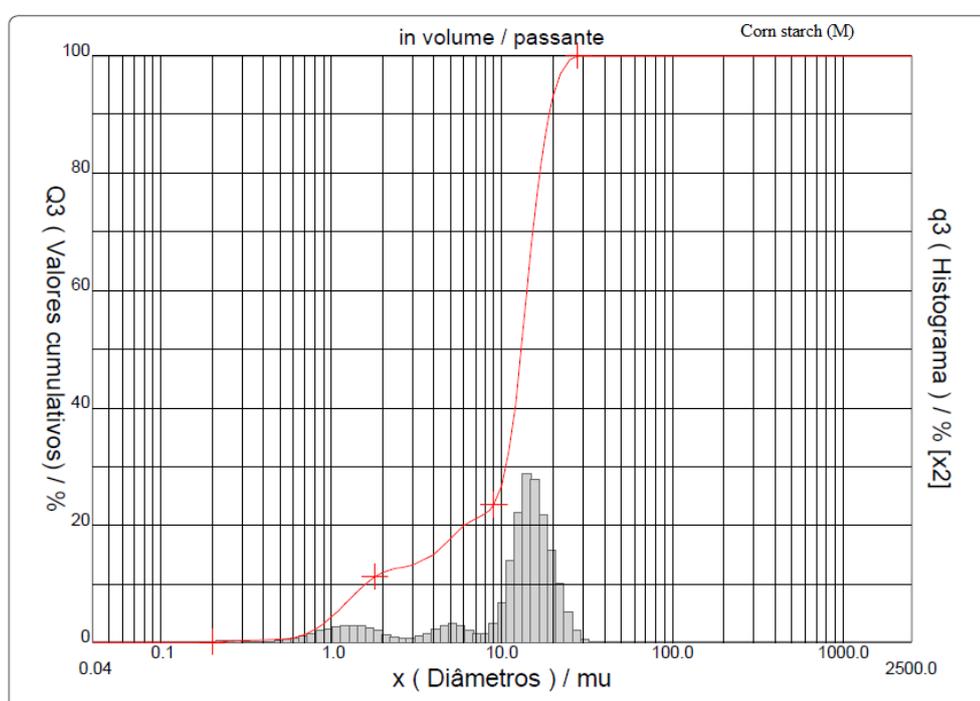
FD= fator de diluição

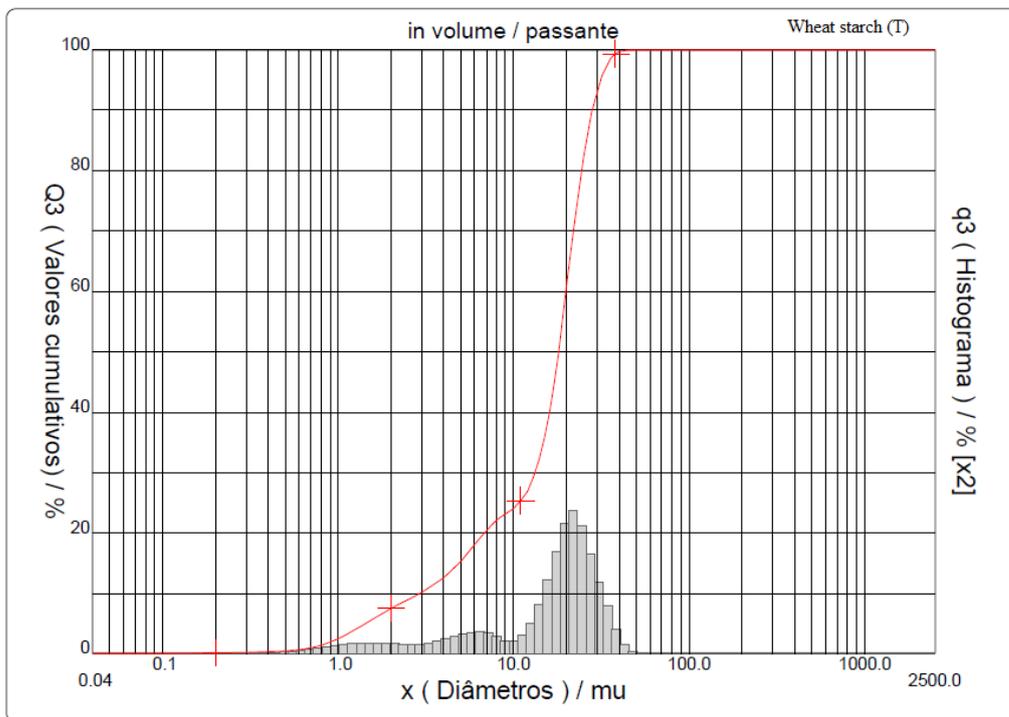
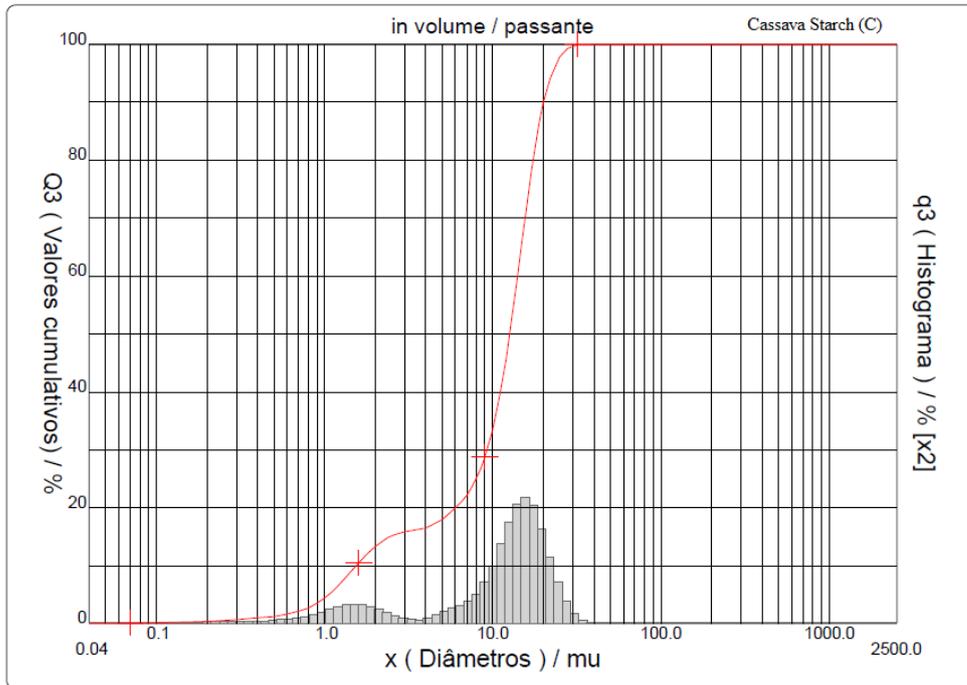
ϵ = absortividade molar

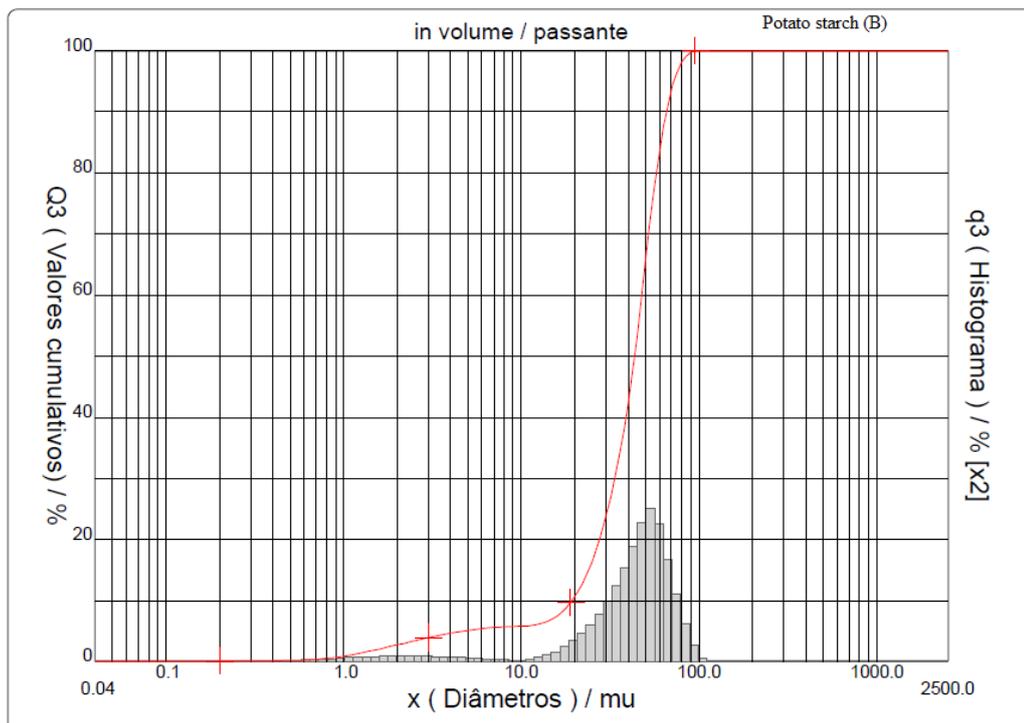
Utilizar a cianidina-3-glucosídeo como base, para fins de comparação com a literatura. Para essa antocianina $\text{MM} = 449,2 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$ e $\epsilon = 26.900 \text{ L}\cdot\text{mol}^{-1}\text{cm}^{-1}$.

Apêndice III

Dados complementares - Análise granulométrica dos amidos

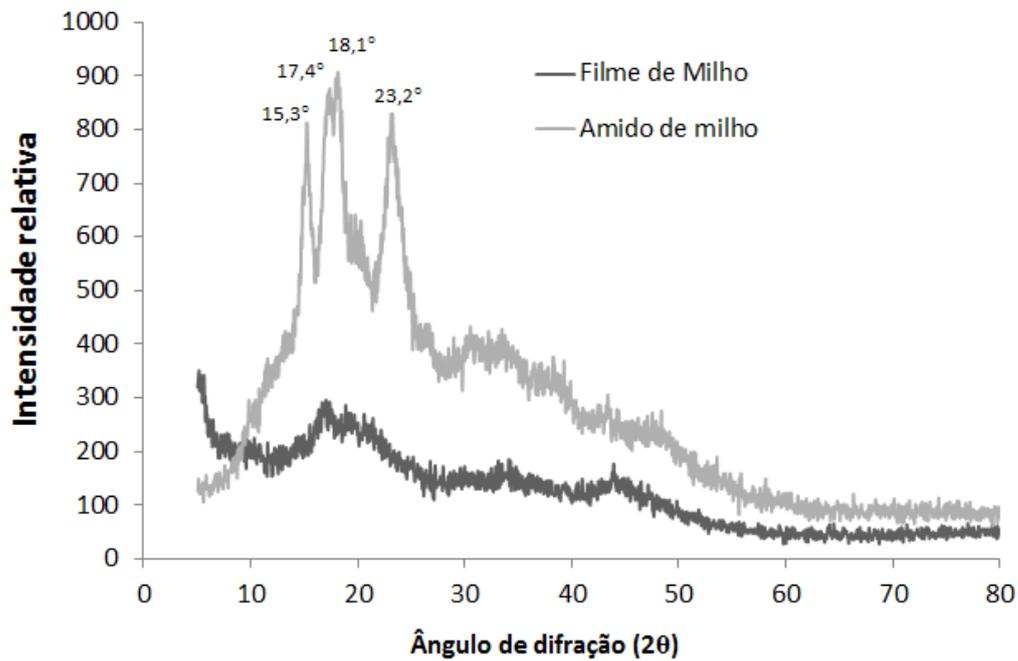




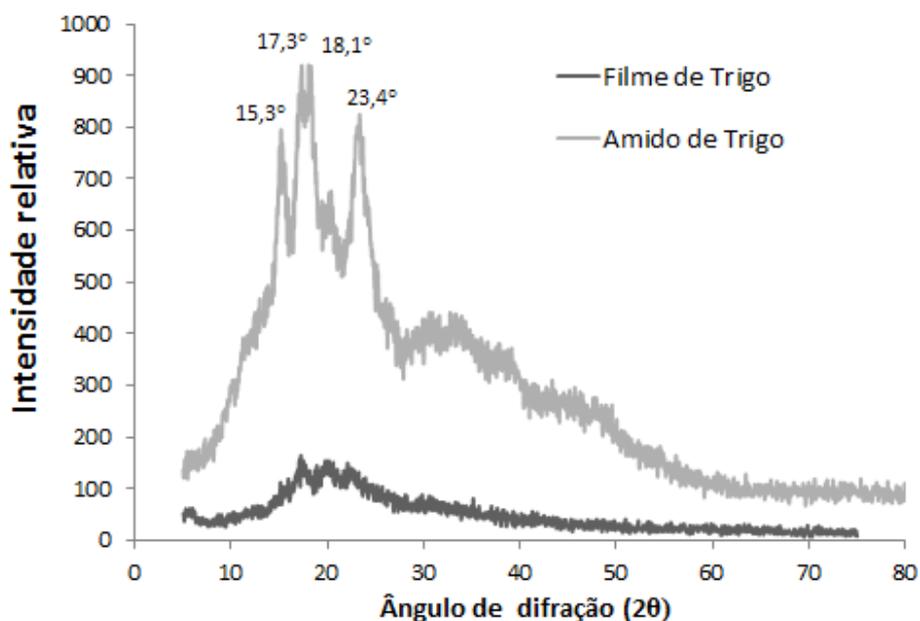


Apêndice IV

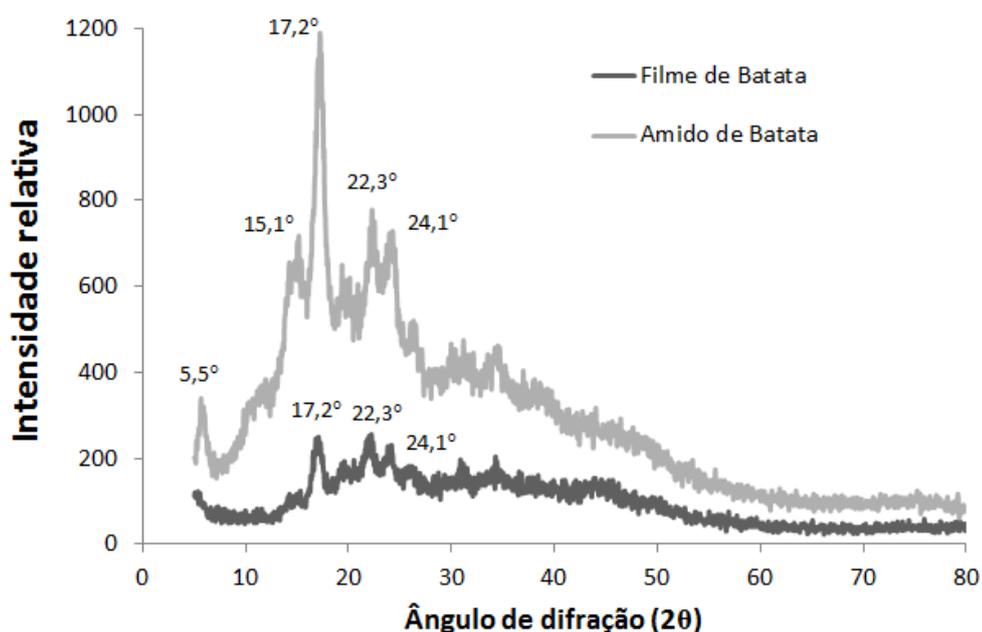
Dados complementares - Difração de raios-X comparativa: grânulo x filme.



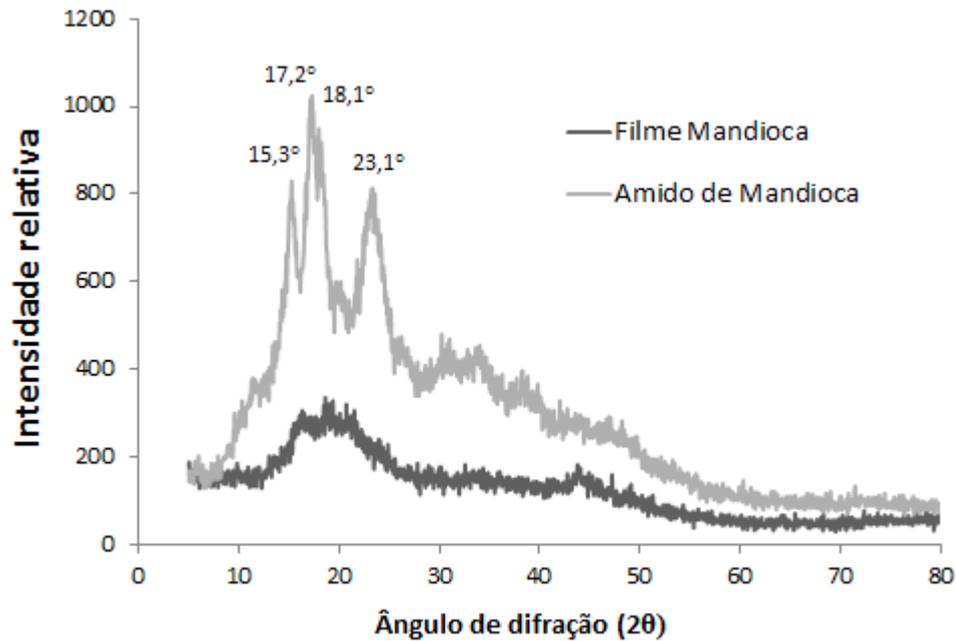
Cristalinidade do amido de milho e do filme de amido de milho (formulação 4 g por 100 mL de solução produzido por *casting*). O grânulo de amido de milho possui padrão A de cristalinidade e apresenta picos de intensidade de refração para os ângulos 2θ: 15; 17; 18 e 23°, sendo típico dos amidos de cereais (exemplo: milho, arroz, trigo).



Cristalinidade do amido de trigo e do filme de amido de trigo (formulação 4 g por 100 mL de solução produzido por *casting*). O grânulo de amido de trigo possui padrão A de cristalinidade e apresenta picos de intensidade de refração para os ângulos 2θ : 15; 17; 18 e 23°, sendo típico dos amidos de cereais (exemplo: milho, arroz, trigo).



Cristalinidade do amido de batata e do filme de amido de batata (formulação 4 g por 100 mL de solução produzido por *casting*). O padrão B de cristalinidade apresenta maiores picos de intensidade de refração para os ângulos 2θ : 5,6; 15; 17; 22 e 23°, sendo mais comum nos amidos de tuberosas, sendo o representante mais típico de batata com o pico a 5,6°.



Cristalinidade do amido de mandioca e do filme de amido de mandioca (formulação 4 g por 100 mL de solução produzido por *casting*). O grânulo de amido de mandioca: padrão C de cristalinidade, sendo este, uma mistura dos tipos A e B. Classifica-se do tipo C por apresentar características de A e B, mas predominantemente A. Este tipo compreende os amidos de mandioca, ervilha e algumas variedades de feijão.

Apêndice V

Dados complementares – Análise colorimétrica

Parâmetros colorimétricos (L^* , a^* , b^*) obtidos para os filmes de amido de mandioca (4 g por 100 mL de solução) contendo resíduo de mirtilo em diferentes granulometrias (C4GMI e C4GMI100) produzidos por *casting* após imersão em soluções tampão com diferentes valores de pH em comparação com os parâmetros colorimétricos (L^* , a^* , b^*) obtidos para os mesmos filmes após imersão em soluções aquosas (sacarose, salina, proteica) usadas como simulante e/ou alimentos.

Parâmetros colorimétricos

C4GMI		C4GMI100	
Solução tampão (pH 6)	Água destilada (pH 5,6)	Solução tampão (pH 6)	Água destilada (pH 5,6)
L^* 43,45	L^* 43,47	L^* 35,51	L^* 34,36
a^* 3,53	a^* 7,07	a^* 5,17	a^* 13,14
b^* 4,47	b^* 3,25	b^* 3,20	b^* 4,73
$\Delta E^*_{ab} = 3,7$		$\Delta E^*_{ab} = 8,2$	

Parâmetros colorimétricos

C4GMI				C4GMI100			
Solução tampão (pH 6)		Solução de sacarose (5 e 10%)		Solução tampão (pH 6)		Solução de sacarose (5 e 10%)	
L*	43,45	L*	37,23	L*	35,51	L*	33,9
a*	3,53	a*	7,99	a*	5,17	a*	12,41
b*	4,47	b*	3,33	b*	3,2	b*	2,71
$\Delta E^*_{ab} = 7,7$				$\Delta E^*_{ab} = 7,4$			
Solução tampão (pH 7)		Solução salina (5 e 10%)		Solução tampão (pH 7)		Solução salina (5 e 10%)	
L*	42,18	L*	40,60	L*	32,61	L*	35,61
a*	1,9	a*	7,84	a*	1,55	a*	10,83
b*	3,92	b*	4,19	b*	1,19	b*	2,03
$\Delta E^*_{ab} = 6,2$				$\Delta E^*_{ab} = 9,8$			
Solução tampão (pH 6)		Solução de proteína de soja (5%)		Solução tampão (pH 6)		Solução de proteína de soja (5%)	
L*	43,45	L*	43,31	L*	35,51	L*	40,44
a*	3,53	a*	1,84	a*	5,17	a*	2,31
b*	4,47	b*	3,21	b*	3,2	b*	3,11
$\Delta E^*_{ab} = 2,1$				$\Delta E^*_{ab} = 5,7$			

Parâmetros colorimétricos

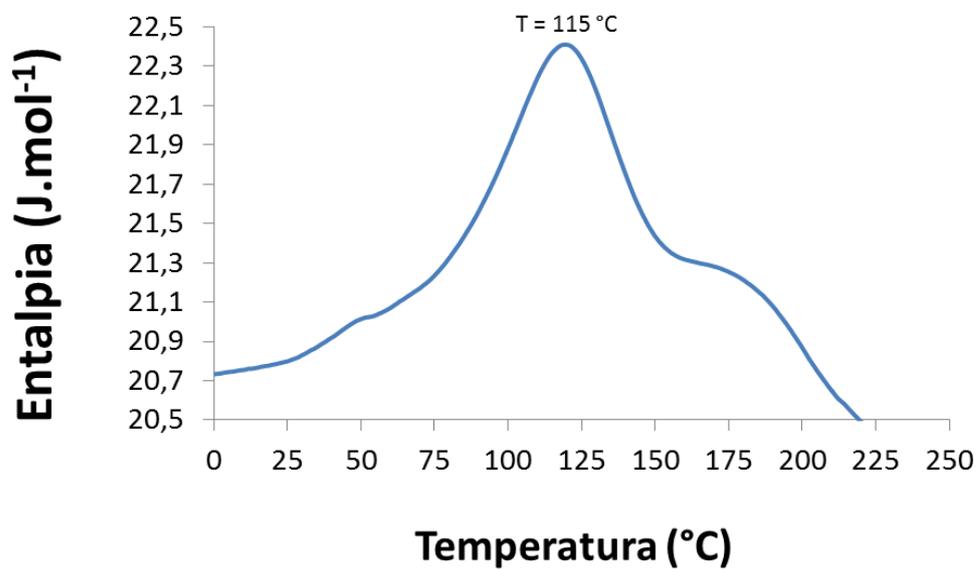
C4GMI				C4GMI100			
Solução tampão (pH 6)		Solução de proteína do leite (5%)		Solução tampão (pH 6)		Solução de proteína do leite (5%)	
L*	43,45	L*	38,84	L*	35,51	L*	34,48
a*	3,53	a*	4,26	a*	5,17	a*	5,97
b*	4,47	b*	3,99	b*	3,2	b*	2,86
$\Delta E^*_{ab} = 4,7$				$\Delta E^*_{ab} = 1,3$			
Solução tampão (pH 6)		Óleo de milho (pH 6)		Solução tampão (pH 6)		Óleo de milho (pH 6)	
L*	43,45	L*	36,77	L*	35,51	L*	33,43
a*	3,53	a*	12,97	a*	5,17	a*	13,87
b*	4,47	b*	1,68	b*	3,2	b*	2,58
$\Delta E^*_{ab} = 11,9$				$\Delta E^*_{ab} = 9,0$			

**O filme C4GMI contém a fração retida na peneira de 100 *mesh* e o filme C4GMI100 contém a fração que passou pela peneira de 100 *mesh*.

**Os valores de ΔE^* correspondem à diferença de cor entre o filme após imersão em solução tampão e após a imersão na solução aquosa usada como simulante e/ou no alimento, nos respectivos valores de pH.

Apêndice VI

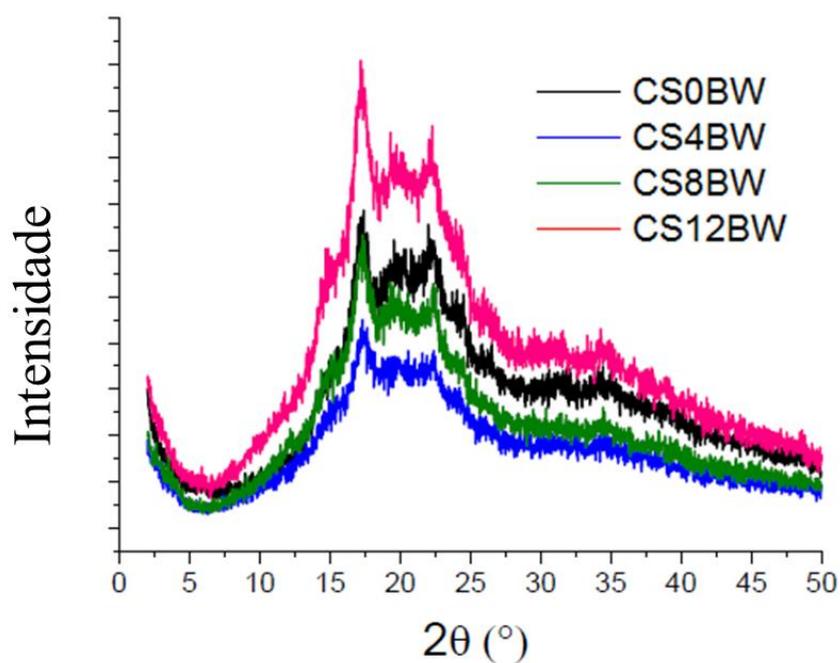
Dados complementares - Termograma do resíduo de mirtilo (fração com prévio branqueamento do fruto que passou pela peneira de 100 *mesh*) obtido por Calorimetria Exploratória Diferencial (DSC)



Apêndice VII

Dados complementares – Resultado da análise de difração de raios X.

Avaliação da estrutura cristalina dos filmes à base de amido de mandioca (CS) contendo diferentes teores de resíduo de mirtilo (BW: 0, 4, 8 e 12% em relação ao teor de amido, respectivamente) produzidos por *casting*. Essa parte do trabalho foi realizada na UPV / EHU.



Apêndice VIII - Lista de publicações decorrentes da Tese

1. Artigos publicados em periódicos de alto impacto:

LUCHESE, C.L.; SPADA, J.C.; TESSARO, I.C. (2017). *Starch content affects physicochemical properties of corn and cassava starch-based films. **Industrial Crops and Products***, v. 109, p. 619-626.

LUCHESE, CLÁUDIA LEITES; SPEROTTO, NATALIA; SPADA, JORDANA CORRALO; TESSARO, ISABEL CRISTINA. (2017). *Effect of blueberry agroindustrial waste addition to corn starch-based films for the production of a pH indicator film. **International Journal of Biological Macromolecules***, v. 104, p. 11-18.

LUCHESE, CLÁUDIA LEITES; GARRIDO, TÂNIA; SPADA, JORDANA CORRALO; TESSARO, ISABEL CRISTINA; DE LA CABA, KORO. (2018). *Development and characterization of cassava starch films incorporated with blueberry pomace. **International Journal of Biological Macromolecules***, v. 106, p. 834-839.

2. Artigos submetidos (revisions being processed – revisions required):

CLÁUDIA LEITES LUCHESE, PATRÍCIA BENELLI, JORDANA CORRALO SPADA, ISABEL CRISTINA TESSARO. *Impact of the starch source on physicochemical properties and biodegradability of different starch-based films. **Journal of Applied Polymer Science***.

CLÁUDIA LEITES LUCHESE, VANESSA FERREIRA ABDALLA, JORDANA CORRALO SPADA, ISABEL CRISTINA TESSARO. *Evaluation of blueberry residue incorporated cassava starch film as pH indicator in different simulants and foodstuffs. **Food Hydrocolloids***.

3. Artigos submetidos (*under review*):

CLÁUDIA LEITES LUCHESE, JONE URANGA, JORDANA CORRALO SPADA, ISABEL CRISTINA TESSARO, KORO DE LA CABA. *Hydrophobic cassava starch films prepared with blueberry waste by compression molding*. **International Journal of Biological Macromolecules**, *under review*.

4. Trabalhos completos publicados em anais de eventos:

LUCHESE, C.L.; SPEROTTO, N.; SPADA, J.C.; TESSARO, I.C. (2015). Desenvolvimento de embalagens biodegradáveis à base de amido de milho e amido de mandioca. **In: XIV Oktoberforum – Programa de Pós-Graduação em Engenharia Química - PPGEQ – Universidade Federal do Rio Grande do Sul**. Porto Alegre, Brasil.

LUCHESE, C.L.; BENELLI, P.; SPADA, J.C.; TESSARO, I.C. (2016). Avaliação da influência da incorporação de diferentes resíduos agroindustriais em filmes à base de amido de mandioca. **In: FIEMACON - 5º Congresso Internacional de Tecnologia para o Meio Ambiente**. Bento Gonçalves, RS, Brasil.

LUCHESE, CLÁUDIA LEITES; MACHADO, MARTINS CAROLINE; BENELLI, PATRÍCIA; SPADA, JORDANA CORRALO; TESSARO, ISABEL CRISTINA. (2016). Avaliação da capacidade de formação de filmes de amido de milho. **In: XXV Congresso Brasileiro de Ciência e Tecnologia de Alimentos**, 2016, Gramado, RS, Brasil.

LUCHESE, C.L.; FRICK, J.M.; SPADA, J.C.; TESSARO, I.C. (2017). Avaliação da influência da granulometria de resíduos agroindustriais na mudança de coloração de filmes à base de amido de milho após imersão em soluções tampão com diferentes valores de pH. **In: 14º Congresso Brasileiro de Polímeros**, 2017, Águas de Lindóia, SP, Brasil.

5. Resumos publicados em anais de eventos:

LUCHESE, C.L.; SPEROTTO, N.; SPADA, J.C.; TESSARO, I.C. (2015). *Biodegradable films development from different starches*. In: **INNOVA-CIBIA, Desafíos, avances e innovación en el procesamiento de alimentos**. Montevideo, Uruguay.

LUCHESE, C.L.; SPEROTTO, N.; SPADA, J.C.; TESSARO, I.C. (2015). *Evaluation of biodegradable films as intelligent food packaging*. In: **INNOVA-CIBIA, Desafíos, avances e innovación en el procesamiento de alimentos**. Montevideo, Uruguay.

LUCHESE, CLÁUDIA LEITES; ALAITZ ETXABIDE; J.C. SPADA; TESSARO, ISABEL CRISTINA; CABA, K.L. (2017). *Cassava starch films with blueberry waste powder: migration into food simulant solutions*. In: **MATBIM Conference 4th International Meeting on Material/Bioproduct Interaction**, 2017, Porto, Portugal. MATBIM 2017/CORK SUPPLY.

6. Prêmio de melhor pôster

LUCHESE, CLÁUDIA LEITES; ALAITZ ETXABIDE; J.C. SPADA; TESSARO, ISABEL CRISTINA; CABA, K.L. (2017). *Cassava starch films with blueberry waste powder: migration into food simulant solutions*. In: **MATBIM Conference 4th International Meeting on Material/Bioproduct Interaction**, 2017, Porto, Portugal. MATBIM 2017/CORK SUPPLY.