

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE PONTA GROSSA

Pró Reitoria de Pesquisa e Pós-Graduação

Programa de Pós-Graduação *Stricto sensu*

Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos

TAÍS CARDOSO

AVALIAÇÃO DA *Spirulina platensis* NA PRODUÇÃO DE BIOFILMES DE DERIVADOS
DE MANDIOCA E GELATINA COM APLICAÇÃO EM PIMENTA CAMBUCI (*Capsicum*
sp.)

PONTA GROSSA

2017

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE PONTA GROSSA

Pró Reitoria de Pesquisa e Pós-Graduação

Programa de Pós-Graduação *Stricto sensu*

Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos

TAÍS CARDOSO

AVALIAÇÃO DA *Spirulina platensis* NA PRODUÇÃO DE BIOFILMES DE DERIVADOS DE MANDIOCA E GELATINA COM APLICAÇÃO EM PIMENTA CAMBUCI (*Capsicum* sp.)

Dissertação de Mestrado apresentada como requisito para obtenção do título de Mestre em Ciência e Tecnologia de Alimentos pelo Programa de Pós Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos da Universidade Estadual de Ponta Grossa.

Orientadora: Profa. Dra. Eliane Dalva Godoy Danesi
Co-Orientador: Prof. Dr. Ivo Mottin Demiate

PONTA GROSSA

2017

Ficha Catalográfica
Elaborada pelo Setor de Tratamento da Informação BICEN/UEPG

C228 Cardoso, Taís
Avaliação da *Spirulina platensis* na produção de biofilmes de derivados de mandioca e gelatina com aplicação em pimenta Cambuci(*Capsicum* sp.) / Taís Cardoso. Ponta Grossa, 2017.
106f.

Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos - Área de Concentração: Ciências e Tecnologia de Alimentos), Universidade Estadual de Ponta Grossa.

Orientadora: Prof^a Dr^a Eliane Dalva Godoy Danesi.

Coorientador: Prof. Dr. Ivo Mottin Demiate.

1. Embalagem polimérica.
2. Permeabilidade ao vapor d'água.
3. Solubilidade. 4. Propriedades mecânicas.
5. Conservação pós-colheita. I. Danesi, Eliane Dalva Godoy. II. Demiate, Ivo Mottin. III. Universidade Estadual de Ponta Grossa. Mestrado em Ciência e

CDD: 664.2

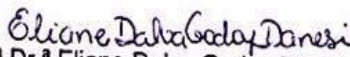
TERMO DE APROVAÇÃO

TAÍS CARDOSO

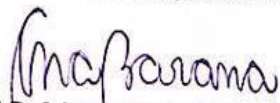
AVALIAÇÃO DA *Spirulina platensis* NA PRODUÇÃO DE BIOFILMES DE DERIVADOS DE MANDIOCA E GELATINA COM APLICAÇÃO EM PIMENTA CAMBUCI (*Capsicum sp.*).

Dissertação aprovada como requisito parcial para obtenção do grau de Mestre no Curso de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos, da Universidade Estadual de Ponta Grossa, pela seguinte banca examinadora:

Orientadora:


Prof.^a Dr.^a Eliane Dalva Godoy Danesi – UEPG /PR


Prof.^a Dr.^a Rosilene Aparecida Prestes – UTFPR


Prof.^a Dr.^a Ana Cláudia Barana – UEPG /PR

Ponta Grossa, 21 de fevereiro de 2017.

RESUMO

Os filmes biodegradáveis são embalagens alternativas, de fontes renováveis, com reduzido impacto ambiental e podem atuar na conservação de alimentos. O objetivo deste trabalho foi produzir filmes com misturas de gelatina (origem bovina), bagaço de mandioca e *Spirulina platensis*, utilizando como base uma solução de amido de mandioca e glicerol. Por meio de delineamento Simplex-Centroide para misturas de três componentes e três pontos centrais, foram obtidas 10 formulações para a realização do estudo. As propriedades avaliadas foram: umidade, espessura, densidade, gramatura, opacidade, cor, permeabilidade ao vapor d'água, solubilidade em água, intumescimento e propriedades de tração. As respostas obtidas foram modeladas para obtenção das superfícies de contorno. Os resultados mostraram que não houve diferença significativa entre as formulações para os parâmetros A_w , densidade, gramatura, espessura, resistência à tração, solubilidade e permeabilidade. Para o parâmetro cor a formulação contendo amido de mandioca e *S. platensis*, apresentou valor a^* inferior devido à presença em maior concentração do componente *S. platensis*. O intumescimento foi crescente no decorrer do período de 60 min. Nenhuma das formulações de filmes apresentou inibição do crescimento microbiano pela técnica de disco difusão. O teor de *S. platensis* nas composições filmogênicas não foi suficiente para inibição microbiana. A formulação referente à mistura ternária em proporções iguais foi aplicada em pimenta Cambuci (*Capsicum* sp.) e por meio do acompanhamento do armazenamento em temperatura ambiente e refrigeração observou-se extensão da vida útil desta matéria-prima em 5 e 6 dias, respectivamente. Assim sendo, a utilização do revestimento desenvolvido mostrou-se viável.

Palavras chave: embalagem polimérica, permeabilidade ao vapor d'água, solubilidade, propriedades mecânicas, conservação pós-colheita.

ABSTRACT

Biodegradable films are alternative packaging, from renewable sources, with reduced environmental impact and can act in food preservation. The aim of this study was to produce edible films with mixes of gelatin (bovine origin), cassava bagasse and *Spirulina platensis*, using as a basis a cassava starch solution and glycerol. By means of a Simplex-Centroid design for mixtures of three components and three central points were obtained 10 formulations for the experiment. The properties evaluated were: moisture, thickness, density, grammage, opacity, color, permeability to water vapor, water solubility, swelling, tensile properties. The responses were modeled on mathematical model to obtain the response surfaces. The results showed no significant difference between the formulations for water activity parameters, density, weight, thickness, tensile strength, solubility and permeability. The results showed no significant difference between the formulations for parameters, water activity, density, weight, thickness, tensile strength, solubility and permeability. For the color parameter the formulation containing cassava starch and *S. platensis*, presented a* value higher due to the presence in greater concentration of the component *S. platensis*. The swelling was increased during the 60 min. None of the film formulations showed inhibition of microbial growth by disc diffusion technique. The content of *S. platensis* in the filmogenic compositions was not sufficient for microbial inhibition. The formulation for the ternary mixture in equal proportions was applied in Cambuci pepper (*Capsicum* sp.) and by monitoring the storage at room temperature and refrigeration it was observed an extension of shelf life of this raw material in 5 and 6 days, respectively. Thus, the use of the developed coating proved to be feasible.

Key words: polymer packaging, permeability to water vapor, solubility, mechanical properties, post-harvest conservation.

ÍNDICE DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1.1	Estrutura química do amido.....	15
Figura 1.2	Cadeias de A) amilose e B) amilopectina.....	16
Figura 1.3	Fluxograma do processamento do amido de mandioca.....	18
Figura 1.4	Estrutura típica do bagaço de mandioca.....	20
Figura 1.5	Unidade estrutural da gelatina.....	21
Figura 1.6	Estrutura química do glicerol.....	26
Figura 2.1	Delineamento Simplex-Centroide aumentado para misturas de três componentes.....	38
Figura 2.2	Agitador mecânico para homogeneização das misturas.....	39
Figura 2.3	Superfície de contorno para o parâmetro umidade das formulações de filmes.....	51
Figura 2.4	Superfície de contorno para o parâmetro a^* para as formulações de filmes.....	54
Figura 2.5	Permeabilidade ao vapor de água das formulações de filmes.....	56
Figura 2.6	Intumescimento em HCl para as formulações de filmes.....	58
Figura 2.7	Superfície de contorno para o intumescimento em meio ácido 60 min das formulações de filmes.....	59
Figura 2.8	Intumescimento em NaHCO_3 para as formulações de filmes.....	60
Figura 2.9	Superfície de contorno para o parâmetro elongação na ruptura dos filmes biodegradáveis.....	63
Figura 2.10	FEG - Fotomicrografias da superfície morfológica dos filmes biodegradáveis.....	65
Figura 3.1	Variação das temperaturas ambiente e refrigeração durante o período de armazenamento.....	74
Figura 3.2	Aparência geral das pimentas armazenadas em temperatura ambiente....	77
Figura 3.3	Aparência geral das pimentas armazenadas em temperatura de refrigeração.....	77
Figura 3.4	Perda de massa das amostras de pimenta Cambuci durante o período de armazenamento em temperatura ambiente e sem refrigeração.....	79

LISTA DE TABELAS

Tabela 1.1	Brasil e Paraná - Área e produção de mandioca.....	13
Tabela 1.2	Teor de amilose de amidos nativos.....	17
Tabela 2.1	Delineamento experimental (DOE) 2 ² com repetição do ponto central.....	37
Tabela 2.2	Planejamento Simplex Centroide para misturas de componentes nas proporções estudadas.....	38
Tabela 2.3	Composição proximal dos constituintes das formulações de filmes (média ± desvio padrão).....	46
Tabela 2.4	Viscosidade de pico e viscosidade final para as formulações filmogênicas.....	47
Tabela 2.5	Valores médios para as variáveis: umidade, A _w , espessura, densidade e gramatura dos biofilmes produzidos com mistura de <i>S. platensis</i> , bagaço de mandioca e gelatina.....	50
Tabela 2.6	Parâmetros de luminosidade e cor para as diferentes formulações de filmes biodegradáveis.....	53
Tabela 2.7	Valores médios para a variável solubilidade em água dos biofilmes produzidos com mistura de <i>S. platensis</i> , bagaço e amido de mandioca e gelatina.....	57
Tabela 2.8	Valores médios para as variáveis: resistência máxima a tração e alongação máxima na ruptura para biofilmes produzidos com mistura de <i>S. platensis</i> , bagaço e amido de mandioca e gelatina.....	62
Tabela 3.1	Formulação dos biofilmes aplicados às pimentas.....	71
Tabela 3.2	Análises não destrutivas de cor de pimentas com e sem revestimentos armazenadas a temperatura ambiente e refrigeração.....	75
Tabela 3.3	Perda de massa durante 14 dias de armazenamento das amostras de pimenta Cambuci com e sem revestimento em temperatura ambiente e refrigeração...	80
Tabela 3.4	Textura ao longo dos 14 dias de armazenamento das amostras de pimenta Cambuci com e sem revestimento armazenadas a temperatura ambiente e refrigeração.....	82
Tabela 3.5	Acompanhamento de acidez, pH e sólidos solúveis de amostras de pimenta Cambuci com e sem revestimento armazenadas em temperatura ambiente e refrigeração.....	84

SUMÁRIO

	Introdução Geral.....	9
	Objetivos.....	10
	Objetivo Geral.....	10
	Objetivos Específicos.....	10
	CAPÍTULO 1 – REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	11
1.1	Filmes biodegradáveis.....	11
1.2	Mandioca.....	12
1.3	Componentes de filmes biodegradáveis.....	14
1.3.1	Amido de mandioca.....	14
1.3.1.1	Gelatinização.....	18
1.3.1.2	Retrogradação.....	18
1.3.2	Bagaço de mandioca.....	19
1.3.3	Colágeno hidrolisado.....	19
1.3.4	<i>Spirulina platensis</i>	22
1.3.5	Agente plastificante.....	25
1.4	Propriedades dos filmes biodegradáveis.....	26
1.4.1	Biodegradabilidade.....	27
1.4.2	Formação de filmes.....	27
1.4.3	Propriedade de barreira.....	28
1.4.4	Propriedades mecânicas.....	29
1.4.5	Solubilidade em água.....	29
1.4.6	Microestrutura.....	30
1.5	Atividade antimicrobiana.....	30
1.6	Pimenta Cambuci (<i>Capsicum</i> sp.).....	31
1.7	Delineamento de experimentos.....	32
1.8	Superfície de contorno	33

	CAPÍTULO 2 – AVALIAÇÃO DE FILMES PRODUZIDOS A PARTIR DE AMIDO E FARELO DE MANDIOCA, GELATINA E <i>Spirulina platensis</i> ATRAVÉS DE METODOLOGIA DE SUPERFÍCIE DE CONTORNO	34
	RESUMO.....	34
2.1	Introdução.....	35
2.2	Materiais e Métodos.....	36
2.2.1	Produção do biofilme.....	36
2.2.2	Caracterização dos filmes	40
2.2.3	Atividade antimicrobiana.....	44
2.2.4	Análise estatística.....	44
2.3	Resultados e Discussão.....	45
2.3.1	Caracterização dos filmes.....	45
2.3.2	Atividade antimicrobiana.....	67
2.4	Conclusão.....	68
	CAPÍTULO 3 – REVESTIMENTO DE PIMENTA CAMBUCI (<i>Capsicum</i> sp.) COM MATERIAL BIODEGRADÁVEL.....	69
	RESUMO.....	69
3.1	Introdução.....	70
3.2	Materiais e Métodos.....	71
3.2.1	Preparo das pimentas e elaboração das soluções filmogênicas.....	71
3.2.2	Revestimento.....	71
3.2.3	Análises para acompanhamento da estabilidade das pimentas nas condições experimentais.....	73
3.2.4	Análise estatística.....	73
3.3	Resultados e Discussão.....	74
3.3.1	Análises para acompanhamento da estabilidade das pimentas nas condições experimentais.....	74
3.4	Conclusão.....	84
	CAPÍTULO 4 - CONCLUSÕES GERAIS.....	85
	REFERÊNCIAS	86

Introdução Geral

Alguns tipos de películas, biofilmes ou filmes biodegradáveis podem ser empregados como coberturas ou revestimentos em alimentos, principalmente em frutas e vegetais. A função dessa aplicação consiste em estender a vida útil dos alimentos por meio de barreiras a agentes externos.

Diversas matérias-primas possuem capacidade de formar filmes, de forma isolada e em combinação como é o caso de proteínas, lipídios e polissacarídeos. A limitação do uso dessas matérias-primas ocorre devido à alta absorção de umidade e por consequência, alterações em suas propriedades. O desafio na produção de filmes formados por matérias-primas renováveis é adaptá-los, para que possam atuar em substituição as embalagens sintéticas (PAULI et al., 2011). A técnica de *casting* pode ser usada para a formação desses revestimentos. As técnicas utilizadas na caracterização dos filmes biodegradáveis são adaptações das aplicadas a polímeros sintéticos e são necessárias devido à maior sensibilidade à temperatura.

Aditivos alimentares podem ser adicionados com intuito de melhorar as propriedades dos filmes e retardar o desenvolvimento microbiológico. O uso de plastificantes é importante para que a flexibilidade e escoamento do filme apresentem melhor desempenho. Filmes plásticos de polímeros derivados de petróleo são amplamente utilizados pela indústria, porém apresentam como problema o descarte inapropriado gerando grande poluição ambiental. O desenvolvimento de materiais biodegradáveis tem demonstrado avanços significativos, contribuindo para o desenvolvimento sustentável, reduzindo o impacto ambiental. A aplicação de revestimentos biodegradáveis pode estender a vida útil de alimentos. Podem ser veículos de aditivos ao produto, como antioxidantes e antimicrobianos, atuando como embalagens ativas.

Estudos vêm sendo realizados testando diversas matérias-primas bem como diferentes combinações de subprodutos, com o intuito de encontrar uma formulação com propriedades que satisfaçam as necessidades do mercado. Leva-se em consideração o fator biodegradabilidade, boa formação da película, aparência, características nutricionais e econômicas. No presente trabalho teve-se como foco principal, o desenvolvimento de biofilmes combinando matérias-primas com diferentes propriedades, capazes de formar materiais de barreira ao vapor d'água e características mecânicas satisfatórias. A aplicação como revestimento de matéria-prima vegetal, como a pimenta Cambuci, além de aumentar o valor agregado e extensão de vida útil, pode apresentar potencial atividade antimicrobiana devido à incorporação de *S. platensis*.

Objetivos

Objetivo Geral

Desenvolver biofilmes à base de amido e bagaço de mandioca a partir de gelatina e *S. platensis* pela técnica de *casting* e avaliar aplicação em pimenta Cambuci sp.

Objetivos Específicos

- Avaliar as propriedades subjetivas (homogeneidade, manuseabilidade e continuidade) e físicas dos filmes desenvolvidos.
- Caracterizar os filmes quanto à densidade, permeabilidade ao vapor d'água, solubilidade e propriedades mecânicas.
- Selecionar a melhor formulação levando em conta suas propriedades de barreira, físicas e mecânicas.
- Avaliar a atividade antimicrobiana da *S. platensis* nas formulações dos filmes.
- Aplicar a melhor formulação desenvolvida em pimentas Cambuci (*Capsicum* sp.) visando extensão da vida útil.

CAPÍTULO 1 – REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

1.1 Filmes biodegradáveis

Os filmes biodegradáveis também conhecidos como biofilmes, são embalagens que podem atuar como coberturas ou revestimentos em alimentos. São formados separadamente dos alimentos e se apresentam como uma fina película. São produzidos com biopolímeros, como polissacarídeos, proteínas, lipídios e derivados (ESPITIA et al., 2014) e apresentam grande facilidade de absorção de água, o que torna seu uso limitado. A utilização desses compostos em embalagens na área de alimentos é de grande interesse, pois apresentam baixo custo e facilidade de obtenção. Dessa forma, o desafio é tornar esses filmes biodegradáveis aptos a atuarem como embalagens ativas.

Para que o filme biodegradável se forme é necessário fornecer energia na forma de calor à solução, bem como agitação constante, por tempo pré-determinado. A adição de plastificante e a secagem adequada são fundamentais para a formação de filmes com boas propriedades. A microestrutura e as propriedades dos filmes de amido dependem dos constituintes da formulação (JIMÉNEZ et al., 2012).

A adição de plastificantes como o glicerol ou sorbitol interfere na associação entre as cadeias poliméricas, tornando o biofilme mais flexível e extensível (MARAN et al., 2013). Os plastificantes mais utilizados são os polióis, que proporcionam melhoria mecânica. Também podem ser utilizados diversos aditivos, tais como agentes antimicrobianos, vitaminas, antioxidantes, aromatizantes e pigmentos (MALI; GROSSMANN; YAMASHITA, 2010).

O controle da espessura dos filmes biodegradáveis é importante para se avaliar a uniformidade dos materiais utilizados, como critério de comparação com outros filmes, além de garantir uma repetibilidade do método utilizado (LUCHESE et al., 2015). Este controle é difícil nos processos de produção do tipo *casting* devido a fatores como o nivelamento da estufa de secagem sobre a bancada e disposição do filme na placa de acrílico, fatores que exigem muita atenção.

Os biofilmes podem ser utilizados para recobrir vegetais visando aumentar a vida pós-colheita. No entanto, esse acréscimo na conservação vai depender das propriedades funcionais (barreira à umidade, gases e solutos; solubilidade em água ou lipídios; propriedades ópticas; características mecânicas e reológicas e propriedades térmicas), do polímero, do processo de obtenção, modo de aplicação, do condicionamento e da espessura (SILVA-WEISS et al., 2013). A matéria-prima que dá origem ao filme biodegradável

apresenta propriedades diferentes das sintéticas, o que dificulta o processo de sopragem e laminação (PAULI et al., 2011).

A partir de um material, com características diferenciadas, a produção de filmes biodegradáveis por laminação se torna mais fácil (CORRADINI et al., 2007; PLOTEGHER; RIBEIRO, 2013). Este material pode ser obtido por meio da incorporação de amido (máximo 50 %) ao polietileno de baixa densidade (PEBD) em extrusora. Na sequência o material passa por uma segunda extrusão ou prensagem, junto com o plastificante (MALI; GROSSMANN; YAMASHITA, 2010), formando o amido termoplástico. O desafio é tornar o processo de produção viável, adaptando-o conforme as limitações encontradas, visto que o amido é uma matéria-prima próspera (BRANDELERO; DE ALMEIDA; ALFARO, 2015).

Os métodos utilizados para a determinação das propriedades dos filmes e recobrimentos biodegradáveis são adaptações dos métodos clássicos aplicados aos materiais sintéticos. Biofilmes apresentam como características inerentes, grande sensibilidade à umidade relativa e à temperatura o que induz mudanças físicas, químicas e estruturais (NOBREGA et al., 2012).

A atuação dos filmes biodegradáveis influencia positivamente a vida útil do produto, formando uma barreira aos agentes externos, protegendo contra ações químicas e físicas do ambiente e ainda em alguns casos, podem ser ingeridos de forma simultânea com o alimento sem qualquer problema. Os biofilmes produzidos somente com amido são frágeis e menos flexíveis, possuem baixa resistência mecânica, alta hidrofiliabilidade quando comparados com polímeros sintéticos (BRANDELERO; DE ALMEIDA; ALFARO, 2015).

Filmes plásticos de polímeros sintéticos são utilizados em grande quantidade pela indústria, onde a maioria dos produtos deve ser embalada. O grande problema é o descarte inapropriado desse material, que gera poluição ambiental. Entretanto, o desenvolvimento de materiais biodegradáveis tem demonstrado avanços significativos, contribuindo para o desenvolvimento sustentável e redução de impacto ambiental.

1.2 Mandioca

A mandioca é um alimento com alto valor energético devido à sua grande quantidade de amido, encontrando-se entre os 10 primeiros produtos agrícolas do país. A produção brasileira de mandioca no ano de 2015, segundo o IBGE (2015), foi de 24.108.000 t, enquanto que a produção paranaense das raízes ficou em 17,5 % em relação a produção brasileira no mesmo ano. A área e o cultivo de mandioca entre os anos de 2007 e 2015 podem ser observados na Tabela 1.1.

Tabela 1.1 - Brasil e Paraná - Área e produção de mandioca

Anos	BRASIL		PARANÁ		PRODUÇÃO	COLOCAÇÃO
	Área (1000 ha)	Produção (1000 t)	Área (1000 ha)	Produção (1000 t)	PR/BR %	PR/BR
2007	1.491	26.541	150	3.400	12,8	3º
2008	2.009	26.703	179	3.900	14,6	3º
2009	1.797	24.404	153	3.660	15,0	3º
2010	1.817	24.967	172	4.013	16,1	2º
2011	1.757	25.349	184	4.174	16,5	2º
2012	1.758	23.045	178	4.087	17,7	2º
2013	1.560	21.484	162	3.886	18,0	2º
2014	1.571	23.142	152	3.673	15,9	2º
2015	1.620	24.108	156	4.212	17,5	2º

Fonte: IBGE, SEAB/DERAL (2015)

A mandioca é composta por água, carboidratos, sais minerais (cálcio, ferro e fósforo) e vitaminas do complexo B. É uma planta de origem tropical, pertencente à família das Euforbiáceas. O cultivo e a industrialização ocorrem em todo o Brasil, sendo a base da alimentação humana e animal em algumas comunidades rurais (DEMIATE; KOTOVICZ, 2011).

O consumo da mandioca *in natura* se expandiu devido ao surgimento do processamento mínimo, onde a raiz é disponibilizada ao consumidor limpa e sem casca. Mesmo assim, o consumo de mandioca a partir de produtos industrializados, se comparada com o consumo *in natura*, é maior. Podem ser observadas no Quadro 2.1 as diversas formas de consumo da mandioca e seus derivados. A tecnologia de fabricação desses produtos é simples, mas exige alguns cuidados no seu desenvolvimento, visto que a seleção da matéria-prima, a higiene e os cuidados durante todo o processo de fabricação, são fatores fundamentais para garantir um produto final de qualidade. Segundo Nunes; Santos; Cruz (2009) o rendimento médio pode chegar a 20-33 g/100 g e está relacionado com os equipamentos utilizados e com a variedade da mandioca.

Quadro 1.1 - Aplicações da mandioca e seus derivados.

MANDIOCA	Parte Aérea	Folhas	Alimentação animal (triturada) e humana (suplemento)		
		Hastes	Alimentação Animal (silagens, fenos e <i>in natura</i>)		
	Raiz	Alimentação Humana	Cozidas, fritas, bolos, biscoitos, pães, tortas, roscas, cremes, pudins		
		Alimentação Animal	Cruas Cozidas Desidratadas (Farinhas, Raspas e Pellets)		
		Indústria	Amido (Fécula)	Uso alimentício (amido nativo e amido modificado)	Glucose Maltose Gelatinas Féculas
				Amido Industrial (nativo e modificado)	Adesivos, Têxtil, Papel e celulose, Farmacêutica, explosivos, calçados, tintas, embutidos
			Amido Fermentado	Uso Humano/Alimentício	Confeitarias, padarias, Indústria de Biscoitos e pães
			Farinhas	Consumo Humano	Farinhas de Mesa Farinha Panificada
				Consumo Animal	Rações Balanceadas
			Raspas	Farinha de raspas	Alimentação Animal
					Alimentação Humana
				Consumo Animal	Rações Balanceadas
			Álcool	Combustível Desinfetante Bebidas Perfumarias/ Farmacêutica	

Fonte: EMBRAPA (2013)

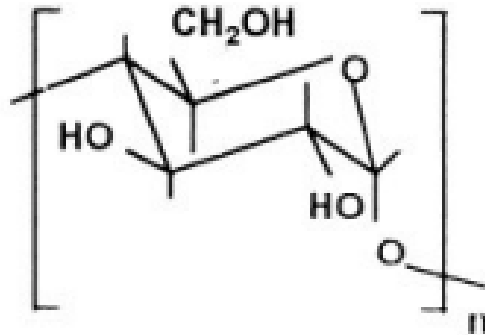
1.3 Componentes de filmes biodegradáveis

1.3.1 Amido de mandioca

Segundo Ferreira et al. (2009), o amido é a fonte de energia mais abundante, em se tratando de glicose, disponível aos humanos. O amido está presente em caules, raízes e grãos de cereais em altas proporções. É uma matéria-prima renovável, não apresenta toxicidade e pode ser degradada por micro-organismos (SHAH et al., 2016). O grânulo de amido de mandioca quando em sua forma natural não apresenta odor e gosto, o que o torna excelente matéria-prima para uso nas indústrias farmacêuticas e alimentícias (SANTOS; PIMENTEL;

KLOSOSKI, 2015). O amido é constituído de unidades de glicose como mostrada na Figura 1.1.

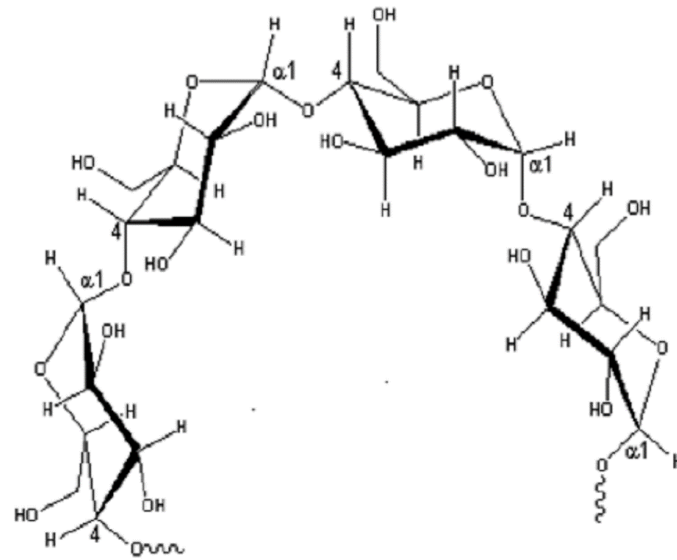
Figura 1.1 - Estrutura química do amido



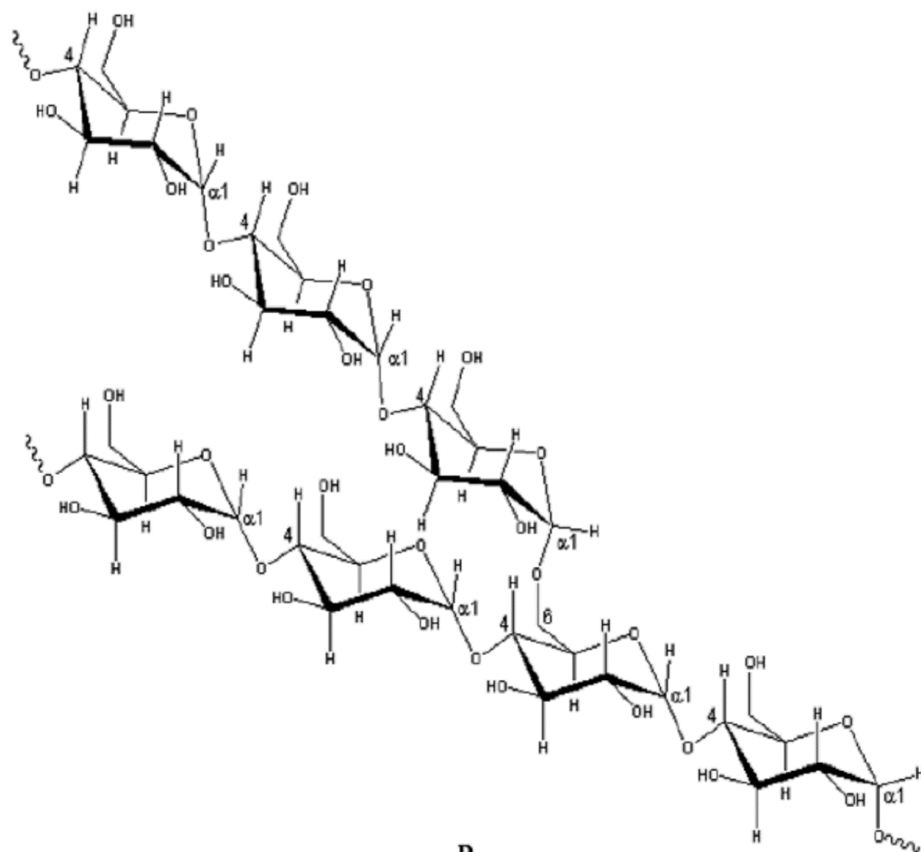
Fonte: Chandra e Rustgi (1998)

A junção entre as moléculas de glicose formam dois polissacarídeos: amilose e amilopectina. A amilose é uma cadeia linear com baixo número de ramificações, responsável pelo poder de retrogradação e normalmente representa entre 20 e 30 % do grânulo (VILAPLANA et al., 2012). A amilopectina é uma molécula de cadeia ramificada, sendo a responsável pela insolubilidade e cristalinidade do amido em água, quando fria (BENINCA et al., 2013), e corresponde a 80 g/100 g dos polissacarídeos encontrados no grânulo de amido. As cadeias de amilose e amilopectina estão representadas na Figura 1.2.

Figura 1.2 - Cadeias de amilose (A) e amilopectina (B)



A



B

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

As proporções de amilose e amilopectina variam conforme a fonte botânica da qual o amido foi extraído, como se pode ver na Tabela 1.2.

Tabela 1.2 - Teor de amilose de amidos nativos

Fonte Vegetal	Amilose (g/100 g)
Aveia	16-33
Arroz	15-25
Batata	23
Inhame	30
Mandioca	16-20
Milho	25
Trigo	20

Fonte: Alves; Grossmann e Silva (1999); Garcia (2000) e Wang e White (1994)

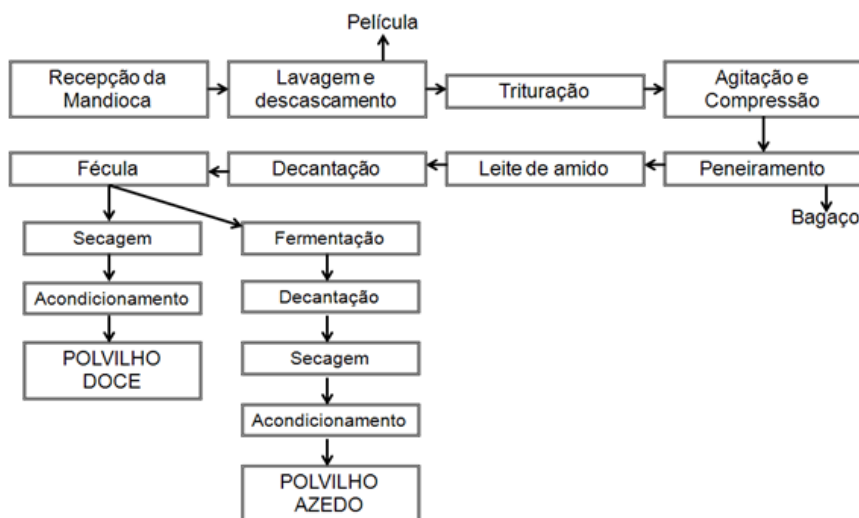
Como a raiz de mandioca apresenta um alto teor de carboidratos, a extração do amido se torna mais fácil sem grande necessidade de purificação. O amido quando disperso em água na temperatura de 60 °C produz a goma de amido devido à gelatinização do grânulo, produzindo pastas com elevada viscosidade e claridade (DEMIATE; KOTOVICZ, 2011).

A função da extração do amido era conservar as características nutricionais da raiz de mandioca. Hoje, na indústria alimentícia, o amido atua como espessante, estabilizante e ligante, devido as suas características físico-químicas de expansão, e tem a capacidade de aumentar a viscosidade dos alimentos onde é aplicado (PERRONE et al., 2011).

Segundo Leal e Neto (2013), para se obter o amido de mandioca é necessário lavar e descascar as raízes, fazer a desintegração das células por ralação, separar as fibras, sedimentar o amido e secar o material no final do processo. A extração é simples, porém, as etapas do processo geram águas residuárias.

O amido, quando modificado por oxidação, dá origem ao povilho azedo, muito utilizado em produtos como pão de queijo e biscoitos. O processo de modificação tem como objetivo alterar as características do amido para atender às necessidades da indústria de alimentos. As modificações podem ser químicas, utilizando reagentes como ácidos orgânicos e anidrido (SUI; HUBER; BEMILLER, 2013). O fluxograma do processamento é mostrado na Figura 1.3.

Figura 1.3 - Fluxograma do processamento do amido de mandioca



Fonte: Bolanho e Danesi, 2014

1.3.1.1 Gelatinização

Quando o grânulo de amido é aquecido em excesso de água, ocorre o inchamento até que as ligações de hidrogênio presentes nas cadeias de amilose e ramificações das cadeias de amilopectina sejam rompidas, permitindo o intumescimento do grânulo. A expansão dos grânulos se torna irreversível e o mesmo perde a sua birrefringência, ou seja, perde a capacidade de refratar dois raios quando uma luz polarizada passa por ele. Este fenômeno pode ser observado usando-se microscopia de luz polarizada ou observando o desaparecimento da cristalinidade evidenciada pela difração de raios X (RATNAYAKE; JACKSON, 2009).

Caso os grânulos continuem a se expandir, a amilose é solubilizada para a fase aquosa entre os grânulos, iniciando o processo de gelatinização (WANG; COPELAND, 2013). Tais propriedades estão relacionadas a vários fatores, incluindo proporção de amilose e amilopectina, tipo de cristalinidade, tamanho e estrutura do grânulo (BERNARDO; ASCHERI; DE CARVALHO, 2016). A gelatinização pode ocorrer devido à pressão, cisalhamento, solvente e moagem (SOPADE; HALLEY; JUNMING, 2004), não apenas com tratamento térmico na presença de água. Além disso, há uma temperatura específica de gelatinização para cada fonte de amido.

1.3.1.2 Retrogradação

Durante o processo de resfriamento as cadeias de amilose separadas durante a gelatinização, gradualmente vão se rearranjando em novas estruturas e, por consequência, a

força das ligações de hidrogênio entre moléculas adjacentes aumenta desencadeando o fenômeno conhecido como retrogradação (DENARDIN; DA SILVA, 2009). Esse fenômeno envolve uma rápida recristalização da amilose e recristalização lenta da amilopectina em processo contínuo (WANG et al., 2015).

O processo é melhor observado em temperatura de refrigeração, onde ocorre a formação de uma rede tridimensional durante o resfriamento, resultando no aparecimento de gel, que com o passar do tempo, apresenta a tendência de liberar água (DENARDIN; SILVA, 2009). A amilopectina, diferentemente da amilose, apresenta uma cadeia ramificada, o que dificulta o seu rearranjo e empacotamento das cadeias, com isso a formação das ligações de hidrogênio se torna mais difícil. Como resultado, têm-se filmes menos resistentes, devido à sua pasta clara e estável (XIE et al., 2014).

1.3.2 Bagaço de mandioca

As fibras vegetais são estruturas complexas que podem ser obtidas como subprodutos agroindustriais ou como atividade agrícola (JACOMETTI et al., 2015). Dentre os subprodutos gerados em grande quantidade destacam-se os subprodutos do processamento de raízes de mandioca. O bagaço pode conter teores elevados de amido residual, podendo chegar a 50 g/100 g em base seca (SILVA et al., 2009). Quando seco ao sol, pode ser utilizado em processos fermentativos, como a produção de etanol e para alimentação animal (PANICHNUMSIN et al., 2010; IYER et al., 2010).

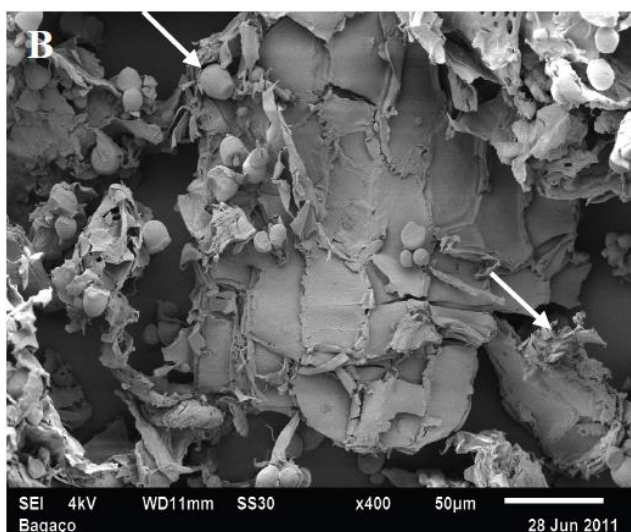
As fibras lignocelulósicas, quando não descartadas, podem ser incorporadas a outros alimentos como forma de enriquecimento, porém, ainda são necessários mais estudos para uso mais eficiente (AKARACHARANYA et al., 2011). Sua utilização é promissora na área de embalagens, por ser matéria-prima sustentável, renovável, abundante e apresentar baixo custo. Apresenta potencial como matéria-prima para a produção de recipientes, pratos e tigelas, e podem ser misturadas com poliéster para melhorar as propriedades de barreira e a degradabilidade do produto final (LI; HUNEAULT, 2011; TEIXEIRA et al., 2012).

Várias pesquisas vêm utilizando o bagaço de mandioca como matéria-prima em processos biotecnológicos (CHEN et al., 2015; LU et al., 2012; PEREIRA; FERRAZ, 2016). Durante a etapa de biodegradação, a presença de fibras induz à decomposição mais rápida devido à ação de micro-organismos atraídos pelos componentes lignocelulósicos (CHIELLINI et al., 2009).

A presença de fibras atua como material de reforço para embalagens aumentando a resistência de forma considerável, além de diminuir a solubilidade (DEBIAGE et al., 2010),

tornando-os semelhantes aos filmes sintéticos. Segundo a literatura, as fibras vegetais aplicadas em embalagens melhoram as propriedades físicas e mecânicas (MOREIRA et al., 2015; VERCELHEZE et al., 2012). O bagaço de mandioca pode ser aplicado na produção de bandejas biodegradáveis, obtendo-se materiais de boa qualidade mecânica (DEBIAGI; MARIM; MALI, 2012). Sua utilização tem como objetivo melhorar as propriedades finais do filme biodegradável e redução de custos. A estrutura de uma farinha obtida com bagaço é mostrada na Figura 1.4.

Figura 1.4 - Estrutura típica do bagaço de mandioca



Fonte: Fiorda et al. (2013)

1.3.3 Colágeno hidrolisado

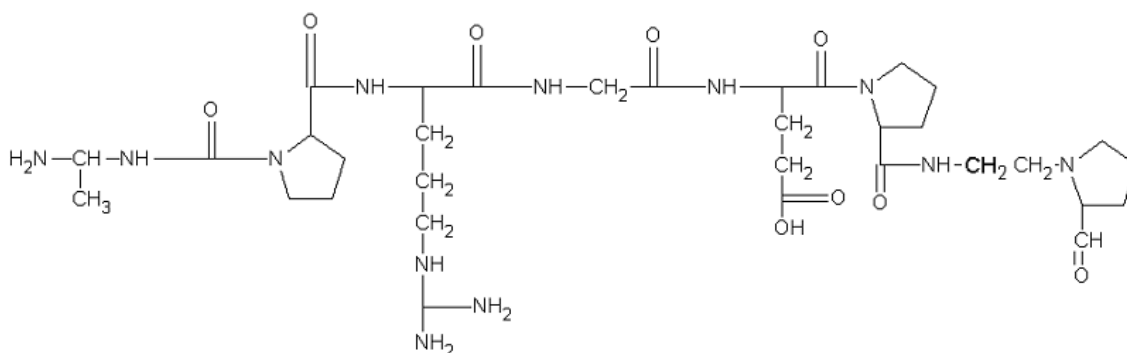
Dentre as proteínas mais utilizadas na produção de filmes biodegradáveis estão gelatina, caseína, ovoalbumina, glúten de trigo, zeína e proteínas miofibrilares (FAKHOURI, et al., 2007). Tais filmes apresentam excelentes propriedades mecânicas (flexibilidade e resistência), ópticas e sensoriais e barreira às trocas gasosas, porém, não são eficientes em conter o vapor de água (ORTIZ-ZARAMA; JIMÉNEZ-APARICIO; SOLORZA-FERIA, 2014).

A organização das cadeias peptídicas e seu enrolamento em forma de hélices fazem com que o colágeno apresente certa resistência mecânica. A grande concentração de aminoácidos hidrofóbicos faz com que apresentem insolubilidade em água, revertida apenas com hidrólise parcial forte obtendo-se colágeno hidrolisado ou gelatina (MARIOD; ADAM, 2013).

A gelatina é uma proteína de origem animal, de baixo custo, muito produzida no Brasil e aplicada nas indústrias alimentícias e farmacêuticas. Pode ser obtida por hidrólise

parcial ácida ou básica do colágeno presente em peles bovinas e suínas, ossos e tecidos conectivos (GUERRERO et al., 2011). A obtenção da gelatina é feita em etapas como extração, purificação, concentração e secagem. Uma unidade típica da gelatina tem como sequência de aminoácidos: Alanina-Glicina-Prolina-Arginina-Glicina-Glutamato-4-hidroxiprolina (resíduo)-Glicina-Prolina (CHAPLIN, 2009). A estrutura da gelatina pode ser observada na Figura 1.5.

Figura 1.5 - Unidade estrutural da gelatina



Fonte: Chaplin (2009)

O colágeno, quando hidrolisado, não contém odor e sabor, apresenta solubilidade em água em temperaturas acima de 50 °C e propriedades de formação de géis após ser aquecido e resfriado. Os filmes biodegradáveis produzidos a partir de gelatina têm boas características de formação de filmes flexíveis, barreira ao O₂ e CO₂ em umidades relativas baixas (ORTIZ-ZARAMA; JIMÉNEZ-APARICIO; SOLORZA-FERIA, 2014). Os filmes biodegradáveis podem ser obtidos por meio de solubilização, aquecimento, geleificação e desidratação da solução filmogênica (BERGO; SOBRAL, 2007).

As coberturas à base de colágeno hidrolisado são de fácil manuseio, total digestão, aparência transparente e, quando comparadas aos polissacarídeos, são superiores em relação às propriedades mecânicas e de barreira aos gases (FAKHOURI, 2007; GUERRERO et al., 2011).

Segundo Sobral (1999), a força de ruptura, a permeabilidade ao vapor de água e a cor dos filmes são influenciados linearmente pelo aumento da espessura. Este autor desenvolveu um biofilme à base de proteínas miofibrilares e plastificante glicerina, com objetivo de avaliar a influência da espessura nas propriedades finais. Os filmes de proteínas miofibrilares de tilápia-do-nilo foram mais resistentes à perfuração e menos permeáveis ao vapor de água que os biofilmes à base de proteínas de carne bovina.

Sobral e Ocuno (2000) desenvolveram um trabalho cujo objetivo foi verificar a influência de ácidos sobre a permeabilidade ao vapor de água de biofilmes à base de proteínas miofibrilares em função da concentração de glicerina. Observaram que a permeabilidade ao vapor de água aumenta com maiores concentrações de plastificante.

Pesquisadores buscam estudar a formação de filmes biodegradáveis à base de proteínas com o objetivo de melhorar as características de permeabilidade ao vapor de água. A combinação de polissacarídeos permite a combinação de boas propriedades de cada composto, formando filmes de melhor qualidade (VICENTINO et al., 2011).

1.3.4 *Spirulina platensis*

A investigação de substâncias naturais em detrimento das sintéticas, por questões de sustentabilidade e de segurança alimentar, tem sido muito incentivada. Extratos naturais de diversas fontes vêm sendo explorados para esses fins, mas os micro-organismos, pela diversidade que apresentam, são interessantes tanto para degradação de componentes bem como fontes para isolamento de moléculas com diferentes funções. São notáveis as vantagens dos processos biotecnológicos frente a aspectos de rendimento, ambiental e econômico.

Dentre os micro-organismos explorados, as cianobactérias são fontes potenciais para isolamento de substâncias de alto valor agregado para aplicação na indústria química, farmacêutica, cosmética e de alimentos. A obtenção de *single cell protein* foi muito estimulada após a segunda guerra. Na fase de crescimento logarítmico, algumas microalgas podem dobrar a concentração celular em intervalo de 3 h. São organismos encontrados em condições extremas e se adaptam com facilidade a condições ambientais de cultivo produzindo grande variedade de metabólitos secundários com atividade biológica, não observada em outros organismos (NEELAM; SHALINI; SINGH, 2012).

O cultivo de *Spirulina platensis* vem sendo muito estudado e a biomassa obtida sendo investigada como fonte proteica de elevado valor biológica. Tem sido consumida como suplemento alimentar, mas o uso como componente para desenvolvimento de alimentos funcionais se mostra promissor. Assim, os estudos têm sido direcionados para a avaliação de moléculas bioativas com potenciais ações promotoras da saúde humana e animal (DE MORAIS et al., 2015; HADDAR et al., 2012). As condições de cultivo e processamento da biomassa influenciam na composição química e funcionalidade dos produtos obtidos (DANESI et al., 2016; BENELHADJ et al., 2016; BOLANHO et al., 2014).

Este gênero de micro-organismo pertence à família *Oscillatoriaceae* do grupo das cianobactérias filamentosas e está classificada no Bergey's Manual of Systematic

Bacteriology como *Arthrospira* (BELAY, 2008). Apresenta coloração verde azulada e cresce em ambientes quentes (35 °C) sendo a temperatura mínima de crescimento entre 15 e 18 °C, em pH alcalino (MAO; VAN DE WATER; GERSHWIN, 2005). Há 2500 espécies de cianobactérias e as mais estudadas são segundo Al-Dhabi (2013) a *Spirulina platensis* e a *Spirulina maxima*. Além do interesse como fonte proteica, destaca-se possibilidade de fixação de gás carbônico atmosférico e/ou industrial e por atuarem no tratamento terciário de efluentes (BEZERRA et al., 2013).

Há relatos de que *Spirulina* sp. foi utilizada no México durante a civilização asteca há mais de 400 anos (AL-DHABI, 2013). As microalgas se acumulavam nas margens devido ao vento que as empurrava. A biomassa era seca ao sol e amassada com as mãos, formando blocos cortados em pequenos tabletes. Com essa biomassa, também era possível preparar o “dihé”, mistura de *Spirulina* com molho de tomate e temperos (CARCEA et al., 2015).

A *Spirulina* sp. é fonte renovável, com alto teor de proteínas digestíveis, carotenoides, ácidos graxos essenciais (gama-linolênico), vitaminas do complexo B, E, cobre, manganês, magnésio, ferro, selênio e zinco na sua composição (BELAY, 2008; TEIMOURI; AMIRKOLAIE; YEGANEH, 2013).

Spirulina sp. são comercializadas e consumidas na Alemanha, Brasil, Chile, Espanha, França, Países Baixos, Canadá, Bélgica, Egito, Estados Unidos, Irlanda, Argentina, Filipinas, Índia, África e outros países onde a administração pública e os organismos sanitários aprovaram o seu consumo pelos humanos (ROJAS; ÁVILA; PARADA, 2012). Devido ao sol em abundância, temperatura ideal, e, em alguns casos, águas salobras, o nordeste é o local no Brasil onde o desenvolvimento e o cultivo de microalgas é viável tecnicamente (SILVA, 2008).

Segundo Falquet (2006), devido às propriedades da *S. platensis*, a ingestão de 2 a 4 g da microalga seria suficiente para suprir as necessidades nutritivas de ferro, vitamina A, zinco que uma criança necessita, com custo relativamente baixo comparado a suplementos tradicionais. Ressalta-se que nenhum estudo mostrou até hoje efeitos colaterais ou tóxicos na ingestão da *Spirulina* sp., que é conhecida como GRAS (*Generally Recognized as Safe*) (GRAS, 2013; MALLIKARJUN GOUDA; KAVITHA; SARADA, 2015).

A biomassa de *S. platensis* pode ser obtida de cultivos em tanques de pequena profundidade a céu aberto, com elevada capacidade de produção, são duráveis, apresentam funcionamento simples, mas difíceis de operar em condições constantes e apresentam riscos de contaminação. Já nos fotobioreatores fechados é possível controlar o processo, a produtividade é elevada tornando viável a produção em escala comercial. Os principais

fatores que devem ser controlados nos cultivos são a intensidade luminosa, a temperatura, o pH e os nutrientes (CARVALHO et al., 2014). O sistema descontínuo alimentado com uréia como fonte de nitrogênio tem sido indicado (DANESI et al., 2013). Segundo Andrade e Costa (2008), os meios padrões de produção da *Spirulina* usam bicarbonato de sódio para fornecer CO_2 para a fotossíntese e manter o pH na faixa da alcalinidade requerida.

Estão presentes na *S. platensis* alguns pigmentos de alto valor agregado para aplicação como corantes alimentícios (DANESI et al., 2011), como é o caso da clorofila, composto bioativo com atividade antioxidante (HOSIKIAN, 2010). A presença de pigmentos tende a aumentar a exploração das microalgas, devido à necessidade de substituição de corantes sintéticos por naturais. No Brasil, a clorofila é utilizada como corante verde obtido a partir de espinafres. Além da clorofila, há ficobilinas, a ficoeritrina, aloficocianina e a ficocianina, a mais abundante, de cor azul e mais estável que as demais, utilizada em ensaios imunológicos devido às propriedades fluorescentes e boa estabilidade ao armazenamento entre 4-10 °C (WALTER et al., 2011).

Com relação aos efeitos benéficos, terapêuticos ou funcionais da *S. platensis* destaca-se a redução da hipercolesterolemia, prevenção de cânceres oral e de estômago, atividade antialérgica, antiplaquetária, imunomoduladora, e diminui os efeitos da diabetes. Os ácidos graxos poli-insaturados e compostos fenólicos presentes possuem poder antioxidante (HELENO et al., 2015). Um complexo de polissacarídeos é responsável pelo poder antitumoral (KAWANISHI; TOMINAGA; OKUYAMA, 2013) e a sua função antiviral é atribuída às proteínas, ácidos graxos e minerais (DAOUD; SOLIMAN, 2015). A alta proporção de ácido linolênico estimula a síntese de prostaglandinas, hormônio reconhecido por influenciar o colesterol sanguíneo. Tem a capacidade de melhorar a flora intestinal e propriedades anti-inflamatórias, anti-hipertensiva, inibindo a liberação de histamina dos mastócitos, propriedades imunológicas, sendo uma alternativa na produção de compostos nutracêuticos (JAFARI et al., 2014; KURD; SAMAVATI, 2015; MA et al., 2016; NGO-MATIP et al., 2014; PHAM; PARK; LEE, 2016; MALLIKARJUN GOUDA, KAVITHA; SARADA, 2015).

Metabólitos extra e intracelulares de *S. platensis* foram testados e apresentaram atividade antibacteriana (DE MORAIS et al., 2015). Extratos produzidos a partir de cultivos de *Spirulina platensis* apresentaram elevada atividade antimicrobiana frente a *S. aureus*, indicando o potencial para produção intracelular de compostos com atividade antimicrobiana (PARISI et al., 2009).

Os compostos fenólicos e flavonoides retardaram ou inibiram a oxidação pela ação de radicais livres e têm sido relatados mecanismos de defesa desses componentes contra micro-organismos patogênicos. No trabalho de Mallikarjun Gouda; Kavitha e Sarada (2015) a atividade antimicrobiana de extratos butanólicos de *S. platensis* foram testados contra quatro diferentes bactérias patogênicas: 2 gram-positivas *S. aureus* FRI 722 e *B. cereus* F 4810 e 2 gram-negativas *E. coli* MTCC 108 e *Y. enterocolitica* MTCC 859. Os resultados foram promissores e observaram significativa relação entre compostos fenólicos e atividade antimicrobiana.

A propriedade antibacteriana de *S. platensis* também foi avaliada no estudo de Kumar et al. (2011). Extratos de metanol ou acetona (250 a 7.000 mg/L) foram testados frente à *Staphylococcus aureus* e *Salmonella typhimurium* e mostrou-se que quanto maior a quantidade de extrato no meio de cultura, mais os micro-organismos foram inibidos.

Shaieb et al. (2014) estudaram a atividade antibacteriana e antifúngica dos extratos aquosos e etanólicos de *S. platensis* frente a *S. aureus*, *Micrococcus luteus*, *Bacillus cereus*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Serratia marcescens*, *Klebsiella pneumoniae* e *Aspergillus flavus*. Observaram efetiva inibição de crescimento de *S. marcescens*, *E. coli*, e *P. aeruginosa*, *A. flavus* e *M. luteus*, mas somente o extrato alcoólico inibiu o crescimento de *S. aureus*. Nos outros micro-organismos ocorreu resistência aos extratos.

A *Spirulina* sp. vêm sendo muito estudada visando aplicação em desenvolvimento de produtos, como alimentos para viagens espaciais. Sua estabilidade térmica a tornam compatível para a produção de filmes biodegradáveis ampliando as possibilidades de aplicação (MANRICH et al., 2014). A estratégia de exploração de microalgas foi também estudada por Neelam; Shalini e Singh (2012), contra várias bactérias patogênicas e fungos mostrando potencial positivo.

1.3.5 Agente plastificante

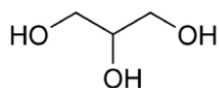
Os plastificantes são moléculas pequenas, pouco voláteis e são adicionados aos polímeros de alto peso molecular para abaixar seu ponto de fusão durante o processamento (SANTACRUZ; RIVADENEIRA; CASTRO, 2015). Têm a capacidade de melhorar o escoamento e a flexibilidade dos filmes e torná-los menos frágeis, pois são constituídos de moléculas que tem facilidade de ligação com a água e dessa forma impedem as interações de hidrogênio nos polímeros (JIMÉNEZ, 2012).

Segundo Zactiti (2006), os plastificantes diminuem as forças intermoleculares entre as cadeias de macromoléculas, provocando redução da temperatura da transição reversível em

materiais amorfos (transição vítrea). O uso de plastificante como o propilglicerol, que possui caráter higroscópico, apresenta capacidade de aumentar o espaço livre entre as cadeias e facilitar a afinidade e solubilidade dos filmes biodegradáveis em água (MACHADO et al., 2014; MONTAÑO-LEYVA et al., 2008). Ocorrem alterações nas propriedades frente aos vapores e solutos devido à redução das forças intermoleculares entre as cadeias dos polímeros que o compõem (ALMEIDA, et al., 2013; ORTIZ-ZARAMA; JIMÉNEZ-APARICIO; SOLORZA-FERIA, 2014).

O glicerol é um produto resultante da reação de hidrólise e saponificação de óleos vegetais, considerado matéria-prima renovável e solvente seguro para uso em produtos farmacêuticos e indústria de alimentos (UEOKA; KATAYAMA, 2001; OLIVEIRA et al., 2014). Quando obtido por hidrólise, contém sais orgânicos e inorgânicos, água, glicerol, ácidos graxos livres, triglicérides não reagentes (UEOKA; KATAYAMA, 2001) e quando obtido por saponificação contém óleo, glicerol bruto, ácidos graxos e sais (OOI et al., 2001). Para se obter glicerol purificado é necessário combinar técnicas como filtração e destilação (TAN; ABDIL AZIZ; AROUA, 2013). A molécula de glicerol está representada na Figura 1.6.

Figura 1.6 - Estrutura química do glicerol



Fonte: Chaplin (2009)

Plastificantes como glicerol e sorbitol são substâncias não voláteis e quando adicionados ao filme biodegradável podem alterar suas propriedades mecânicas e físicas. A estrutura, composição, massa molecular e grupos funcionais dos plastificantes podem afetar o grau de plasticidade dos filmes biopoliméricos (CAO et al., 2009). Segundo Rocha (2008) a escolha do plastificante e o ajuste da sua concentração são fatores de grande importância para a qualidade do filme. Deve ser compatível, em questão de afinidade com o polímero, para que atue da maneira desejada.

1.4 Propriedades dos filmes biodegradáveis

As propriedades de barreira ao vapor de água, ao oxigênio, aromas, óleos, gorduras propriedades mecânicas e ópticas variam dependendo da composição dos filmes biodegradáveis. São essas características que vão permitir que os filmes atuem

adequadamente em diferentes tipos de alimentos. Cada tipo de filme tem propriedades que se encaixam melhor em determinados alimentos, por isso a importância de caracterizá-los.

1.4.1 Biodegradabilidade

Os materiais biodegradáveis devem manter-se estáveis durante processamento, armazenamento e uso, e devem ser decompostos quando devolvidos ao meio ambiente. O processo de biodegradação é natural, onde os compostos orgânicos são convertidos em compostos simples, sendo mineralizados e distribuídos por meio de ciclos como o de carbono, de nitrogênio e enxofre (ciclos elementares), com a presença fundamental dos micro-organismos (KASIRAJAN; NGOUAJIO, 2012; WEIBEIL, 2012). É esperado que a degradação dos filmes biodegradáveis seja rápida por serem produzidos a partir de ingredientes renováveis, sendo este o interesse crescente da indústria (BOURTOMM, 2008; SOUZA et al., 2010).

1.4.2 Formação de filme

Quando produzidos em escala laboratorial, os filmes se formam após a solubilização do amido em um solvente, com geração da solução filmogênica. Após o preparo, estas coberturas devem passar por uma operação de secagem para a formação dos filmes ou coberturas tipo *casting* (GONTARD et al., 1998).

A técnica *casting* consiste no espalhamento da solução filmogênica (macromoléculas, solvente e plastificante) em um suporte, seguido de desidratação lenta a baixa temperatura (DOLE et al., 2004; MULLER; YAMASHITA; LAURINDO, 2008). O amido gelatinizado, quando resfriado, forma uma película fina semelhante a um filme de celulose que é resistente e transparente (PAULI et al., 2011). A mudança que ocorre durante essa gelatinização é determinante para o comportamento da pasta de amido e formação de filme.

Três técnicas de aplicação de filme podem ser usadas em alimentos: imersão, espalhamento e pulverização, porém, independente do método aplicado, a produção do filme biodegradável deve ser controlada, pois alterações no tratamento e reações de cinética interferem nas condições finais do filme (TAVASSOLI-KAFRANI; SHEKARCHIZADEH; MASOUDPOUR-BEHABADI, 2016). Diversas modificações químicas e físicas podem ser feitas nas matérias-primas, para que haja modificação na película formada, bem como adaptações nas condições do processamento (WATERSCHOOT et al., 2015). Forças

intermoleculares, eletrostáticas e as interações iônicas participam do mecanismo de formação de películas (SOUZA et al., 2010).

1.4.3 Propriedade de barreira

A barreira a compostos externos influencia a vida útil do produto. A temperatura, as características do polímero, a umidade relativa e a interação com o alimento, o filme biodegradável e sua polaridade, interferem nas propriedades de barreira do biopolímero produzido (MATTA JUNIOR et al., 2011).

Para que haja transporte de massa por um filme biodegradável o mesmo deve apresentar em suas propriedades facilidade de difusão, solubilidade e permeabilidade. A difusão está relacionada com o tamanho das partículas e estrutura dos polímeros. A solubilidade está relacionada com o comportamento da molécula permeante e o espaço vazio ao redor da película. A permeabilidade é um efeito combinado dos fatores solubilidade e difusão em forma de taxa de transporte (MILLER; KROCHTA, 1997; ROCHA et al., 2014).

A taxa de permeabilidade é a medida do ganho de massa durante um tempo estabelecido, quando a mesma é exposta a diferentes concentrações de um agente permeante. A barreira à umidade é uma das mais importantes para que o alimento seja conservado, pois quanto maior o teor de água disponível, maior será a taxa de crescimento microbiológico. Essa barreira é importante tanto para aqueles alimentos que não devem perder nem absorver umidade do meio externo.

Filmes biodegradáveis constituídos com elevada concentração de proteínas apresentam maior permeabilidade ao vapor de água devido aos grupos polares que a constituem (DI PIERRO et al., 2006; ZAVAREZE et al., 2012). O oxigênio e o gás carbônico são gases que, em geral, devem ter sua migração controlada em produtos alimentícios, de forma a evitar danos ou deteriorações indesejáveis e a permeabilidade exerce influência nas trocas gasosas (LUVIELMO, 2012). As medidas de temperatura, umidade relativa e espessura do filme devem ser determinadas, pois influenciam nas propriedades de barreira.

Em alguns alimentos a perda de umidade é indesejada, pois provoca perda de massa, ressecamento, alterações de cor e de textura (SARANTÓPOULOS et al., 1996), como é o caso de queijos, carnes frescas e produtos congelados. Outros alimentos deterioram-se devido ao ganho de umidade, como é o caso de biscoitos, que perdem crocância, ou de alimentos desidratados. Dessa forma, as embalagens atuam como barreira, evitando saída ou entrada de água conferindo estabilidade ao alimento. As características da superfície do filme

biodegradável é um fator que tem influência direta na transferência de massa, sendo que, maiores irregularidades facilitam a difusão de umidade (BERBARI et al., 2011).

Segundo Sarantópoulos et al. (1996), a eficiência da embalagem pode ser avaliada pelo fluxo de umidade que passa por unidade de tempo em uma determinada área do material, que é a taxa de permeabilidade ao vapor de água. A permeabilidade vai depender da espessura do filme, das características de seus componentes, da sua integridade, da interação entre o polímero formador do filme e do plastificante (GARCÍA; MARTINO; ZARITZKY, 2000).

1.4.4 Propriedades mecânicas

Quando o filme biodegradável é produzido, a composição e método de processamento resultam na orientação final das moléculas presentes e vão determinar as características e propriedades do material formado. Dessa forma deve-se controlar a espessura do filme, a presença ou não de bolhas e grau de cristalinidade. Essas características interferem na atuação mecânica dos filmes, podendo ter maior ou menor rigidez, resistência ao impacto, perfuração, alongamento e propagação de rasgo (SARANTÓPOULOS et al., 2002).

A natureza do material determina a sua forma e intensidade de ligação. O tamanho das cadeias poliméricas, o peso molecular e a posição dos grupos laterais, interferem na dificuldade ou facilidade de extensão, quando submetido a uma tensão mecânica (TABOADA; CARVALHO; SOBRAL, 2008). As propriedades mecânicas de filmes flexíveis estão associadas com o desempenho desses materiais nas máquinas de acondicionamento e ambientes de estocagem e distribuição (SARANTÓPOULOS et al., 2002).

Reações entre os componentes que formam o filme e uso de extrusão são capazes de alterar de forma positiva as propriedades físico-químicas e mecânicas dos filmes biodegradáveis (GARCÍA et al., 2009). A análise de resistência à tração mede a tensão máxima que a película suporta até o rompimento. O alongamento-a-ruptura é definido como a capacidade de deformação antes do colapso, sendo esta característica inerente do filme biodegradável (SOUZA, et al., 2010).

1.4.5 Solubilidade em água

A porcentagem de material que se dissolve em um volume específico de água em determinada temperatura é chamada de solubilidade (SOUZA et al., 2010). É uma característica importante do filme biodegradável para que haja a conservação dos alimentos.

A capacidade de se dissolver faz com que se tenha grande permeabilidade ao vapor de água, o que não é interessante quando se deseja proteger o alimento com filme biodegradável.

1.4.6 Microestrutura

A análise da microestrutura permite obter as informações sobre a superfície de estruturas orgânicas e inorgânicas, como os filmes biodegradáveis de misturas de polímeros. A microestrutura formada pelo filme e suas propriedades dependem do tipo de material utilizado para a sua produção (JIMÉNEZ et al., 2012). A visualização dessa superfície permite identificar irregularidades ou homogeneidade na mistura em escala nanométrica (SCHÖNHERR et al., 2016).

1.5 Atividade antimicrobiana

A busca por compostos naturais capazes de inibir o desenvolvimento de micro-organismos ganhou destaque, devido ao aparecimento de espécies resistentes a antibióticos, e para substituição aos conservantes sintéticos em alimentos (SILVA-WEISS et al., 2013). O interesse no isolamento de substâncias naturais antimicrobianas é emergente e vem sendo testada frente a vários micro-organismos patogênicos (OZDEMIR et al., 2004).

Os agentes antimicrobianos são compostos adicionados às formulações de revestimentos biodegradáveis com o objetivo de inibir o desenvolvimento de micro-organismos patogênicos e melhorar a integridade mecânica dos alimentos (ASSIS; BRITTO, 2014; PEREDA et al., 2011). Os antimicrobianos naturais mais utilizados são extratos vegetais, óleos essenciais e ácidos orgânicos, capazes de controlar o crescimento microbiano e atribuir boas características sensoriais e de armazenamento (BRANDELERO; DE ALMEIDA; ALFARO, 2015).

Filmes biodegradáveis contendo agentes antimicrobianos permitem a passagem de maneira controlada desses compostos para a superfície do alimento, sendo esta uma estratégia de incorporação de compostos ativos (GLINEL et al., 2012; TAMMINENI; ÜNLÜ; MIN, 2013). A interação entre a matriz polimérica e o alimento depende da taxa respiratória do vegetal, da evaporação e absorção na interface e da interação entre o revestimento e o alimento (PEREDA et al., 2011).

A biomassa de *S. platensis* é um antimicrobiano composto de aminoácidos essenciais, como a leucina e lisina (RAMÍREZ-MÉRIDA et al., 2015) e pigmentos como a C-ficocianina, clorofila e carotenoides (DEY, RATHOD, 2013). Além disso, a *S. platensis* contém compostos fenólicos, tocoferóis e ácido ascórbico (EL BAKY et al., 2015).

Os antimicrobianos devem apresentar atividade contra micro-organismos causadores de intoxicações alimentares. As bactérias do gênero *Staphylococcus* são cocos Gram positivos associados às doenças estafilocócicas, que podem provocar intoxicações alimentares no consumidor com a ingestão de uma dose menor que 1 µg (SILVA et al., 2010). Aos *Bacillus subtilis* são atribuídas gastroenterites. *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* e *Pseudomonas aeruginosa* são agentes etiológicos de mastite e infecções respiratórias. Os fungos são oportunistas e alguns patogênicos causando problemas no sistema imune (ARUN; GUPTA; SINGH, 2012). O gênero *Salmonella* compreende bacilos Gram negativos não produtores de esporos responsáveis por doenças de origem alimentar contraídas por meio de alimentos contaminados e podem ser fatais (SILVA et al., 2010). A *Escherichia coli* é um micro-organismo Gram negativo não esporulado indicador de más condições higiênico-sanitárias na produção de alimentos (JAY; LOESSNER; GOLDEN, 2005).

1.6 Pimenta Cambuci (*Capsicum* sp.)

A pimenta conhecida como Cambuci (chapéu-de-bispo) (*Capsicum* sp.), apresenta o formato de sino de coloração branca, vermelha, amarela ou laranja quando madura e verde quando não madura (SIMONNE et al., 1997; VAN MAN et al., 2014). Pesam em torno de 50 g (CARNEIRO et al., 2010). O México é o maior produtor e consumidor, desta pimenta (1 kg/habitante/ano), enquanto que o Brasil apresenta consumo reduzido, de 80 g/habitante/ano (PINTO et al., 2014). É uma hortaliça cultivada em regiões tropicais (VAN MAN et al., 2014), apresenta alta perecibilidade e, por consequência, elevadas perdas. Para incentivar o agronegócio, técnicas de conservação pós-colheita que prolongue a sua vida útil são importantes (GUINE; BARROCA, 2011).

As pimentas são consideradas não climatéricas e por isso são colhidas quando maduras, apresentando taxa respiratória elevada no início do seu desenvolvimento e pequenas modificações nos teores de açúcares (SALTVEIT, 1977; LURIE; SHAPIRO; BEN-YEHOSHUA, 1986). São comercializadas processadas na forma de geleias, molhos e conservas e na forma *in natura*, e são sensíveis a baixas temperaturas. Por outro lado, o uso de embalagem adequada proporciona maior vida útil aos frutos bem como facilidade de distribuição sem alterações de qualidade (FINGER; CASALI, 2006).

Os frutos não-climatéricos não apresentam aumento na taxa respiratória e produção de etileno, desta forma não amadurecem após a colheita, ou seja, não ficam mais doces nem melhoram de sabor (LURIE; SHAPIRO; BEN-YEHOSHUA, 1986). Se forem colhidos verdes permanecerão desta forma até a senescência. Em alguns casos são capazes de amolecer

e alterar sua cor (SALTVEIT, 1977). O processo do amadurecimento pode apresentar dependência parcial do etileno, incluindo a perda de firmeza (ROMANI, 1984). O resultado dos processos fisiológicos pode ser correspondente à sensibilidade dos tecidos ao etileno e não exclusivamente ao aumento da sua produção.

A transpiração e a respiração podem ser reduzidas por meio de aplicação de revestimentos em frutas, a qual atua como cobertura no alimento preenchendo os estômatos e lenticelas (LUVIELMO; LAMAS, 2012). O CO₂ produzido devido ao consumo de O₂ no processo respiratório, mesmo que em baixas taxas, é mantido, modificando a atmosfera de armazenamento (CHITARRA; CHITARRA, 2005). A atmosfera formada e retida pelo filme pode não ser tolerável pelas pimentas, causando desordens fisiológicas, como perda de peso. Ao mesmo tempo em que os filmes podem estender a vida útil devido a proteção do alimento ao meio externo, pode haver a condensação de água proveniente da respiração, o que auxilia no desenvolvimento microbiano e redução da conservação do produto (MOLINARI, 2007).

1.7 Delineamento de experimentos

O planejamento experimental tem como objetivo fornecer as informações procuradas, sobre as variáveis do processo (BARROS NETO; SCARMINIO; BRUNS, 2001). Para isso, é necessário avaliar a influência de cada variável, bem como a interação entre esses fatores, em relação à resposta desejada. A utilização de planejamento de misturas permite reduzir gastos com reagentes e tempo de experimentos, devido à construção de um modelo matemático que permitirá chegar à melhor formulação para determinada resposta (NANO et al., 2009). Dessa forma, é possível observar as interações entre os fatores no dado experimento. A validação do modelo deve ser realizada por meio de uma análise residual (RODRIGUES; IEMMA, 2009).

A proporção de ingredientes da mistura determinará as propriedades da mesma, sendo que a soma dos ingredientes ou variáveis são dependentes umas das outras e devem somar 100 %, como mostrado na Equação 1.1 (HARE, 1974). Desta forma ao reduzir uma variável, aumenta-se a outra.

$$\sum_{i=1}^n x_i = x_1 + x_2 + x_3 + \dots + x_q = 1 \quad (\text{Eq. 1.1})$$

Onde “x_i” representa a proporção do *i*-ésimo componente e “q” é o número de ingredientes da mistura.

1.8 Superfície de contorno

A metodologia de superfície de contorno é uma técnica de otimização que inclui os efeitos isolados e os efeitos de interação entre as variáveis independentes (BAS; BOYACL, 2007). Na superfície de resposta, a tendência das variáveis é observada por meio das curvas obtidas, onde, a ausência de curvatura das linhas indica que não houve interação entre as variáveis estudadas (CALADO; MONTGOMERY, 2003). O modelo quadrático resultante deve ser ajustado para que a formulação seja otimizada, testada e comparada com as demais formulações, seguindo os mesmos parâmetros (GRANATO et al., 2010). O modelo de regressão usado para um planejamento fatorial com três fatores é dado por:

$$Y = \beta_0 + \beta_1 X_1 + \beta_2 X_2 + \beta_3 X_3 + \beta_{12} X_1 X_2 + \beta_{13} X_1 X_3 + \beta_{23} X_2 X_3 + \beta_{123} X_1 X_2 X_3 + \varepsilon$$

(Eq. 1.2)

O modelo é capaz de prever novas observações dentro da faixa experimental. A fim de verificar a adequação do modelo, toda a análise residual deve ser realizada (RODRIGUES; IEMMA, 2009). Quando o objetivo do planejamento é maximizar ou minimizar a resposta de interesse, segundo algum critério-base, como aumentar o rendimento, reduzindo o custo ou o tempo, utiliza-se a metodologia de superfícies de resposta (MSR) (BARROS NETO; SCARMINIO; BRUNS, 2001).

O uso de planejamento experimental na produção de filmes biodegradáveis é crescente devido à sua funcionalidade. Chiabrando e Giacalone (2015) utilizaram um planejamento 2^2 , sendo o teste aplicado em triplicata. Em estudo realizado por Rocha et al. (2014) o delineamento utilizado foi o central composto rotacional de 2ª ordem, com três variáveis independentes e seis repetições no ponto central (20 tratamentos). As variáveis dependentes foram utilizadas para a otimização do processo. Planejamento semelhante foi utilizado em estudo por Danalache et al. (2016), onde, a partir de 20 tratamentos foram obtidos as respostas para as variáveis dependentes e as mesmas foram modeladas para obtenção da superfície de resposta correspondente.

Diante do exposto, o estudo da ação antimicrobiana e de formação de filmes biopoliméricos de *Spirulina platensis* por *casting* visando aplicação em revestimentos de alimentos é inovador e constitui objetivo deste trabalho. A aplicação do material formado foi testada visando extensão da vida útil de pimentas Cambuci.

CAPÍTULO 2 – AVALIAÇÃO DE FILMES PRODUZIDOS A PARTIR DE AMIDO E BAGAÇO DE MANDIOCA, GELATINA E *Spirulina platensis* POR MEIO DE DELINEAMENTO DE MISTURAS SIMPLEX-CENTROIDE

RESUMO

A necessidade de aumentar a vida útil de vegetais frescos devido à elevada perecibilidade impulsiona o desenvolvimento de embalagens biodegradáveis, com matérias-primas alternativas renováveis, como é o caso da *S. platensis* a qual apresenta propriedades funcionais. Estudos com aproveitamento de subprodutos agroindustriais em formulações são interessantes tanto no aspecto ambiental quanto econômico e tecnológico. O bagaço de mandioca é uma possibilidade inovadora nesse sentido. O objetivo deste trabalho foi avaliar o uso de amido e bagaço de mandioca, gelatina e *S. platensis* para produzir biofilmes pela técnica de *casting*, utilizando delineamento experimental, e testar sua atividade antibacteriana. Os biofilmes foram caracterizados quanto às propriedades físicas, mecânicas, ópticas, de barreira, solubilidade, intumescimento, além da atividade antimicrobiana. Glicerol foi utilizado como plastificante para a formação das películas. As respostas obtidas foram modeladas para obtenção das superfícies de contorno. Os resultados mostraram que não houve diferença significativa entre as formulações ($p>0,10$) para os parâmetros A_w , densidade, gramatura, espessura, resistência à tração, solubilidade e permeabilidade ao vapor d'água. Para o parâmetro cor, a formulação contendo 4 g/100 g de amido de mandioca e 2 g/100 g de *S. platensis*, apresentou valor a^* superior devido à presença, em maior concentração, do componente *S. platensis*. O intumescimento foi crescente no decorrer do período de 60 min, sendo os maiores valores registrados em meio ácido, para as formulações que continham elevados teores de proteínas. Nenhuma das formulações de filmes inibiu o crescimento microbiano pela técnica de disco difusão frente aos micro-organismos *E.coli*, *Enterococcus faecalis* e *Salmonella enterica*. A caracterização dos filmes comprovou que as formulações apresentaram potencial de aplicação como revestimentos devido à formação das películas com resistência mecânica. O teor de *S. platensis* nas composições filmogênicas não foi suficiente para inibição microbiana.

Palavras-chaves: embalagens ativas, permeabilidade ao vapor d'água, solubilidade, propriedades mecânicas, atividade antimicrobiana.

2.1 Introdução

O desenvolvimento de embalagens biodegradáveis tem sido estimulado devido à necessidade de extensão da vida útil de alimentos perecíveis bem como redução do uso de materiais derivados de petróleo (TURBIANI; KIECKBUSCH, 2011). O processo de degradação dos compostos no solo acontece com auxílio dos micro-organismos presentes, os quais decompõem com mais rapidez materiais orgânicos. Filmes biodegradáveis podem ser formados a partir de matérias-primas de origem renovável, como polissacarídeos, proteínas e lipídios (TURBIANI; KIECKBUSCH, 2011). Entre os diversos materiais pesquisados para a produção de filmes biodegradáveis, a gelatina e o amido ganham destaque.

O amido vem sendo utilizado para compor materiais biodegradáveis pelas suas propriedades físicas inerentes, sendo estas similares aos plásticos, sem odor e cor, transparentes e não tóxico, com baixo custo. Os tipos de amido podem ser os naturais, obtidos de diversas fontes vegetais, ou modificados por via química ou física, adquirindo conformações especiais que ampliam possibilidades de aplicações (HENRIQUE et al., 2008; DAUDT et al., 2016).

A gelatina utilizada em alimentos como espessante e estabilizante, apresenta baixo custo por ser extraída de peles e ossos de bovinos e suínos. É uma proteína que vem sendo testada em embalagens não sintéticas por apresentar flexibilidade e barreira a O₂ e CO₂ em umidades relativas baixas (NUR HANANI; ROOS; KERRY, 2014; JRIDI, et al., 2013).

O bagaço de mandioca é um material complexo gerado pela agroindústria como subproduto (TEIXEIRA et al., 2012) e pode ser considerado fator importante na etapa de biodegradação. Este resíduo pode induzir à degradação mais rápida devido à ação de micro-organismos atraídos pelos componentes lignocelulósicos, além de apresentar elevada retenção de água (JACOMETTI et al., 2015).

A *Spirulina* sp. é uma microalga filamentosa que possui propriedades anti-inflamatórias, imunomoduladoras e antialérgicas (MORAES et al., 2013). Apresenta poder antioxidante devido aos ácidos graxos, compostos fenólicos, clorofila, ficobilinas, ficoeritrina, aloficocianina e a ficocianina presentes (WALTER et al., 2011). A *S. platensis* vem sendo estudada para aplicação em novos produtos e embalagens para alimentos devido as suas propriedades antimicrobianas e de estabilidade térmica (MANRICH et al., 2014).

Os filmes biodegradáveis são produzidos a partir de macromoléculas capazes de formar matrizes contínuas e coesas. A possibilidade de misturar polissacarídeos permite combinar as características positivas de cada um deles (JIMÉNEZ et al., 2012), o que representa uma oportunidade de desenvolvimento de novas matérias-primas de cunho

sustentável e produtos com aplicações no setor alimentício.

Os revestimentos podem conter diferentes extratos que impeçam o crescimento microbiano como enzimas e produtos químicos diversos (BRANDELERO; DE ALMEIDA; ALFARO, 2015). Os extratos e seus óleos essenciais em combinação com outros biopolímeros apresentam potencial como agentes antimicrobianos e antioxidantes (DŽAMIĆ et al., 2015). Produtos naturais são os mais pesquisados, sendo fontes alternativas de antimicrobianos e antioxidantes (VIJAYALAXMI; JAYALAKSHMI; SREERAMULU, 2014). As condições de processamento do revestimento biodegradável, sua composição e temperatura de armazenamento são fatores que influenciam na atuação dos compostos com potencial antimicrobiano (BRANDELERO; DE ALMEIDA; ALFARO, 2015).

O objetivo deste estudo foi elaborar filmes biodegradáveis à base de amido e bagaço de mandioca na presença de gelatina e *Spirulina platensis* pela técnica *casting* e caracterizá-los quanto a propriedades físicas, químicas e antibacterianas.

2.2 Materiais e Métodos

2.2.1 Produção do biofilme

Para as diferentes formulações de biofilmes elaboradas, foram utilizados o amido de mandioca comercial da marca Yoki[®], bagaço de mandioca coletado dentro de padrões de higiene na indústria processadora de mandioca Lorenz[®] em Umuarama/PR e desidratado, gelatina comercial (origem bovina) sem sabor da marca Aпти[®] 002 LC, biomassa de *Spirulina platensis* comercial da marca Fazenda Tamandú[®] 0023/2014, glicerol P.A Reactif[®] e placas redondas de acrílico de raio = 4,6 cm para a formação do filme, pela técnica *casting*, descrita por Pauli et al. (2011). Para a caracterização dos filmes foram utilizados como reagentes o cloreto de cálcio anidro (CaCl₂) Biotec[®], cloreto de sódio (NaCl) Vetec[®], ácido clorídrico (HCl) Synth[®] e bicarbonato de sódio (NaHCO₃) Vetec[®].

Para a determinação da atividade antibacteriana dos filmes biodegradáveis, foram utilizadas as cepas de *Staphylococcus aureus* (ATCC 6538), *Escherichia coli* (ATCC 25922), *Enterococcus faecalis* (ATCC 19433) e *Salmonella enterica* (ATCC 14028) ativadas em caldo cérebro e coração (BHI) e diluídas em solução salina. Para a aplicação da técnica foram utilizados ágar Muller Hinton (Merck[®]), placas de petri e swabs. Como reagente foi utilizado corante tetrafeniltetrazolio (TFT) (0,1 %).

- Teste preliminar

Foram produzidas amostras de filmes de amido de mandioca e glicerol (filme base considerado como controle) para verificar características de formação. Estes filmes foram utilizados para comparação com as formulações do planejamento experimental. Foram realizados testes de formulações utilizando além do amido de mandioca e glicerol, compostos como: *S. platensis*, bagaço de mandioca e gelatina. Tais testes tiveram como objetivo determinar a viabilidade de formação das formulações e as proporções ideais entre a mistura ternária da Tabela 2.2 (33,3 g/100 g de bagaço de mandioca, 33,3 g/100 g de gelatina e 33,3 g/100 g de biomassa de *S. platensis*) e o amido presente na formulação base. Foi realizado um delineamento experimental (DOE) 2^2 com repetição do ponto central, conforme a Tabela 2.1.

Tabela 2.1 - Delineamento experimental (DOE) 2^2 com repetição do ponto central

Amostra	Proporção dos componentes codificados		Proporções dos componentes reais	
	Amido	Mistura*	Amido (g/100 g)	Mistura *(g/100 g)
A1	-1	-1	3	1
A2	1	-1	5	1
A3	-1	1	3	3
A4	1	1	5	3
A5	0	0	4	2
A6	0	0	4	2

*=33,3 g/100 g de bagaço de mandioca, 33,3 g/100 g de gelatina e 33,3 g/100 g de biomassa de *S.platensis*

A utilização da mistura ternária no teste preliminar teve como objetivo evitar a sobressaliência dos componentes, testando o teor de matéria seca ao invés da funcionalidade de cada um dos constituintes da formulação. A amostra de melhor resultado foi a “A5” sendo constituída de 4 g/100 g de amido de mandioca de 2 g/100 g de mistura ternária.

- Planejamento de misturas

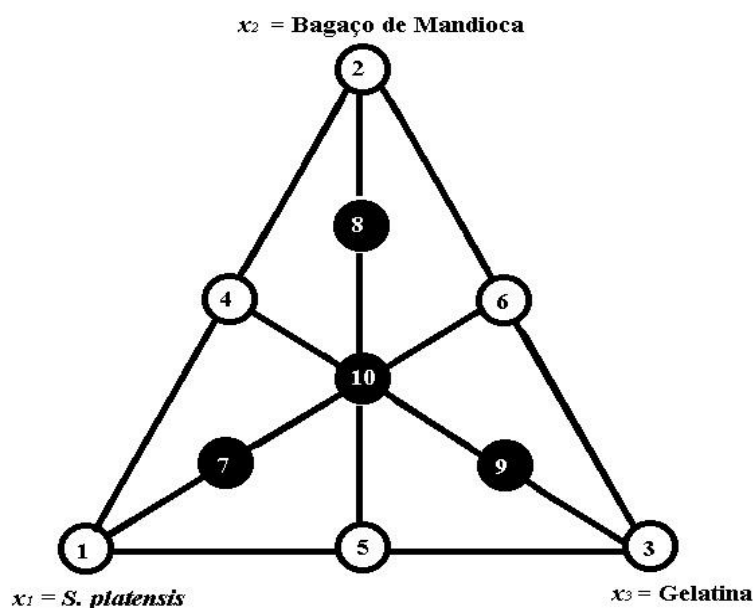
No planejamento de misturas a soma das proporções dos componentes é 100 %. As propriedades das misturas são determinadas pelas proporções dos ingredientes (BARROS-NETO; SCARMINIO; BRUNS, 2002). Este estudo foi realizado por meio de um delineamento Simplex-Centroide aumentado para misturas de três componentes, com três pontos interiores, resultando em 10 experimentos, como mostrado na Tabela 2.2. Filme produzido com amido de mandioca e glicerol foi utilizado como controle para comparação com as formulações testadas.

Tabela 2.2 - Planejamento Simplex-Centroide para mistura de componentes nas proporções estudadas

Mistura	Variáveis codificadas			Variáveis reais		
	<i>S.platensis</i>	Bagaço	Gelatina	<i>S.platensis</i> (g/100 g)	Bagaço (g/100 g)	Gelatina (g/100 g)
A	1,00	0,00	0,00	100	0	0
B	0,00	1,00	0,00	0	100	0
C	0,00	0,00	1,00	0	0	100
D	0,50	0,50	0,00	50	50	0
E	0,50	0,00	0,50	50	0	50
F	0,00	0,50	0,50	0	50	50
G	0,66	0,17	0,17	66	17	17
H	0,17	0,66	0,17	17	66	17
I	0,17	0,17	0,66	17	17	66
J	0,33	0,33	0,33	33	33	33

Com o auxílio do programa Statistica 12.7 (StatSoft, Tulsa OK, EUA) foi realizado um delineamento experimental onde os componentes utilizados na mistura foram a *S. platensis*, bagaço de mandioca e gelatina. Quando há três componentes de mistura ($q = 3$), o espaço simplex é um triângulo de lados iguais. Os vértices correspondem aos componentes puros, os lados às misturas binárias e o interior do triângulo as misturas ternárias, como representado na Figura 2.1 (BARROS NETO; SCARMINIO; BRUNS, 2001).

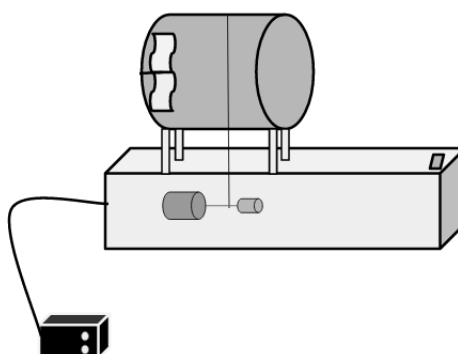
Figura 2.1 - Delineamento Simplex-Centroide aumentado para misturas de três componentes



Fonte: A autora

A proporção dos componentes de cada ensaio de mistura foi pesada como proposto no planejamento da Tabela 2.2. A mistura foi homogeneizada durante 3 min em um agitador mecânico representado na Figura 2.2. O misturador é composto por um copo metálico com duas pás internas. Contém um motor elétrico, capaz de rotacionar o copo metálico com velocidade constante. Após a homogeneização as amostras foram armazenadas em frascos de vidro, identificados e mantidas à temperatura ambiente até o momento da elaboração dos filmes.

Figura 2.2 - Agitador mecânico para homogeneização das misturas



Fonte: A autora

Para a elaboração dos filmes a base de amido e mistura (bagaço de mandioca, gelatina e *S. platensis*), foi utilizado o equipamento RVA (*Rapid Visco Analyser*®, Newport Scientific Narabeen, Austrália). As porcentagens dos componentes utilizados foram calculadas sobre o valor de 0,028 kg de suspensão, que corresponde ao valor utilizado no porta amostras do equipamento RVA. A formulação de mistura (2 g/100 g), amido (4 g/100 g) e glicerol (1 g/100 g) foi adicionada ao porta amostras de alumínio e completado com água destilada (0,02632 kg). Em seguida, foi colocado no RVA conforme instruções do aparelho.

A solução filmogênica foi gelatinizada com aquecimento crescente de 50 °C até 95 °C em 13 min, com agitação constante de 160 rpm (método padrão do equipamento). Do equipamento foram retirados os dados de viscosidade para cada uma das formulações preparadas. Na sequência, as amostras foram vertidas sobre as placas acrílicas e secas em estufa com circulação forçada de ar a 40 °C por 3 h. Após a secagem, os filmes foram acondicionados em dessecador, com atmosfera saturada de NaCl, em temperatura ambiente, de acordo com o descrito por Henrique et al. (2008).

2.2.2 Caracterização dos filmes

A caracterização dos filmes biodegradáveis é de grande importância para verificar o seu comportamento como revestimentos de alimentos e foi realizada considerando-se os parâmetros abaixo descritos.

- Composição proximal dos constituintes das formulações

A composição proximal dos constituintes das formulações (amido de mandioca, *S. platensis*, bagaço de mandioca e gelatina) foi determinada em triplicata (AOAC, 2005). Os teores de umidade foram realizados em estufa a 105 °C, as cinzas, por incineração em mufla a 550 °C durante 5 h, proteínas, pelo método Micro-Kjedahl, utilizando 6,25 como fator de conversão de nitrogênio para proteína bruta, teores de lipídios foram determinados por extração em Soxhlet com hexano como solvente e as fibras foram determinadas por método gravimétrico após hidrólise ácido-básica. Os resultados foram expressos por médias seguidas dos respectivos desvios padrões.

- Umidade e atividade de água

A umidade dos biofilmes foi determinada de acordo com metodologia proposta pela *Association of Official Analytical Chemists* (AOAC, 2005). Para isso, amostras de 0,001 kg de cada formulação de biofilme foram colocadas em estufa a 105 °C durante 24 h. A A_w foi determinada a 25 °C por leitura direta em Aqualab 3TE® (Decagon, Aqualab, Inc, Pullman, EUA), 0,0004 kg de cada amostra foi colocada na cápsula do aparelho e preparadas para leitura após calibração do equipamento.

- Propriedades físicas

A determinação da espessura foi determinada segundo o descrito por Fakhouri et al. (2007) como sendo a média de cinco medições em diferentes partes do biofilme. Para esta análise foi utilizado paquímetro digital (Insize®-150, China) com precisão de 0,01 mm.

As amostras com área de 0,0016 m² foram pesadas em balança analítica e a densidade foi determinada como sendo a razão entre a massa e o volume do biofilme. A gramatura do filme biodegradável corresponde ao peso de uma determinada área do material e está relacionada de forma direta à resistência mecânica dos filmes, portanto, quanto maior a gramatura maior a resistência mecânica (ALMEIDA et al., 2013). A mesma foi determinada segundo Sarantópoulos et al. (2002) por meio da pesagem de 0,0016 m² de biofilme, em balança analítica (Shimadzu®, mod. AY 220, Kyoto Japão), com precisão de 0,0001 g. As

análises foram feitas em triplicata e os resultados expressos por médias seguidas dos respectivos desvios padrões.

- Propriedades ópticas

A cor está relacionada com a matéria-prima utilizada na elaboração do filme biodegradável. A apresentação visual é importante, mesmo não sendo um fator que limite a sua aplicação. A determinação da cor foi realizada utilizando-se colorímetro (Hunterlab®, Miniscan EZ, EUA) operando no sistema CIELab (L^* , a^* , b^*). Por questão de padronização, a medida foi realizada na região central do filme. O sistema CIELab, a coordenada “ L^* ” expressa o grau de luminosidade, da cor medida [$L^* = 0$ (preto) a 100 (branco)]; os valores de “ a^* ” expressam o grau de variação entre o vermelho e o verde (a^* positivo = vermelho, a^* negativo = verde); e a coordenada “ b^* ” o grau de variação entre a cor azul e o amarelo (b^* positivo = amarelo, b^* negativo = azul) (MINOLTA, 1998).

A transparência foi calculada como sendo a razão entre a absorbância a 600 nm e a espessura do biofilme. A medida de opacidade dos filmes biodegradáveis foi feita em espectrofotômetro UV-Vis NIR (VarianCary® 50). As amostras de 0,000625 m² foram fixas no acessório de refletância do equipamento para a leitura em absorbância. As análises foram feitas em triplicata.

- Propriedades de barreira

A permeabilidade do filme ao vapor de água está relacionada com a capacidade de difusão da água através do filme e foi determinada gravimetricamente segundo teste da ASTM E96 apresentado por Espinel Villacres; Flores e Gerschenson (2014) com adaptações. Em uma cápsula de permeabilidade (recipiente de vidro) foi adicionado 5 x10⁻³ kg de cloreto de cálcio anidro (CaCl₂), previamente seco a 105 °C por 24 h. Na parte superior do recipiente foi fixado o biofilme com área de 1,38 x10⁻³ m², área correspondente à boca do frasco de vidro. As cápsulas foram colocadas em dessecador com umidade relativa de 75 % devido à presença de solução saturada de NaCl. O dessecador foi mantido a 25 °C ± 0,5 °C em estufa incubadora BOD (Tecnal®, Piracicaba, Brasil). O ganho de umidade foi determinado por meio de pesagens sucessivas a cada 24 h durante um período de 10 dias. A análise foi realizada em triplicata, sendo a Equação 2.1 utilizada para o cálculo de permeabilidade ao vapor d’água.

$$\text{Permeabilidade} = \frac{W.L}{A \cdot [\Delta p_{s(aw1-aw2)}]} \quad (\text{Eq. 2.1})$$

Onde:

W= quantidade de água ganha em peso pelo tempo (g/s)

L= espessura (m)

A= área (m²)

p_s = pressão de saturação de vapor de água a 25 °C (Pa)

a_{w1} e a_{w2} = atividades de água dentro e fora da cápsula.

- Solubilidade

Galiotta et al. (1998) definem solubilidade em água como a quantidade de matéria seca que é solubilizada pela água após 24 h em imersão em agitação constante. As amostras com área de 0,0004 m² foram previamente secas em estufa a 105 °C por 24 h, em seguida imersas em recipiente com tampa contendo 25 x10⁻⁶ m³ de água destilada, agitando-se por 24 h à temperatura ambiente (25 °C). Na sequência a solução foi filtrada em papel filtro dessecado a 105 °C por 2 h. O material retido foi seco em estufa Tecnal[®] a 105 °C por 24 h, em seguida resfriado e pesado. A solubilidade do biofilme foi expressa em (g/100 g) massa solubilizada em relação à massa inicial da amostra, como mostra a Equação 2.2. As análises foram feitas em triplicata com adaptações do método de Gontard; Guilbert e Cuq (1998).

$$MS = \frac{M_{\text{inicial}} - M_{\text{final}}}{M_{\text{inicial}}} \times 100 \quad (\text{Eq. 2.2})$$

Onde:

MS = solubilidade em água

M_{inicial} = matéria seca inicial

M_{final} = matéria seca final após as 24 h de solubilização

- Intumescimento

O intumescimento de filmes é o resultado da difusão de moléculas de solvente para o interior dos mesmos e que permanecem acomodadas na fase polimérica, resultando em um aumento de volume da amostra (TURBIANI; KIECKBUSCH; GIMENES, 2011). O teste foi realizado segundo descrito por Bunhak, (2007). Os biofilmes com 0,0009 m² foram dispostos em duas soluções: uma com ácido clorídrico, pH 1,8, e outra com bicarbonato de sódio, pH 8,4, à temperatura ambiente. Em intervalos de tempo de 5, 30 e 60 min, amostras dos biofilmes foram retiradas e o excesso de água removido com papel absorvente e pesadas. O

intumescimento dos biofilmes foi calculado por intermédio da Equação 2.3. As análises foram feitas em triplicata.

$$Ii = \frac{W_i - W_s}{W_s} \times 100 \quad (\text{Eq. 2.3})$$

Onde:

Ii (g/100 g) = porcentagem de intumescimento

W_i (g) = peso do filme após período de intumescimento (peso úmido)

W_s (g) = peso do filme seco

- Propriedades mecânicas

Os ensaios mecânicos foram realizados em oito repetições, com adaptações do método descrito por Carvalho e Grosso (2004). A resistência máxima à tração (MPa) e alongação na ruptura (g/100 g) foram determinadas utilizando um equipamento Shimadzu® AG-I 10KN (Quito, Japão) operando de acordo com o método padrão ASTM D882-02, com adaptações. Os filmes foram cortados formando corpos de prova de 0,10 m de comprimento e 0,025 m de largura, sofrendo uma tração em velocidade de 8×10^{-4} m/s, sendo a distância inicial entre as garras de 0,050 m. A tensão de ruptura pode ser calculada através da relação entre a força e a área mínima da seção transversal do filme dada pela Equação 2.4 e a alongação na ruptura foi calculada por meio da razão entre o alongamento total da amostra até a ruptura e a distância inicial entre as garras, segundo a Equação 2.5:

$$\text{Resistência máxima à tração} = \frac{F_{\text{máx}}}{A_{\text{min}}} \quad (\text{Eq. 2.4})$$

Onde:

$F_{\text{máx}}$ = força máxima (N)

A_{min} = área mínima inicial da amostra (mm²).

$$\text{Alongação na ruptura} = \frac{A_r}{D_G} \times 100 \quad (\text{Eq. 2.5})$$

Onde:

A_r = alongação na ruptura (mm)

D_G = distância inicial entre as garras (mm)

- Microscopia eletrônica de varredura por efeito de campo- FEG

A análise de microscopia eletrônica de varredura por efeito de campo (FEG) permite obter informações sobre as características da superfície dos materiais (HOSSEINI et al., 2015). Para a realização da análise no equipamento Tescan MIRA3 (TESCAN®, Kohoutovice, República Checa), foi utilizado elétrons secundários (SE) com operação de voltagem entre 7 kV e 15 kV e ampliação de 2500 vezes. Os filmes foram cortados em amostras de $25 \times 10^{-6} \text{ m}^2$ e recobertos com um material eletricamente condutível (ouro), para melhoramento do contraste e sem seguida acoplados ao equipamento.

2.2.3 Atividade antimicrobiana

As cepas padrões utilizadas para as análises foram: *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Enterococcus faecalis* ATCC 19433 e *Salmonella enterica* ATCC 14028. Inicialmente as bactérias foram reativadas em caldo cérebro e coração (BHI) a 37 °C por 24 h. Na sequência cada micro-organismo foi diluído em solução salina (0,9 %) até atingir concentração de 10^8 UFC/mL, equivalente à solução padrão de McFarland de 0,5 (80 % de transmitância) (BAUER et al., 1966).

A técnica utilizada foi a de disco difusão que consiste em aplicar um determinado volume de extrato diluído em diferentes concentrações em discos de papel de filtro com 6 mm de diâmetro descrito por Bauer et al. (1996). No presente estudo, os discos de papel foram substituídos por discos formados a partir de filmes biodegradáveis, os quais já continham os extratos de interesse. A técnica foi realizada por meio de suspensão ágar Muller Hinton (25 mL) em placas de petri, inoculadas em superfície utilizando swab estéril com 0,1 mL dos micro-organismos (10^8 UFC/mL). Na superfície do ágar inoculado, foram adicionados os discos de 2 mm de diâmetro formados a partir de cada formulação dos filmes biodegradáveis (produzidos conforme planejamento experimental mostrado na Tabela 3.2). As placas foram incubadas invertidas a 37 °C por 24 h. A determinação da inibição do crescimento microbiano foi feita por meio da medida dos halos inibitórios (BAUER et al., 1966).

2.2.4 Análise estatística

Os métodos para decisão de uso dos testes estatísticos foram realizados segundo Granato; Calado e Jarvis (2014). Os resultados foram expressos por médias seguidas dos seus respectivos desvios padrões. Foi aplicado o teste de Kolmogorov-Smirnov para verificar a normalidade dos resultados obtidos na caracterização dos filmes, o teste de Levene para verificar a homogeneidade de variâncias (95 % de significância para o valor de p) e ANOVA

para verificar a diferença estatística entre as médias dos dados gerados, utilizando fator único com 90 % de significância para o valor de p.

O teste de Fisher foi usado para comparação das médias, considerando o valor de $p < 0,10$ como significativo. Dados que não seguiram a normalidade ($p < 0,05$) passaram por transformação Box-Cox, para então ser aplicado o teste de Kolmogorov-Smirnov e Levene. Para correlação entre parâmetros foi utilizada a correlação linear de Pearson, sendo a significância adotada de 0,05 ($p < 0,05$). As respostas foram modeladas segundo metodologia descrita por Barros-Neto; Scarminio; Bruns, (2001), utilizando-se a equação 2.6:

$$Y = \beta_1 X_1 + \beta_2 X_2 + \beta_3 X_3 + \beta_{12} X_1 X_2 + \beta_{13} X_1 X_3 + \beta_{23} X_2 X_3 + \beta_{123} X_1 X_2 X_3 \quad (\text{Eq. 2.6})$$

Onde Y é a resposta estimada, β_1 , β_2 e β_3 são os coeficientes de regressão para o modelo linear, β_{12} , β_{13} e β_{23} são os coeficientes de regressão para o modelo quadrático e β_{123} é o coeficiente de regressão para o modelo cúbico especial. Os modelos matemáticos obtidos para cada uma das respostas experimentais foram submetidos à análise de variância (ANOVA). Foi verificada a significância do modelo de regressão ao nível de 10 % ($p < 0,10$). O programa *Statistica* 12.7 (StatSoft® Tulsa OK, EUA) foi utilizado para gerar os modelos matemáticos e os gráficos de superfície de contorno.

2.3 Resultados e Discussão

2.3.1 Caracterização dos filmes

Como se pretendia estudar a incorporação de bagaço de mandioca, gelatina e *S. platensis* na formulação de filmes, foram realizados testes preliminares para verificar o comportamento da solução filmogênica com esses componentes formando misturas em diferentes proporções como mostra a Tabela 2.1. Por meio de comprovação visual verificou-se viabilidade de formação de filmes de amido com as matérias-primas alternativas testadas. As características do filme, como a facilidade de manuseio, formação moderada de bolhas e facilidade de retirada da placa de acrílico possibilitou eleger a melhor proporção entre amido e mistura (33,3 g/100 g de bagaço de mandioca, 33,3 g/100 g de gelatina e 33,3 g/100 g de biomassa de *S. platensis*), sendo esta de 4 e 2 g/100 g, respectivamente.

- Composição proximal

Os dados obtidos para a composição proximal dos constituintes dos filmes estão expressos na Tabela 2.3.

Tabela 2.3 - Composição proximal dos constituintes das formulações de filmes (média $\pm$ desvio padrão)

Parâmetros (g/100 g)	Amido de Mandioca	<i>S. platensis</i>	Gelatina	Bagaço de Mandioca
Umidade	11,76 $\pm$ 0,79	10,30 $\pm$ 0,24	13,51 $\pm$ 0,11	10,63 $\pm$ 0,79
Cinzas	0,11 $\pm$ 0,01	11,40 $\pm$ 1,12	0,32 $\pm$ 0,06	1,58 $\pm$ 0,07
Proteínas	0,61 $\pm$ 0,23	50,22 $\pm$ 4,03	72,15 $\pm$ 0,45	1,54 $\pm$ 0,25
Lipídios	< 0,01	3,54 $\pm$ 0,66	< 0,01	0,46 $\pm$ 0,11
Fibras Totais	0,6 $\pm$ 0,02	*6,66	<0,01	24,09 $\pm$ 1,48
Carboidratos Totais**	86,92	17,85	14,02	62,01

*Valor do rótulo - Fabricação 10/102014 Lote 0023/2014 **por diferença

O amido de mandioca é o principal responsável pela formação do filme devido à sua conformação estrutural que possibilita o processo de gelatinização. Apresenta na sua composição teores baixos de proteínas e lipídios, sendo constituído basicamente de carboidratos. Em estudo realizado por Alves; Klososki e Montanhini (2015) os valores obtidos para a umidade (12,3 $\pm$ 0,35 g/100 g) e teor de carboidratos (85,64 g/100 g) do amido de mandioca apresentam-se semelhantes aos do presente trabalho. O teor de fibras encontra-se semelhante ao estudo realizado por Vieira et al. (2015) cujo valor foi de 0,61 $\pm$ 0,03 g/100 g.

O bagaço de mandioca é constituído de fibras e carboidratos residuais. Sua presença nas formulações permite aumentar a resistência dos materiais formados devido à disposição das fibras (DEBIAGI et al., 2012). A análise de composição proximal para o bagaço de mandioca foi realizada por Fiorda et al, (2013), onde o teor de fibras encontrado foi superior ao estabelecido no presente estudo, sendo este valor de 56,84 $\pm$ 2,78 (g/100 g). A variação da composição proximal do amido e do bagaço de mandioca está relacionada a fatores ambientais de cultivo, fatores genéticos da mandioca e otimização da extração do amido na indústria processadora (extração mais eficiente acarreta em menores teores de fibra total) (FIORDA et al., 2013).

A *S. platensis* e a gelatina apresentam elevada quantidade de proteínas. A *S. platensis* apresentou valores semelhantes ao presente estudo quando cultivada em pH de 9, sendo seus valores de proteínas e cinzas respectivamente 48,23 $\pm$ 1,1 e 10,11 $\pm$ 0,36 g/100 g (OGBONDA; AMINIGO; ABU, 2007). O teor de lipídios apresentou valor reduzido quando comparado com estudo realizado por Gai et al. (2015). Variações nos teores obtidos de composição proximal estão relacionadas às condições de cultivo da *Spirulina platensis*. Relacionando os valores obtidos para a composição proximal da gelatina com a literatura (JONGJAREONRAK et al., 2006), observa-se valores reduzidos para proteínas, cinzas e

lipídios no presente estudo, fato este explicado pela fonte de extração do colágeno e método de processamento.

- Viscosidade das soluções filmogênicas

A viscosidade a 95 °C foi estabelecida antes do início do resfriamento, e em alguns casos este valor não correspondeu à máxima viscosidade durante o período de corrida do programa (13 min). Os maiores valores para as viscosidades a 95 °C foram registradas para as formulações B e H dentro do planejamento, as quais contêm além do amido de mandioca, o bagaço de mandioca. Este subproduto foi responsável por maiores valores de viscosidade por conter amido residual na sua composição. A amostra controle (amido de mandioca e glicerol) apresentou a maior viscosidade a 95 °C (393,3 cP) e um dos menores valores de viscosidade final (213 cP).

Na maioria das formulações, a viscosidade final das soluções filmogênicas, obtida ao fim do processo de gelatinização na temperatura de 50 °C foi superior à viscosidade a 95 °C, o que era esperado. Os maiores valores foram correspondentes às formulações B e D devido ao amido residual contido no bagaço de mandioca. Tanto para a viscosidade a 95 °C quanto para a viscosidade final, os menores valores foram registrados para as formulações com gelatina. Em temperaturas elevadas a gelatina permanece com baixa viscosidade e conforme ocorre o seu resfriamento tende a aumentar. Segundo ANOVA fator único para as duas viscosidades analisadas, não houve diferença significativa entre as amostras. As viscosidades obtidas para cada uma das formulações estão expressas na Tabela 2.4.

Tabela 2.4 - Viscosidades de pico e final para as formulações filmogênicas

Formulação	Viscosidade a 95 °C (cP)	Viscosidade Final a 50 °C (cP)
A	292,7±6,0	357,0±9,5
B	664,0±39,6	740,3±29,0
C	163,0±3,6	209,3±0,6
D	427,0±5,3	493,3±16,4
E	218,3±29,7	272,3±24,9
F	344,0±3,6	479,3±8,9
G	282,0±7,8	348,0±12,3
H	502,3±20,5	420,7±314,1
I	207,0±7,2	294,0±5,2
J	315,3±6,6	412,7±12,4
p-valor (*Kolmogorov-Smirnov)	0,38	0,32
p-valor (**Levene)	0,40	0,52
p-valor (one way ANOVA)	0,26	0,13

*Teste de Normalidade; **Teste de Homocedasticidade

- Umidade e A_w

O teor de umidade de filmes está relacionado com os constituintes da formulação e etapas de processamento. Foi observado, para filmes de amido de mandioca e *S. platensis* (A), umidade em torno de 11 g/100 g. Para filmes constituídos de amido de mandioca e mistura ternária (em proporções iguais) (J), o teor de umidade foi de 18,81 g/100 g. A amostra controle, produzida com amido de mandioca e glicerol, apresentou o maior teor de umidade, em torno de 21,93 g/100 g. Houve diferença significativa entre as formulações segundo ANOVA fator único com $p < 0,10$.

Dantas et al. (2015) encontraram como valor de umidade 15,53 g/100 g para filmes de amido de mandioca. Para filmes a base de gelatina o teor de umidade ficou em torno de 12 g/100 g em estudo realizado por Moreno et al. (2016), valor inferior ao encontrado neste estudo para amostra contendo amido de mandioca e gelatina (15,86 g/100 g). A presença da gelatina aumenta a quantidade de água retida nos géis de amido de mandioca, pois proteínas contêm grupos capazes de se ligarem ao solvente, tornando a mobilidade molecular menor devido à dificuldade de formação e quebra de ligações (NUR HANANI; ROOS; KERRY, 2014). Todos os autores citados utilizaram como agente plastificante o glicerol em concentrações variadas. Os valores encontrados neste estudo estão próximos aos dados da literatura (CIAN et al., 2015; DANTAS et al., 2015).

Amostras com elevado teor de umidade estão mais susceptíveis ao desenvolvimento de micro-organismos enquanto que filmes com baixo teor de umidade, devido a sua higroscopicidade, podem absorver água de forma rápida. Tais fatores interferem na estrutura do filme formado, bem como nas propriedades mecânicas. Filmes com baixa umidade tendem a se tornarem quebradiços e impróprios para aplicação, deixando de atuar como barreira.

Em estudo realizado por Dantas et al. (2015) a A_w para filmes de amido de mandioca apresentou valor médio de 0,69. Os valores encontrados estão próximos a este valor, porém, não apresentaram diferença significativa ($p > 0,10$) entre si. Os resultados estão expressos na Tabela 2.5.

Para que ocorra o desenvolvimento da maioria das bactérias, incluindo as patogênicas, o valor de A_w deve ficar entre 0,93-0,98, enquanto para leveduras e fungos o crescimento ocorre em A_w entre 0,61 e 0,65 (TERRA; FREITAS; CICHOSKI, 2007). Os valores encontrados para as diferentes formulações de filmes estão no limite requerido para o desenvolvimento de fungos e leveduras, mas não suficiente para o desenvolvimento de bactérias. A amostra controle, contendo amido de mandioca e glicerol, apresentou a menor A_w dentre as formulações testadas, sendo de 0,487. Este parâmetro estabelece o teor de água

disponível para o crescimento microbiano e por consequência determina a estabilidade do produto final (MALI; GROSSMANN; YAMASHITA, 2010). A quantidade de água presente em um produto, não está completamente disponível para o desenvolvimento dos micro-organismos. Desta forma, o teor de umidade é a água total presente, enquanto que, a A_w é a quantidade disponível para o crescimento microbiano.

- Propriedades físicas

As propriedades de barreira e mecânicas são influenciadas pela espessura do filme e pelos materiais que o compõem. A determinação da medida entre as duas principais superfícies do material (as duas maiores áreas) é um parâmetro de controle para o bom desempenho da película formada (HENRIQUE et al., 2008). A amostra de menor espessura foi a controle (amido de mandioca e glicerol), com 0,09 mm.

Em estudo realizado por Dantas et al. (2015) a incorporação de polpa de fruta no filme produzido com amido de mandioca acarretou em aumento na espessura bem como nas propriedades de barreira. O filme de amido de mandioca foi considerado o controle para os autores, apresentando espessura de 0,08 mm. A espessura das películas de gelatina e amido milho variou entre 0,061 e 0,227 mm para as formulações de filmes testadas por Moreno et al. (2016). Filmes sintéticos de polietileno de baixa densidade utilizados em estudo com morangos apresentaram espessura de 0,15 mm (COSTA et al., 2011), indicando proximidade entre embalagens sintéticas e os filmes produzidos no presente estudo.

Maiores quantidades de sólidos presentes nas formulações fazem com que a espessura do filme formado seja maior após o processo de secagem. Neste estudo, a quantidade de matérias-primas adicionadas bem como a quantidade de agente plastificante, não variou entre as formulações. Sendo assim, as amostras analisadas não apresentaram diferença estatística entre si ($p > 0,10$). Maiores valores de espessura tornam o produto final mais resistente à tração e com maior permeabilidade ao vapor de água, parâmetro que deve ser controlado dependendo do alimento ao qual será aplicado.

A uniformidade do biofilme é estabelecida segundo a sua densidade. Quando ocorrem mudanças pode ter ocorrido alteração na cristalinidade e absorção do solvente no material (SARANTÓPOULUS et al., 2002). Menores valores de densidade estão relacionados com maior solubilidade, fato explicado pela alta porosidade, a qual aumenta a capacidade de absorção de compostos líquidos (VERCELHEZE et al., 2012). Segundo ANOVA fator único ($p > 0,10$), não houve diferença estatística entre os dados. A amostra controle apresentou resultado semelhante às amostras do planejamento. A densidade apresenta correlação negativa

($r = -0,79$; $p < 0,01$) em relação à espessura, compreendida quando se utiliza um material de mesma área e massa, onde maiores espessuras implicam em materiais menos densos.

A resistência do filme biodegradável está relacionada com a gramatura, definida por Oliveira et al. (1996), como sendo o peso de uma área pré-estabelecida do material estudado. A gramatura, assim como a densidade, deve ser baixa, para que ocorra melhor solubilização do material formado. Não houve diferença estatística segundo ANOVA fator único com $p > 0,10$ para esses parâmetros. Os valores médios de umidade, espessura, densidade e gramatura para as formulações testadas estão representados na Tabela 2.5.

Tabela 2.5 - Valores médios para as variáveis: umidade, A_w , espessura, densidade e gramatura dos biofilmes produzidos com *S. platensis*, bagaço de mandioca e gelatina

Formulação	Umidade g/100 g	A_w	Espessura m ($\times 10^{-3}$)	Densidade kg/m ³	Gramatura kg/m ² ($\times 10^{-3}$)
A	11,00 $\pm$ 1,46 ^b	0,71 $\pm$ 0,01	0,21 $\pm$ 0,04	31,0 $\pm$ 0,01	68,27 $\pm$ 18,03
B	14,84 $\pm$ 2,30 ^{cd}	0,70 $\pm$ 0,01	0,24 $\pm$ 0,03	30,4 $\pm$ 0,01	73,06 $\pm$ 25,18
C	15,86 $\pm$ 1,58 ^{cd}	0,70 $\pm$ 0,01	0,14 $\pm$ 0,01	67,9 $\pm$ 0,00	92,64 $\pm$ 3,89
D	15,74 $\pm$ 1,34 ^{cd}	0,68 $\pm$ 0,01	0,22 $\pm$ 0,03	39,2 $\pm$ 0,01	88,44 $\pm$ 21,15
E	16,49 $\pm$ 0,68 ^c	0,67 $\pm$ 0,01	0,24 $\pm$ 0,02	32,4 $\pm$ 0,01	76,52 $\pm$ 24,42
F	14,17 $\pm$ 0,33 ^d	0,66 $\pm$ 0,03	0,24 $\pm$ 0,07	38,2 $\pm$ 0,01	88,98 $\pm$ 18,04
G	15,68 $\pm$ 1,24 ^{cd}	0,63 $\pm$ 0,01	0,25 $\pm$ 0,02	41,8 $\pm$ 0,00	104,21 $\pm$ 7,75
H	15,97 $\pm$ 0,84 ^{cd}	0,64 $\pm$ 0,02	0,24 $\pm$ 0,05	41,4 $\pm$ 0,00	100,37 $\pm$ 23,45
I	15,43 $\pm$ 1,30 ^{cd}	0,66 $\pm$ 0,02	0,23 $\pm$ 0,03	41,2 $\pm$ 0,01	90,98 $\pm$ 3,14
J	18,81 $\pm$ 1,32 ^a	0,66 $\pm$ 0,02	0,22 $\pm$ 0,01	50,4 $\pm$ 0,01	109,89 $\pm$ 25,53
p-valor (*Kolmogorov-Smirnov)	0,66	0,63	0,14	0,27	0,89
p-valor (**Levene)	0,97	0,83	0,78	0,85	0,96
p-valor (ANOVA)	0,05	0,24	0,85	0,80	0,21
p-modelo	0,10	0,38	0,89	0,94	0,34

*Teste de Normalidade; **Teste de Homocedasticidade

Letras diferentes na mesma coluna são diferentes segundo teste de Fisher ($p < 0,10$)

O parâmetro umidade foi ajustado com o intuito de se obter um modelo matemático representativo (Eq. 2.7). A superfície de contorno está representada na Figura 2.3 para explicação dos dados experimentais obtidos.

$$U = 10,64S + 12,58B + 10,39G + 7,44S.B + 29,36S.G + 7,56B.G \text{ (Eq. 2.7)}$$

Onde:

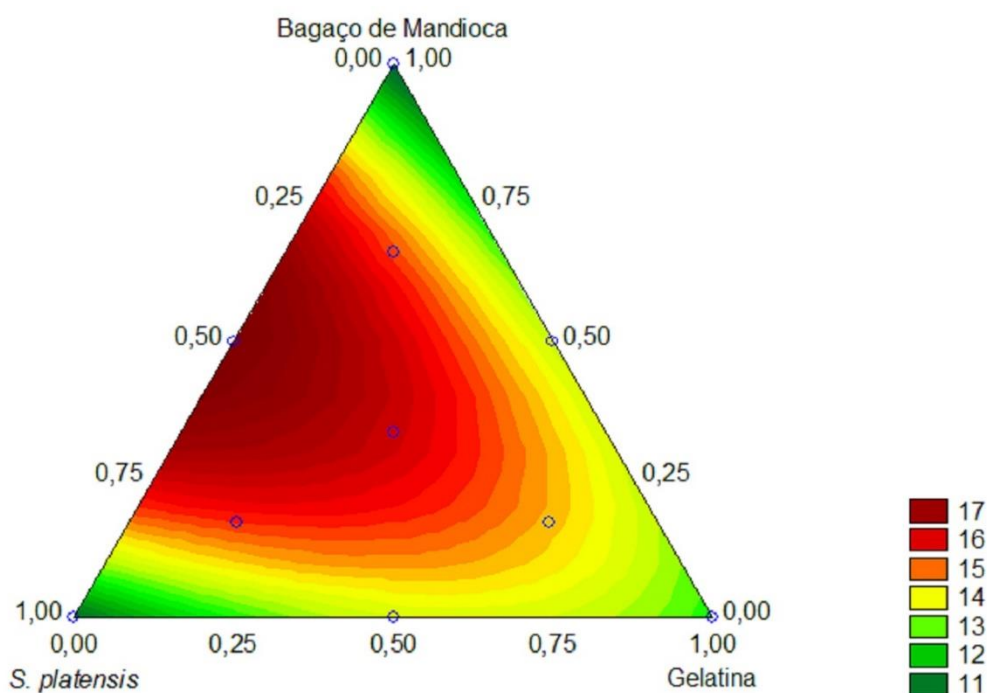
U = umidade

S = *S. platensis*

B = bagaço de mandioca

G = gelatina

Figura 2.3 - Superfície de contorno para o parâmetro umidade das formulações de filmes



Fonte: A autora

Por meio da superfície de contorno mostrada na Figura 2.3 é possível observar que o maior valor de umidade está relacionado com proporções iguais dos três componentes (mistura ternária) e o menor valor corresponde à formulação com 100 % *S. platensis*. O modelo apresentou p significativo, explicando 90 % da variabilidade dos dados experimentais.

- Propriedades ópticas

Cor e opacidade podem não ser interessantes em se tratando de embalagens ou revestimentos alimentícios, pois os consumidores tem necessidade de visualizar o produto dentro da embalagem (CIAN et al., 2014). Em produtos que apresentem sensibilidade à luz, a presença da cor e da opacidade na embalagem se torna uma proteção ao alimento, como nos destinados a bebês e produtos lácteos (KRIKOR; TARRAGO; JANSEN, 2010). Quando em proporções adequadas e em produtos específicos, a coloração da embalagem valoriza o produto final.

A opacidade está relacionada à quantidade de luz absorvida devido à dispersão dos compostos na matriz polimérica, sendo a aparência e a cor dependentes desse parâmetro (FADINI et al., 2013). A formulação A apresentou parâmetro a^* menor que as outras formulações (a^* negativo tendência ao verde), dado que pode ser explicado pela presença da *S. platensis* em maiores concentrações que tornam o filme de coloração esverdeada. Filmes à base de gelatina e os filmes controle apresentaram maior transparência quando comparados com filmes constituídos de *S. platensis* (maior valor de L^*), porém, os filmes, frente aos parâmetros L^* e b^* , não apresentaram diferença entre si. Nas formulações H, I e J, formadas pelos três componentes da mistura, mesmo que em diferentes proporções, os valores de a^* e b^* foram similares.

No presente estudo, a luminosidade, correlaciona-se de forma negativa com a alongação ($r = -0,74$; $p = 0,13$), representado pelo filme composto com gelatina, que apresenta um dos maiores valores para esse fator e um dos menores valores para alongação. Enquanto que, uma correlação positiva é observada em relação à resistência a tração ($r = 0,81$; $p = 0,10$).

As amostras apresentaram diferença visual em relação à cor e opacidade. Em termos numéricos, a menor opacidade foi registrada para a formulação C composta de amido de mandioca e gelatina. A amostra controle, com amido de mandioca e glicerol, apresentou opacidade próxima ao estabelecido para o filme com amido de mandioca e gelatina (C). O filme biodegradável mais opaco foi a formulação D, justificado pela presença de bagaço de mandioca e *S. platensis* e ausência de gelatina. Maiores concentrações de *S. platensis* representaram maiores valores de opacidade para os filmes devido a sua coloração e a presença do bagaço de mandioca, os quais interferiram nos valores de opacidade e deveriam ser particulados por meio de micronização (LAVOINE et al., 2012; WAN et al, 2015). No entanto, as amostras não apresentaram diferença significativa ($p > 0,10$).

Segundo estudo realizado por Al-Hassan e Norziah (2012), o aumento no teor de gelatina não apresentou efeito significativo em relação à absorção de luz em filmes biodegradáveis, sendo o valor de opacidade encontrado igual a 2,00. Baixos valores de opacidade (ABS/mm) representaram películas de alta transparência, fator importante quando aplicado em produtos alimentícios (CIAN et al., 2014). No presente estudo, a opacidade para filmes a base de gelatina apresentou valor igual a 1,82, valor próximo ao encontrado por Al-Hassan e Norziah (2012).

A opacidade é um parâmetro importante a ser estudado, pois tem influência na visualização do produto antes da compra (CHANG; NICKERSON, 2014). Este parâmetro

apresentou correlação significativa e positiva em relação ao parâmetro de cor b^* ($r = 0,68$; $p = 0,03$) e a alongação ($r = 0,68$; $p = 0,26$). Filmes menos opacos, compostos de gelatina, apresentaram menores valores de alongação. Películas opacas e coloridas podem ser aplicadas a produtos sensíveis a luz, que não exijam a transparência da embalagem como apelo de compra. Os três parâmetros de cor e a opacidade estão representados na Tabela 2.6.

Tabela 2.6 - Parâmetros de luminosidade e cor para as diferentes formulações de filmes biodegradáveis

Amostra	Parâmetros de Cor			Opacidade
	L^*	a^*	b^*	ABS/mm
A	13,08±0,44	-1,71±0,16 ^a	9,04±0,23	4,59±0,22
B	53,09±0,50	0,66±0,05 ^b	6,25±0,26	2,24±0,49
C	52,88±0,46	0,40±0,05 ^c	0,90±0,11	1,82±0,54
D	27,88±0,65	0,75±0,24 ^b	20,59±0,57	4,83±1,38
E	48,94±0,62	-0,86±0,06 ^e	16,05±0,93	3,95±0,99
F	58,84±1,96	0,69±0,07 ^b	3,50±0,97	2,37±0,60
G	32,34±1,90	-0,39±0,08 ^d	12,48±0,37	3,69±0,03
H	45,42±0,57	-1,58±0,02 ^f	13,76±0,06	3,26±1,11
I	43,99±0,80	-0,72±0,06 ^e	16,18±0,19	2,63±0,19
J	38,69±0,70	-0,31±0,04 ^d	19,05±0,42	3,56±0,21
p-valor (*Kolmogorov-Smirnov)	0,07	0,21	0,28	0,94
p-valor (**Levene)	0,72	0,43	0,27	0,78
p-valor (one-way ANOVA)	0,17	0,01	0,99	0,85
p-modelo	0,31	0,02	0,99	0,96

*Teste de Normalidade; **Teste de Homocedasticidade

Letras diferentes na mesma coluna representam diferença significativa de acordo com o teste de Fisher LSD ($p < 0,10$).

O parâmetro de cor (a^*) foi ajustado para obtenção do modelo matemático (Eq. 2.8) e superfície de contorno (Figura 2.4).

$$A = 1,85S + 1,58B + 1,61G - 4,55S.B - 4,70S.G - 3,72B.G \text{ (Eq. 2.8)}$$

Onde:

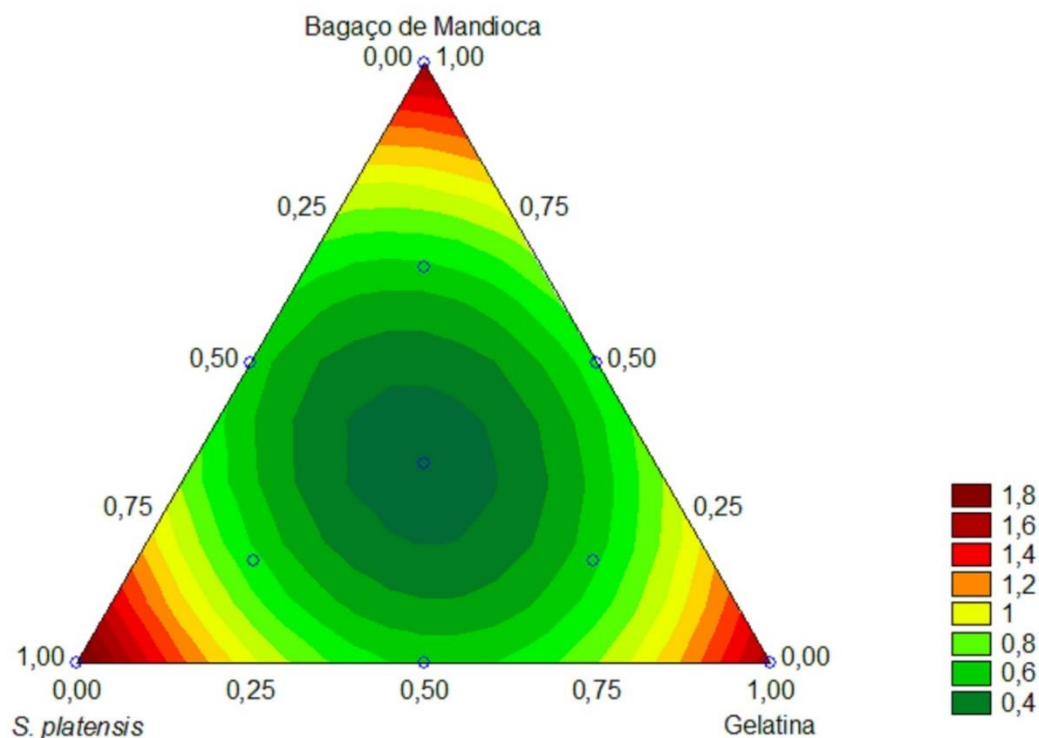
A = cor a^*

S = *S. platensis*

B = bagaço de mandioca

G = gelatina.

Figura 2.4 - Superfície de contorno para o parâmetro cor a^* dos filmes formulados



Fonte: A autora

Observando-se a superfície de contorno para o parâmetro cor a^* pode-se observar que os maiores valores foram obtidos para os compostos isolados, correspondendo aos positivos como mostrado na Tabela 2.6. Os menores valores são visualizados na superfície de contorno (a^*) com a coloração verde, confirmando os dados apresentados na Tabela 2.6. Segundo valor de p obtido para o modelo matemático, os dados amostrais são explicados em 98 %.

A cor verde proveniente da *S. platensis* em filmes biodegradáveis é interessante quando aplicado em alimentos de mesma cor, porém, filmes transparentes como a formulação C representam a preferência do consumidor, para visualizar o produto (ZAVAREZE et al., 2012; AKHTAR et al., 2013). A coloração não é um fator limitante (CIAN et al., 2015). Azeredo et al. (2016) estudaram filmes a base de suco de romã e ácido cítrico, destacando que a presença da cor vermelha viva do filme direciona a aplicação para uma variedade de produtos da mesma coloração. Este é um dos diferenciais na produção de filmes a base de *S. platensis*, onde a coloração verde torna possível a aplicação em uma série de alimentos da mesma cor, agregando valor ao produto final.

- Propriedade de barreira ao vapor d'água

A aplicação do filme biodegradável pode ser estimada pelo parâmetro permeabilidade ao vapor de água (PVA), sendo ideal baixa permeabilidade para produtos desidratados (ASSIS; BRITTO, 2014). Diversos fatores podem interferir na permeabilidade dos filmes, relacionados ao processamento, como tratamentos enzimáticos, tratamentos de alta pressão e processo de extrusão (CAZÓN et al., 2016; MATTA JÚNIOR et al., 2011; WIHODO; MORARU, 2013).

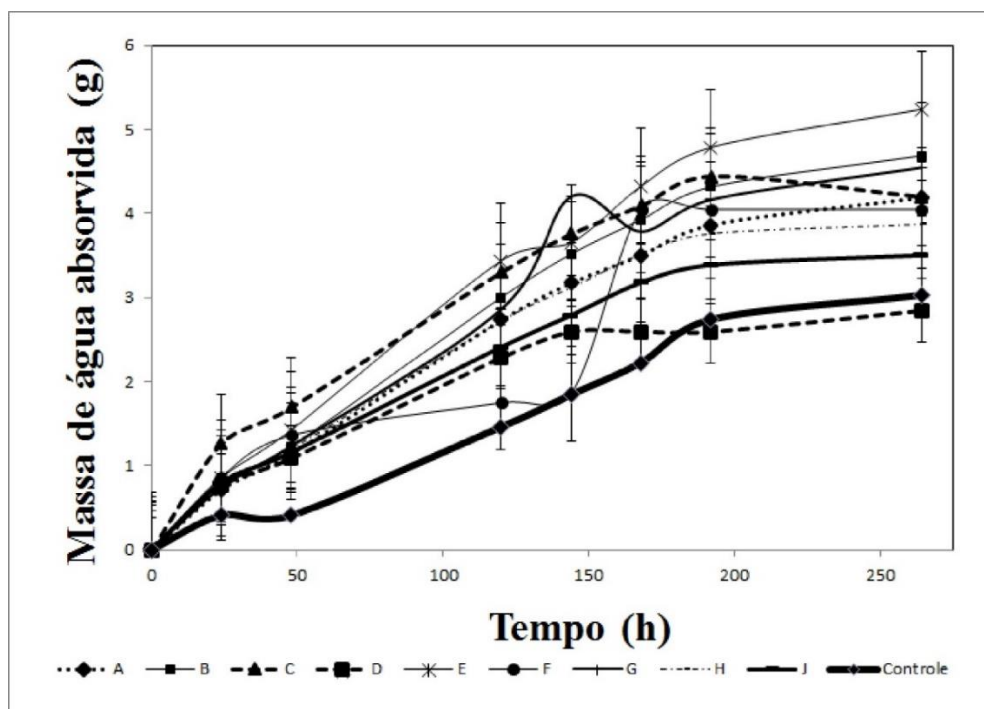
Segundo Vieira et al. (2011), quando o filme é produzido com matéria-prima rica em proteínas, a rede formada é menos densa e com maior volume livre, o que facilita a permeação do agente plastificante e por consequência difusão de água através do filme. Mesmo apresentando teores de proteínas superiores na formulação C, os valores para a permeabilidade ao vapor de água dos biofilmes produzidos não apresentaram diferença significativa ao nível de 10 % para ANOVA fator único.

Cian et al. (2014) relatam em estudo que, o aumento do teor de plastificante aumenta a permeabilidade ao vapor de água, encontrando valores de permeabilidade em torno de $4,2 \times 10^{-11}$ gH₂O/Pa.s.m para filmes a base de algas vermelhas e glicerol na proporção de 12,5 g/100 g. Filmes biodegradáveis produzidos com fibras dietéticas apresentaram permeabilidade em torno de $6,2 \times 10^{-12}$ g/Pa.m.s segundo estudo realizado por Wan et al. (2015). Filmes de gelatina incorporados com dialdeído carboximetil celulose apresentaram permeabilidade ao vapor de água entre $1,49 \times 10^{-10}$ g/Pa.m.s e $2,27 \times 10^{-10}$ g/Pa.m.s (MU et al., 2012).

Os valores de permeabilidade ao vapor d'água no presente estudo variaram de 2,77 a $6,12 \times 10^{-10}$ g H₂O/Pa.m.s. Enquanto, que a amostra controle, composta de amido de mandioca e glicerol apresentou $1,99 \times 10^{-10}$ g/Pa.m.s. Estes valores são maiores quando comparados aos estudos de Cian et al. (2014), $3,47 \times 10^{-11}$ g H₂O/Pa.m.s , e Wan et al. (2015), $6,21 \times 10^{-12}$ g H₂O/Pa.m.s.

Pela Figura 2.5 é possível visualizar que o maior ganho de massa foi estabelecido para a formulação E, sendo esta composta de proporções iguais de *S. platensis* e gelatina. O filme com menor ganho de água foi a formulação D. A amostra controle (amido de mandioca e glicerol) apresentou baixa absorção de umidade durante o período de análise. A Figura 2.5 mostra o ganho de massa das 10 formulações testadas no período de 10 dias.

Figura 2.5 - Permeabilidade ao vapor de água das formulações de filmes



Formulações (*S. platensis*: Bagaço de mandioca: Gelatina): A-100:0:0; B-0:100:0; C-0:0:100; D-50:50:0; E-0.50:0:50; F-0:50:50; G-66:17:17; H-17:66:17; I-17:17:66; J-33:33:33 (g/100 g)

Fonte: A autora

Tratando-se de alimentos desidratados o revestimento deve ser feito em filmes biodegradáveis de baixa permeabilidade ao vapor de água, garantindo que o produto chegue ao consumidor com aspecto adequado. Baixa permeabilidade também pode ser um indicador de que a película não apresenta fissuras e poros (KESTER; FENNEMA, 1986). Alguns autores relatam que o aumento da espessura aumenta a permeabilidade ao vapor de água (FARIAS et al., 2012; MATTA JÚNIOR et al., 2011). Este parâmetro se correlacionou de forma positiva com a espessura ($r = 0,69$; $p = 0,03$).

- Solubilidade

Altas solubilidades para as películas são vantajosas quando a embalagem é ingerida com o alimento, e quando se deseja retirar a película do produto por lavagem ou cocção (FAKHOURI et al., 2015). No trabalho de Vercelheze et al. (2012) observaram-se relatos comparando filmes de proteínas isoladas de soja, proteínas de soro de leite e filmes de amilose-carboximetilcelulose e verificaram valores de permeabilidade ao vapor de água muito baixos. Segundo os autores, a adição de fibras de celulose a filmes à base de amido foi viável para melhorar as propriedades de barreira dos filmes, com aumento da cristalinidade da

película de amido, devido à natureza cristalina destas fibras. Este comportamento pode ter efeito estabilizador sobre a matriz polimérica, reduzindo a mobilidade das moléculas com excelentes propriedades de barreira e se dissolveram rapidamente em água a 25 °C.

No presente estudo, as formulações de filmes compostas com gelatina em maiores proporções, apresentaram maior solubilidade quando comparada as demais amostras analisadas. A amostra controle (amido de mandioca e glicerol) apresentou solubilidade intermediária (55,26 g/100 g) aos valores obtidos para as amostras do planejamento experimental. As amostras frente à solubilidade em água não apresentaram diferença significativa entre si ($p > 0,10$).

Em estudo de filmes a base de amido de mandioca e gelatina nas proporções 4:1 e 1:4, os valores de solubilidade foram iguais a 20,81 g/100 g e 28,88 g/100 g, respectivamente, sendo a solubilidade maior com o aumento do teor de proteínas na composição, fato explicado pela conformação das proteínas que resultam em um material de menor densidade (FAKHOURY et al., 2012). Filmes biodegradáveis a base de fibras apresentaram como valores de solubilidade 29,3 g/100 g (WAN et al., 2015). As amostras contendo bagaço de mandioca apresentaram valores semelhantes aos encontrados por Wan et al. (2015). Os valores médios para a solubilidade em água para os biofilmes produzidos estão expressos na Tabela 2.7.

Tabela 2.7- Valores médios para a variável solubilidade em água dos biofilmes produzidos com *S. platensis*, bagaço de mandioca e gelatina

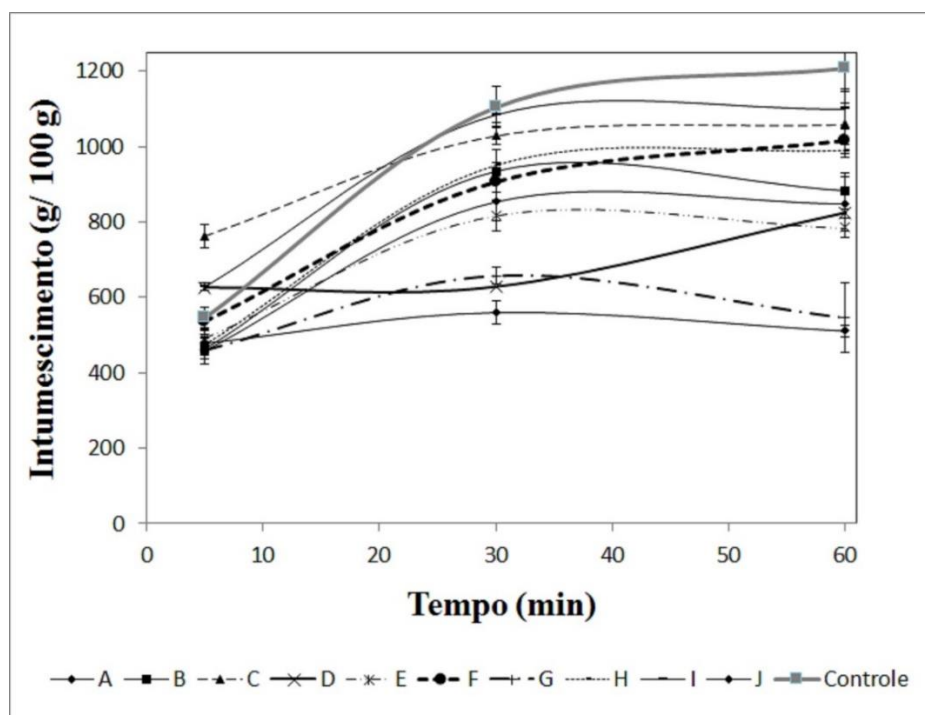
Ensaio	Solubilidade (g/100 g)
A	19,51±3,21
B	30,94±9,91
C	77,63±2,19
D	20,60±2,57
E	33,22±1,21
F	32,99±4,16
G	22,77±4,23
H	22,50±2,43
I	69,40±3,11
J	33,51±1,34
p-valor (*Kolmogorov-Smirnov)	0,37
p-valor (**Levene)	0,54
p-valor (one-way ANOVA)	0,37
p-modelo	0,54

*Teste de Normalidade; **Teste de Homocedasticidade

- Intumescimento

O intumescimento está relacionado com o comportamento do material frente a um meio, sendo dependente da concentração e do pH, da temperatura e da composição do solvente (DA SILVA et al., 2016; TANG et al., 2008; AOUADA et al., 2009). As formulações apresentaram aumento do intumescimento no decorrer do período de 60 min, o que era esperado já que os filmes ficaram expostos à solução por maior período de tempo. Os maiores valores de intumescimento em meio ácido registrados foram para as formulações I e C (amostras com maior teor de gelatina na sua composição). A amostra controle (amido de mandioca e glicerol) apresentou um intumescimento final superior às amostras do planejamento. O menor intumescimento final em ácido ocorreu para a formulação A, composta de *S. platensis* como mostra a Figura 2.6. Não houve diferença estatística entre as formulações ($p > 0,10$) para os tempos de 5 e 30 min.

Figura 2.6 - Intumescimento em HCl para as formulações de filmes



Formulações (*S. platensis*: Bagaço de mandioca: Gelatina): A-100:0:0; B-0:100:0; C-0:0:100; D-50:50:0; E-0:50:0:50; F-0:50:50; G-66:17:17; H-17:66:17; I-17:17:66; J:33:33:33 (g/100 g)

Fonte: A autora

O parâmetro intumescimento em meio ácido a 60 min foi ajustado para obtenção do modelo matemático (Eq. 2.10) e superfície de contorno (Figura 2.7).

$$I_i = 559,07S + 509,76B + 535,87G + 1539,25S.B + 1350,08S.G + 1703,23B.G \quad (\text{Eq. 2.9})$$

Onde:

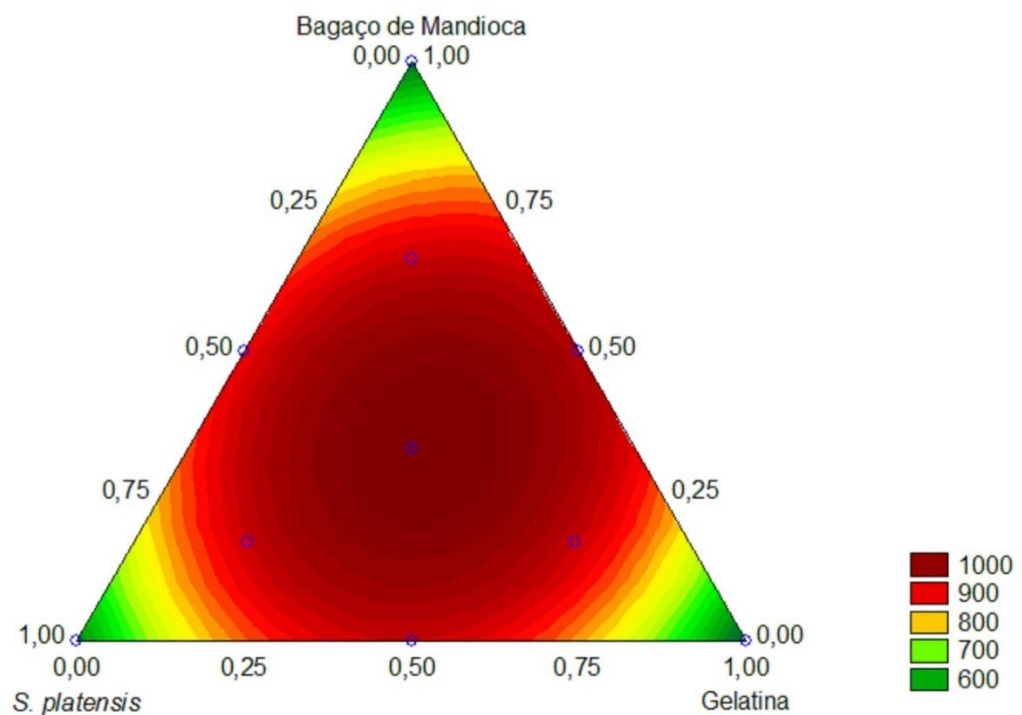
Ii = intumescimento em meio ácido 60 min

S = *S. platensis*

B = bagaço de mandioca

G = gelatina

Figura 2.7 - Superfície de contorno para o intumescimento em meio ácido 60 min das formulações de filmes



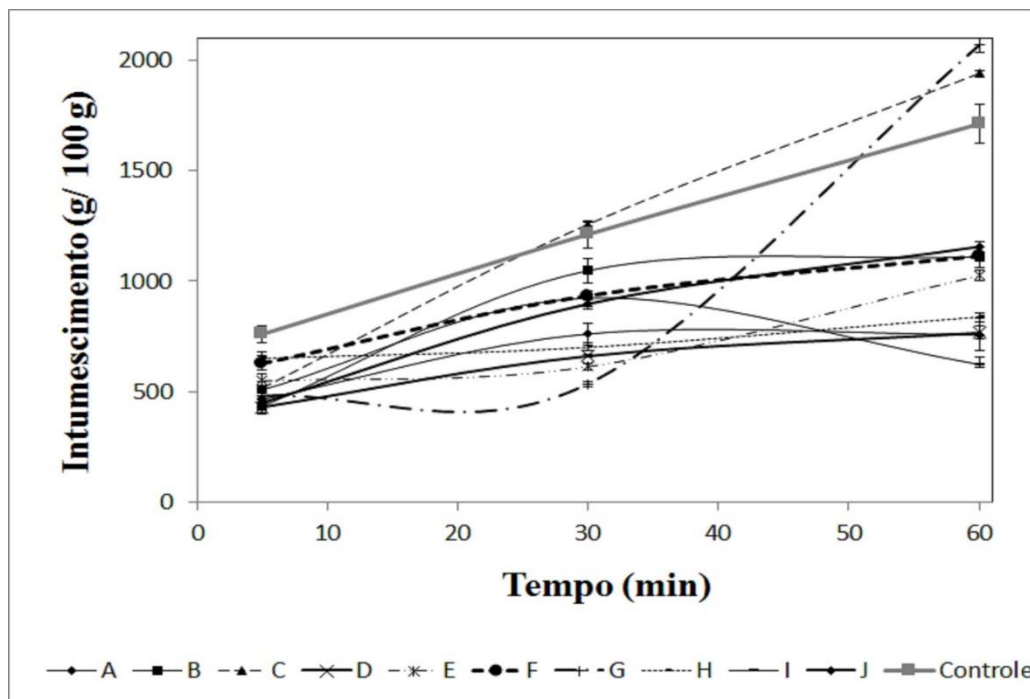
Fonte: A autora

Segundo a equação 2.9 todos os componentes da formulação quando isolados ou em interação relacionam-se positivamente. Pela superfície de contorno (Figura 2.7) os dados numéricos obtidos para o parâmetro intumescimento em meio ácido no tempo de 60 min são confirmados, onde o maior valor é obtido para a formulação I e o menor valor é correspondente à amostra contendo 100 g/100 g de *S. platensis* (A). Maiores valores de intumescimento são positivos para que ocorra degradação mais rápida do material biopolimérico formado, pois é necessária afinidade com a água, para que ocorra ação de micro-organismos (ROSINA; BARONI; CAVALCANTI, 2004, CAVALCANTI et al., 2002).

O bagaço tem alta capacidade de inchamento, sendo a composição química variável de acordo com a origem da mandioca e com o método de processamento (BOUCHONNEAU et al., 2010). O amido residual contido no bagaço interfere nas formulações que o contém.

Assim como no meio ácido, no meio alcalino ocorreu intumescimento proporcional ao tempo de exposição tanto para as amostras do planejamento experimental, quanto para a amostra controle (amido de mandioca e glicerol). Em estudo realizado por Bigi; Panza e Rubini (2004) com filmes biodegradáveis a base de gelatina, o valor obtido para o intumescimento em 5, 30 e 60 min foi de 300, 620 e 780 g/100 g, respectivamente. A Figura 2.8 mostra o índice em intumescimento em meio alcalino no período acompanhado para as formulações testadas.

Figura 2.8 - Intumescimento em NaHCO_3 para as formulações de filmes



Formulações (*S. platensis*: Bagaço de mandioca: Gelatina): A-100:0:0; B-0:100:0; C-0:0:100; D-50:50:0; E-0.50:0:50; F-0:50:50; G-66:17:17; H-17:66:17; I-17:17:66; J:33:33:33 (g/100 g)

Fonte: A autora

Em se tratando de uma estrutura formada por elevado teores de proteínas incorporadas a um agente plastificante, o inchamento é explicado pela redução da densidade do material, o qual se torna mais permeável (DE SOUZA; SOBRAL; MENEGALLI, 2012). O intumescimento em base no tempo de 30 min apresentou correlação linear positiva em relação à resistência à tração ($r = 0,86$; $p < 0,01$) e negativa em relação à elongação ($r = -0,74$;

$p = 0,08$). Maiores índices de intumescimento representam filmes de maiores resistência à tração e menores valores de alongação na ruptura, devido à estrutura proteica da gelatina.

- Propriedades mecânicas

As propriedades mecânicas dependem de fatores pré-estabelecidos do processamento como tempo de agitação e condições de secagem. Fatores como o tamanho das cadeias poliméricas e sua massa molar bem como a posição dos grupos laterais, interferem na capacidade de extensão dos filmes biodegradáveis, quando submetidos à tensão mecânica (MEHYER, 2012).

As fibras naturais desempenham importante papel em processos fisiológicos devido a sua estabilidade físico-química, sendo matérias-primas abundantes, baratas e biodegradáveis (JACOMETTI et al., 2015; MARTINEZ et al., 2012). A elaboração de filmes biodegradáveis utilizando fibras é de difícil execução devido à textura e granulometria, que conferem propriedades distintas. Métodos de micronização podem reduzir o tamanho de partícula melhoram o desempenho das fibras para essa função, além de hidratação e dilatação em água (WAN et al. 2015). As propriedades mecânicas de filmes conforme a literatura é favorecida por esse componente (VERCELHEZE et al., 2012).

Filmes ideais devem apresentar alta resistência à quebra e serem flexíveis para que possam se moldar ao alimento. A amostra controle apresentou alta resistência, com valor de 13,81 MPa. O resultado obtido para a alongação máxima foi inversa ao resultado obtido para a resistência máxima à tração. Desta forma, o filme de maior alongação foi o de formulação G (11,77 %) e as menores alongações ocorreram para as formulações B e C (2,63 e 3,29 % respectivamente). Baixos valores de alongação fazem com que os filmes tenham dificuldade de se aderir à superfície do alimento, quando usado como revestimento.

De acordo com estudo de Teixeira et al. (2012), filmes que continham maior teor de bagaço de mandioca apresentaram maior resistência durante os ensaios de tensão se comparados a filmes de amido de mandioca. Os mesmos autores relataram que a presença de fibras diminui a alongação do filme biodegradável e desta forma o torna quebradiço. Filmes a base de gelatina apresentam elevada resistência mecânica (45,4 MPa) devido à estrutura em paralelo das cadeias longas (JIANG et al. 2010).

A resistência máxima a tração e a alongação máxima na ruptura encontrada por Bersaneti et al. (2016) para filmes de amido de mandioca foram respectivamente 13,30 MPa e 13,69 %. As formulações B e C apresentaram valores de alongação máxima na ruptura próxima ao valor encontrado por esses autores para filmes de amido de mandioca. A

elongação apresentou elevada correlação linear negativa com a resistência à tração ($r = -0,91$; $p = 0,16$), fato esperado. Os valores obtidos neste estudo estão expressos na Tabela 2.8.

Tabela 2.8 - Valores médios para as variáveis: resistência máxima a tração e elongação máxima na ruptura dos biofilmes produzidos com *S. platensis*, bagaço de mandioca e gelatina

Ensaio	Proporções dos componentes reais			Resistência Máxima a Tração	Elongação Máxima na Ruptura
	<i>S. platensis</i> (g/100 g)	F. Mandioca (g/100 g)	Gelatina (g/100 g)	(MPa)	(%)
A	100	0	0	4,50±0,72	9,21±2,10 ^b
B	0	100	0	12,02±3,37	2,63±0,52 ⁱ
C	0	0	100	14,82±2,77	3,29±0,58 ^h
D	50	50	0	6,13±1,38	4,53±0,48 ^{ef}
E	0	50	50	6,50±0,82	7,29±1,75 ^c
F	50	50	0	10,45±1,64	3,58±0,43 ^{gh}
G	66	17	17	4,38±0,67	11,77±2,26 ^a
H	17	66	17	6,72±1,14	5,27±0,51 ^{de}
I	17	17	66	10,17±1,68	4,15±0,55 ^{fg}
J	33,3	33,3	33,3	6,35±0,93	5,34±0,40 ^d
p-valor (*Kolmogorov-Smirnov)				0,64	0,09
p-valor (**Levene)				0,58	<0,001
p-valor (ANOVA)				0,70	***<0,001
p-modelo				0,89	0,77

*Teste de Normalidade; **Teste de Homocedasticidade *** ANOVA Welch

Letras diferentes na mesma coluna representam diferença significativa de acordo com o teste de Fisher LSD ($p < 0,10$).

O parâmetro elongação na ruptura foi ajustado para obtenção do modelo matemático (Eq. 3.10) e gráfico de superfície de contorno (Figura 2.9).

$$E = 1,02S + 0,92B + 1,26G - 1,65S \cdot B - 0,17S \cdot G - 2,74B \cdot G \quad (\text{Eq. 2.10})$$

Onde:

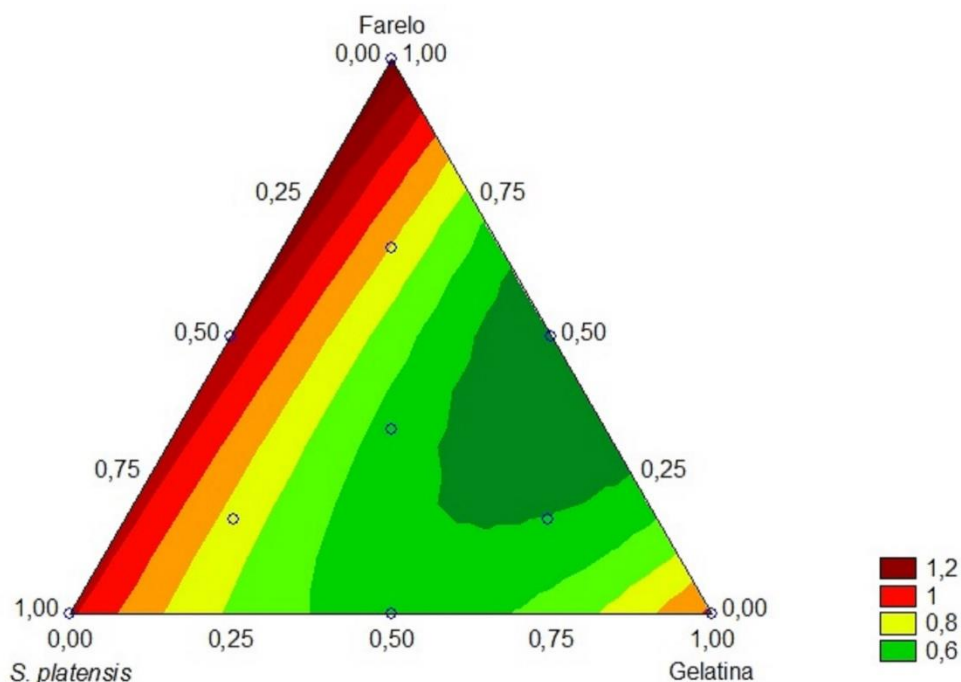
E = elongação máxima na ruptura

S = *S. platensis*

B = bagaço de mandioca

G = gelatina.

Figura 2.9 - Superfície de contorno para o parâmetro alongação na ruptura dos filmes biodegradáveis



Fonte: A autora

Pela Figura 2.9 confirmam-se os dados obtidos para o parâmetro alongação na ruptura para as amostras analisadas. É possível visualizar que a maior alongação ocorre para a amostra contendo *S. platensis* de forma isolada e a menor alongação é correspondente à terceira formulação (C) a qual continha gelatina. Pela equação 3.10 é possível observar que os componentes da formulação atuam de forma negativa quando em interação e positiva quando isolados frente ao parâmetro alongação.

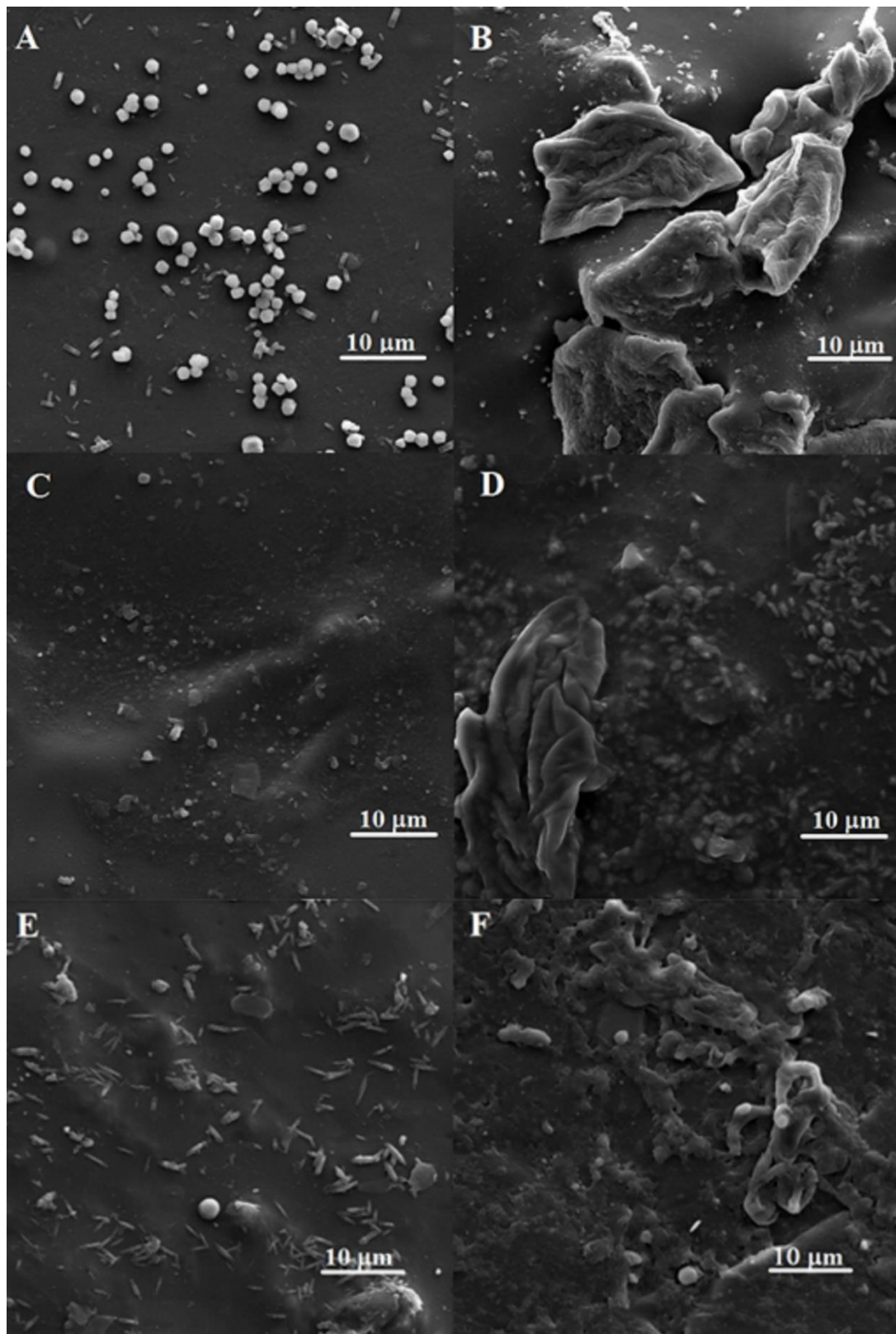
- Microscopia eletrônica de varredura por efeito de campo - FEG

A formulação A contém amido de mandioca e *S. platensis*. É possível visualizar na Figura 2.11 (A) os grânulos de amido de mandioca arredondados e a *S. platensis* representada pela estrutura retangular. A presença dos componentes não solubilizados diminuiu a resistência do material. A formulação B contém além do amido de mandioca, o bagaço de

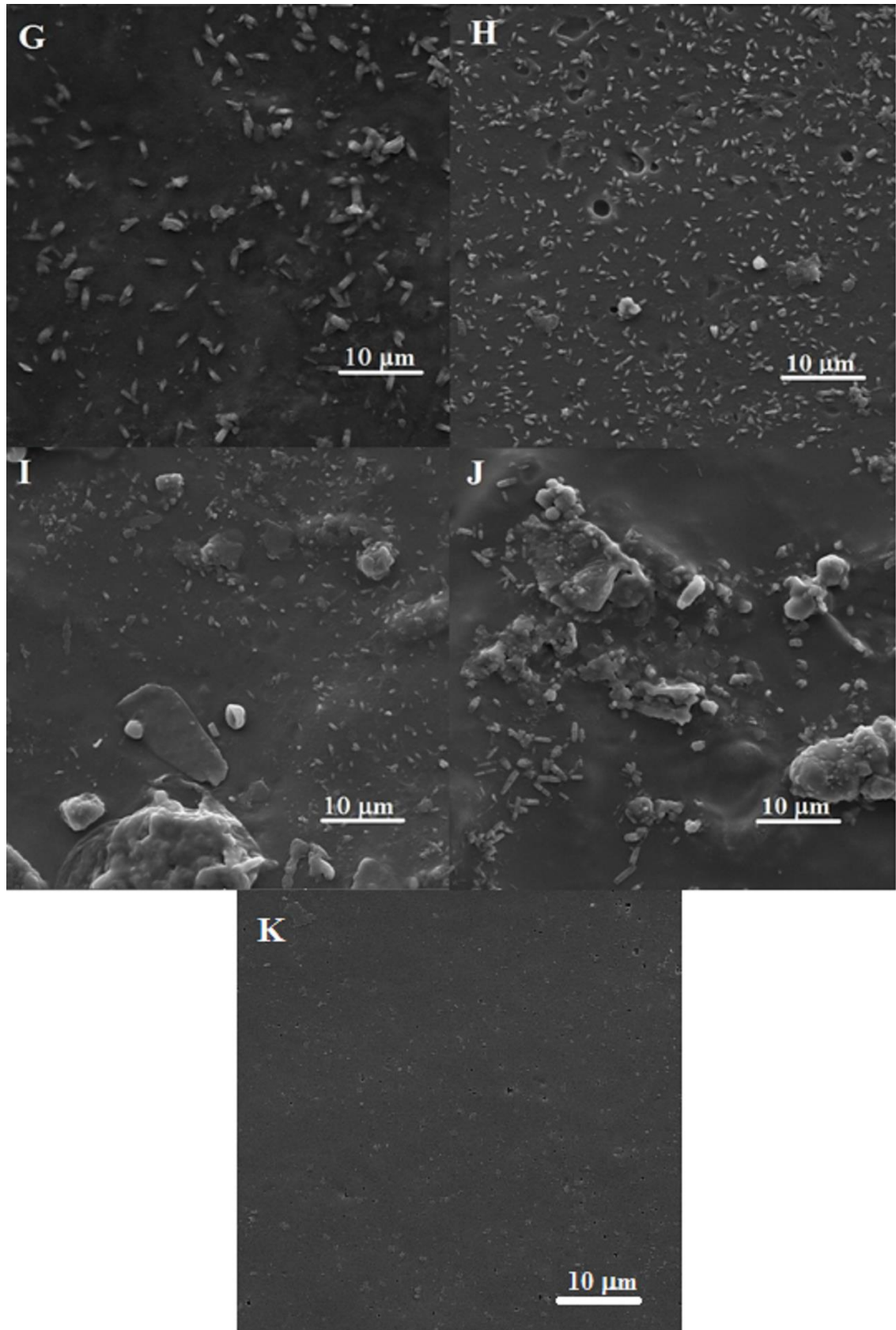
mandioca. O amido apareceu na forma gelatinizada e o bagaço aparece na forma de pequenos pontos. A estrutura das fibras naturais fez com que este filme apresente o menor valor para a elongação máxima na ruptura. A terceira formulação (C) apresentou estrutura mais homogênea, devido à alta solubilidade do amido e da gelatina em altas temperaturas. A capacidade de solubilização da gelatina devido a sua estrutura proteica permite a formação de filmes com maior espaço vazio para a incorporação de substâncias líquidas, bem como maior resistência do material. A quarta formulação (D) contém proporções semelhantes de *S. platensis* e bagaço de mandioca. Na figura (D) é destacado grânulos de amido desestruturados devido à gelatinização. A formulação (E) contém os grânulos retangulares da *S. platensis*, grânulos circulares e alguns côncavos ou convexos de amido de mandioca, enquanto que a gelatina é solubilizada. A gelatina foi miscível em diferentes níveis nos filmes que a continham.

A formulação F contém fibras, com estrutura mais espaçada e cheia de lacunas, sendo responsável por poros de grande absorção de água (FIORDA et al., 2013). A formulação G, H, I e J contém diferentes proporções de *S. platensis*, bagaço de mandioca e gelatina. Na formulação G destaca-se a *S. platensis* com sua estrutura retangular, assim como a amostra (A). A Figura H apresenta diversos pontos não solubilizados, sendo estes, o bagaço de mandioca. Nas formulações I e J há visualização da mistura por completo, com exceção da gelatina que se solubiliza de forma homogênea sobre a estrutura do filme. Todos os filmes, devido à viscosidade, apresentaram microbolhas. As microscopias das superfícies dos filmes biodegradáveis estão representadas na Figura 2.10.

Figura 2.10 - FEG - Foto-micrografias da superfície morfológica dos filmes biodegradáveis



Formulações (*S. platensis*: Bagaço de mandioca: Gelatina): A - 100:0:0; B - 0:100:0; C - 0:0:100; D - 50:50:0; E - 0.50:0:50; F - 0:50:50 (g/100 g)



Formulações (*S. platensis*: Bagaço de mandioca: Gelatina): G - 66:17:17; H - 17:66:17; I - 17:17:66; J - :33:33:33; K: 0:0:0 (Controle Amido de Mandioca) (g/100 g)

Fonte: A autora

2.3.2 Atividade antimicrobiana

A atividade antibacteriana, segundo alguns estudos, está relacionada com o teor de compostos fenólicos contidos no extrato de forma direta (KUMAR et al., 2011). Todos os materiais utilizados neste experimento foram autoclavados para evitar contaminações, porém, os filmes biodegradáveis não poderiam passar por tal processo devido à estrutura. As placas contendo ágar Muller Hinton apresentaram crescimento uniforme dos micro-organismos testados. Nenhuma das formulações de filmes inibiu o crescimento microbiano, ou seja, não houve formação de halos.

Dentre as dez formulações testadas (Tabela 2.2), a menor e a maior concentração de *S. platensis* presente foi de 7,168 mg/mL e 21,505 mg/mL, devido à adição de 0,186 g de *S. platensis* em 26,04 mL de água e 0,56 g de *S. platensis* em 26,04 mL de água, como mostrado a seguir:

$$C = \frac{m}{v} = \frac{0,186g}{26,04mL} = 7,168 \frac{mg}{mL}$$

$$C = \frac{m}{v} = \frac{0,56g}{26,04mL} = 21,505 \frac{mg}{mL}$$

Onde:

C = concentração (mg/mL)

M = massa de *S. platensis* (g)

V = volume de água destilada (mL)

Segundo estudo realizado por Parisi et al. (2010) utilizando a técnica da diluição em microplaca (CIM) e disco difusão foi estabelecido a Concentração Inibitória Mínima para o extrato de *S. platensis* em metanol de 47,46 mg/mL. Desta forma, foi possível calcular a quantidade de *S. platensis* necessária na formulação dos filmes, que atuasse como antimicrobiano. Logo:

$$\begin{array}{rcl} 0,56 \text{ g } S. \text{ platensis} & - & 21,505 \text{ mg/mL} \\ X & & - 47,460 \text{ mg/mL} \\ X = 1,23 \text{ g} \end{array}$$

A quantidade suficiente para atuar como antimicrobiano na formulação foi de 1,23 g de *S. platensis*. Porém, a concentração adicionada nas formulações não foi suficiente para tal

inibição. O processamento térmico pode ter alterado a atividade da *S. platensis*, visto que sua atuação foi comprovada em vários estudos (MALLIKARJUN GOUDA; KAVITHA; SARADA, 2015; PARISI et al., 2010). A composição da biomassa de *S. platensis* apresenta variação em função das condições de cultivo (ROJAS; ÁVILA; PARADA, 2012; TRABELSI et al., 2013).

2.4 Conclusão

Não houve diferença estatística entre as formulações ($p > 0,10$) para os parâmetros A_w , densidade, gramatura, espessura, permeabilidade ao vapor d'água, solubilidade, parâmetros de cor b^* , L^* e opacidade e resistência à tração.

Da formulação (A) pode-se afirmar que apresenta o apelo das características conferidas pela *S. platensis*, como coloração e opacidade, da formulação (B) atribui-se bom desempenho devido à presença das fibras provenientes do bagaço de mandioca, que além de aumentar a resistência do material, apresenta baixo custo e a formulação (C) é a menos opaca e apresenta propriedades mecânicas interessantes para aplicação em alimentos.

Cada formulação, incluindo as misturas binárias e ternárias, apresentaram características específicas e importantes para aplicação. O teor de *S. platensis*, nas composições filmogênicas não foi suficiente para inibição microbiana.

CAPÍTULO 3 - REVESTIMENTO DE PIMENTA CAMBUCI (*Capsicum* sp.) COM MATERIAL BIODEGRADÁVEL

RESUMO

A aplicação de revestimentos biodegradáveis em pimentas Cambuci teve como objetivo avaliar a extensão da vida útil, redução de perdas e de descarte de embalagens de difícil decomposição. As pimentas foram lavadas, sanitizadas e separadas em quatro grupos. Dois grupos foram revestidos com filmes biodegradáveis constituídos de amido de mandioca comercial, bagaço de mandioca, gelatina comercial sem sabor, biomassa de *Spirulina platensis* comercial e glicerol. Os outros dois grupos foram utilizados como controle, ou seja, sem revestimento. O armazenamento ocorreu em temperatura ambiente, $19,8 \pm 2,8$ °C, com revestimento e controle, e temperatura de refrigeração, $3,6 \pm 1,6$ °C, com revestimento e controle. Os grupos foram analisados no dia inicial, 3º, 6º, 8º e 14º dias, quanto à aparência geral, pH, acidez titulável, sólidos solúveis, perda de massa, cor e textura instrumentais. A luminosidade não apresentou diferença significativa para as amostras em temperatura ambiente e foi intensificada para as amostras refrigeradas. As amostras no geral apresentaram redução do ângulo Hue apenas no 14º dia. Para o parâmetro croma, as quatro amostras não apresentaram diferença significativa ($p > 0,10$) entre si no período avaliado ocorrendo intensificação da coloração para a amostra controle em temperatura ambiente ao fim dos 14 dias. Em temperatura de refrigeração as pimentas apresentaram maturação menos acelerada quando comparada com as amostras mantidas em temperatura ambiente. O revestimento teve interferência nas amostras a partir do 6º dia. As amostras com aplicação do revestimento armazenada em temperatura ambiente apresentaram menores perdas de massa quando comparadas ao seu controle. A redução da acidez foi significativa ($p < 0,10$) para todas as amostras, com exceção da amostra controle armazenada em refrigeração. A amostra revestida em temperatura ambiente e a amostra controle armazenada em refrigeração apresentaram manutenção do pH ao longo do período de análise. A redução dos valores de sólidos solúveis foi significativa para todas as amostras analisadas. A combinação das técnicas de conservação avaliadas, permitiu estender a vida útil de pimentas do tipo Cambuci em 5 e 6 dias para amostras armazenadas em temperatura ambiente e refrigeração, respectivamente.

Palavras-chave: Textura, perda de massa, cor, conservação pós-colheita, gelatina, *Spirulina platensis*, amido e bagaço de mandioca.

3.1 Introdução

As frutas e hortaliças apresentam rápida deterioração devido à elevada atividade metabólica pós-colheita, que pode ser retardada pelo uso de embalagens adequadas (BRASIL et al., 2012). O uso de revestimentos biodegradáveis propicia extensão da vida útil de alimentos, devido à diminuição da perda de umidade, retardo da transferência de oxigênio, dióxido de carbono e umidade entre o alimento e o ambiente (LECETA et al., 2013; CORTEZ-VEGA et al., 2014). Este setor busca o desenvolvimento de novos materiais capazes de atender aos requisitos de preservação do alimento e questões ambientais (DHALL, 2013).

Os revestimentos aplicados em alimentos se apresentam em finas camadas que desempenham papel de conservação durante o processo de distribuição e comercialização, pois podem evitar danos mecânicos, contaminação por agentes externos e crescimento microbiano (TREVINO-GARZA et al., 2015). A taxa de respiração de frutas e vegetais influencia na conservação e na qualidade pós-colheita (IQBAL et al., 2009) e depende da temperatura de estocagem, umidade relativa, composição gasosa, metabolismo e composição do vegetal (GOYETTE et al., 2012; MANGARAJ; GOSWAMI, 2011). Quanto mais alta a taxa de respiração, mais acelerado será o processo de deterioração do produto, sendo assim, a aplicação de revestimentos pode atuar reduzindo esses valores caso apresentem barreira ao oxigênio (GOYETTE et al., 2012).

Dentre os métodos de conservação de alimentos, o abaixamento da temperatura é importante, pois desacelera reações enzimáticas e químicas e inibe o crescimento microbiano (MANTILLA et al., 2013; MARTÍNÓN et al., 2014). A aplicação do revestimento e a redução da temperatura podem ser efetivas na manutenção da qualidade dos produtos, pois atuam em sinergia. A cadeia de frio reduz a respiração e a transpiração retardando a senescência (EL-BELTAGY; YMAN; EL-SAYED, 2013). Assim, pela particularidade inerente de vegetais e composição específica dos revestimentos, estudos para determinar a viabilidade de aplicação são necessários para cada caso.

A importância econômica das pimentas *Capsicum* está relacionada às diversas formas de utilização na alimentação humana como, por exemplo, na forma desidratada, em molhos e geleias, fermentados e o próprio consumo *in natura* (PEREIRA et al., 2015). A aplicação de revestimentos biodegradáveis em pimenta do tipo Cambuci tem como finalidade a conservação do produto por meio de barreiras a compostos externos além de aumentar o valor agregado.

Nesse contexto, o objetivo deste trabalho foi aplicar a melhor formulação de filme produzida no capítulo 3, em pimentas do tipo Cambuci (*Capsicum* sp.), para extensão de vida útil em temperatura ambiente e refrigeração.

3.2 Materiais e Métodos

O experimento foi conduzido na Universidade Estadual de Ponta Grossa, na cidade de Ponta Grossa/PR no segundo semestre de 2016. As pimentas foram obtidas no mercado local da mesma cidade. Para a produção dos revestimentos foram utilizados amido de mandioca comercial (Yoki®), bagaço de mandioca coletado em indústria processadora de mandioca Lorenz® em Umuarama/PR e desidratado, gelatina comercial incolor (Apti® 002 LC), biomassa de *S. platensis* comercial (Fazenda Tamanduá® 0023/2014) e glicerol P.A. Reactif® com aplicação em pimentas comerciais do tipo Cambuci (*Capsicum* sp.).

3.2.1 Preparo das pimentas e elaboração da solução filmogênica

Foram selecionadas pimentas Cambuci (*Capsicum* sp.) firmes e homogêneas com relação à cor e tamanho médio para o experimento (6 °Brix e 5 cm de diâmetro). A seguir foram lavadas em água corrente e imersas em solução clorada (200 ppm) por 3 min. Foram enxaguadas e secas em temperatura ambiente.

A cobertura foi obtida hidratando as matérias-primas (amido e bagaço de mandioca, *S. platensis*, gelatina e glicerol) em água destilada, conforme formulação da Tabela 3.1, definida no Capítulo 3. A solução foi aquecida sobre placa de amianto e agitação até atingir ponto de ebulição, sendo mantida nessas condições por mais 15 min.

Tabela 3.1 - Formulação dos biofilmes aplicados às pimentas

Componente	Tratamento (g/100)	Controle (g/100 g)
Glicerol	1	—
Amido de Mandioca	4	—
Bagaço de Mandioca	0,66	—
<i>S. platensis</i>	0,66	—
Gelatina	0,66	—
Água	93	100

3.2.2 Revestimento

Os frutos foram recobertos por imersão, permanecendo em solução a temperatura ambiente por 2 min. Na sequência, a solução foi drenada durante 2 min por suspensão dos frutos por meio do pedúnculo e secagem à temperatura ambiente (25 °C) durante 3 h. Após a

secagem, foram acondicionados em bandejas em temperatura de $3,6 \pm 1,6$ °C, geladeira Prosdócimo 340L, e ambiente $19,8 \pm 2,8$ °C, para o estudo de vida útil durante 14 dias. As amostras foram avaliadas no tempo 0, 3º, 6º, 8º e 14º dias de armazenamento. As amostras foram denominadas como: R(A) - com revestimento temperatura ambiente, $19,8 \pm 2,8$ °C, R(R) - com revestimento refrigeração, $3,6 \pm 1,6$ °C; C(A) - controle temperatura ambiente, $19,8 \pm 2,8$ °C, e C(R) - controle refrigeração, $3,6 \pm 1,6$ °C.

3.2.3 Análises para acompanhamento da estabilidade das pimentas nas condições experimentais

- Cor instrumental

A cor foi medida em espectrofotômetro portátil (Hunterlab, Miniscan EZ, USA) operando no sistema CIELab (L^* , a^* , b^*). Os valores absolutos das coordenadas L^* (claridade), a^* (vermelho) e b^* (amarelo) foram obtidos. As amostras foram dispostas em placas de petri e a análise feita para os grupos testados em triplicata, na superfície do fruto nos dias pré-estabelecidos. As coordenadas a^* e b^* foram utilizadas para calcular a cromaticidade (quanto maior o valor, mais intensa é a cor) e o ângulo Hue medido em graus (BOTREL et al. 2010; FERNANDES et al., 2015). A Equação (3.1) calcula o croma e a Equação (3.2) determina o ângulo Hue.

$$Croma = \sqrt{(a^*)^2 + (b^*)^2} \quad (\text{Eq. 3.1})$$

$$Hue = \arctan\left(\frac{b^*}{a^*}\right) \quad (\text{Eq. 3.2})$$

- Aparência geral

Durante o período de armazenamento, ao longo de 14 dias as amostras foram fotografadas para comparação da aparência geral nos diferentes estádios de maturação.

- Perda de massa

A perda de massa dos frutos foi determinada segundo metodologia adaptada de Han et al. (2004) em balança semi-analítica com precisão de 0,0001 g, onde cinco frutos por ensaio foram pesados ao longo dos 14 dias de armazenamento.

- Análise do perfil de textura

A avaliação da textura foi realizada por texturômetro modelo TA-XT Plus Texture Analyser (Stable Micro Systems, Godalming, U.K.) operando em temperatura de 25 °C. No teste de compressão foi utilizado probe de 2 mm de diâmetro, célula de carga de 25 kg, com

velocidade de 1,5 mm/s, na região central do fruto. A distância de compressão utilizada foi 40 mm e a força de contato 5.0 g segundo metodologia adaptada de Bolzan et al., 2011. O parâmetro em Newtons (N) foi avaliado cinco vezes durante os 14 dias de armazenamento. Os testes foram feitos em seis replicatas. A firmeza foi estipulada como sendo o valor obtido no pico máximo da análise.

- Acidez titulável

A acidez titulável foi determinada segundo normas do AOAC (2005), com pequenas adaptações. Em erlenmeyer foi adicionado 1 g de amostra previamente preparada com 100 mL de água destilada e 3 gotas de fenoftaleína. As amostras foram tituladas com solução de NaOH 0,01 N até atingir a coloração rosa. A acidez final (g ácido cítrico/ 100 g de amostra) foi calculada por intermédio da Eq. 3.3.

$$Acidez\ Titulável = \frac{Vxfx100}{Pxc} \text{ (Eq. 3.3)}$$

Onde:

V = volume (mL) de NaOH (0,01 N) gasto na titulação

f = fator de correção da solução de NaOH (0,01N)

P = peso de amostra (g) utilizada na titulação

c = correção para a solução de NaOH 1 M (sendo este valor de 100 para a solução 0,01 N de NaOH).

- pH

Em erlenmeyer foi pesado 1 g de amostra diluída em 100 mL de água destilada. A leitura foi realizada utilizando-se pHmetro digital de bancada (Labmeter model pH PHS – 3B) previamente calibrado.

- Determinação de sólidos solúveis totais

A amostra homogeneizada foi adicionada em gotas (2) no prisma do refratômetro portátil ATAGO (N-1α Brix 0-32%) para a leitura direta de acordo com as instruções do fabricante. A leitura foi feita em escala de graus Brix.

3.2.4 Análise estatística

Os dados foram avaliados por análise de variância e teste de Fisher LSD ($p < 0,05$) a fim de verificar a existência de diferenças significativas entre as condições estudadas a 95 %

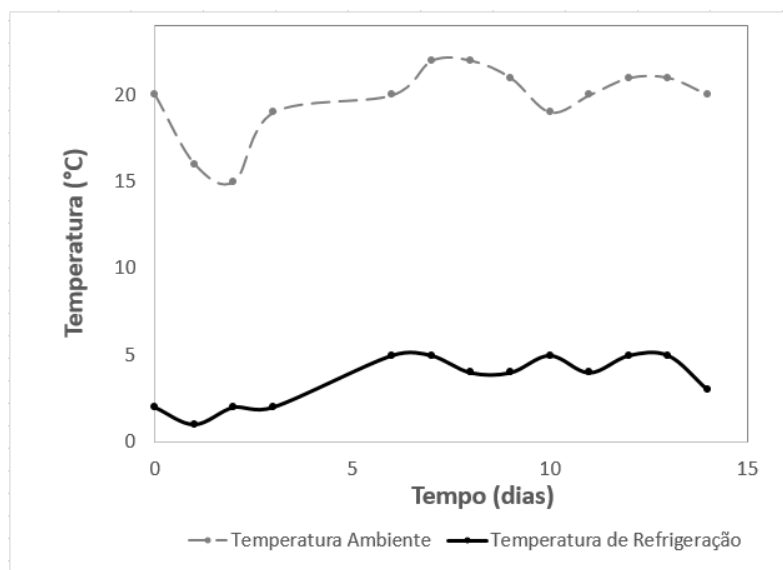
de confiança ($p < 0,05$). O tratamento estatístico dos dados foi feito utilizando o suplemento Action 2.8 do Excel (Microsoft, São Paulo, Brasil).

3.3 Resultados e Discussão

3.3.1 Análises para acompanhamento da estabilidade das pimentas nas condições experimentais

O armazenamento à temperatura ambiente, $19,8 \pm 2,8$ °C, e de refrigeração, $3,6 \pm 1,6$ °C foi acompanhado com o intuito de detectar variações que poderiam interferir na qualidade das pimentas. A temperatura de refrigeração apresentou variação de 1 a 5 °C nos 14 dias de armazenamento. Maior variação foi observada em temperatura ambiente entre 14 e 21 °C. A Figura 3.1 representa estas variações de temperatura durante o período de armazenamento.

Figura 3.1 - Variação das temperaturas ambiente e de refrigeração durante o período de armazenamento



Fonte: A autora

- Cor instrumental

Segundo o parâmetro de luminosidade (L) foi possível observar que as amostras refrigeradas apresentaram maiores valores quando comparadas com as armazenadas em temperatura ambiente. Porém, as mesmas não apresentaram diferença significativa entre si nos dias 0, 6 e 8. As luminosidades não apresentaram diferença significativa para as amostras com e sem revestimentos armazenados em temperatura ambiente entre os dias 0 e 14 ($p > 0,05$), mostrando que a coloração foi mantida nesta condição. O processo de maturação/respiração ocorreu em velocidades diferentes entre as pimentas, fato evidenciado

pela luminosidade da superfície do fruto no 3º e 8º dia. Os dados das análises não destrutivas de cor para os ensaios realizados estão representados na Tabela 3.2.

Tabela 3.2 - Análises não destrutivas de cor de pimentas com e sem revestimento armazenadas a temperatura ambiente e refrigeradas

Croma					
Armazenamento (dias)	R(A)	R(R)	C(A)	C(R)	p-valor (ANOVA)
0	28,54±2,47 ^{Aab}	27,74±2,57 ^{Aa}	25,02±4,82 ^{Aab}	26,3±9,07 ^{Aa}	0,747
3	37,4±4,89 ^{Aa}	29,94±2,44 ^{BCa}	25,46±7,08 ^{Cab}	34,28±3,09 ^{ABa}	0,006
6	25,51±9,79 ^{Ab}	30,04±8,09 ^{Aa}	28,11±2,84 ^{Aa}	28,52±1,53 ^{Aa}	0,933
8	29,90±10,35 ^{Aab}	29,77±5,25 ^{Aa}	17,97±7,09 ^{Bb}	23,01±7,38 ^{ABa}	0,075
14	28,08±8,48 ^{Aab}	31,35±4,97 ^{Aa}	30,66±2,17 ^{Aa}	34,55±5,04 ^{Aa}	0,371
p-valor ANOVA)	0,100	0,860	0,075	0,225	
Hue (°)					
0	286,26±2,52 ^{Aab}	284,54±1,40 ^{Aab}	284,35±3,54 ^{Ab}	285,93±2,48 ^{Aa}	0,573
3	288,66±4,24 ^{ABa}	283,68±1,64 ^{Bb}	289,79±6,52 ^{Ab}	286,56±0,86 ^{ABa}	0,021
6	284,96±2,97 ^{Aab}	286,24±1,63 ^{Aa}	285,05±4,88 ^{Ab}	298,47±27,91 ^{Aa}	0,934
8	283,92±5,54 ^{Aab}	284,07±2,05 ^{Aab}	290,02±10,77 ^{Ab}	285,63±2,25 ^{Aa}	0,403
14	281,80±4,57 ^{Cb}	283,45±2,49 ^{BCb}	273,46±0,88 ^{Aa}	285,84±1,14 ^{Ba}	<0,001
p-valor (ANOVA)	0,102	0,072	0,034	0,434	
L*					
0	27,55±3,64 ^{Aa}	24,36±3,96 ^{Ac}	24,71±3,17 ^{Aa}	26,02±1,86 ^{Abc}	0,424
3	22,13±4,35 ^{BCa}	26,27±3,91 ^{ABabc}	18,03±8,36 ^{Ca}	32,2±2,01 ^{Aa}	0,004
6	24,83±7,48 ^{Aa}	24,83±4,86 ^{Abc}	22,76±9,26 ^{Aa}	25,41±3,64 ^{Ac}	0,927
8	29,09±6,40 ^{Aa}	31,53±5,77 ^{Aa}	20,63±5,01 ^{Ca}	23,69±4,39 ^{BCc}	0,023
14	24,41±6,16 ^{Aa}	30,22±2,03 ^{Aab}	25,04±5,58 ^{Aa}	29,53±1,56 ^{Aab}	0,108
p-valor ANOVA)	0,373	0,050	0,444	0,001	

* Letras maiúsculas diferentes representam diferenças significativas na linha e letras minúsculas diferentes na coluna representam diferenças significativas na coluna segundo teste de Fisher LSD ($p < 0,05$). R(A) - com revestimento temperatura ambiente; R(R) - com revestimento em temperatura de refrigeração; C(A) - controle temperatura ambiente e C(R) - controle em temperatura de refrigeração.

Em estudo realizado por Carvalho et al. (2015), frutos de *Physalis peruviana* L. revestidas com filmes de alginato não apresentaram diferença significativa para o parâmetro coloração, durante o período de estocagem refrigerada (21 dias). Em contrapartida, no estudo realizado por Moreira et al. (2015), os valores L* e ângulo Hue foram reduzidos em todas as amostras analisadas com filmes de polissacarídeos enriquecidos com fibras aplicados em maçãs. Hedayati e Miakousar (2015) analisaram pimentas Cambuci verdes armazenadas à temperatura ambiente e as mesmas apresentaram alterações notórias de cor, passando a laranja e vermelho. Isso pode ter ocorrido devido à redução dos teores de clorofila e aumento de carotenoides. Resultado semelhante foi obtido por Hojo et al. (2007) em estudo com pimentões, os quais apresentaram um aumento do parâmetro L* a partir do 6º dia, indicando

clareamento dos frutos. Observou-se alteração na coloração durante o período de armazenamento dos pimentões para verde claro e em alguns frutos alteração para vermelho.

O ângulo Hue (h^*) corresponde à tendência de coloração da amostra sendo a cor amarela caracterizada como 90° , verde como 180° e azul como 270° (MARIN et al., 2015). No último dia de análise (14) foi estabelecida diferença significativa ($p > 0,05$) no Hue para todas as amostras analisadas. Em estudo de aplicação de nanoemulsões atuando como biofilmes em maçãs, realizado por Salvia-Trujillo et al. (2015), foi observada mudança progressiva tanto no parâmetro L^* quanto no ângulo hue durante o período de armazenamento.

O Croma (C^*) é um parâmetro que mede a intensidade da coloração (saturação de cor), sendo valores altos obtidos para cores vivas ou intensas (GOYENÈCHE et al., 2014). As quatro amostras analisadas não apresentaram diferença significativa ($p > 0,05$) entre si no início, 6º e 14º dias de análise. A amostra controle ambiente C(A) apresentou sua coloração mais intensa ao fim dos 14 dias de armazenamento, enquanto as demais permaneceram constantes segundo análise estatística.

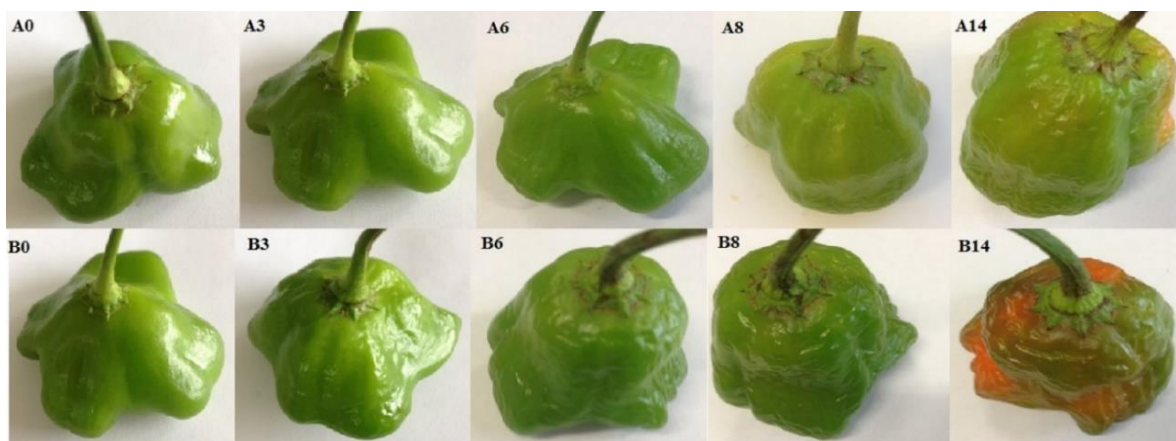
As amostras controle armazenadas em refrigeração apresentaram maior intensidade de coloração após os 14 dias de acompanhamento e as amostras em temperatura ambiente apresentaram os menores valores de croma. Em estudo realizado por Fai et al., (2015) os valores de croma variaram entre 59 e 46 para revestimentos produzidos com resíduos de frutas e hortaliças. De forma geral, o tempo de armazenamento em refrigeração exerceu influência significativa na cor dos frutos, sendo que os tratamentos com revestimento não afetaram de forma marcante os parâmetros de cor. Este fato pode ser explicado pela diminuição das taxas de reação pelo efeito da temperatura, inibindo o metabolismo pós-colheita (MILAGRES et al., 2012).

- Aparência geral

Durante o período de acompanhamento ocorreram mudanças fisiológicas nas pimentas e a aplicação do revestimento tinha como objetivo desacelerar esse processo. Alguns processos de amadurecimento não estão relacionados à taxa de respiração e são independentes do aumento da produção de etileno (ABDI et al., 1998). O processo do amadurecimento pode apresentar dependência parcial do etileno, incluindo a perda de firmeza (ROMANI, 1984). O resultado dos processos fisiológicos pode ser correspondente a sensibilidade dos tecidos ao etileno e não exclusivamente ao aumento da sua produção.

A análise visual permitiu destacar que até o oitavo dia, as amostras revestidas apresentavam aparência satisfatória enquanto as amostras controle iniciaram perda de turgidez no terceiro dia e no sexto dia já apresentavam aparência inadequada para consumo em temperatura ambiente. A deterioração aparente é condizente com a perda de massa durante o período de armazenamento. As imagens capturadas das amostras com revestimento e controle na temperatura ambiente são mostradas na Figura 3.2.

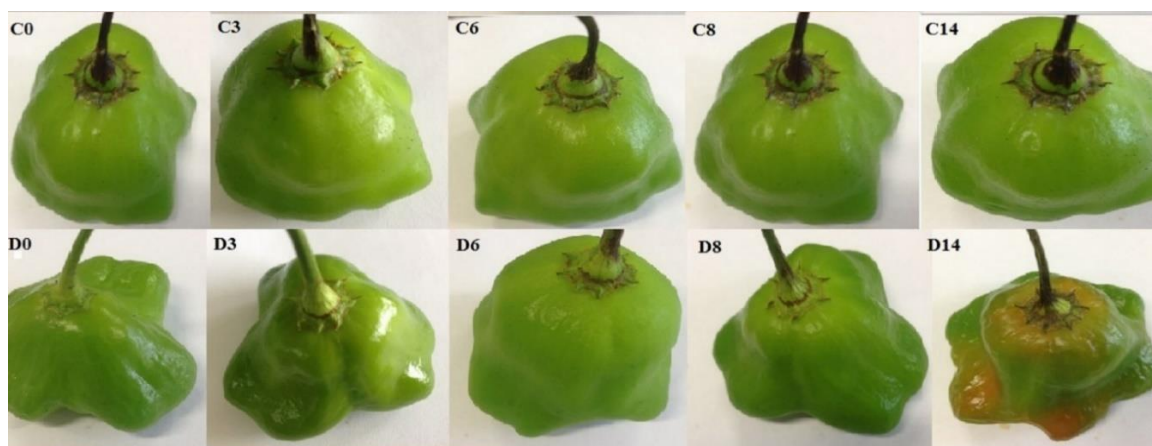
Figura 3.2 - Aparência geral das pimentas armazenadas em temperatura ambiente



A - amostras revestidas e B - amostras controle (sem revestimento); 0, 3º, 6º, 8º e 14º dias de armazenamento
Fonte: A autora

Em temperatura de refrigeração ($3,6 \pm 1,6$ °C) as pimentas apresentaram maturação menos acelerada quando comparadas com as amostras mantidas em temperatura ambiente ($19,8 \pm 2,8$ °C). As imagens capturadas das amostras com revestimento e controle na temperatura de refrigeração são mostradas na Figura 3.3.

Figura 3.3 - Aparência geral das pimentas armazenadas em temperatura de refrigeração



C - amostras revestidas e D - amostras controle (sem revestimento); 0, 3º, 6º, 8º e 14º dias de armazenamento
Fonte: A autora

O uso do revestimento teve interferência nas amostras a partir do 6º dia. As alterações não foram tão notórias quanto em temperatura ambiente devido à redução do enrugamento superficial. Percebem-se alterações nas pimentas a partir do 6º dia para a amostra controle e para a amostra com revestimento foi observada alteração apenas no 14º dia.

Segundo Özden e Bayindirli (2002) a perda de água de frutos com revestimento ocorre devido à acelerada evaporação da água da superfície causada por baixa umidade relativa, entre 40 e 50 % do ambiente. Neste estudo as amostras mantiveram-se armazenadas com umidade relativa de 50 ± 12 %. Milagres et al. (2012) constataram que mesmo ocorrendo perda de massa nas pimentas, a umidade foi mantida devido a formação de água do processo respiratório. Souza et al. (2009) observaram após 15 dias de armazenamento de berinjelas que a perda de massa foi mais acentuada para os frutos tratados com fécula de mandioca se comparado a amostra controle e filme plástico, porém o efeito da perda de massa não foi visível a olho nu. Justifica-se que as pimentas revestidas e armazenadas em refrigeração apresentaram maior perda de massa, e ao mesmo tempo, melhor aparência quando comparadas ao controle.

No trabalho de Xing et al., (2011) foi feito o acompanhamento da vida útil de pimentas doces (*Capsicum annuum* L.) estocadas a 8 °C por 35 dias com revestimentos de quitosana e de quitosana com óleo de canela. Verificaram que o conteúdo de clorofila foi mais baixo no ensaio controle, demonstrando que os tratamentos inibiram o amadurecimento dos frutos. A tonalidade vermelha observada no decorrer do período analisado, como evidenciado nas Figuras 3.3 e 3.4 está em consonância com esses resultados. A aparência da fruta e da hortaliça é de extrema importância no momento da compra, o consumidor deve ficar atento a atributos de cor, firmeza, aroma e ausência de danos mecânicos. Além disso, é necessário ter conhecimento do período de exposição do alimento nas gôndolas de comercialização, garantindo produtos seguros para consumo (CHAVES; FURTADO, 2015).

- Perda de massa

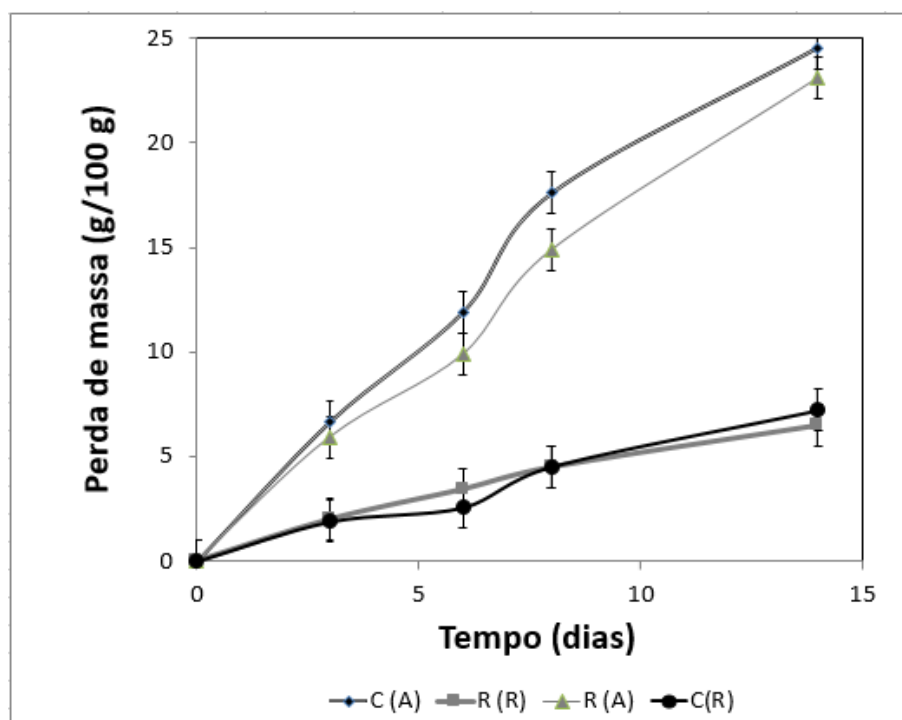
A perda de massa é um dos fatores limitantes ao uso de revestimentos biodegradáveis, pois em geral, apresentam baixa barreira à umidade e vapor d'água e problemas relacionados às propriedades mecânicas (OGUR; ERKAN, 2015; ACEVEDO-FANI et al., 2015). A perda de peso e aroma em frutos está relacionada à respiração, sendo este um processo fisiológico que tem como consequência o consumo de açúcares e amido (CHAVES; FURTADO, 2015). Em se tratando de frutos não-climatéricos, a respiração

apresenta decréscimo gradual durante o amadurecimento. Redução de peso implica em perdas de qualidade para consumo, relacionados à textura (MATTOS et al., 2008).

A perda de massa de frutos e vegetais é aceitável até 5 % do seu peso inicial (SANTOS et al., 2008.). Maiores perdas estão relacionadas a frutos e vegetais impróprios para consumo. É tolerável quando não interfere na turgidez dos frutos (SOUZA et al., 2009), porém, deve ser evitada pois causa perda de turgescência ou enrugamento. A perda de massa pode ser controlada reduzindo a taxa de transpiração dos frutos por meio de aplicação de revestimentos, controle da umidade relativa do ar ou redução de temperatura (BARROS; GOES; MINAM, 1994).

Bussel e Kenigsberger (1975) mostraram em seu estudo que o uso de filmes plásticos como proteção em pimentão causou condensação de vapor d'água e aumento da deterioração devido ao desenvolvimento da bactéria *Erwinia carotovora*. É possível observar na Figura 3.4 que a redução da perda de massa ocorreu nas amostras refrigeradas durante os 14 dias de armazenamento e essa perda foi significativa ($p < 0,05$) entre os dias de análise.

Figura 3.4 - Perda de massa das amostras de pimenta Cambuci durante o período de armazenamento em temperatura ambiente e de refrigeração com e sem revestimento



Onde: R (A) - amostra com revestimento em temperatura ambiente; R (R) - amostra com revestimento em temperatura de refrigeração; C (A) - amostra controle em temperatura ambiente; C (R) - amostra controle em temperatura de refrigeração.

Gol; Chaudhari e Rao, (2015) fizeram um estudo de aplicação de filmes com concentrações variadas em carambolas e observaram que maiores concentrações de quitosana e goma arábica nos filmes ocasionaram maior perda de massa durante o período de armazenamento, fato explicado pelo aumento da respiração anaeróbia. Em estudo realizado por Sipahia et al. (2013), filmes de alginato aplicados em melancia minimamente processadas apresentaram bom resultado em relação a perda de massa durante o período de estocagem, quando comparado com a amostra controle. Esses resultados evidenciam que as características peculiares da matéria-prima exercem influência decisiva na tecnologia de aplicação de revestimentos biodegradáveis de diversas composições.

Produtos minimamente processados devem passar por etapa de sanitização para redução de micro-organismos, uso de embalagens e sistema de refrigeração (COELHO et al., 2015). Filmes plásticos (PVC), atmosfera modificada e baixas temperaturas são comumente utilizados em frutos para exportação (OLIVEIRA et al., 2015). Todos esses fatores interferem na perda de massa dos produtos comercializados e os revestimentos biodegradáveis podem atuar potencializando o efeito desses tratamentos, dependendo das características inerentes de cada matéria-prima em relação ao metabolismo. Os dados numéricos da perda de massa para as diferentes amostras estão representados na Tabela 3.3.

Tabela 3.3 - Perda de massa durante 14 dias de armazenamento das amostras de pimenta Cambuci com e sem revestimento em temperatura ambiente e refrigeração

Armazenamento (dias)	Perda de massa (g/100 g)				p-valor (ANOVA)
	R(A)	R(R)	C(A)	C(R)	
0	-	-	-	-	
3	5,92±1,74 ^{Ac}	2,01±0,42 ^{Bd}	6,67±0,68 ^{Aa}	1,89±0,25 ^{Bd}	<0,001
6	9,87±2,08 ^{Bc}	3,45±0,37 ^{Cc}	11,92±1,83 ^{Ac}	2,58±0,34 ^{Cc}	<0,001
8	14,87±2,82 ^{Bb}	4,51±0,42 ^{Cb}	17,60±3,05 ^{Ab}	4,53±0,56 ^{Cb}	<0,001
14	23,09±4,52 ^{Ba}	6,52±0,51 ^{Ca}	24,55±1,09 ^{Aa}	7,23±0,99 ^{Ca}	<0,001
p-valor (ANOVA)	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	

* Letras maiúsculas diferentes representam diferenças significativas na linha e letras minúsculas diferentes representam diferenças significativas na coluna segundo teste de Fisher LSD ($p < 0,05$).

R(A) - com revestimento temperatura ambiente, R(R) - com revestimento refrigeração; C(A) - controle temperatura ambiente e C(R) - controle refrigeração.

Segundo Melo et al. (2016), que aplicaram recobrimentos de fécula de batata em tomates e armazenaram em temperatura ambiente, 19,8±2,8 °C, a perda de massa foi maior em mais elevada concentração de fécula de batata, sendo que no controle sem revestimento observaram valores menores, embora não tenham sido significativas. As membranas celulares

atuam como barreiras aos movimentos de solutos, assim a perda de massa pode ser atribuída à degradação dessas estruturas devido à senescência do fruto ocorrendo desintegração e comprometimento do controle dos processos bioquímicos e fisiológicos da célula.

Alterações de cor estão relacionadas em alguns produtos à desidratação superficial, que ocorre devido a perdas de umidade na forma de vapor (ASSIS; BRITO, 2014). No presente estudo, assim como no estudo realizado por Milagres et al. (2012), a temperatura de armazenamento teve influência em relação a perda de peso de pimentas, mostrando que o uso de refrigeração é capaz de controlar este parâmetro. Foi observado que as pimentas revestidas armazenadas em refrigeração apresentaram diminuição na transpiração quando comparadas com as amostras controle nas mesmas condições. O mesmo foi observado em estudo realizado por Özden e Bayindirli (2002) onde pimentões verdes foram beneficiados com o uso da refrigeração e alta umidade relativa.

- Perfil de textura

No presente estudo, os controles em ambas as temperaturas apresentaram redução da firmeza ao longo dos 14 dias de acompanhamento. Os processos metabólicos podem ocasionar degradação do amido e conversão de ácidos a açúcares, acarretando alterações na firmeza (CHITARRA; CHITARRA, 2005). Todas as amostras apresentaram diferença significativa entre si. A amostra com aplicação de revestimento em temperatura ambiente mantiveram as características de firmeza inalteradas. Já as pimentas revestidas e armazenadas em refrigeração adquiriram maior firmeza com o passar dos dias. Ao fim do período de análise, os maiores e menores resultados para a firmeza foram registrados para as amostras revestidas e mantidas em refrigeração e controle em temperatura ambiente, respectivamente.

Em estudo realizado por Martiñon et al. (2014), amostras frescas de melão necessitaram de força média de compressão 35 N para que a deformação fosse de 50 %, e as amostras revestidas de quitosana necessitaram de força entre 45 e 54 N, indicando que o revestimento foi eficiente na redução do amolecimento dos frutos. Resultado semelhante foi obtido por Poverenov et al., (2014), onde amostras de pimentas vermelhas (*Capsicum annum* L. cv. *Vergasa*) sem tratamento mostraram degradação considerável na firmeza, enquanto as amostras revestidas com quitosana e gelatina mantiveram-se inalteradas durante o período de armazenamento.

Os dados apresentados na literatura por Souza et al. (2009) mostraram que, a perda de firmeza de berinjelas revestidas com filmes de mandioca não esteve relacionada com a

perda de massa, mas possivelmente à hidrólise do amido. Os dados são mostrados na Tabela 3.4.

Tabela 3.4 - Textura ao longo dos 14 dias de armazenamento das amostras de pimenta Cambuci com e sem revestimento, em temperatura ambiente e em refrigeração

Armazenamento (dias)	Textura (N)				p-valor (ANOVA)
	R(A)	R(R)	C(A)	C(R)	
0	9,19±0,59 ^{Ba}	8,50±0,47 ^{Bd}	9,64±0,50 ^{Aa}	9,78±0,88 ^{Aa}	0,004
3	9,60±1,45 ^{Ba}	10,68±0,91 ^{Aa}	8,85±0,30 ^{Bb}	5,54±1,08 ^{Cc}	<0,001
6	9,04±0,93 ^{Ba}	10,41±0,60 ^{Aab}	9,60±0,70 ^{Ba}	7,70±0,42 ^{Cb}	<0,001
8	8,68±0,50 ^{Ba}	9,25±0,65 ^{Ac}	7,61±0,27 ^{Cc}	9,14±0,36 ^{ABa}	<0,001
14	9,19±0,46 ^{Ba}	9,92±0,46 ^{Abc}	7,61±0,74 ^{Dc}	8,26±0,42 ^{Cb}	<0,001
p-valor (ANOVA)	0,413	<0,001	<0,001	<0,001	

* Letras maiúsculas diferentes representam diferenças significativas na linha e letras minúsculas diferentes representam diferenças significativas na coluna segundo teste de Fisher LSD ($p < 0,05$).

R(A) - com revestimento temperatura ambiente, R(R) - com revestimento refrigeração; C(A) - controle temperatura ambiente e C(R) - controle refrigeração.

- Acidez titulável

A redução da acidez está associada ao processo de amadurecimento e senescência de frutas e vegetais, podendo resultar de estresse pós-colheita. Na via respiratória os ácidos orgânicos são metabolizados em outros compostos não ácidos (OLIVEIRA et al., 2010). No presente estudo, o teor de ácidos foi reduzido durante o período de armazenamento para todas as amostras, como mostrado na Tabela 4.6. A amostra controle armazenada em temperatura ambiente apresentou a maior redução da acidez ao fim do período analisado, resultado esperado, devido à senescência mais acelerada causada pela temperatura.

A redução do teor de ácidos orgânicos foi significativa ($p < 0,05$) para todas as amostras, com exceção da amostra controle armazenada em refrigeração ($3,6 \pm 1,6$ °C), a qual apresentou manutenção da acidez nos 14 dias. Este resultado indica que a amostra controle armazenada em temperatura reduzida, apresentou melhor conservação. No último dia de análise as amostras comparadas entre si não apresentaram diferença significativa quanto à acidez titulável.

Em estudo realizado por Brasil et al. (2012), a acidez titulável total (ATT) de mamão papaia (fruto climatérico) minimamente processado, revestido com filme de quitosana e pectina mantiveram-se constantes durante o período de armazenamento quando comparado com o controle. Resultado semelhante foi encontrado por Fai et al. (2015), onde cenouras revestidas com película à base de resíduos de frutas e hortaliças apresentaram tendência ao

aumento dos teores de ATT, seguida de redução durante o armazenamento e, ao final, quando comparadas com o controle não apresentaram diferença significativa.

- pH

A determinação dos íons de hidrogênio em solução apresenta interferência da temperatura, pressão e viscosidade, o que pode justificar os resultados apresentados na Tabela 3.7 (ANDRÉS-BELLO et al., 2013). A amostra refrigerada com revestimento apresentou redução significativa do pH no período de 14 dias, sendo este valor entre 6,15 e 5,4. O valor obtido para a amostra controle em temperatura ambiente foi condizente com a acidez obtida para a amostra, onde houve aumento do pH e redução da acidez no período de armazenamento.

A amostra revestida em temperatura ambiente e controle em temperatura de refrigeração não apresentaram diferença significativa ($p > 0,05$) durante os 14 dias de análise.

Cenouras recobertas com filmes provenientes de resíduos de frutas e hortaliças apresentaram pH inicial mais ácido quando comparado ao controle e durante o período de armazenamento os valores sofreram pequenas variações (FAI et al., 2015). De acordo com Brasil et al. (2012), a utilização de revestimentos de quitosana e pectina aplicados a mamão papaia não influenciaram na determinação dos íons hidrogeniônicos dos frutos, o qual se manteve estável durante o período de análise.

- Determinação de sólidos solúveis totais (°Brix)

O processo respiratório de frutas e vegetais faz com que os sólidos solúveis sejam consumidos em maior quantidade do que produzidos, porém, um aumento pode ocorrer quando apresentam injúrias pelo frio (HUERTAS et al. 1999; WANG, 1990). Segundo dados da literatura, cenouras revestidas apresentaram 1,8 °Brix iniciais e as amostras controles apresentaram 2,4 °Brix, sendo estes valores reduzidos linearmente durante o armazenamento (FAI et al., 2015). Resultado diferente foi obtido por Brasil et al. (2012), onde o teor de sólidos solúveis totais foram superiores nas amostras com revestimento do que nos controles. Estes dados permitem observar a peculiaridade de maturação entre os diferentes frutos.

No presente estudo, a redução dos valores de sólidos solúveis (°Brix) foi significativa para todas as amostras analisadas, demonstrando que o processo metabólico teve seu curso, influenciado pela temperatura e revestimento, pois a maior redução dos valores de sólidos solúveis ocorreu para a amostra controle armazenada em temperatura ambiente, como mostrado na Tabela 3.5.

Tabela 3.5 - Acompanhamento de acidez, pH e sólidos solúveis de amostras de pimenta Cambuci com e sem revestimento armazenadas em temperatura ambiente e de refrigeração

Acidez Titulável (mg ácido cítrico/100 g)					
Armazenamento (dias)	R(A)	R(R)	C(A)	C(R)	p-valor (ANOVA)
0	1,54±0,18 ^{Aa}	1,58±0,12 ^{Aa}	1,79±0,14 ^{Aa}	1,20±0,08 ^{Bab}	0,005
3	1,9596±0,13 ^{Aa}	1,79±0,06 ^{Aab}	1,79±0,16 ^{Ab}	1,54±0,12 ^{Bab}	0,025
6	1,59±0,15 ^{Abc}	1,48±0,21 ^{ABbc}	1,29±0,06 ^{Bc}	1,30±0,17 ^{Bab}	0,071
8	1,46±0,11 ^{Aab}	1,36±0,32 ^{Aab}	0,91±0,01 ^{Bc}	1,20±0,29 ^{Aaa}	0,072
14	0,95±0,22 ^{Ac}	1,02±0,03 ^{Ac}	0,88±0,03 ^{Ac}	0,96±0,06 ^{Aab}	0,584
p-valor (ANOVA)	0,006	0,013	<0,001	0,143	
pH					
0	6,06±0,01 ^{Bab}	6,15±0,11 ^{ABba}	6,17±0,11 ^{ABa}	6,2±0,03 ^{Aa}	0,0986
3	5,95±0,18 ^{ABab}	5,96±0,06 ^{ABba}	5,89±0,12 ^{Bbc}	6,12±0,03 ^{Aa}	0,1085
6	6,17±0,16 ^{Aab}	5,92±0,08 ^{Aba}	5,78±0,24 ^{Bc}	5,97±0,06 ^{ABb}	0,075
8	6,10±0,14 ^{Aab}	6±0,03 ^{A^{Ba}}	6,02±0,04 ^{Aabc}	6,05±0,01 ^{Bb}	0,1098
14	6,21±0,12 ^{Aab}	5,40±0,58 ^{Bb}	6,18±0,06 ^{Aab}	5,46±0,07 ^{Aa}	0,038
p-valor (ANOVA)	0,2219	0,0526	0,0404	<0,001	
Sólidos solúveis (°Brix)					
0	5,93±0,25 ^{Aa}	4,8±0,2 ^{Ba}	6,0±0,3 ^{Aa}	4,17±0,15 ^{Ca}	<0,001
3	6±0,2 ^{Aa}	5±0,1 ^{Ba}	4,5±0,2 ^{Cb}	3,87±0,30 ^{Da}	<0,001
6	3,13±0,15 ^{Ab}	2,13±0,15 ^{Bb}	2,37±0,16 ^{Bc}	2,2±0,2 ^{Bc}	<0,001
8	2,00±0,1 ^{Bc}	1,92±0,18 ^{BCbc}	1,71±0,11 ^{Ce}	2,57±0,06 ^{Ab}	<0,001
14	2,97±0,25 ^{Ab}	1,80±0,09 ^{Cc}	1,9±0,1 ^{Cd}	2,2±0,05 ^{Bc}	<0,001
p-valor (ANOVA)	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	

* Letras maiúsculas diferentes representam diferenças significativas na linha e letras minúsculas diferentes representam diferenças significativas na coluna segundo teste de Fisher LSD ($p < 0,05$).

R(A) - com revestimento temperatura ambiente, R(R) - com revestimento refrigeração; C(A) - controle temperatura ambiente e C(R) - controle refrigeração.

3.4 Conclusão

Resultados positivos foram encontrados para as amostras revestidas em ambas as temperaturas quanto à aparência geral. O revestimento auxiliou na manutenção da coloração, textura e preveniu o enrugamento superficial. Em temperatura de refrigeração ($3,6 \pm 1,6$ °C) as pimentas apresentaram maturação menos acelerada quando comparada com as amostras mantidas em temperatura ambiente ($19,8 \pm 2,8$ °C). Foi possível confirmar que a combinação de métodos de conservação como aplicação de revestimentos e baixas temperaturas foram positivos para extensão do período de conservação das pimentas Cambuci.

CAPÍTULO 4 - CONCLUSÕES GERAIS

Parâmetros analisados, como A_w , densidade, gramatura, espessura, solubilidade e permeabilidade ao vapor de água não apresentaram diferença estatística entre as formulações de filmes testadas ($p > 0,10$). O parâmetro cor não é um fator tecnológico limitante para o uso em embalagens, porém, é desejável o contato visual com o produto.

O teor de *S. platensis* adicionado às formulações filmogênicas não foi suficiente para inibição microbiana nas formulações.

A caracterização dos filmes comprovou que as formulações apresentaram boa formação das películas e facilidade de remoção das placas de acrílico, sendo que, cada uma delas, incluindo as misturas binárias e ternárias, apresentaram características específicas e importantes para aplicação.

Quando aplicado em pimenta Cambuci, o uso do revestimento apresentou resultado satisfatório nas temperaturas ambiente ($19,8 \pm 2,8$ °C) e de refrigeração ($3,6 \pm 1,6$ °C) quanto a sua aparência geral e coloração. O revestimento auxiliou na manutenção da textura das amostras analisadas ao longo do período de armazenamento. O uso combinado de baixas temperaturas e aplicação de revestimento permitiram prolongar o tempo de conservação das pimentas.

PERSPECTIVAS FUTURAS

Estudos para desenvolvimentos de matrizes biopoliméricas biodegradáveis com subprodutos agroindustriais são emergentes. A exploração de compostos bioativos de *S. platensis* configura-se como promissora requerendo aprofundamento em termos de cultivo, processamento e aplicações. O material biopolimérico formado é dependente de um conjunto de variáveis intrínsecas e extrínsecas as quais podem ser exploradas com maior profundidade para obtenção de uma formulação otimizada (UR ambiente/armazenamento, técnicas de processamento, concentração de plastificante).

O crescente interesse em consumir frutas e hortaliças minimamente processadas impulsionam explorações de tecnologias para extensão de vida útil, reduzindo perdas.

Os compostos bioativos podem ser estudados quanto à forma de extração (técnica e solvente), para determinação de atividade antimicrobiana. Da mesma forma que os extratos obtidos das amostras de pimenta podem ser averiguados quanto à atividade antioxidante, carotenoides e clorofila.

Teste de biodegradabilidade em meio ambiente pode ser aplicado para comprovação de decomposição acelerada quando comparada a materiais sintéticos.

REFERÊNCIAS

- ABDI, N.; MCGLASSON, W. B.; HOLFORD, P.; WILLIAMS, M.; MIZRAHI, Y. Responses of climacteric and suppressed-climacteric plums to treatment with propylene and 1-methylcyclopropene. **Postharvest Biology and Technology**, v. 14, n. 1, p. 29–39, 1998.
- ACEVEDO-FANI, A.; SALVIA-TRUJILLO, L.; ROJAS-GRAÜ, M. A.; MARTÍN-BELLOSO, O. Edible films from essential-oil-loaded nanoemulsions: Physicochemical characterization and antimicrobial properties. **Food Hydrocolloids**, v. 47, p. 168–177, 2015.
- AKARACHARANYA, A.; KESORNSIT, J.; LEEPIPATPIBOON, N.; SRINORAKUTARA, T.; KITPREECHAVANICH, V.; TOLIENG, V. Evaluation of the waste from cassava starch production as a substrate for ethanol fermentation by *Saccharomyces cerevisiae*. **Annals of Microbiology**, v. 61, n. 3, p. 431–436, 2011.
- AKHTAR, M.; JACQUOT, M.; JAMSHIDIAN, M.; IMRAN, M.; ARAB-TEHRANY, E.; DESOBRY, S. Fabrication and physicochemical characterization of HPMC films with commercial plant extract: Influence of light and film composition. **Food Hydrocolloids**, v. 31, n. 2, p. 420–427, 2013.
- AL-DHABI, N. A. Heavy metal analysis in commercial *Spirulina* products for human consumption. **Saudi Journal of Biological Sciences**, v. 20, n. 4, p. 383–388, 2013.
- AL-HASSAN, A. A.; NORZIAH, M. H. Starch-gelatin edible films: Water vapor permeability and mechanical properties as affected by plasticizer. **Food Hydrocolloids**, v. 26, n. 1, p. 108–117, 2012.
- ALMEIDA, D. M.; WOICIECHOWSKI, A.; WOSIACKI, G.; PRESTES, R. A. Propriedades Físicas, Químicas e de Barreira em Filme Formados por Blenda de Celulose Bacteriana e Fécula de Batata. **Polímeros**, v. 23, n. 4, p. 538–546, 2013.
- ALVES, R. M. L.; GROSSMANN, M. V. E.; SILVA, R. S. S. F. Pre-gelatinized starch of *Dioscorea alata* – functional properties. **Food Chemistry**, v. 67, n. 2, p. 123–127, 1999.
- ALVES, T. M.; KLOSOSKI, S. J.; MONTANHINI, M. T. M. Produção e caracterização de amidos de mandioca modificados. **Agropecuária Técnica**, v. 36, n. 1, p. 58–64, 2015.
- ANDRADE, M. R.; COSTA, J. A. V. Culture of microalga *Spirulina platensis* in alternative sources of nutrients. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 32, n. 5, p. 1551–1556, 2008.
- ANDRÉS-BELLO, A.; BARRETO-PALACIOS, V.; GARCÍA-SEGOVIA, P.; MIR-BEL, J.; MARTÍNEZ-MONZÓ, J. Effect of pH on Color and Texture of Food Products. **Food Engineering Reviews**, v. 5, n. 3, p. 158–170, 2013.
- AOAC. (Association of Official Analytical Chemists). **Official Methods of Analysis of the Association of Analytical Chemists International**, 18th ed. Gathersburg, MD U.S.A Official Methods, 2005.
- AOUADA, F. A.; PAN, Z.; ORTS, W. J.; MATTOSO, L. H. C. Removal of Paraquat pesticide from aqueous solutions using a novel adsorbent material based on polyacrylamide and methylcellulose hydrogels. **Journal of Applied Polymer Science**, v. 114, n. 4, p. 2139–2148, 2009.

- ARUN, N.; GUPTA, S.; SINGH, D. P. Antimicrobial and antioxidant property of commonly found microalgae *Spirulina platensis*, *Nostoc muscorum* and *Chlorella pyrenoidosa* against some pathogenic bacteria and fungi. **International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research**, v. 3, n. 12, p. 4866–4876, 2012.
- ASSIS, O. B. G.; BRITTO, D. Revisão: coberturas comestíveis protetoras em frutas. **Brazilian Journal Food Technology**, v. 17, n. 2, p. 87–97, 2014.
- ASSIS, O. B. G.; BRITTO, D. Review: edible protective coatings for fruits: fundamentals and applications. **Brazilian Journal of Food and Technology**, v. 17, n. 2, p. 87–97, 2014.
- ASTM E96, Standard test method for water vapor transmission of materials, Philadelphia: American Society for Testing and Materials, 2000.
- ASTM. Standard test method for tensile properties of thin plastic sheeting. Philadelphia: American Society for Testing and Materials, 2002.
- AZEREDO, H. M. C.; MORRUGARES-CARMONA, R.; WELLNER, N.; CROSS, K.; BAJKA, B.; WALDRON, K. W. Development of pectin films with pomegranate juice and citric acid. **Food Chemistry**, v. 198, p. 101–106, 2016.
- BARROS, J. C. S. M.; GOES A.; MINAM, K. Condições de conservação pós-colheita de frutos de pimentão (*Capsicum annum* L.). **Scientia Agricola**, v. 51, n. 2, p. 363–368, 1994.
- BARROS NETO, B.; SCARMINIO, I. S.; BRUNS, R. E. **Como fazer experimentos pesquisa e desenvolvimento na ciência e na indústria**. 2. Ed. Campinas: Ed. UNICAMP, 2001.
- BAS, D.; BOYACL, I. H. Modeling and optimization II: Comparison of estimation capabilities of response surface methodology with artificial neural networks in a biochemical reaction. **Journal of Food Engineering**, v. 78, n. 3, p. 846–854, 2007.
- BAUER, A. W.; KIRBY, W. M.; SHERRIS, J. C.; TURCK, M. Antibiotic susceptibility testing by a standardized single disk method. **American Journal of Clinical Pathology**, v. 45, n. 4, p. 493–6, 1966.
- BELAY, A. *Spirulina (Arthrospira): Production and Quality Assurance*. In: Gershwin, M. E. Belay, A. (Ed.): **Spirulina in human nutrition and health**. London: Taylor and Francis, p. 1–26, 2008.
- BELLO-PÉREZ, L. A.; MONTEALVO, M. G. M.; ACEVEDO, E. A.; Almidón: definición, estructura y propiedades. In: LAJOLO, F. M.; MENEZES, E.W. **Carbohidratos en alimentos regionales iberoamericanos**. São Paulo: Edusp, 2006, p. 17–46.
- BENELHADJ, S., GHARSALLAOUI, A., DEGRAEVE, P., ATTIA, H., GHORBEL, D. Effect of pH on the functional properties of *Arthrospira (Spirulina) platensis* protein isolate. **Food Chemistry**, v. 194, n. 1, p. 1056–1063, 2016.
- BENINCA, C.; COLMAN, T. A. D.; LACERDA, L. G.; FILHO, M. A. S. C.; DEMIATE, I. M.; BANNACH, G.; SCHNITZLER, E. Thermal, rheological and structural behaviors of natural and modified cassava starch granules, with sodium hypochlorite solutions. **Journal of Thermal Analysis and Calorimetry**, v. 111, n. 3, p. 2217–2222, 2013.

- BERBARI, S. A. G.; PRATI, P.; FREITAS, D. G. C.; VICENTE, E.; ORMENESE, R. C. S. C. FAKHOURI, F. M. Use of edible coatings to reduce fat absorption in frozen pre-fried structured cassava products. **Brazilian Journal Food and Technology**, v. 14, n. 3, p. 172–180, 2011.
- BERGO, P.; SOBRAL, P. J. A. Effects of plasticizer on physical properties of pigskin gelatin films. **Food Hydrocolloids**, v. 21, n. 8, p. 1285–1289, 2007.
- BERNARDO, C. O.; ASCHERI, J. L. R.; DE CARVALHO, C. W. P. Effect of ultrasound on the extraction and modification of starches. **Ciência Rural**, v. 46, n. 4, p. 739–747, 2016.
- BERSANETI, G. T.; MANTOVAN, J.; MAGRI, A.; MALI, S.; CELLIGOI, M. A. P. C. Edible films based on cassava starch and fructooligosachcharides produced by *Bacillus subtilis* natto CCT 7712. **Carbohydrate Polymers**, v. 151, p. 1132–1138, 2016.
- BEZERRA, R. P.; MATSUDO, M. C.; SATO, A.; CARVALHO, J. C. M. Fed-batch cultivation of *Arthrospira platensis* using carbon dioxide from alcoholic fermentation and urea as carbon and nitrogen sources. **BioEnergy Research**, v. 6, n. 3, p. 1118–1125, 2013.
- BIGI, A.; PANZA, V. S.; RUBINI, K. Relationship between triple-helix content and mechanical properties of gelatin films. **Biomaterials**, v. 25, n. 25, p. 5675–5680, 2004.
- BOLANHO, B. C., CARVALHO, J. C. M, CAMPOS, I., EGEA, M. B., DANESI, E. D. G. Antioxidant and nutritional potential of cookies enriched with *Spirulina platensis* and sources of fibers. **Journal of Food and Nutrition Research**. v.53, p.171–179, 2014.
- BOLANHO, B. C.; DANESI, E. D. G. **Tecnologia de Processamento de Cereais e Tubérculos**, n. 92. Maringá: Coleção *Fundamentum*, 2014.
- BOLZAN, R. P.; CUQUEL, F. L.; LAVORANTI, O. J. Armazenamento refrigerado de Physalis. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 33, n. 1, p. 577–583, 2011.
- BOTREL, D. A.; SOARES, N. F. F.; CAMILLOTO, G. P.; FERNANDES, R. V. B. Revestimento ativo de amido na conservação pós-colheita de pera Williams minimamente processada. **Ciência Rural**, v. 40, n. 8, p. 1814–1820, 2010.
- BOUCHONNEAU, N.; CARVALHO, A. R.; MACÊDO, A. R. L.; VIANA, L. U.; NASCIMENTO, A. P.; DUARTE, J. B. F.; MACÊDO, A. R. M. Análise da Absorção de Água em Dois Polímeros Expandidos: Desenvolvimento do Módulo de Flutuabilidade de um Mini-robô Submarino. **Polímeros**, v. 20, n. 3, p. 181–187, 2010.
- BOURTOMM, T. Edible films and coatings: characteristics and properties. **International Food Research Journal**, v. 15, n. 3, p. 1–12, 2008.
- BRANDELERO, R. P. H.; DE ALMEIDA, F. M.; ALFARO, A. The microstructure and properties of starch-polyvinyl alcohol-alginate films with copaiba and lemongrass oils. **Química Nova**, v. 38, n. 7, p. 910–916, 2015.

BRASIL, I. M.; GOMES, C.; PUERTA-GOMEZ, A.; CASTELL-PEREZ, M. E.; MOREIRA, R. G. Polysaccharide-based multilayered antimicrobial edible coating enhances quality of fresh-cut papaya. **Food Science and Technology**, v. 47, n. 1, p. 39–45, 2012.

BUNHAK, E. J. Influência do sulfato de condroitina na formação de filmes isolados polimetacrilato: avaliação do índice de intumescimento e permeabilidade ao vapor d' água. **Química Nova**, v. 30, n. 2, p. 312–317, 2007.

BUSSEL, J.; KENIGSBERGER, Z. Packing green bell peppers in selected permeability films. **Journal of Food Science**, v. 40, p. 1300–1303, 1975.

CALADO, V.; MONTGOMERY, D. **Planejamento de Experimentos usando o Statistica**. 1. ed. Rio de Janeiro: E-Papers, 2003.

CAO, N.; YANG, X.; FU, Y. Effects of various plasticizers on mechanical and water vapor barrier properties of gelatin films. **Food Hydrocolloids**, v. 23, n. 3, p. 729–735, 2009.

CARCEA, M.; SORTO, M.; BATELLO, C.; NARDUCCI, V.; AGUZZI, A.; AZZINI, E.; FANTAUZZI, P.; FINOTTI, E.; GABRIELLI, P.; GALLI, V.; GAMBELLI, L.; MAINTHA, K. M.; NAMBA, F.; RUGGERI, S.; TURFANI, V. Nutritional characterization of traditional and improved dihé, alimentary blue-green algae from the lake Chad region in Africa. **Food Science and Technology**, v. 62, n. 1, p. 753–763, 2015.

CARNEIRO, G. G.; BARBOSA, J. A.; SILVA, E. O.; GOIS, G. C.; LUCENA, H. H.; ALVES, E. U. Germinação de pimentas Cambuci submetidas à superação de dormência em água quente. **Bioscience Journal**, v. 26, n. 6, p. 882–885, 2010.

CARVALHO, R. A.; GROSSO, C. R. F. Characterization of gelatin based films modified with transglutaminase, glyoxaland formaldehyde. **Food Hydrocolloids**, v. 18, n. 5, p. 717–726, 2004.

CARVALHO, J. C. M.; MATSUDO, M. C.; BEZERRA, R. P.; FERREIRA-CAMARGO, L.S.; SATO, S. Microalgae bioreactos. In: Bajpai, R.; Prokop, A.; Zappi, M. (ed) **Algal biorefineries**. New York: Springer, p. 83-126, 2014.

CARVALHO, C. P.; VILLANO, D.; MORENO, D. A.; SERRANO, M.; VALERO, D. Alginate edible coating and cold storage for improving the physicochemical quality of cape gooseberry (*Physalis Peruviana* L.). **Journal of Food Science and Nutrition**, v. 1, n. 2, p. 1–7, 2015.

CAVALCANTI, O.A.; VAN DER MOOTER, G.; CARAMICO-SOARES, I.; KINGET, R. Polysaccharides as excipients for colon-specific coatings, permeability and swelling properties of casted films. **Drug Development and Industrial Pharmacy**, v. 28, n. 2, p. 157–164, 2002.

CAZÓN, P.; VELAZQUEZ, G.; RAMÍREZ, J. A.; VAZQUEZ, M. Polysaccharide-based films and coatings for food packaging: A review. **Food Hydrocolloids**, p. 1–13, 2016.

CHANDRA, R.; RUSTGI, R. Biodegradable Polymers. **Program Polymers Science**, v. 23, n. 1, p. 1273–1335, 1998.

CHANG, C.; NICKERSON, M. Effect of plasticizer-type and genipin on the mechanical, optical, and water vapor barrier properties of canola protein isolate-based edible films. **European Food Research and Technology**, v. 238, n. 1, p. 35–46, 2014.

CHAPLIN, M. **Structure and Science**, 2009 Disponível em: <<http://www1.lsbu.ac.uk/water/gelatin.html>>. Acesso em: 24 de junho de 2015.

CHAVES, A. A. C.; FURTADO, S. C. Análise físico-química da pimenta de cheiro mantida em temperatura ambiente. **Revista Científica da Fametro**, v. 1, n. 1, p. 63–80, 2015.

CHEN, J.; LIU, X.; WEI, D.; CHEN, G. High yields of fatty acid and neutral lipid production from cassava bagasse hydrolysate (CBH) by heterotrophic *Chlorella protothecoides*. **Bioresource Technology**, v. 191, p. 281–290, 2015.

CHIABRANDO, V.; GIACALONE, G. Effects of alginate edible coating on quality and antioxidant properties in sweet cherry during postharvest storage. **Italian Journal of Food Science**, v. 27, n. 2, p. 45–52, 2015.

CHIELLINI, E.; CINELLI, P.; ILIEVA, V. I.; IMAM, S. H.; LAWTON, J. L. Environmentally compatible foamed articles based on potato starch, corn fiber, and poly (vinyl alcohol). **Journal of Cellular Plastics**, v. 45, n. 5, p. 17–32, 2009.

CHITARRA, M. I. F.; CHITARRA, A. B. **Pós-colheita de frutas e hortaliças: fisiologia e manuseio**. 2 ed. Lavras: UFLA, 2005. 783p.

CIAN, R. E.; SALGADO, P.R.; DRAGO, S. R.; GONZÁLEZ, R. J.; MAURI, A. N. Development of naturally activated edible films with antioxidant properties prepared from red seaweed *Porphyra columbina* biopolymers. **Food Chemistry**, v. 146, p. 6–14, 2014.

CIAN, R. E.; SALGADO, P. R.; DRAGO, S. R.; MAURI, A. N. Effect of glycerol and Ca.sup.+2 addition on physicochemical properties of edible carrageenan/porphyran-based films obtained from the red alga, *Pyropia columbina*. **Journal of Applied Phycology**, v. 27, n. 4, p. 1699–1708, 2015.

COELHO, C. C. S.; FREITAS-SILVA, O.; ALCANTARA, I.; SILVA, J. P. L.; CABRAL, L. M. C. Ozônio em morangos minimamente processados, uma alternativa ao uso do cloro na segurança de alimentos. **Vigilância Sanitária em Debate: Sociedade, Ciência & Tecnologia**, v. 3, n. 1, p. 61–66, 2015.

CORRADINI, E.; CARVALHO, A. J. F.; CURVELO, A. A. S.; AGNELLI, J. A. M.; MATTOSO, L. H. C. Preparation and Characterization of Thermoplastic Starch/Zein Blends. **Materials Research**, v. 10, n. 3, p. 227–231, 2007.

CORTEZ-VEGA, W. R.; PIZATO, S.; SOUZA, J. T. A. PRENTICE C. Using edible coatings from Whitemouth croaker (*Micropogonias furnieri*) protein isolate and organo-clay nanocomposite for improve the conservation properties of fresh-cut ‘Formosa’ papaya. **Innovative Food Science and Emerging Technologies**, v. 22, p.197–202, 2014.

COSTA, R. C.; CALVETE, E. O.; REGINATTO, F. H.; CECCHETTI, D.; LOSS, J. T.; RAMBO, A.; TESSARO, F. Telas de sombreamento na produção de morangueiro em ambiente protegido Shading screens in the production of strawberry in greenhouse. **Horticultura Brasileira**, v. 29, n. 1, p. 98–102, 2011.

DANALACHE, F.; CARVALHO, C. Y.; ALVES, V. D.; MOLDÃO-MARTINS, M.; MATA, P. Optimisation of gellan gum edible coating for ready-to-eat mango (*Mangifera indica* L.) bars. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 84, p. 43–53, 2016.

DANESI, E. D. G. e col. ***Spirulina platensis*: potencial para desenvolvimento de alimentos funcionais**. Saarbrücken: Novas Edições Acadêmicas, 2016. 179 p.

DANESI, E. D. G.; CARVALHO, J. C. M.; TAKEUCHI, K. P.; NAVACCHI, M. F. P. Development of cassava doughnuts enriched with *Spirulina platensis* biomass. **Brazilian Journal of Food Technology**, v. 16, n. 1, p. 42–51, 2013.

DANESI, E. D. G.; RANGEL-YAGUI, C. O.; SATO, S.; CARVALHO, J. C. M. Growth and content of *Spirulina platensis* biomass chlorophyll cultivated at different values of light intensity and temperature using different nitrogen sources. **Brazilian Journal Microbiology**, v. 42, n. 1, p. 362–373, 2011.

DANTAS, E. A.; COSTA, S. S.; SANTOS, C. L.; BRAMONT, W. B.; COSTA, A. S.; DRUZIAN, F. F.; PADILHA, J. I.; MACHADO, B. A. S. Characterization and evaluation of the antioxidant properties of biodegradable films incorporated with tropical fruit pulps. **Ciência Rural**, v. 45, n. 1, p. 142–149, 2015.

DAOUD, H. M.; SOLIMAN, E. M. Evaluation of *Spirulina platensis* extract as natural antiviral against foot and mouth disease virus strains (A, O, SAT2). **Veterinary World**, v. 8, n. 10, p. 1260–1265, 2015.

DA SILVA, P. L.; GOMES, A. M. M.; RICARDO, N. M. P. S.; MACHADO, T. F. Elaboração e caracterização de blendas de amido fosforilado com quitosana e PVA. **Química Nova**, v. 39, n. 4, p. 450–455, 2016.

DAUDT, R. M.; AVENA-BUSTILLOS, R. J.; WILLIAMS, T.; WOOD, D. F.; KÜLKAMP-GUERREIRO, I. C.; MARCZAK, L. D. F.; MCHUGH, T. H. Comparative study on properties of edible films based on pinhão (*Araucaria angustifolia*) starch and flour. **Food Hydrocolloids**, v. 60, p. 279–287, 2016.

DEBIAGI, F.; IVANO, L. R. P. F. M.; NASCIMENTO, P. H. A.; MALI, S. Starch biodegradable packaging reinforced with lignocelulosic fibers from agroindustrial wastes. **Biochemistry and Biotechnology Reports**, v. 1, n. 2, p. 57–67, 2012.

DEBIAGI, F.; MARIM, B. M.; MALI, S. **Caracterização das propriedades físicas e mecânicas de bandejas biodegradáveis de bagaço de mandioca e álcool polivinílico**. In: SIMPÓSIO DE BIOQUÍMICA E BIOTECNOLOGIA, 2, 2012, Londrina: **Caderno de resumos**, p.102.

DE MORAIS, M. G.; VAZ, B. S.; DE MORAIS, E. G.; COSTA, J. A. V. Biologically active metabolites synthesized by microalgae (Report). **BioMed Research International**, v. 2015, p. 1–15, 2015.

DE SOUZA, S. M. A.; SOBRAL, P. J. A.; MENEGALLI, F. C. Physical properties of edible films based on bovine myofibril proteins. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 33, n. 1, p. 283–296, 2012.

DEMIATE, I. M.; KOTOVICZ, V. Cassava starch in the Brazilian food industry. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 31, n. 2, p. 388–397, 2011.

DENARDIN, C. C.; SILVA, L. P. D. A. Estrutura dos grânulos de amido e sua relação com propriedades físico-químicas. **Ciência Rural**, v. 39, n. 3, p. 945–954, 2009.

DEY, S.; RATHOD, V. K. Ultrasound assisted extraction of β -carotene from *Spirulina platensis*. **Ultrasonics Sono Chemistry**, v. 20, n. 1, p. 271–276, 2013.

DHALL, R. Advances in edible coating for fresh fruits and vegetables: a review. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v. 53, n. 5, p. 435–450, 2013.

DI PIERRO, P.; CHICO, B.; VILLALONGA, R.; MARINIELLO, L.; DAMAIO, A. E.; MASI, P.; PORTA, R. Chitosan-Whey Protein Edible Films Produced in the Absence or Presence of Transglutaminase: Analysis of Their Mechanical and Barrier Properties. **Biomacromolecules**, v. 7, n. 3, p. 744–749, 2006.

DOLE, P.; JOLY, C.; ESPUCHE, E.; ALRIC, I.; GONTARD, N. Gas transport properties of starch based films. **Carbohydrate Polymers**, v. 58, n. 3, p. 335–343, 2004.

DŽAMIĆ, A. M.; NIKOLIĆ, B. J.; GIWELI, A. A.; MITIĆ-ĆULAFIĆ, D. S.; SOKOVIĆ, M. D.; RISTIĆ, M. S.; KNEŽEVIĆ-VUKČEVIĆ, J. B.; MARIN, P. D. Libyan *Thymus capitatus* essential oil: antioxidant, antimicrobial, cytotoxic and colon pathogen adhesion-inhibition properties. **Journal of Applied Microbiology**, v. 119, n. 2, p. 389–399, 2015.

EL BAKY, A. H. H., EL BAROTY, G. S., IBRAHEM, E. A. Functional characters evaluation of biscuits sublimated with pure phycocyanin isolated from *Spirulina* and *Spirulina* biomass. **Nutrición Hospitalaria**, v. 32, n. 1, p. 231–241, 2015.

EL-BELTAGY, A. H.; YMAN, H. A. E.; EL-SAYED, A. H. Development of chitosan-glucose and chitosan-citric complexes edible coating to improve tomatoes post-harvest quality. **Agricultural Engineering International**, v. 15, n. 3, p. 208–216, 2013.

EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA- Mandioca e fruticultura 2013. Disponível em: <<https://www.embrapa.br/mandioca-e-fruticultura>>. Acessado em 23/06/2015.

ESPINEL VILLACRÉS, R. A.; FLORES, S. K.; GERSCHENSON, L. N. Biopolymeric antimicrobial films: Study of the influence of hydroxypropyl methylcellulose, tapioca starch and glycerol contents on physical properties. **Materials Science and Engineering**, v. 36, p. 108–117, 2014.

ESPITIA, P. J. P.; DU, W.; AVENA-BUSTILLOS, R. d. J.; SOARES, N. d. F. F.; McHUGH, T. H. Edible films from pectin: physical-mechanical and antimicrobial properties – A review. **Food Hydrocolloids**, v. 35, n. 1, p. 287–296, 2013.

FAI, A. E. C.; SOUZA, M. R. A.; BRUNO, N. V.; GONÇALVES, E. C. B. A. Produção de revestimento comestível à base de resíduo de frutas e hortaliças: aplicação em cenoura (*Daucus carota* L.) minimamente processada. **Scientia Agropecuaria**, v. 6, n. 1, p. 59–68, 2015.

FADINI, A. L.; ROCHA, F. S.; ALVIM, I. D.; SADAHIRA, M. S.; QUEIROZ, M. B.; ALVES, R. M. V.; SILVA, L. B. Mechanical properties and water vapor permeability of hydrolyzed collagen-cocoa butter edible films plasticized with sucrose. **Food Hydrocolloids**, v. 30, n. 2, p. 625–631, 2013.

FAKHOURI, F. M.; FONTES, L. C. B.; GONÇALVES, P. V. M.; MILANEZ, C. R.; STEEL, C. J.; QUEIROZ, F. P. Filmes e coberturas biodegradáveis composta à base de amidos nativos

e gelatina na conservação e aceitação sensorial de uvas - Crimson. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 27, n. 2, p. 369–375, 2007.

FAKHOURY, F.M.; MARTELLI, M. S.; CANHADAS, B. L.; YAMASHITA, F.; INNOCENTINI, M. L. H.; COLLARES, Q. F. P. Edible films made from blends of manioc starch and gelatin - Influence of different types of plasticizer and different levels of macromolecules on their properties. **Food Science and Technology**, v. 49, n. 1, p. 149–154, 2012.

FAKHOURI, F. M.; MARTELLI, S. M.; CAON, T.; VELASCO, J. I.; MEI, L. H. I. Edible films and coatings based on starch/gelatin: Film properties and effect of coatings on quality of refrigerated Red Crimson grapes. **Postharvest Biology and Technology**, v. 109, p. 57–64, 2015.

FALQUET, J.; HURNI, J. P. (2006) *Spiruline*, Aspects Nutritionnels. Antenna Technologies, Genève. 41 p. (<http://www.antenna.ch/en/research/malnutrition/nutritional-aspects/>)

FARIAS, M. G.; DE CARVALHO, C. W. P.; TAKEITI, C. Y.; ASCHERI, J. L. R. O efeito da permeabilidade ao vapor de água, atividade de água, molhabilidade e solubilidade em água em filmes de amido e polpa de acerola. **Embrapa Agroindústria Tropical**, p. 135–137, 2012.

FERNANDES, A. P. S.; COSTA, J. B.; SOARES, D. S. B.; DE MOURA, C. J.; DE SOUZA, A. R. M. Aplicação de filmes biodegradáveis produzidos a partir de concentrado proteico de soro de leite irradiado. **Pesquisa Agropecuária Tropical**, v. 45, n. 2, p. 192–199, 2015.

FERREIRA, V. F.; ROCHA, D. R.; SILVA, F. C. Potencialidades e oportunidades na química da sacarose e outros açúcares. **Química Nova**, v. 32, n. 3, p. 623–638, 2009.

FIORDA, F. A.; SOARES JÚNIOR, M. S.; SILVA, F. A.; SOUTO, L. R. F.; GROSSMANN, M. V. E. Farinha de bagaço de mandioca: aproveitamento de subproduto e comparação com fécula de mandioca. **Pesquisa Agropecuária Tropical**, v. 43, n. 4, p. 408–416, 2013.

FINGER, F. L.; CASALI, V. W. D. Colheita e manejo pós-colheita da pimenta. In: **Cultivo da Pimenta, Informe Agropecuário**, Belo Horizonte, v. 27, n. 235, p. 99–103, 2006.

FIORDA, F. A.; SOARES JÚNIOR, M. S.; DA SILVA, F. A.; SOUTO, L. R. F.; GROSSMANN, M. V. E. Farinha de bagaço de mandioca: aproveitamento de subproduto e comparação com fécula de mandioca. **Pesquisa Agropecuária Tropical**, v. 43, n. 4, p. 408–416, 2013.

GAI, C.; ZHANG, Y.; CHEN, W.; ZHANG, P.; DONG, Y. An investigation of reaction pathways of hydrothermal liquefaction using *Chlorella pyrenoidosa* and *Spirulina platensis*. **Energy Conversion and Management**, v. 96, p. 330–339, 2015.

GALIETTA, G.; DI-GIOIA, L.; GUILBERT, S.; CUQ, B. Mechanical and Thermomechanical Properties of Films Based on Whey Proteins as Affected by Plasticizer and Cross-linking Agents. **Journal of Dairy Science**, v. 81, n. 12, p. 3123–3130, 1998.

GARCÍA, M. A.; MARTINO, M. N.; ZARITZKY, N. E. Microstructural characterization of plasticized starch-based films. **Starch/Stärke**, v. 52, n. 4, p. 118–124, 2000.

GARCÍA, M. A.; PINOTTI, A.; MARTINO, M.; ZARITZKY, N.; PINOTTI, N.; ZARITZKY, N. Electrically treated composite films based on chitosan and methylcellulose blends. **Food Hydrocolloids**, v. 23, n. 3, p. 722–728, 2009.

GLINEL, K.; THEBAULT, P.; HUMBLLOT, V.; PRADIER, C. M.; JOUENNE, T. Antibacterial surfaces developed from bio-inspired approaches, **Acta Biomaterialia**, v. 8, n. 5, p. 1670–1684, 2012.

GOL, N.; CHAUDHARI, M.; RAO, T. Effect of edible coatings on quality and shelf life of carambola (*Averrhoa carambola* L.) fruit during storage. **Journal of Food Science and Technology**, v. 52, n. 1, p. 78–91, 2015.

GONTARD, N.; GUILBERT, S.; CUQ, J. L. Water and glycerol as plasticers affect mechanical and water vapor barrier properties of an edible wheat gluten film. **Journal of Food Science**, v. 53, n. 1, p. 206–211, 1998.

GOYENECHE, R.; AGÜERO, M. V.; ROURA, S.; DI SCALA, K. Application of citric acid and mild heat shock to minimally processed sliced radish: Color evaluation. **Postharvest Biology and Technology**, v. 93, p. 106–113, 2014.

GOYETTE, B.; VIGNEAULT, C.; RAGHAVAN, V.; CHARLES, M. T. Hyperbaric Treatment on Respiration Rate and Respiratory Quotient of Tomato. **Food and Bioprocess Technology**, v. 5, n. 8, p. 3066–3074, 2012.

GRANATO, D.; De CASTRO, I. A.; ELLENDBERSEN, L. S. N.; MASSON, M. L. Physical Stability Assessment and Sensory Optimization of a Dairy-Free Emulsion Using Response Surface Methodology. **Journal of Food Science**, v. 75, n. 3, p. 149–155, 2010.

GRANATO, D.; CALADO, A. V. M. DE; JARVIS, B. Observations on the use of statistical methods in food science and technology. **Food Research International**, v. 55, p. 137–149, 2014.

GRAS Notice No.GRN 000101. In: U.S. Food and Drug Administration Website -online]. Silver Spring: U.S. Food and Drug Administration, updated 27 April 2016 [cit. 30 Jun 2016]. <<http://www.accessdata.fda.gov/scripts/fcn/fcnDetailNavigation.cfm?rpt=grasListing&id=101>>.

GUERRERO, P.; NUR HANANI, Z. A.; KERRY, J. P.; DE LA CABA, K. Characterization of soy protein-based films prepared with acids and oils by compression. **Journal of Food Engineering**, v. 107, n. 1, p. 41–4, 2011.

GUINE, R. P. F.; BARROCA, M. J. Effect of drying on the textural attributes of bell pepper and pumpkin. **Drying Technology**, v. 29, n. 16, p. 1911–1919, 2011.

HADDAR, A.; SELLIMI, S.; GHANNOUCHI, R.; ALVAREZ, O. M.; NASRI, M.; BOUGATEF, A. Functional, antioxidant and film-forming properties of tuna-skin gelatin with a brown algae extract. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 51, n. 4, p. 477–83, 2012.

HAN, C.; ZHAO, Y.; LEONARD, S. W.; TRABER, M. G. Edible coatings to improve storability and enhance nutritional value of fresh and frozen strawberries (*Fragaria ananassa*) and raspberries (*Rubus ideaus*). **Postharvest Biology and Technology**, v. 33, n. 1, p. 67–78, 2004.

HARE, L. B. Mixture design applied to food formulation: a review. **Food Technology**, v. 28, n. 3, p. 50–55, 1974.

HEDAYATI, S.; NIAKOUSARI, M. Effect of Coatings of Silver Nanoparticles and Gum Arabic on Physicochemical and Microbial Properties of Green Bell Pepper (*Capsicum annuum*). **Journal of Food Processing and Preservation**, v. 39, n. 6, p. 2001–2007, 2015.

HELENO, S. A.; MARTINS, A.; QUEIROZ, M. J. R. P.; FERREIRA, I. C. F. R. Bioactivity of phenolic acids: Metabolites versus parent compounds: A review. **Food Chemistry**, v. 173, p. 501–513, 2015.

HOJO, E. T. D.; CARDOSO, A. D.; HOJO, R. H.; BOAS, E. V. D. V.; ALVARENGA, M. A. R. Use cassava starch films and pvc on post-harvest conservation of bell pepper. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 31, n. 1, p. 184–190, 2007.

HOSIKIAN, A.; LIM, S.; HALIM, R.; DANQUAH, M. K. Chlorophyll Extraction from Microalgae: A Review on the Process Engineering Aspects. **International Journal of Chemical Engineering**, v. 2010, p. 1–11, 2010.

HOSSEINI, S. F.; REZAEI, M.; ZANDI, M.; FARAHMANDGHAHI, F. Bio-based composite edible films containing *Origanum vulgare* L. essential oil. **Industrial Crops and Products**, v. 67, p. 403–413, 2015.

HUERTAS, G. G. C.; MORENO, N. G. N.; SAURI, D. E. Conservación refrigerada de chicozapote con calentamiento intermitente. **Horticultura Mexicana**, v. 7, p. 258, 1999.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA- Estatística da Produção Agrícola, 2015. Disponível em: <
http://www.agricultura.pr.gov.br/arquivos/File/deral/Prognosticos/2016/mandioca_2015_16.pdf> Acesso em: 08 de julho de 2016.

IQBAL, T.; RODRIGUES, F. A. S.; MAHAJAN, P. V.; KERRY, J. P. Mathematical modeling of O₂ consumption and CO₂ production rates of whole mushrooms accounting for effect of temperature and gas composition. **International Journal of Food Science and Technology**, v. 44, n. 7, p. 1408–1414. 2009.

IYER, S.; MATTINSON, D.; FELLMAN, J. Study of the early events leading to cassava root post harvest deterioration. **Tropical Plant Biology**, v. 3, n. 3, p. 151–165, 2010.

JACOMETTI, G. A.; MELLO, L. R. P. F.; NASCIMENTO, P. H. A.; SUEIRO, A. C.; YAMASHITA, F.; MALI, S. The physicochemical properties of fibrous residues from the agroindustry. **Food Science and Technology**, v. 62, n. 1, p. 138–143, 2015.

JAFARI, S.; RABBANI, M.; EMTYAZJOO, M.; PIRYAEI, F. Effect of dietary *Spirulina platensis* on fatty acid composition of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) fillet. **Aquaculture International**, v. 22, n. 4, p. 1307–1315, 2014.

JAY, J. M.; LOESSNER, M. J.; GOLDEN, D. A. **Modern Food Microbiology**. New York: Springer Science. 2005. 790 p.

JIANG, Y.; LI, Y.; CHAI, Z.; LENG, X. Study of the physical properties of whey protein and gelatin composite films. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 58, n. 8, p. 5100–5108, 2010.

JIMÉNEZ, A.; FABRA, M. J.; TALENS, P.; CHIRALT, A. Edible and Biodegradable Starch Films: a review. **Food Bioprocess Technology**, v. 5, n. 6, p. 2058–2076, 2012.

JONGJAREONRAK, A.; BENJAKUL, S.; VISESSANGUAN, W.; TANAKA, M. Effects of plasticizers on the properties of edible films from skin gelatin of bigeye snapper and brownstripe red snapper. **European Food Research and Technology**, v. 222, n. 3, p. 229–235, 2006.

JRIDI, M.; NASRI, R.; LASSOUED, I.; SOUISSI, N.; MBAREK, A.; BARKIA, A.; NASRI, M. Chemical and biophysical properties of gelatins extracted from alkali-pretreated skin of cuttlefish (*Sepia officinalis*) using pepsin. **Food Research International**, v. 54, n. 2, p. 1680–1687, 2013.

KASIRAJAN, S.; NGOUAJIO, M. Polyethylene and biodegradable mulches for agricultural applications: a review. **Agronomy for Sustainable Development**, v. 32, n. 2, p. 501–529, 2012.

KAWANISHI, Y.; TOMINAGA, A.; OKUYAMA, H. Regulatory effects of Spirulina complex polysaccharides on growth of murine RSV- M glioma cells through Toll-like receptor-4. **Microbiology and Immunology**, v. 57, n. 1, p. 63–73, 2013.

KESTER, J. J.; FENNEMA, O. Edible films and coatings: a review. **Food Technology**, v. 40, n. 12, p. 47–59, 1986.

KRIKOR, H.; TARRAGO, S.; JANSEN, C. (UNITED STATES). **Polymeric material for making a packaging article having oxygen-barrier properties and low light**. Patent Application 20110244155, 24 jun. 2010.

KUMAR, K. A.; NARAYANI, M.; SUBANTHINI, A.; JAYAKUMAR, M. Antimicrobial activity and phytochemical analysis of citrus fruit peels – utilization of fruit waste. **International Journal of Engineering Science and Technology**, v. 3, n. 6, p. 5414–5421, 2011.

KUMAR, V.; BHATNAGAR, A. K.; SRIVASTAVA, J. N. Antibacterial activity of crude extracts of *Spirulina platensis* and its structural elucidation of bioactive compound. **Journal of Medicinal Plants Research**, v. 5, n. 32, p. 7043–7048, 2011.

KURD, F.; SAMAVATI, V. Water soluble polysaccharides from *Spirulina platensis*: Extraction and in vitro anti-cancer activity. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 74, p. 498–506, 2015.

LAVOINE, N.; DESLOGES, I.; DUFRESNE, A.; BRAS, J. Microfibrillated cellulose – Its barrier properties and applications in cellulosic materials: A review. **Carbohydrate Polymers**, v. 90, n. 2, p. 735–764, 2012.

LEAL, R. C.; NETO, L. M. M. Amido: Entre a ciência e a cultura. **Química Nova na Escola**, v. 35, n. 2, p.75–78, 2013.

LECETA, I.; GUERRERO, P.; CABEZUDO, S.; CABA, K. de la. Environmental assessment of chitosan-based films. **Journal of Cleaner Production**, v. 41, p. 312–318, 2013.

LI, H.; HUNEALT, M. L. Effect of chain extension on the properties of PLA/TPS blends. **Journal of Applied Polymer Science**, v. 122, n. 1, p. 134–141, 2011.

LU, C.; ZHAO, J.; YANG, S.; WEI, D. Fed-batch fermentation for n-butanol production from cassava bagasse hydrolysate in a fibrous bed bioreactor with continuous gas stripping. **Bioresource Technology**, v. 104, p. 380–387, 2012.

LUCHESE, C. L.; FRICK, J. M.; PATZER, V. L.; SPADA, J. C.; TESSARO, I. C. Synthesis and characterization of biofilms using native and modified pinhão starch. **Food Hydrocolloids**, v. 45, p. 203–210, 2015.

LURIE, S.; SHAPIRO, B.; BEM-YEHOSHUA, S. Effects of water stress and degree of ripeness on rate of senescence of harvested bell pepper fruit. **Journal of the American Society for Horticultural Science**, v. 111, p. 880–885, 1986.

LUVIELMO, M. M. Edible coating in fruits. **Estudos Tecnológicos em Engenharia**, v. 8, n. 1, p. 8–15, 2012.

MA, Q.; FANG, M.; ZHENG, J.; REN, D.; LU, J. Optimised extraction of β -carotene from *Spirulina platensis* and hypoglycaemic effect in streptozotocin-induced diabetic mice. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 96, n. 5, p. 1783–1789, 2016.

MACHADO, B. A. S.; REIS, J. H. O.; SILVA, J. B. S.; CRUZ, L. S.; NUNES, I. L. N.; PEREIRA, F. V. P.; DRUZIAN, J. I. Obtenção de nanocelulose da fibra de coco verde e incorporação em filmes biodegradáveis de amido plastificados com glicerol. **Química Nova**, v. 37, n. 8, p. 1275–1282, 2014.

MALI, S.; GROSSMANN, M. V. E.; YAMASHITA, F. Filmes de amido: Produção, propriedades e potencial de utilização. **Seminário: Ciências Agrárias**, v. 31, n. 1 p. 137–156, 2010.

MALLIKARJUN GOUDA, K. G.; KAVITHA M. D.; SARADA, R. Antihyperglycemic, antioxidant and antimicrobial activities of the butanol extract from *Spirulina platensis*. **Journal of Food Biochemistry**, v. 39 p. 594–602, 2015.

MANGARAJ, S.; GOSWAMI, T.K. Modeling of Respiration of Litchi Fruit under Aerobic Conditions. **Food and Bioprocess Technology**, v. 4, n. 2, p. 272–281. 2011.

MANRICH, A.; MERMEJO, B. da C.; OLIVEIRA, J. E. de; MATTOSO, L. H. C.; MARTINS, M. A. Caracterização de *Spirulina platensis* por termogravimetria. In: JORNADA CIENTÍFICA - EMBRAPA SÃO CARLOS, 6, 2014, São Carlos, **Anais da VI Jornada Científica - Embrapa Instrumentação e Embrapa Pecuária Sudeste**, São Carlos, 2014. p. 57.

MAO, T. K.; VAN DE WATER, J.; GERSHWIN, M. E. Effects of a *Spirulina* - based dietary supplement on cytokine production from allergic rhinitis patients. **Journal of Medicinal Food**, v. 8, n. 1, p. 27–30, 2005.

MANTILLA, N.; CASTELL-PEREZ, M. E.; GOMES, C.; MOREIRA, R. G. Multilayered antimicrobial edible coating and its effect on quality and shelf-life of fresh-cut pineapple (*Ananas comosus*). **LWT - Food Science and Technology**, v. 51, n. 1, p. 37–43, 2013.

MARAN, J. P.; SIVAKUMAR, V.; SRIDHAR, R.; THIRUGNANASAMBANDHAM, K. Development of model for barrier and optical properties of tapioca starch based edible films. **Carbohydrate Polymers**, v. 92, n. 2, p. 1335–47, 2013.

MARIN, A.; FERRERES, F.; BARBERÁ, G. G.; GIL, M. Weather variability influences color and phenolic content of pigmented baby leaf lettuces throughout the season. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 63, n. 6, p. 1673–81, 2015.

MARIOD, A. A.; ADAM, H. F. Review: Gelatin, source, extraction and industrial applications. *Acta Scientiarum Polonorum*, **Technologia Alimentaria**, v. 12, n. 2, p. 135–147, 2013.

MARTINEZ, R.; TORRES, P.; MENESES, M. A.; FIGUEROA, J. G.; PEREZ-ALVAREZ, J. A.; VIUDA- MARTOS, M. Chemical, technological and in vitro antioxidant properties of mango, guava, pineapple and passion fruit dietary fibre concentrate. **Food Chemistry**, v. 135, n. 3, p. 1520–1526, 2012.

MARTIÑON, M. E.; MOREIRA, R. G.; CASTELL-PEREZ, E. M.; GOMES, C. Development of a multilayered antimicrobial edible coating for shelflife extension of fresh-cut cantaloupe (*Cucumis melo* L.) stored at 4 °C. **LWT- Food Science and Technology**, v. 56, p. 341–350, 2014.

MATTA JUNIOR, M. D.; SARMENTO, SILENE B. S.; SARANTÓPOULOS, C. I. G. L.; ZOCCHI, S. S. Barrier properties of films of pea starch associated with xanthan gum and glycerol. **Polímeros**, v. 21, n. 1, p. 67–72, 2011.

MATTOS, L. M.; MORETTI, C. L.; HENZ, G. P.; DE DEUS, R. M. S. Caracterização pós-colheita de espécies de *Capsicum* spp. **Revista em Agronegócio e Meio Ambiente**, v. 1, n. 2, p. 179–186, 2008.

MEHYAR, G. F.; AL-ISMAIL, K.; HAN, J. H.; CHEE, G. W. Characterization of edible coatings consisting of pea starch, whey protein isolate, and carnauba wax and their effects on oil rancidity and sensory properties of walnuts and pine nuts. **Journal of Food Science**, v. 77, n. 2, p. 52–59, 2012.

MELO, C. L.; SPOHR, G. M.; QUADROS, C. S.; FIDALSKI, G.; MACHADO-JUNIOR, F. R. S.; MELLO, J. M. M.; DALCANTON, F. Aplicação de recobrimento de fécula de batata para a conservação de tomates. **Revista Tecnológica**, v. 25, n. 1, p. 103–117, 2016.

MINOLTA. **Precise color communication - color control from perception to instrumentation**. Japão: Minolta Co., 1998. 59p

MILAGRES, R. C. R. M.; POLES, L. F.; PIEDADE, J.; CANNIATTI-BRAZACA, S. G.; SPOTO, M. H. F.; WALDER, J. M. M. Aplicação da radiação gama associada a diferentes temperaturas para conservação de pimenta (*capsicum baccatum* var. pendulum) *in natura*. **Alimentos e Nutrição**, v. 23, n. 2, p. 223–233, 2012.

MILLER, K. S.; KROCHTA, J. M. Oxygen and aroma barrier properties of edible films: A review. **Trends in Food Science and Technology**, v. 81, n. 7, p. 228–237, 1997.

MONTAÑO-LEYVA, B.; CHÁVEZ, P. T.; WONG, B. R.; JATOMEA, M. P.; BOJÓRQUEZ, F. B. Physical and mechanical properties of durum wheat (*Triticum durum*) starch films prepared with A- and B-type granules, **Starch/Stärke**, v. 60, n. 10, p. 559–567, 2008.

MORAES, I. O.; ARRUDA, R. O. M.; MARESCA, N. R.; ANTUNES, A. O.; MORAES, R. O. *Spirulina platensis*: process optimization to obtain biomass. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 33, n. 1, p. 179–183, 2013.

MOREIRA, M.; CASSANI, L.; MARTÍN-BELLOSO, O.; SOLIVA-FORTUNY, R. Effects of polysaccharide-based edible coatings enriched with dietary fiber on quality attributes of fresh-cut apples. **Journal of Food Science and Technology**, v. 52, n. 12, p. 7795–7805, 2015.

MORENO, O.; DÍAZ, R.; ATARÉS, L.; CHIRALT, A. Influence of the processing method and antimicrobial agents on properties of starch-gelatin biodegradable films. **Polymer International**, v. 65, n. 8, p. 905–914, 2016.

MU, C.; GUO, J.; LI, X.; LIN, W.; LI, D. Preparation and properties of dialdehydecaboxymethyl cellulose crosslinked gelatin edible films (Report). **Food Hydrocolloids**, v. 27, n. 1, p. 22–28, 2012.

MULLER, C. M. O.; YAMASHITA, F.; LAURINDO, J. B. Evaluation of the effects of glycerol and sorbitol concentration and water activity on the water barrier properties of cassava starch films through a solubility approach. **Carbohydrate Polymers**, v. 72, n. 1, p. 82–87, 2008.

NANO, R. M. W.; BRUINSA, R. E.; FERREIRA, S. L. C.; BACAN, N.; CADORE, S. Statistical mixture design development of digestion methods for Oyster tissue using inductively coupled plasma optical emission spectrometry for the determination of metallic ions, **Talanta**, v. 80, n. 2, p. 559–564, 2009.

NEELAM A.; SHALINI G.; SINGH D. P. Antimicrobial and antioxidant property of commonly found microalgae *Spirulina platensis*, *Nostoc muscorum* and *Chlorella pyrenoidosa* against some pathogenic bacteria and fungi. **International Journal Pharmaceutical Sciences and Research**. v. 3, n. 12, p. 4866–4875, 2012.

NGO-MATIP, M.; PIEME, C. A.; AZABJI-KENFACK, M.; BIAPA, P. C. N.; GERMAINE, N.; HEIKE, E.; MOUKETTE, B. M.; EMMANUEL, K.; PHILIPPE, S.; MBOFUNG, C. M.; NGOGANG, J. Y. Effects of *Spirulina platensis* supplementation on lipid profile in HIV–infected antiretroviral naïve patients in Yaounde - Cameroon: a randomized trial study. **Lipids in Health and Disease**, v. 13, 2014.

NOBREGA, M. M.; OLIVATO, J. B.; GROSSMANN, M. V. E.; BONA, E.; YAMASHITA, F. Effects of the incorporation of saturated fatty acids on the mechanical and barrier properties of biodegradable films. **Journal of Applied Polymer Science**, v. 124, n. 5, p. 3695–3703, 2012.

NUNES, L. B.; DOS SANTOS, W. J.; CRUZ, R. S. Rendimento de extração e caracterização química e funcional de féculas de mandioca da região do semi-árido baiano. (Report). **Brazilian Journal of Food and Nutrition**, v. 20, n. 1, p. 129–135, 2009.

NUR HANANI, Z. A.; ROOS, Y. H.; KERRY, J. P. Use and application of gelatin as potential biodegradable packaging materials for food products. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 71, p. 94–102, 2014.

- OGBONDA, K. H.; AMINIGO, R. E.; ABU, G. O. Influence of temperature and pH on biomass production and protein biosynthesis in a putative *Spirulina* sp. **Bioresource Technology**, v. 98, n. 11, p. 2207–2211, 2007.
- OGUR, S.; ERKAN, N. The physicochemical properties of edible protein films. **Italian Journal of Food Science**, v. 27, n. 1, p. 1–11, 2015.
- OLIVEIRA, L. M. et al. **Ensaio para avaliação de embalagens plásticas flexíveis**. Campinas: Centro de Tecnologia de Embalagem, CETEA, 1996. 219 p.
- OLIVEIRA, L. F. G.; SANTOS, P. N.; CANA, E.; LOURENÇO-JR, J.; RODRIGUES, S. Utilização da atmosfera modificada na conservação pós-colheita de carambola. **Global Science and Technology**, v. 3, p. 49–59, 2010.
- OLIVEIRA, S. S. S.; FIAUX, S. B.; BARRETO, I. R. L.; MURI, E. M. F.; DIAS, L. R. S.; RAMOS, M. C. K. V.; DE AQUINO NETO, F. R. Glycerol as green solvent for efficient obtention of beta-hydroxyesters. **Química Nova**, v. 37, n. 3, p. 545–548, 2014.
- OLIVEIRA, T. A.; AROUCHA, E. M. M.; LEITE, R. H. L.; FERREIRA, R. M. A.; SANTOS, F. K. G. Postharvest conservation Star fruit refrigerated with biofilm coating gelatin and PVC. **Revista Verde de Agroecologia e Desenvolvimento Sustentável**, v. 10, n. 4, p. 59–66, 2015.
- OOI, T. L.; YONG, K. C.; HAZIMAH, A. H.; DZULKEFTY, K.; WAN-YUNUS, W. M. Z. Crude glycerin recovery from glycerol residue waste from a palm kernel oil methyl ester plant. **Journal of Oil Palm Research**, v. 13, n. 2, p. 16–22, 2001.
- ORTIZ-ZARAMA, M. A.; JIMÉNEZ-APARICIO, A. R.; SOLORZA-FERIA, J. Obtainment and partial characterization of biodegradable gelatin films with tannic acid, bentonite and glycerol. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 96, n. 10, p. 3424–3431, 2016.
- OZDEMIR, G.; KARABAY, N. U.; DALAY, M. C.; PAZARBASI, B. Antibacterial Activity of Volatile Component and Various Extracts of *Spirulina platensis* **Phytotherapy Research**, v. 18, p. 754–757, 2004.
- ÖZDEN, Ç.; BAYINDIRLI, L. Effects of combinational use of controlled atmosphere, cold storage and edible coating applications on shelf life and quality attributes of green peppers. **European Food Research and Technology**, v. 214, n. 4, p. 320–326, 2002.
- PANICHNUMSIN, P.; NOPHARATANA, A.; AHRING, B.; CHAIPRASERT, P. Production of methane by co-digestion of cassava pulp with various concentrations of pig manure. **Biomass and Bioenergy**, v. 34, n. 8, p. 1117–1124, 2010.
- PARISI, A. S.; YOUNES, S.; REINEHR, C. O.; COLLA, L. M. Avaliação da atividade antibacteriana da microalga *Spirulina platensis*. **Revista de Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada**, v. 30, n. 3, p. 297–301, 2009.
- PAULI, R. B.; QUAST, L. B.; DEMIATE, I. M.; SAKANAKA, L. S. Production and characterization of oxidized cassava starch (*Manihot sculenta* Crantz) biodegradable films. **Starch/Stärke**, v. 63, n. 10, p. 595–603, 2011.
- PEREDA, M.; PONCE, A. G.; MARCOVICH, N. E.; RUSECKAITE, R. A.; MARTUCCI, J. F. Chitosan-gelatin composites and bi-layer films with potential antimicrobial activity. **Food Hydrocolloids**, v. 25, n. 5, p. 1372–1381, 2011.

PEREIRA, E. M.; SANTOS, Y. M. G.; LEITE FILHO, M. T.; FRAGOSO, S. P.; PEREIRA, B. B. M. Qualidade pós-colheita de frutas e hortaliças cultivadas de forma orgânica. **Revista Verde de Agroecologia e Desenvolvimento Sustentável**, v. 10, n. 2, p. 56–60, 2015.

PEREIRA, E. L.; FERRAZ, A. T. Bioprocessos para a produção de goma xantana utilizando resíduos agroindustriais como matérias-primas. **Revista da Universidade Vale do Rio Verde**, v. 14, n. 2, p. 756–776, 2016.

PERRONE, I. T.; RENHE, I. R. T.; PEREIRA, J. P. F.; COLOMBO, M.; COELHO, J. S.; MAGALHÃES, F. A. R. Influência de diferentes espessantes nas características sensoriais do doce de leite para confeitaria. **Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes**, v. 66, n. 379, p. 44–50, 2011.

PHAM, T. X.; PARK, Y. K.; LEE, J. Y. Anti-inflammatory effects of *Spirulina platensis* extract via the modulation of histone deacetylases. **Nutrients**, v. 8, n. 6, p. 1–12, 2016.

PINTO, K. M. S.; BARBOSA, L. A.; FERREIRA, D. D.; DO NASCIMENTO, L. C.; DO REGO, E. R.; BRUNO, R. D. A. Health and physiology of seed peppers Cambuci *Capsicum baccatum* L. var. *pendulum* treated with extract *Lippia microphylla*. **Bioscience Journal**, v. 30, n. 3, p. 743–749, 2014.

PLOTEGHER, F.; RIBEIRO, C. Preparação e caracterização de compósitos poliméricos baseados em amido termoplástico e materiais de alta área superficial: zeólita ZSM-5 e sílica coloidal. **Polímeros**, v. 23, n. 2, p. 236–241, 2013.

POVERENOV, E.; ZAITSEV, Y.; ARNON, H.; GRANIT, R.; ALKALAI-TUVIA, S.; PERZELAN, Y.; WEINBERG, T.; FALLIK, E. Effects of a composite chitosan–gelatin edible coating on postharvest quality and storability of red bell peppers. **Postharvest Biology and Technology**, v. 96, p. 106–109, 2014.

RAMÍREZ-MÉRIDA, L. G.; MENEZES, C. R.; ZEPKA, L. Q.; JACOB-LOPES, E. Microalgas: potencial para la producción de compuestos bioactivos nanoencapsulados. **Ciência e Natura**, v. 37, (Ed. Especial), p. 7–17, 2015.

RATNAYAKE, W. S.; JACKSON, D. S. **Starch gelatinization**, In: *Advances in Food and Nutrition Research*, Ed. S. Taylor. Elsevier Science/Academic Press, Inc. v. 55, p. 221–268, 2009.

ROCHA, G. O.; FARIAS, M. G.; CARVALHO, C. W. P.; ASCHERI, J. L. R.; GALDEANO, M. C. Filmes Compostos Biodegradáveis a Base de Amido de Mandioca e Proteína de Soja. **Polímeros**, v. 24, n. 5, p. 587–595, 2014.

ROCHA, T. S.; DEMIATE, I. M.; FRANCO, C. M. L. Características estruturais e físicoquímicas de amidos de mandioquinha-salsa (*Arracacia xanthorrhiza*). **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 28, n. 3, p. 620–628, 2008.

RODRIGUES, M. I.; IEMMA, A. F. **Planejamento de Experimentos e Otimização de Processos**. 2.ed. Campinas: Editora Carita, 2009.

ROJAS, E.; ÁVILA, M.; PARADA, G. Aplicación de estrategias nutricionales y su efecto en el crecimiento en el cultivo continuo de *Spirulina* (*Arthrospira platensis*). **Latin American Journal of Aquatic Research**, v. 40, (SpecIssue), p. 763–771, 2012.

ROMANI, R. J. Respiration, ethylene, senescence, and homeostasis in an integrated view of postharvest life. **Canadian Journal of Botany**, v. 62, p. 2.950–2.955, 1984.

ROSINA, C. R.; BARONI, S.; CAVALCANTI, O. A. Evaluation of swelling and permeability properties of films isolated from polymethacrylate containing polysaccharide from Lotus root (*Nelumbo nucifera*). **Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 40, n. 3, p. 425–431, 2004.

SALTVEIT, M. E. Carbon dioxide, ethylene and color development in ripening mature green bell pepper. **Journal of the American Society for Horticultural Science**, v. 102, p. 523–525, 1977.

SALVIA-TRUJILLO, L.; ROJAS-GRAU, A. M.; SOLIVA-FORTUNY, R.; MARTÍN-BELLOSO, O. Uso de nanoemulsões antimicrobianas como revestimentos comestíveis: Impacto na segurança e qualidade atributos de recém-colhidas maçãs Fuji. **Postharvest Biology and Technology**, v. 105, p. 8–16, 2015.

SANTACRUZ, S.; RIVADENEIRA, C.; CASTRO, M. 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, 2015.

SANTOS, C. E. M.; LINHALES, H.; PISSIONI, L. L. M.; CARRARO, D. C. S.; SILVA, J. O. C.; BRUCKNER, C. H. Perda de massa fresca dos frutos em progênes de maracujazeiro-amarelo Fresh fruit weight loss of progenies of yellow passion fruit. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 30, n. 1, p. 219–222, 2008.

SANTOS, J. S.; PIMENTEL, T. P.; KLOSOSKI, S. J. Comparative study of the physicochemical and technological properties of native and fermented cassava starch. **Revista Ciências Exatas e Naturais**, v. 17, n. 2, 261–274 2015.

SARANTÓPOULOS, C. I. G. L.; ALVES, R. M. V.; OLIVEIRA, L. M.; GOMES, T. C. **Embalagens com atmosfera modificada**. Campinas: CETEA/ITAL, 1996, p.114.

SARANTÓPOULOS, C. I. G. L.; de OLIVEIRA, L. M.; PADULA, M.; COLTRO, L.; ALVES, R. M. V.; GARCIA, E. E. C. **Embalagens Flexíveis: Principais polímeros e avaliações de propriedade**. Campinas: CETEA/ ITAL, 2002, p. 267.

SCHÖNHERR, H.; HAIN, N.; WALCZYK, W.; WESNER, D.; DRUZHININ, S. I. Surface nanobubbles studied by atomic force microscopy techniques: Facts, fiction, and open questions. **Japanese Journal of Applied Physics**, v. 55, n. 8S1, p. 1–10, 2016.

SHAH, U.; NAQASH, F.; GANI, A.; MASOODI, F. A. Art and Science behind Modified Starch Edible Films and Coatings: A Review. **Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety**, v. 15, n. 3, p. 568–580, 2016.

SHAIEB, F. A.; ISSA, A. A.; MERAGAA, A. Antimicrobial activity of crude extracts of cyanobacteria *Nostoc commune* and *Spirulina platensis*. **Archives of Biomedical Sciences**, v. 2, n. 2, p. 34–41, 2014.

SILVA, R. M.; FERREIRA, G. F.; SHIRAI, M. A.; HAAS, A.; SCHERER, M. L.; FRANCO, C. M. L.; DEMIATE, I. M. Características físico-químicas de amidos modificados com permanganato de potássio/ácido láctico e hipoclorito de sódio/ácido láctico. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 28, n. 1, p. 66–77, 2008.

SILVA, R.; HARAGUCHI, S. K.; MUNIZ, E. C.; RUBIRA, A. Aplicações de fibras lignocelulósicas na química de polímeros e em compósitos. **Química Nova**, v. 32, n. 3, p. 661–671, 2009.

SILVA, N.; CANTÚSIO NETO, R.; JUNQUEIRA, V. C. A.; SILVEIRA, N. F. A. **Manual de métodos de análise microbiológica de alimentos e água**. 4. ed. São Paulo: Livraria Varela, 2010. 632 p.

SILVA-WEISS, A.; IHL, M.; SOBRAL, P.; GÓMEZ-GUILLÉN, M.; BIFANI, V. Natural Assitives in Bioactive Edible Films and Coatings: Functionality and Applications in Foods. **Food Engineering Reviews**, v. 5, n. 4, p. 200–216, 2013.

SIMONNE, A. H.; SIMONNE, E. H.; EITENMILLER, R. R.; MILLS, H. A.; GREEN, N. R. Ascorbic Acid and Provitamin A Contents in Unusually Colored Bell Peppers (*Capsicum annuum* L.). **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 10, n. 4, p. 299–311, 1997.

SIPAHI, R. E.; CASTELL-PEREZ, M. E.; MOREIRA, R. G.; GOMES, C.; CASTILLO, A. Improved multilayered antimicrobial alginate-based edible coating extends the shelf life of fresh-cut watermelon (*Citrullus lanatus*). **LWT - Food Science and Technology**, v. 51, n. 1, p. 9–15, 2013.

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

SOBRAL, P. J. A.; OCUNO, D. Permeabilidade ao Vapor de Água de Biofilmes à Base de Proteínas Miofibrilares de Carne. **Brazilian Journal of Food Thecnology**, v. 3, n. 29, p. 11–16, 2000.

SOPADE, P. A.; HALLEY, P. J.; JUNMING, L. L. Gelatinization of starch in mixtures of sugars. II. Aplication of differential scanning calorimetry. **Carbohydrate Polymers**, v. 58, n. 3, p. 311–321, 2004.

SOUZA, A. P.; AROUCHA, E. M. M.; SOUZA, A. E. D.; COSTA, A. R. F. C.; FERREIRA, G. S.; BEZERRA NETO, F. Conservação pós-colheita de berinjela com revestimentos de fécula de mandioca ou filme de PVC. **Horticultura Brasileira**, v. 27, n. 2, p. 235–239, 2009.

SOUZA, B.; CERQUEIRA, M.; TEIXEIRA, J.; VICENTE, A. The Use of Electric Fields for Edible Coatings and Films Development and Production: a review. **Food Engineering Reviews**, v. 2, n. 4, p. 244–255, 2010.

SUI, Z.; HUBER, K. C.; BEMILLER, J. N. Effects of the order of addition of reagents and catalyst on modification of maize starches. **Carbohydrate Polymers**, v. 96, n. 1, p. 118–130, 2013.

TABOADA, O. M.; DE CARVALHO, R. A.; SOBRAL, P. J. A. Análise dinâmico-mecânica: aplicações em filmes comestíveis dynamic-mechanical analysis: applications in edible film technology, **Química Nova**, v. 31, n. 2, p. 384–393, 2008.

TAMMINENI, N.; ÜNLÜ, G.; MIN, S. C. Development of antimicrobial potato peel waste-based edible films with oregano essential oil to inhibit *Listeria monocytogenes* on cold-smoked salmon. **International Journal of Food Science and Technology**, v. 48, n. 1, p. 211–214, 2013.

TAN, H. W.; ABDIL AZIZ, A. R.; AROUA, M. K. Glycerol production and its application as a raw material. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 27, p. 118–127, 2013.

TANG, C.; YE, S.; LIU, H. Electrospinning of poly (styrene-co-maleic anhydride) (SMA) and water swelling behavior of crosslinked/hydrolyzed SMA hydrogel nanofibers. **Polymer**, v. 48, n. 15, p. 4482–4491, 2008.

TAVASSOLI-KAFRANI, E.; SHEKARCHIZADEH, H.; MASOUDPOUR-BEHABADI, M. Development of edible films and coatings from alginates and carrageenans. **Carbohydrate Polymers**, v. 137, p. 360–374, 2016.

TEIMOURI, M.; AMIRKOLAIE, A. K.; YEGANEH, S. The effects of dietary supplement of *Spirulina platensis* on blood carotenoid concentration and fillet color stability in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). **Aquaculture**, v. 414–415, p. 224–228, 2013.

TEIXEIRA, E. M.; CURVELO, A. A. S.; CORRÊA, A. C.; MARCONCINI, J. M.; GLENN, G. M.; MATTOSO, L. H. C. Properties of thermoplastic starch from cassava bagasse and cassava starch and their blends with poly (lactic acid). **Industrial Crops and Products**, v. 37, n. 1, p. 61–68, 2012.

TERRA, N. N.; FREITAS, R. J. S.; CICHOSKI, A. J. Water activity, pH, moisture and growth of *Staphylococcus xylosus* during processing and storage of cured, matured and fermented pork shoulder. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 27, n. 4, p. 756–760, 2007.

TRABELSI, L.; BEN OUADA, H.; ZILI, F.; MAZHOUD, N.; AMMAR, J. Evaluation of *Arthrospira platensis* extracellular polymeric substances production in photoautotrophic, heterotrophic and mixotrophic conditions. **Folia Microbiologica**, v. 58, n. 1, p. 39–45, 2013.

TREVIÑO-GARZA, M. Z.; GARCÍA, S.; DEL SOCORRO, F. M. A.; ARÉVALO-NIÑO, K. Edible Active Coatings Based on Pectin, Pullulan, and Chitosan Increase Quality and Shelf Life of Strawberries (*Fragaria ananassa*). **Journal of Food Science**, v. 80, n. 8, p. M1823–M1830, 2015.

TURBIANE, F. R. B.; KIECKBUSCH, T. G. Propriedades mecânicas e de barreira de filmes de alginato de sódio reticulados com benzoato de cálcio e/ou cloreto de cálcio. **Brazilian Journal Food and Technology**, v. 14, n. 2, p. 82–90, 2011.

UEOKA, H.; KATAYAMA, T. (UNITED STATES). **Process for preparing glycerol**, Patent 6288287, 2001.

VAN MAN, L.; TAGAWA, A.; ORIKASA, T.; KOIDE, S.; MURAMATSU, Y. Effect of different drying methods on physical and chemical attributes of blanched green bell pepper. **Food Science and Technology Research**, v. 20, n. 4, p. 775–783, 2014.

VERCELHEZE, A. E. S.; FAKHOURI, F. M.; DALL’ANTONIA, L. H.; YAMASHITA, F.; MALI, S. Properties of baked foams based on cassava starch, sugarcane bagasse fibers and montmorillonite. **Carbohydrate Polymers**, v. 87, n. 2, p. 1302–1310, 2012.

VICENTINO, S. L.; FLORIANO, P. A.; DRAGUNSKI, D. C.; CAETANO, J. Filmes de amidos de mandioca modificados para recobrimento e conservação de uvas. **Química Nova**, v. 34, n. 8, p. 1309–1314, 2011.

- VIEIRA, M. G. A.; DA SILVA, M. A.; DOS SANTOS, L. O.; BEPPU, M. M. Natural-based plasticizers and biopolymer films: A review. **European Polymer Journal**, v. 47, n. 3, p. 254–263, 2011.
- VIEIRA, T. D. S.; FREITAS, F. V.; SILVA, L. A. A.; BARBOSA, W. M.; DA SILVA, E. M. M. Efeito da substituição da farinha de trigo no desenvolvimento de biscoitos sem glúten. **Brazilian Journal of Food Technology**, v. 18, n. 4, p. 285–292, 2015.
- VIJAYALAXMI, S.; JAYALAKSHMI, S. K.; SREERAMULU, K. Polyphenols from different agricultural residues: extraction, identification and their antioxidant properties. **Journal of Food Science Technology**, v. 52, n. 5, p. 1–9, 2014.
- VILAPLANA, F.; HASJIM, J.; GILBERT, R. G. Amylose content in starches: Toward optimal definition and validating experimental methods. **Carbohydrate Polymers**, v. 88, n. 1, p. 103–111, 2012.
- WALTER, A.; CARVALHO, J. C.; SOCCOL, V. T.; FARIA, A. B. B.; GHIGGI, V.; SOCCOL, C. R. Study of phycocyanin production from *Spirulina platensis* under different light spectra. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, v. 54, n. 4, p. 675–682, 2011.
- WAN, J.; LIU, C.; LIU, W.; TU, Z.; WU, W.; TAN, H. Optimization of instant edible films based on dietary fiber processed with dynamic high pressure microfluidization for barrier properties and water solubility. **Food Science and Technology**, v. 60, n. 1, p. 603–608, 2015.
- WANG, L. Z.; WHITE, P. J. Structure and properties of amylose, amylopectin and intermediate materials of oat starches. **Cereal Chemistry**, v. 71, n. 3, p. 263–268, 1994.
- WANG, S. J.; COPELAND, L. Molecular disassembly of starch granules during gelatinization and its effect on starch digestibility: a review. **Food Function**, v. 4, n. 11, p. 1564–1580, 2013.
- WANG, S.; LI, C.; COPELAND, L.; NIU, Q.; WANG, S. Starch Retrogradation: A Comprehensive Review. **Food Science and Food Safety**, v. 14, n. 5, p. 568–585, 2015.
- WANG, C. Y. (1990) Chilling injury of horticultural crops. Florida, CRC Press. 300p.
- WATERSCHOOT, J.; GOMAND, S. V.; FIERENS, E.; DELCOUR, J. A. Production, structure, physicochemical and functional properties of maize, cassava, wheat, potato and rice starches. **Starch - Stärke**, v. 67, n. 1–2, p. 14–29, 2015.
- WEIBEL, D. E.; RODRIGUES, R. S. B.; KESSLER, F.; MARCONATTO, L.; VAINSTEIN, M. H.; SCHRANK, A. Processo de biodegradação de materiais poliméricos naturais e sintéticos pela ação de micro-organismos não patogênicos, (patente) 2012.
- WIHODO, M.; MORARU, C. I. Physical and chemical methods used to enhance the structure and mechanical properties of protein films: A review. **Journal of Food Engineering**, v. 114, n. 3, p. 292–302, 2013.
- XIE, Y. Y.; HU, X. P.; JIN, Z. Y.; XU, X. M.; CHEN, H. Q. Effect of temperature-cycled retrogradation on *in vitro* digestibility and structural characteristics of waxy potato starch. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 67, n. 6, p. 79–84, 2014.

XING, Y.; LI, X.; XU, Q.; YUN, J.; LU, Y.; TANG Y. Effects of chitosan coating enriched with cinnamon oil on qualitative properties of sweet pepper (*Capsicum annuum* L.). **Food Chemistry**, v. 124, n. 4, p. 1443–1450, 2011.

ZACTITI, E. M.; KIECKBUSCH, T. G. Potassium sorbate permeability in biodegradable alginate films: Effect of the antimicrobial agent concentration and crosslinking degree. **Journal Food Engineering**, v. 77, n. 3, p. 462–467, 2006.

ZAVAREZE, E. R.; HALAL, S. L. M.; TELLES, A. C.; PRENTICE-HERNÁNDEZ, C. Biodegradable films based on myofibrillar proteins of fish. **Brazilian Journal of Food Technology**, v. 15 (spe), p. 53–57, 2012.