

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA “JÚLIO DE MESQUITA FILHO”
FACULDADE DE ENGENHARIA
CAMPUS DE ILHA SOLTEIRA**

ELAINE FLORINDA RODRIGUES DE OLIVEIRA

**DESENVOLVIMENTO DE NOVOS FILMES COMESTÍVEIS CONTENDO PURÊ DE COUVE
E ALGINATO DE SÓDIO**

Ilha Solteira
2020

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA DOS MATERIAIS

ELAINE FLORINDA RODRIGUES DE OLIVEIRA

**DESENVOLVIMENTO DE NOVOS FILMES COMESTÍVEIS CONTENDO PURÊ DE
COUVE E ALGINATO DE SÓDIO**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciência dos Materiais, Universidade Estadual Paulista - UNESP, Faculdade de Engenharia do Campus de Ilha Solteira – SP, como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Ciência dos Materiais.

Área de concentração: **Química dos materiais**

Márcia Regina de Moura Aouada

Orientadora

Henriette Monteiro Cordeiro de Azeredo

Coorientadora

Ilha Solteira
2020

FICHA CATALOGRÁFICA

Desenvolvido pelo Serviço Técnico de Biblioteca e Documentação

O48d Oliveira, Elaine Florinda Rodrigues de.
Desenvolvimento de novos filmes comestíveis contendo purê de couve e alginato de sódio / Elaine Florinda Rodrigues de Oliveira. -- Ilha Solteira: [s.n.], 2020
64 f. : il.

Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista. Faculdade de Engenharia de Ilha Solteira. Área de conhecimento: Química dos Materiais, 2020

Orientador: Márcia Regina de Moura Aouada
Coorientador: Henriette Monteiro Cordeiro de Azeredo
Inclui bibliografia

1. Hortaliças. 2. Filmes comestíveis. 3. *Brassica oleracea* L. var. *acephala*. 4. Reticulação. 5. Biopolímeros.


Raiane da Silva Santos
Supervisora Técnica de Seção

Seção Técnica de Referência, Atendimento ao usuário e Documentação
Divisão Técnica de Biblioteca e Documentação
CIB/8 - 9599



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA

Câmpus de Ilha Solteira

CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

TÍTULO DA DISSERTAÇÃO: DESENVOLVIMENTO DE NOVOS FILMES COMESTÍVEIS CONTENDO
PURÊ DE COUVE E ALGINATO DE SÓDIO

AUTORA: ELAINE FLORINDA RODRIGUES DE OLIVEIRA

ORIENTADORA: MARCIA REGINA DE MOURA AOUADA

Aprovada como parte das exigências para obtenção do Título de Mestra em CIÊNCIA DOS
MATERIAIS, área: Química dos Materiais pela Comissão Examinadora:

Profa. Dra. MARCIA REGINA DE MOURA AOUADA *Marcia Regina de Moura Aouada*
Departamento de Física e Química / Faculdade de Engenharia de Ilha Solteira - UNESP

Profa. Dra. HELOIZA FERREIRA ALVES DO PRADO
Departamento de Fitotecnia, Tecnologia de Alimentos e Sócio Economia / Faculdade de Engenharia de Ilha
Solteira - UNESP

Prof. Dr. MARCOS VINICIUS LOREVICE
Laboratório Nacional de Nanotecnologia - LNNano / Centro de Pesquisa em Energia e Materiais - CNPEM

Ilha Solteira, 11 de maio de 2020

À minha família

E ao João.

Com todo o meu amor.

“Jamais considere seus estudos como uma obrigação, mas como uma oportunidade invejável para aprender a conhecer a influência libertadora da beleza do reino do espírito, para seu próprio prazer pessoal e para proveito da comunidade à qual seu futuro trabalho pertencer.”

Albert Einstein

AGRADECIMENTOS

À Deus primeiramente, por ter sido luz e direção nos momentos difíceis, por mesmo assim estar ao meu lado.

Aos meus pais, que desde o início da caminhada me motivaram em cada decisão, além da distância me apoiaram incondicionalmente.

À minha irmã Adriana, meu cunhado Osmar e meu sobrinho Adriel, pela presença e suporte em todos os momentos.

Ao meu namorado João que, com carinho e amor, me apoiou, me ouviu e me motivou a prosseguir a cada dificuldade, contribuiu significativamente para o meu êxito.

A minha orientadora Profa. Dra. Márcia Regina, de Moura Aouada pela orientação, pelo apoio, compreensão e a confiança a mim depositada. Seu cuidado foi fundamental para realização do trabalho.

A minha coorientadora Profa. Dra. Henriette Cordeiro Monteiro de Azeredo pelos conselhos e colaboração no desenvolvimento do trabalho mesmo na distância.

Ao professor Dr. Fauze Ahmad Aouada pelo apoio e incentivo na realização do trabalho.

Aos meus amigos Adhemar, Kely, Vanessa e Uilian vocês foram importantes dentro e fora do laboratório, cada bolo da Nilda, espetinho do lira, ou café na copinha foi especial.

Aos meus amigos GCNH, Denis, Renan, Fabricio e aos alunos de iniciação científica nada teria sido tão incrível se não fosse com vocês, todas as risadas, os conselhos, ensinamentos, me ensinaram a dedicação a pesquisa.

Aos meus amigos de Dourados, Camila, Otavio, Mieko, Kelly e Nai a conexão e apoio nunca deixou de existir.

À Embrapa Instrumentação por todo suporte no decorrer do trabalho. Obrigada Marcos Lorevice, por disponibilizar seu tempo e me apresentar a Grazi, que me auxiliou nas análises e hospedou tão bem. A Giuliana e Anny o meu muito obrigada por não hesitarem em me ajudar.

A todos os professores do departamento de Física e Química pelo conhecimento e aconselhamentos durante as aulas e no decorrer desta pesquisa.

Aos colegas e funcionários do Departamento de Física e Química, que sempre me ajudaram no decorrer do trabalho.

À Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” e ao Programa de Pós-Graduação em Ciência dos Materiais, pela oportunidade.

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001.

RESUMO

O uso de filmes comestíveis vem se tornando tópico de grande interesse, devido ao potencial para evitar a deterioração dos alimentos e pela característica de biodegradabilidade. Desta forma, as pesquisas sobre biofilmes têm sido enfocadas em filmes e revestimentos comestíveis à base de biopolímeros, que são completamente biodegradáveis, dentro de um período curto de tempo, contribuindo sobremaneira para a diminuição da poluição ambiental. Como o consumo de frutas e hortaliças está em constante crescimento, principalmente pelo fato destes alimentos serem considerados saudáveis, mesmo tendo uma enorme preocupação quanto a durabilidade dos mesmos. Algumas hortaliças apresentam grande diversidade de formas, tamanhos, cores e sabores. Para essas, a definição e a caracterização desses atributos são muito importantes para a comercialização e para o consumidor final. O uso da folha de couve foi definido devido sua grande utilização na gastronomia brasileira além de ser uma alternativa para melhoria de suas características físicas e organolépticas para uma aplicação inovadora como wraps e potencial de substituição das folhas com alta perecibilidade. Neste contexto, o objetivo do presente estudo foi preparar, caracterizar o desenvolvimento de filmes comestíveis a base de couve e alginato de sódio avaliando suas propriedades de solubilidade, mecânicas, térmicas e de permeabilidade ao vapor de água da matriz de alginato. Os filmes foram obtidos por *casting* a partir de soluções filmogênica de alginato de sódio com purê de couve. A incorporação do purê diminuiu a permeabilidade ao vapor de água e a solubilidade dos filmes, diminuindo o ângulo de contato. Isso pode ter ocorrido devido às interações entre esses componentes e os domínios hidrofóbicos do cloreto de cálcio utilizado para a reticulação dos filmes, favorecendo o afastamento e a mobilidade das cadeias do biopolímero, o que ressalta pontos importantes para o uso de hortaliças na produção de filmes comestíveis, destacando a preparação de biofilmes, e enfatizando ainda, a importância do seu desenvolvimento, que além de diminuir o impacto ambiental, também possuem características vantajosas que incluem, baixo custo e recurso renovável.

Palavras-chave: Hortaliças, Filmes comestíveis, *Brassica oleracea* L. var. *acephala*, Reticulação, Biopolímeros, Alginato de sódio.

ABSTRACT

The use of edible films has become a topic of great interest due to the potential to prevent food spoilage and the biodegradability feature. Thus, research on biofilms has focused on edible biopolymer-based films and coatings that are completely biodegradable within a short period of time, greatly contributing to the reduction of environmental pollution. As the consumption of fruits and vegetables is constantly growing, mainly because these foods are considered healthy, despite having a huge concern about their durability. Some vegetables have a great diversity of shapes, sizes, colors and flavors. For these, the definition and characterization of these attributes are very important for commercialization and for the final consumer. The use of kale leaf has been defined due to its great use in Brazilian gastronomy and is an alternative to improve its physical and organoleptic characteristics for an innovative application such as whaps and potential for high perishable leaf replacement. In this context, the objective of the present study was to prepare, characterize the development of edible films based on cabbage and sodium alginate by evaluating their solubility, mechanical, thermal and water vapor permeability properties of the alginate matrix. The films were obtained by casting from filmogenic sodium alginate solutions with kale puree. The incorporation of the puree decreased the water vapor permeability and the solubility of the films, reducing the contact angle. This may have occurred due to the interactions between these components and the hydrophobic domains of calcium chloride used for film crosslinking, favoring the removal and mobility of biopolymer chains, which highlights important points for the use of vegetables in film production. edible, highlighting the preparation of biofilms, and also emphasizing the importance of their development, which in addition to reducing the environmental impact, also have advantageous features that include low cost and renewable resource.

Keywords: Vegetables, *Brassica oleracea* L. var. *Acephala*, Reticulation, Biopolymers.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Folha de couve in natura.....	16
Figura 2 – Estrutura do alginato de sódio.....	20
Figura 3 – Processo de reticulação dos filmes com cloreto de cálcio 2%.....	21
Figura 4 – Determinação de espessura dos filmes comestíveis.....	23
Figura 5 – Células de permeação utilizadas na análise de WVP.....	24
Figura 6 – Analisador de ângulo de contato equipado ao microcomputador.....	25
Figura 7 – Colorímetro Minolta.....	25
Figura 8 – Solubilização dos filmes de couve em agitação e aquecimento de 100°C.....	26
Figura 9 – Medida de pH sendo realizada nas soluções.....	27
Figura 10 – Valores de permeabilidade ao vapor de água dos filmes Amostras WVP.....	29
Figura 11 – Micrografias obtidas por MEV da superfície dos filmes, A - FA e B – FAC.....	30
Figura 12 – Micrografias obtidas por MEV da superfície dos filmes, C - FACR e D – Folha de couve in natura e fraturas criogênicas E – FACR e F – Folha de couve in natura.....	31
Figura 13 – Valores médios de tensão dos FA, FAC, FACR e Folha de couve in natura. A barra de erros indica o desvio padrão.....	32
Figura 14 – Ângulo de contato para uma gota molhante sobre uma superfície sólida dos filmes de alginato e couve.....	33
Figura 15 – Gota de líquido padrão sobre a superfície dos filmes de alginato e couve reticulados, em t=30s.....	37
Figura 16 – Intumescimento dos filmes comestíveis com agente reticulador cloreto de cálcio 2%.....	39
Figura 17 - Filmes elaborados a partir de purê de couve e alginato de sódio.....	40
Figura 18 - Potencial aplicação dos filmes comestíveis como Wraps.....	41

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Porcentagem de umidade nos filmes e na folha de couve in natura.....	30
Tabela 2 – Tempo (min) necessário para a solubilização dos filmes pelo método sem e com agitação.....	38
Tabela 3 – pH final nas amostras de filmes de alginato e purê de couve.....	39

LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS

NaAlg	Alginato de sódio
WVP	Inglês (Water Vapor Permeability) - Permeabilidade ao Vapor de Água
UR	Umidade Relativa
MEV	Microscopia Eletrônica de Varredura
Ca²⁺	íons cálcio
rpm	rotações por minuto
TPE	Temperatura de Pico Endotérmico
FT IR	Espectroscopia no Infravermelho com transformada de Fourier
Td	Temperatura de Degradação
T.E.	Temperatura de Ebulição
pH	potencial hidrogeniônico
FA	Filme de alginato de sódio
FAR	Filme de alginato de sódio reticulado com cloreto de cálcio 2%
FAC	Filme de alginato de sódio incorporado com purê de couve
GI	grau de intumescimento
TG	análise termogravimétrica
-COO⁻	grupo carboxílico
FACR	Filme de alginato de sódio incorporado com purê de couve reticulado com cloreto de cálcio 2%
EMBRAPA	Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	13
2. REVISÃO DE LITERATURA	15
2.1 Produção e consumo de frutas e hortaliças	15
2.2 Couve (<i>Brassica Oleracea</i>)	16
2.3 Filmes biodegradáveis.....	17
2.4 Alginato de sódio.....	19
2.5 Reticulação.....	21
3. OBJETIVOS	22
3.1 Objetivo geral	22
3.2 Objetivos específicos	22
4. MATERIAIS E MÉTODOS	23
4.1 Materiais	23
4.2 Métodos.....	23
4.2.1 Higienização das folhas	23
4.2.2 Branqueamento e elaboração do purê de couve	23
4.2.3 Preparo de soluções filmogênicas	24
4.2.4 Conformação dos filmes biodegradáveis	24
4.2.5 Processo de reticulação.....	25
4.3 Caracterização dos filmes biodegradáveis	26
4.3.1 Determinação de espessura	26
4.3.2 Umidade e sólidos totais.....	26
4.3.3 Permeabilidade ao vapor de água	27
4.3.4 Microscopia eletrônica de varredura (MEV)	28
4.3.5 Propriedades mecânicas	28
4.3.6 Ângulo de Contato	30
4.3.8 Solubilidade em água	30
4.3.9 Intumescimento em água	30
4.3.7 Cor	32
4.3.10 Análise Termogravimétrica.....	33
4.3.11 Espectroscopia no Infravermelho com transformada de Fourier (FT-IR).....	34
4.4.2 Análise estatística.....	35
4.4 Análise subjetiva	35
4.4.1. Aspecto visual e potencial aplicação.....	35
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO	30

5.1 Caracterização dos filmes biodegradáveis	30
5.1.1 Umidade e sólidos totais	30
5.1.2 Permeabilidade ao vapor de água	31
5.1.3 Microscopia eletrônica de varredura (MEV).....	32
5.1.4 Propriedades mecânicas	34
5.1.5 Ângulo de Contato	35
5.1.6 Solubilidade em água.....	37
5.1.7 Intumescimento em água.....	38
5.1.8 Cor.....	39
5.1.9 Análise Termogravimétrica.....	40
5.1.10 Espectroscopia no Infravermelho com transformada de Fourier (FT-IR).....	41
5.2 Análise subjetiva.....	40
5.2.1. Aspecto visual.....	41
6. CONCLUSÃO	42
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	

1. INTRODUÇÃO

Nas últimas décadas, a indústria alimentícia tem sido marcada pelo grande volume de resíduos produzidos. Aproximadamente um terço das partes comestíveis de alimentos produzidos para o consumo humano, é perdido ou desperdiçado mundialmente, o que representa em torno de 1,3 bilhões de toneladas por ano¹. A maior quantidade de perda é verificada por frutas e hortaliças, que representa 0,5 bilhões de toneladas e, em países em desenvolvimento, grande parte da perda ocorre durante o processamento, no entanto, perdas durante a pós-colheita e a distribuição são também significativas¹

No Brasil, o crescimento das atividades de processamento dos alimentos tem acontecido de forma intensa para atender a demanda do mercado por alimentos processados²⁻³. O processamento de frutas e vegetais resulta em uma quantidade substancial de resíduos na forma de cascas, sementes, polpa e bagaço, e estes subprodutos são conhecidos por serem uma rica fonte de nutrientes, principalmente biopolímeros (como polissacarídeos e fibras alimentares) e compostos bioativos⁴.

Os biopolímeros, como polissacarídeos e proteínas, obtidos a partir de subprodutos de origem agrícola têm sido propostos para formulação de materiais biodegradáveis por serem passíveis de biodegradação, exceto quando modificações químicas severas são aplicadas, oriundos de fontes renováveis e não tóxicos para o solo e para o ambiente⁵.

Por essas questões ambientais, grande atenção tem sido voltada para o desenvolvimento de filmes comestíveis/ biodegradáveis. No entanto, estes filmes podem também agregar valor nutricional e melhorar características sensoriais quando consumidos junto com o produto a qual foram aplicados, além de ser uma alternativa às matérias-primas derivadas do petróleo, reforçando a sustentabilidade do processamento⁶⁻⁷.

A composição e as propriedades funcionais dos filmes biodegradáveis variam de acordo com o biopolímero utilizado como matéria-prima. Proteínas e polissacarídeos resultam em filmes com boas propriedades mecânicas e organolépticas e são barreiras efetivas a compostos de aroma e gases de baixa massa molar como oxigênio e dióxido de carbono, embora sejam sensíveis à umidade devido à natureza hidrofílica desses componentes⁸⁻⁹.

Buscando-se fontes alternativas de biopolímeros para elaboração desse tipo de embalagem, tem se estudado a utilização de frutas e hortaliças nesse processo¹⁰⁻¹¹. Os filmes elaborados a partir de vegetais apresentam de baixa a moderada permeabilidade ao oxigênio e propriedades mecânicas aceitáveis, sendo sugeridos como alternativa para a produção de embalagens e revestimentos comestíveis¹⁰⁻¹². No entanto, ainda há poucos estudos sobre a utilização de resíduos do processamento de frutas e hortaliças na

elaboração de filmes biodegradáveis¹³⁻¹⁴.

Com relação a embalagens de alimentos, no Brasil, de acordo com a Associação Brasileira de Embalagens (ABRE), os plásticos representam 37,47% o valor total da 5 produção de embalagens, o que representa, conseqüentemente, um volume semelhante em descarte inadequado. Além da emissão de gases tóxicos e poluentes, durante as etapas produtivas. Porém, devido à diversidade e versatilidade, os polímeros derivados de petróleo proporcionam avanços tecnológicos, economia de energia e diversos outros benefícios para a sociedade por meio da produção de uma variedade de produtos. Os bioplásticos, como os filmes comestíveis desenvolvidos a partir de biopolímeros, como o hidroxipropil metilcelulose (HPMC), a quitosana, alginatos são alternativas naturais atóxicas e solúveis em água, extremamente promissoras para substituir as embalagens convencionais, além de serem fontes abundantes e com ação antimicrobiana¹⁴⁻¹⁵.

Devido à crescente necessidade no aproveitamento da produção de frutas e hortaliças, vem-se desenvolvendo tecnologias para prolongar sua vida útil pós-colheita, assim como a crescente mudança de estilo de vida dos consumidores e com tempo reduzido para o preparo das refeições vem sendo observado um aumento na busca por alimentos minimamente processados ou industrializados, especialmente frutas e hortaliças. Em supermercados, quitandas e sacolões é cada vez mais comum encontrar frutas e hortaliças já higienizadas e embaladas, prontas para o consumo. Trata-se de produtos minimamente processados, que aliam conveniência e praticidade, conquistando a preferência do consumidor¹⁶.

Segundo trabalhos realizados por Oliveira et al., (2012)¹² esta técnica visa basicamente estender a vida útil dos alimentos, o que depende de uma série de fatores, como escolha da matéria-prima, cuidados de higiene e preparo final. Mas, ao contrário da maioria das técnicas de processamento de alimentos, que estabilizam a vida de prateleira dos produtos, o processamento mínimo pode aumentar sua perecibilidade¹⁷. Em condições de temperatura ambiente, os produtos minimamente processados deterioram-se rapidamente, tendo em vista que os processos metabólicos e danos microbiológicos são mais acelerados.

Alginato de sódio (NaAlg) é um copolímero aniônico de cadeias químicas lineares, formado por unidades monoméricas de ácidos 1,4-β-D-manurônicos (M) e 1,4-α-L-gulurônicos (G) que se distribuem em blocos ao longo de suas cadeias. Esse polissacarídeo é extraído da parede celular de algas marinhas marrons na forma do ácido algínico, que através de processos químicos resultam no alginato de sódio¹⁹⁻²⁰. Apesar de ser muito utilizado como curativo para feridas, revestimento e aditivos nas áreas médicas, farmacêuticas e alimentícias, o alginato não possui atividades antimicrobianas, atua apenas como uma barreira seletiva, que mantém o controle da umidade, realiza trocas gasosas com o ambiente, entre outros¹⁸.

Diante do exposto, considerando a crescente geração de resíduos pelo processamento de frutas e hortaliças e o potencial destes na síntese de novos produtos, aliado ao impacto ambiental causado por embalagens plásticas, largamente utilizadas na indústria de alimentos, a proposta deste trabalho foi verificar o potencial de utilização de hortaliças na elaboração de um filme biodegradável e seu potencial aplicação.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Produção e consumo de frutas e hortaliças

Nas últimas décadas, a produção mundial de frutas e hortaliças tem experimentado um aumento notável. Em 2016, quase 640 milhões de toneladas de frutas e mais de 1 bilhão de toneladas de vegetais foram colhidos em todo o mundo²¹. O crescimento da produção mundial foi, em grande parte, impulsionado pela expansão da área cultivável na Ásia, especialmente na China, que emergiu como maior produtor mundial de frutas e hortaliças em 2010. O Brasil ocupa o terceiro lugar no *ranking* mundial de produtores de frutas com uma produção anual de 38.793 mil toneladas e o décimo segundo lugar no *ranking* mundial de produtores de vegetais, com 11.233 toneladas produzidas no ano de 2018²¹.

A estrutura do comércio mundial de frutas e vegetais, no entanto, não espelha plenamente a estrutura da produção. Na China e Índia, por exemplo, onde a forte demanda interna é alimentada pelo crescimento da renda e por uma grande população urbana e em rápido crescimento, apenas uma pequena porcentagem de frutas e vegetais é exportada. Em contraste, os países latino-americanos, como Brasil e Argentina, estão entre os principais exportadores de frutas e vegetais²¹⁻²².

A baixa demanda interna de frutas, hortaliças e legumes no Brasil se confirma com dados da Pesquisa de Orçamento Familiar (POF)²³ que revela que o consumo médio de frutas, hortaliças e legumes pela população brasileira contribuíram apenas com 2,8% das calorias totais em média necessárias para um indivíduo adulto (2.000 kcal), representando cerca de um terço das recomendações da Organização Mundial da Saúde (OMS) para o consumo desses alimentos (pelo menos 400 gramas ao dia)²⁴. Além disso, a OMS estima que a baixa ingestão de frutas e vegetais contribui para aproximadamente 2,6 milhões de mortes no mundo e que 31% das doenças cardiovasculares podem ser atribuídas ao baixo consumo de frutas e legumes²⁴. Frutas e hortaliças são fontes de fitoquímicos com propriedades funcionais, enquadrando-se como alimentos funcionais, devido à presença de vitaminas, minerais e fibras alimentares²⁵. Portanto, o aumento do consumo desses pode prevenir doenças na idade adulta, incluindo acidente vascular cerebral, doença arterial coronariana, alguns tipos de câncer, e outras doenças crônicas. Sendo, dessa forma, necessários esforços para promover hábitos alimentares saudáveis em crianças e adultos, que incluam a adição de frutas e hortaliças na dieta²⁶.

O cenário para o mercado dos produtos processados de frutas e hortaliças é de crescimento em todos os países, já que os consumidores buscam cada vez mais sucos, molhos e condimentos prontos, por força da praticidade e conveniência encontrada nesses alimentos²⁷. Atualmente, no Brasil, o processamento industrial de frutas e hortaliças é intenso e gera, além dos produtos de excelente aceitação no mercado como os doces, geleias, sucos, néctares, xaropes concentrados, óleos essenciais e aromas, gera também elevada quantidade de resíduos que podem chegar a 50% da matéria-prima²⁸⁻²⁹.

Uma estratégia de elevar o consumo de alimentos funcionais na alimentação diária é o aproveitamento integral dos alimentos, ou seja, a utilização de resíduos como cascas, bagaço, talos, folhas e etc., que também possuem em sua composição vitaminas, minerais, fibras e compostos antioxidantes, que auxiliam na redução do risco de doenças crônicas, contribuindo para a promoção da saúde. Além disso, a utilização desses resíduos é um meio sustentável de utilização dos mesmos uma vez que são largamente desperdiçados, principalmente pela indústria de alimentos⁴.

2.2 Couve (*Brassica oleracea*)

Brassica oleracea pertence à família *Brassicaceae* e inclui muitas variedades de repolho, brócolis, couve-flor, couve de Bruxelas e couve (Figura 1). Vegetais *Brassica* são ricos em compostos bioativos, incluindo tocoferóis, ácido ascórbico, carotenóides, glicosinolatos e polifenóis³⁰, e são encontrados para ter efeitos positivos sobre a saúde humana quando consumidos regularmente³¹⁻³².

Figura 1 – Folha de couve *in natura* (*Brassica oleracea* L. var *Acephala*)



Fonte: Próprio autor

A maioria dos estudos sobre compostos bioativos em hortaliças *Brassica* concentrou-se no conteúdo de glucosinolatos, um grupo de compostos contendo enxofre que é especialmente abundante nessas espécies. Os glucosinolatos geralmente possuem baixa atividade biológica, mas seus produtos de degradação mostraram efeitos preventivos específicos contra o câncer³³⁻³⁴. No entanto, os efeitos positivos para a saúde dos vegetais *Brassica* também podem ser atribuídos à sua grande quantidade de constituintes com forte capacidade antioxidante. Os principais antioxidantes nos vegetais são compostos fenólicos e vitamina C, representando mais de 80% da sua capacidade antioxidante total³⁰. Entre eles, foi relatado que a couve exibe a mais alta capacidade antioxidante³⁵⁻³⁶.

Os efeitos benéficos para a saúde dos polifenóis estão relacionados não só à sua função como antioxidantes, mas também à sua participação na expressão gênica, sinalização celular e adesão celular por ligação a receptores e transportadores celulares³⁸⁻³⁶. Além de ervas e especiarias, as fontes alimentares mais ricas em flavonóis são sabugueiro, cebola e couve³⁹.

O efeito desses fatores sobre o conteúdo de compostos bioativos em couve tem sido, no entanto, pouco estudado. Murtaza et al. (2005) descobriram que a atividade antioxidante e o teor de ácido ascórbico, carotenóides e fenóis totais na couve diferem entre os diferentes genótipos e que os genótipos selvagens apresentam níveis mais altos de atividade antioxidante e fenóis totais do que os cultivados⁴⁰.

Muito apreciada na culinária, a couve compõe diversos pratos típicos. Estão presentes em saladas, refogados, sucos, como também em diversas receitas tais como sopas, caldos, molhos, recheios, entre outras. Consumidas cruas, cozidas ou refogadas, onde o ideal é que ela fique menos tempo possível no fogo, em torno de 30 segundos, pois a couve tende a ficar muito escura e com um sabor desagradável quando expostas muito tempo sob o calor do fogo. E este tempo de 30 segundos não altera muito suas propriedades nutritivas e medicinais⁴¹.

2.3 Filmes biodegradáveis

Filmes biodegradáveis podem ser definidos como camadas finas de um material biodegradável, que podem ser aplicados como barreira entre o alimento e o ambiente circundante e, dependendo da matéria-prima utilizada, podem ser consumidos como parte do produto alimentar⁴²⁻⁴³. Os filmes oferecem um potencial para prolongar a vida de prateleira e melhorar a qualidade dos alimentos através do controle da transferência de umidade, oxigênio, dióxido de carbono, sabor e aroma entre os componentes do alimento e atmosfera que os envolve⁴⁴.

A busca por um material oriundo de fontes renováveis, com durabilidade em uso e degradabilidade após o descarte teve início com o conhecimento do crescente impacto ambiental causado por embalagens plásticas aliado ao crescimento do uso desse tipo de embalagem⁴⁵⁻⁴⁶. Em

2010, do total de plásticos transformados no Brasil, aproximadamente 40% foram aplicados no setor de embalagens, sendo que, deste total, em torno de 25% foram aplicados em embalagens para o setor alimentício⁴⁷.

Para serem utilizados como embalagens, os filmes biodegradáveis devem atender a um número de requisitos funcionais específicos como barreira ao vapor de água e / ou a gás, solubilidade em água ou lipídio, características mecânicas e reológicas, não-toxicidade, etc). Estas propriedades funcionais são dependentes da composição, do procedimento de formação, do modo de aplicação, do condicionamento e da espessura do filme ⁴²⁻⁴³.

A formulação dos filmes biodegradáveis implica a utilização de pelo menos um componente capaz de formar uma matriz, tendo coesão e continuidade suficiente. De acordo com a literatura, esses filmes são comumente elaborados a partir de polissacarídeos, proteínas e lipídios³⁸⁻⁴². Os lipídios, entretanto, em função de sua baixa polaridade, são mais utilizados na elaboração de revestimentos comestíveis ou juntamente com um polissacarídeo na elaboração de filmes com melhores propriedades mecânicas⁴⁸⁻⁴².

Estudos utilizando biopolímeros de amido, proteína ou a mistura destes, a partir de diferentes fontes na formulação de filmes biodegradáveis têm sido amplamente realizados. Esse tem o objetivo de reduzir a necessidade de uso de polímeros não-biodegradáveis derivados do petróleo além de criar novos mercados para as fontes de biopolímeros. Utilizando o amido como matéria prima, Araujo-Farro et al. (2010)^{nº} elaboraram filmes a partir de amido de quinoa e verificaram a viabilidade desta matéria-prima na formação de filmes. Larotonda et al. (2004)^{nº}, produziram filmes a partir do amido de mandioca, e Mali et al. (2005a)^{nº} elaboraram filmes a partir de amido de inhame. A mistura de biopolímeros foi estudada por Fakhouri et al. (2007)^{nº} que elaboraram filmes com base de amido nativo e gelatina. Em relação à proteína, Tanada-Palmu; Grosso (2003)^{nº} elaboraram filmes à base de glúten do trigo e concluíram que esta matéria-prima é uma boa fonte para elaboração de filmes proteicos. Outras fontes proteicas também foram estudadas por Kokoszka et al. (2010)^{nº}, que elaboraram filmes a partir da proteína do soro do leite, e por Sobral; Ocuno (2000)^{nº}, que produziram filmes a partir de proteínas miofibrilares de carne bovina.

Os filmes compostos de polissacarídeos como os de celulose e seus derivados, amido e derivados e gomas ou a base de proteínas como gelatina, zeína, glúten e outros têm adequadas propriedades mecânicas e ópticas globais, mas são altamente sensíveis à umidade e apresentam alto coeficiente de permeabilidade ao vapor d'água. Em virtude disso, existe uma crescente busca por materiais de reforço, de caráter mais hidrofóbico, como fibras e nanopartículas, a fim de melhorar as propriedades mecânicas e de barreira dos filmes biopoliméricos à base de amido e/ou proteína⁴⁹.

A combinação dos biopolímeros, formando filmes denominados multicompostos ou

multicomponentes, tem como vantagem agregar os pontos positivos de cada um dos constituintes utilizados⁵⁰.

Os resíduos vegetais, que contém pectina, celulose, pigmentos e outros compostos funcionais podem também ser utilizados como matéria-prima para formulação de filmes biodegradáveis¹⁰⁻¹¹. Tais filmes proporcionam benefícios adicionais aos tradicionais elaborados por fornecerem sabor e cor únicos dos vegetais, além do conteúdo de antioxidantes naturais presentes¹⁰.

Verifica-se na literatura um número considerável de estudos sobre a utilização de frutas e hortaliças, principalmente na forma de purês, como matéria-prima para elaboração de filmes biodegradáveis. Entretanto, poucos utilizam resíduos do processamento para esse fim. Park & Zhao (2006) elaboraram filmes a partir do bagaço de cranberry e demonstraram a viabilidade da utilização do extrato aquoso desta matéria-prima na elaboração destes³³. Segundo os autores, dependendo da aplicação a que se destina o filme, a funcionalidade da película pode ser alterada através da concentração de um agente plastificante e da adição de determinado tipo de pectina. Sothornvit & Pitak (2007) produziram filmes à base de farinha de banana que demonstraram boa capacidade de vedação, o que torna estes filmes adequados para uso como sachês ou sacos para alimentos secos, reduzindo assim a necessidade de materiais de plástico. Du et al. (2011) elaboraram filmes antimicrobianos com boas propriedades físicas a partir do purê de maçã com adição de polifenóis extraídos da casca da maçã.

Os filmes e recobrimentos biodegradáveis são aqueles formados a partir de polímeros naturais, de origem animal ou vegetal, como polissacarídeos, lipídios e proteínas e que quando lançados no meio ambiente, convertem-se em compostos simples, mineralizados, que, redistribuídos através dos ciclos de carbono, nitrogênio e enxofre não agredem o biosistema⁵¹.

Existem alguns requisitos específicos para o seu uso, tais como: boa aceitabilidade sensorial, propriedades de barreira e mecânicas adequadas, estabilidade bioquímica, físico-química e microbiológica, ser inócua, não-poluente, de processamento simples e de baixo custo⁸. Esses filmes também devem ser, de preferência, transparentes, ter aderência suficiente para serem facilmente removíveis no manuseio e não introduzir alterações no sabor e aroma. Embora atributos de qualidade física e de proteção ao alimento sejam os objetivos principais de um revestimento, dá-se uma ênfase natural às características visuais⁵².

A elaboração de filmes comestíveis e/ou biodegradáveis requer a utilização de pelo menos um constituinte capaz de formar uma matriz contínua e de coesão adequada, sendo este uma macromolécula¹¹.

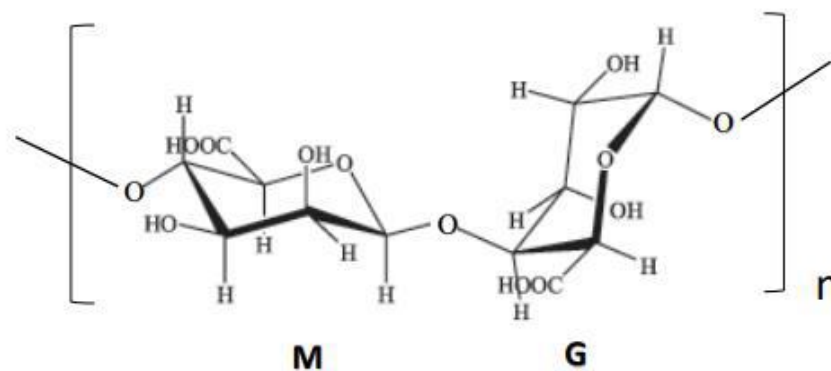
2.4 Alginato de sódio

Alginatos são de grande interesse como potencial componente estrutural de filmes e coberturas por causa de suas propriedades coloidais únicas, na qual incluem compactação, estabilização, suspensão, formação do filme, produção do gel, e estabilização da emulsão⁵³.

Dentre os vários polímeros naturais, o alginato de sódio é um polissacarídeo extraído de algas marinhas marrons (castanhas) na forma de ácido algínico, o qual através de reações com uma base forte (hidróxido de sódio) forma o sal de alginato de sódio. Ele é um carboidrato coloidal hidrofílico extraído com álcali diluído de várias espécies de algas Phaeophyceae. Em termos moleculares, o alginato é da família de copolímeros binários, composto por ligações 1-4 de ácido β -D-manurônico (M) e ácido α -L-gulurônico (G), de larga variação na composição e estrutura seqüencial⁵³. Estes monômeros são organizados em blocos ao longo da cadeia, que podem ser compostos por blocos de homopolímeros (GG e MM) junto com blocos alternados (MG) na mesma molécula.

A diferença na seqüência e no conteúdo de blocos determinará a flexibilidade da cadeia, influenciando na solubilidade e estabilidade do gel que será formado. Blocos MG, por exemplo, formam cadeias mais flexíveis e mais solúveis em pHs baixos e a estabilidade do gel está diretamente relacionada ao conteúdo de blocos G (Figura 2)⁵³.

Figura 2 - Esquema representativo dos monossacarídeos presentes no alginato de sódio e dos blocos formados.



Fonte: Adaptado de Lee e Mooney, (2012)

Ácido algínico é o único polissacarídeo que contém, naturalmente, grupos carboxílicos em cada constituinte residual, e possui várias habilidades funcionais⁵⁴. A propriedade mais usada e única em alginatos é sua habilidade de reagir com cátions polivalentes, especialmente íons cálcio, para produzir géis fortes ou polímeros insolúveis⁵³⁻⁵⁴.

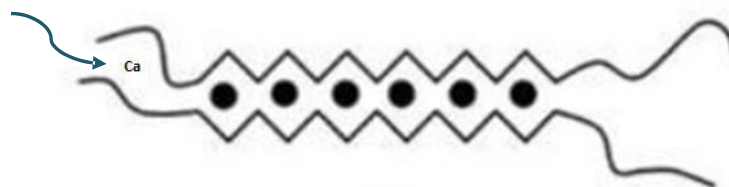
A principal aplicação comercial do alginato é na forma de sal, sendo largamente utilizado nas indústrias alimentícia, farmacêutica, têxtil e de papel⁵⁵. Derivados de alginato também são usados na indústria de processamento de alimentos para a produção de produtos cárneos, anéis de cebola, recheios de azeitona, *sticks* de caranguejo, e aperitivos de lagosta e na indústria de biotecnologia para produção de pérolas para imobilização de células e enzimas⁵⁶. Além disso, o alginato é considerado copolímero de alta massa molecular de cadeias lineares com segmentos rígidos e flexíveis. São constituídos por monossacarídeos de ácido β -D-manurônico (M) e ácido α -L-glucurônico (G) unidos por ligações glicosídicas α (1,4)⁵⁵.

O alginato de sódio é considerado um biopolímero por apresentar características biocompatíveis e não tóxicas, porém ele não apresenta propriedades ativas, sendo assim ele é muito utilizado pelas indústrias como aditivo alimentício, cosmético, farmacêutico, além de aplicações como agente estabilizante para materiais dentários, curativos, medicina regenerativa, entre outros⁵⁵.

2.5 Reticulação

Estruturas poliméricas do alginato são hidrofílicas devido à presença em grande quantidade de radicais polares, hidroxilas (OH). No entanto, a reticulação com cátions polivalentes, especialmente o cálcio, pode melhorar as propriedades de resistência à umidade e resistência mecânica, diminuindo sua solubilidade em água⁵⁶. A inflexibilidade que é inerente nas moléculas de alginato em solução aumenta de acordo com a sequência de blocos de monômeros MG (Figura 3).

Figura 3 - Modelo “egg-box”, representação das cadeias de alginato interagindo com cátions de cálcio.



Fonte: Próprio autor.

As ligações α e β (1-4) são as principais responsáveis pela biodegradabilidade do Alginato de sódio pois as quebras dessas ligações podem ser catalisadas por oxidação ácida ou alcalina, ou por enzimas hidrolíticas denominadas carboidrases ou liases, ou ainda alginato liases. A alginato-

liase catalisa a degradação de alginato por β -eliminação das ligações glicosídicas e produz oligossacarídeos insaturados⁵⁷.

Dependendo do grau de reticulação, o intumescimento da estrutura tridimensional do alginato na presença de solventes é significativamente reduzido, resultando em uma diminuição na permeabilidade para diferentes solutos. Como consequência, a liberação do agente incorporado é lenta, permitindo que estes sistemas sejam utilizados na liberação controlada de substâncias. A produção de filmes de alginato de cálcio é uma operação complexa e depende do tipo de alginato utilizado, do grau de conversão entre o alginato e o cálcio, da fonte de íons de cálcio (cloreto, fosfato, lactato, etc) e do método de preparação⁵⁸.

3. OBJETIVOS

3.1 Objetivo geral

Este trabalho tem como objetivo desenvolver e caracterizar filmes biodegradáveis elaborados a partir de couve (*Brassica oleracea* L. variedade *acephala*) e alginato de sódio que apresentem propriedades semelhantes ou superiores a couve *in natura* como a coloração característica, resistência, alongação e espessura. Além de apresentar filmes hidrofóbicos, tornando-os interessantes para aplicações no setor alimentício.

3.2 Objetivos específicos

- Determinar as melhores condições para obtenção de filmes homogêneos, com manuseabilidade e continuidade;
 - Elaborar filmes biodegradáveis utilizando a couve, através do método de *casting*;
 - Caracterizar os filmes obtidos quanto a espessura, solubilidade em água, propriedades mecânicas, térmicas, superficiais quanto ao ângulo de contato e morfológicas e permeabilidade ao vapor de água;
- a** Analisar subjetivamente as propriedades organolépticas (cor e aroma) que poderão ser agregadas aos filmes, e como se preservam em função do tempo de estocagem.

4. MATERIAIS E MÉTODOS

4.1 Materiais

- Alginato de sódio, composto por ligações 1-4 de ácido β -D-manurônico (M).
- Plastificante glicerol (Sigma Aldrich)
- Solução de Cloreto de cálcio 2% (Sigma Aldrich)
- Hipoclorito (Sigma Aldrich)
- Couve (*Brassica oleracea* L. variedade *acephala*) foi adquirida através de produtores locais na cidade de Ilha Solteira.

4.2 Métodos

4.2.1 Higienização das folhas

Durante a higienização das folhas de couve (*Brassica oleracea* L. variedade *acephala*) a 1º lavagem consistiu na retirada de sujidades grosseiras em água corrente, em seguida, foi utilizado: 1 litro de água destilada em solução de hipoclorito comercial a 1% (constituído por um teor de cloro ativo equivalente entre 2% a 2,5% p/p), em imersão, para a redução da carga microbiana por 12 minutos, logo após realizou-se a 2º lavagem em água corrente para retirada de impurezas.

4.2.2 Branqueamento e elaboração do Purê de couve

As folhas passaram pelo branqueamento, sendo um tratamento térmico em que as folhas de couve *in natura* foram imersas em água destilada a 65°C por 5 minutos, em seguida, levadas ao banho de gelo para promover a inativação enzimática e manter as propriedades de coloração específica. Decorrido o tempo do branqueamento, as folhas foram levadas ao triturador vitamix juntamente a água (2/2) para homogeneização e obtenção do purê, sendo feita a filtragem (0.1 mm) dos resíduos sólidos para melhor incorporação na dispersão filmogênica (figura 4).

Figura 4 – Processo térmico aplicado nas folhas de couve (*Brassica oleracea* L. variedade *acephala*)



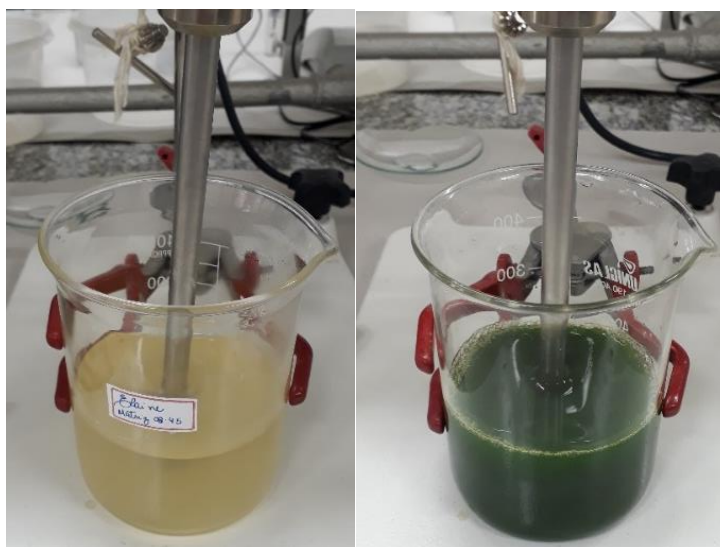
Fonte: Próprio autor.

4.2.3 Preparo das dispersões filmogênicas

Foram preparados quatro tipos de filmes divididos em dois estágios: (Estágio I) filme de alginato de sódio (FA), filme de alginato de sódio com purê de couve (FAC). (Estágio II) filme de alginato de sódio reticulado (FAR) e filme de alginato de sódio com purê de couve reticulado (FACR).

Todos os filmes foram formados a partir da adição de 2% de massa de polímero em pó em relação ao volume total da solução. No caso do filme controle, denominado FA, a dissolução do polímero se deu diretamente em água destilada. Já nas demais soluções, o polímero foi disperso diretamente na dispersão do purê de couve previamente preparadas (Figura 5). Todas as dispersões filmogênicas foram submetidas à agitação mecânica a 1500 rpm e mantidas a 25 ± 2 °C até completa dissolução do alginato de sódio.

Figura 5 – Obtenção das dispersões filmogênicas FA (A) e FAC (B)

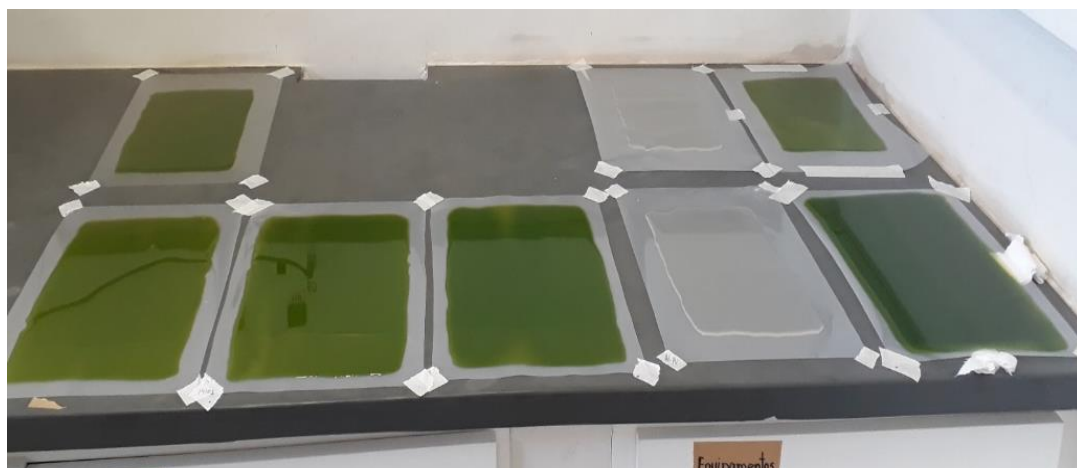


Fonte: Próprio autor.

4.2.4 Conformação dos filmes biodegradáveis

Os filmes foram obtidos por método de secagem por *casting* que consiste na deposição de uma suspensão coloidal sobre um suporte de poliéster, ocorrendo secagem do material em condições específicas e controladas. No presente estudo foi estabelecido o período de 30 horas como tempo total de secagem sob temperatura ambiente (25 ± 5 °C). Previamente às caracterizações, as amostras foram acondicionadas em dessecador contendo sílica pelo período de 48h à 25 ± 2 °C em umidade relativa constante de $50 \pm 2\%$. Padronizou-se para cada filme a deposição de 100 mL de dispersão filmogênica em um suporte retangular de poliéster (15 cm x 20 cm) (figura 6).

Figura 6 – Esquema de secagem dos filmes secos em temperatura ambiente



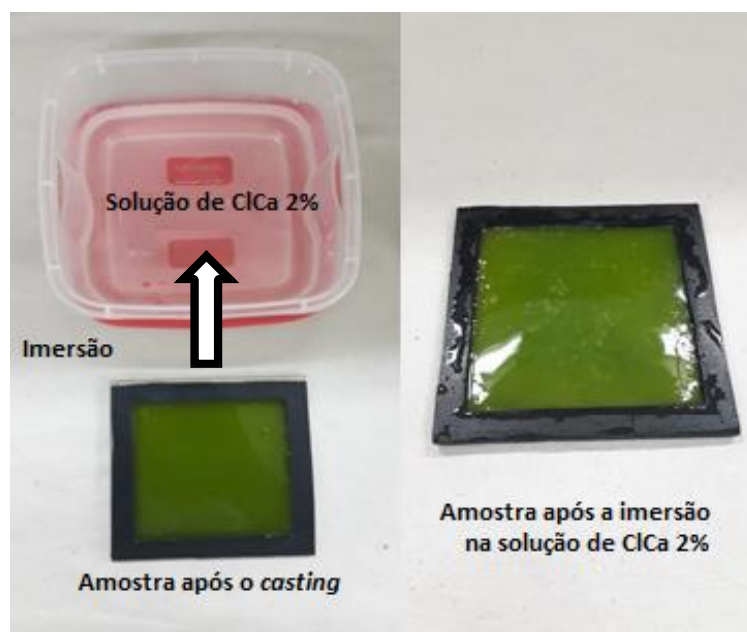
Fonte: Próprio autor.

4.2.5 Reticulação

O cloreto de cálcio (solução a 2%) foi usado como agente reticulante. Logo após o *casting* dos filmes eles foram levados a uma imersão por 1 minuto no próprio suporte para liberação do mesmo e secagem posterior (Figura 7). Uma explicação que pode ser dada para a esse processo é que a reticulação impede a separação das cadeias e sua passagem para a solução.

Figura 7 – Processo de reticulação dos filmes com cloreto de cálcio 2%

Fonte: Próprio autor.



A reticulação com cátions polivalentes, especialmente o cálcio, pode melhorar as propriedades de resistência à umidade e resistência mecânica, diminuindo sua solubilidade em água isso ocorre devido as ligações α e β (1-4) que são as principais responsáveis pela biodegradabilidade do alginato de sódio, pois as quebras dessas ligações podem ser catalisadas por oxidação ácida ou alcalina, ou por enzimas hidrolíticas⁶⁰.

De modo geral, a adição de plastificantes tende a aumentar a solubilidade de filmes. Em filmes reticulados, entretanto, esse efeito pode ser menos pronunciado. As moléculas de plastificante podem permanecer fortemente ligadas à estrutura tridimensional do polímero dificultando, desta maneira, a sua liberação para a solução⁶¹.

4.3 CARACTERIZAÇÕES DOS FILMES BIODEGRADÁVEIS

4.3.1 Determinação de espessura

As medidas das espessuras dos filmes foram realizadas utilizando um micrômetro digital (No. 7326, Mitutoyo Corp., Kanogawa, Japan) em 5 diferentes pontos ao redor do filme e folhas *in natura* (Figura 8). Utilizou-se os valores de espessura para obter as medidas das propriedades mecânicas e de permeabilidade ao vapor de água. O micrômetro utilizado apresentava precisão de 0,001 mm.

Figura 8 – Micrometro digital, utilizado na determinação de espessura dos filmes comestíveis



Fonte: próprio autor.

4.3.2 Umidade e sólidos totais

A massa total da uma amostra de filme de 2,5 cm de diâmetro foi quantificada e na sequência levada em estufa (Lab-Line, Squaroid, EUA) mantida a 105°C durante 24 h. Após este período, a

massa seca final foi quantificada. O conteúdo de umidade do filme (W) foi expresso em função da massa seca inicial do filme. (Equação I)

$$W = \frac{(M_0 - M_i)}{M_0}$$

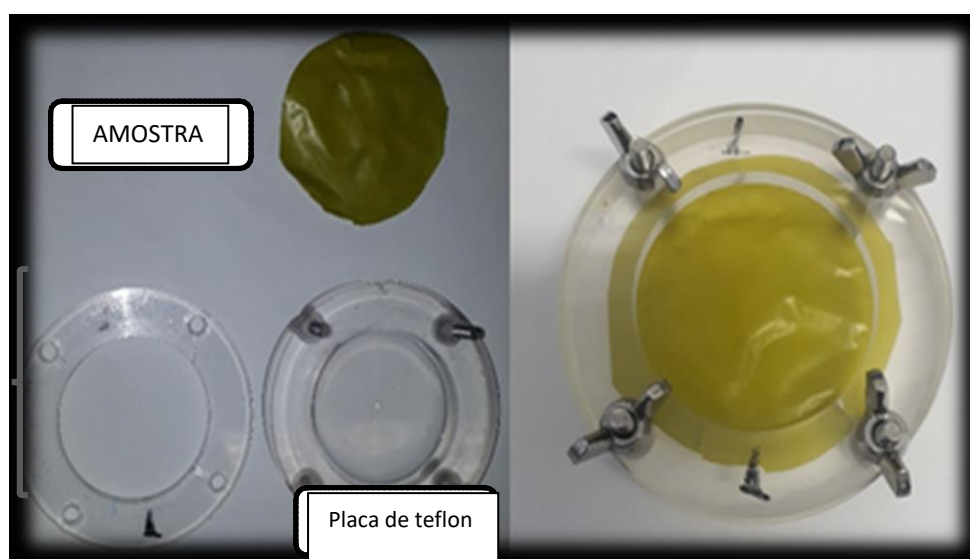
(EQUAÇÃO 1)

Onde: W é a umidade do filme [%]; M_0 é a massa seca inicial da amostra [g]; M_i é a massa seca final da amostra [g].

4.3.3 Permeabilidade ao vapor de água (WVP)

Para as análises de WVP foi utilizado o método adaptado da norma ASTM E96-8055 (ASTM, 1980) como descrita na literatura por Mc Hugh et al (1993)^{nº}. Os filmes foram cortados na forma de um círculo com 5 cm de diâmetro, como ilustrado na Figura 9 e colocados sobre células de permeação, as quais comportavam 6 mL de água destilada em seu interior, para promover um aumento da umidade relativa, propiciando uma diferença de umidade entre o interior da célula e o meio externo. Dessa forma, pode se avaliar a atuação dos filmes como barreiras semipermeáveis entres esses dois ambientes. Uma segunda placa foi colocada por cima da primeira e ambas foram fixadas por parafusos, como mostra a Figura 9. As análises foram feitas em triplicata para todos os filmes.

Figura 9 –Células de permeação utilizadas na análise de permeabilidade ao vapor



Fonte: Próprio autor.

As placas com os filmes foram colocadas em uma estufa com a temperatura controlada de 25 ± 2 °C e $50 \pm \%$ de umidade. Foi utilizada sílica para o controle da umidade interna. Foram feitas pesagens periódicas das placas (hora em hora) e suas massas foram anotadas para utilização na determinação da WVP.

A partir da variação da massa das células por unidade de tempo e conhecendo-se os valores das espessuras dos filmes foi possível o cálculo tanto da velocidade de transmissão do vapor de água (WVTR), bem como da permeabilidade ao vapor de água (WVP) por meio das equações descritas a seguir.

$$\text{Velocidadedetransmissãodovapordeágua(WVTR)} = \frac{\text{Perdademassaportempo}}{\text{Areadofilme}} \quad (\text{EQUAÇÃO 2})$$

$$WVTR = \frac{mwPdln\frac{P_2-P_3}{P_1-P_3}}{RTz} \quad (\text{EQUAÇÃO 3})$$

$$WVP = \frac{WVTR}{(P_2-P_3)} \cdot y \quad (\text{EQUAÇÃO 4})$$

Onde: mw é a massa molar da água (18 g/ mol); dD é a difusividade do vapor de água pelo ar a 298 K ($0,102 \text{ m}^2/\text{s}$), P é a pressão total (1 atm), P1 é a pressão de vapor a 298 K, R é a constante do gases ($82,1 \times 10^{-6} \text{ m}^3 \text{ atm}/\text{g mol K}$), z é a altura média que o gás inerte atinge, P2: Pressão parcial de vapor da parte inferior do filme, p3: Pressão parcial de vapor da parte superior do filme e y: Espessura média dos filmes. As placas com os filmes foram colocadas em uma estufa com a temperatura controlada de 25 ± 2 °C e $50 \pm 3 \%$ de umidade. Foi utilizada sílica para o controle da umidade interna. Foram feitas pesagens periódicas das placas (hora em hora) e suas massas foram anotadas para utilização na determinação da WVP.

4.3.4 Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)

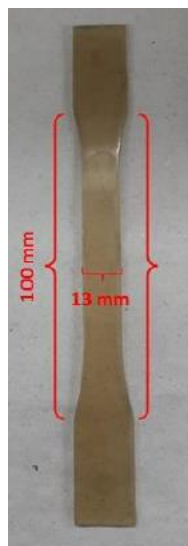
As análises das fraturas criogênicas e da morfologia dos filmes foram obtidas usando um microscópio eletrônico de varredura computadorizado da marca ZEISS modelo EVO LS15, da UNESP campus de Ilha Solteira, operando com voltagem de 5,00 kV a 10,00 kV. Os filmes foram fixados em uma fita de carbono dupla face e metalizados por um *Sputter Coater*, durante um minuto e meio para que houvesse a deposição de uma fina camada de ouro sobre eles.

Para essa análise, as amostras foram colocadas em um dessecador de vidro com sílica em gel durante 24 horas, para eliminação da umidade presente no filme. Somente após esse período é que os filmes foram cortados para a análise.

4.3.5 Propriedades Mecânicas

O teste de tensão x deformação sob tração é o mais comumente utilizado para avaliação dos atributos mecânicos de tensão máxima (σ) e deformação (ϵ) dos filmes. As amostras foram cortadas nas dimensões de 100 mm de comprimento e 13 mm de largura (Figura 10), de acordo com a norma ASTM D882-97, e também, acondicionadas a 25 °C em ambiente com 50 ± 2 % de umidade relativa durante 48 horas antes dos testes.

Figura 10. Molde para corte de corpo de prova com dimensões específicas



Fonte: próprio autor

O equipamento utilizado para a análise foi o Instron Universal Testing Machine (Modelo 3369, Instron Corp., Canton, Mass., U.S.A.), e operou com cela de carga de 100N e velocidade de tracionamento de 10 mm/min. Para a determinação da resistência mecânica dos filmes produzidos neste trabalho, foi realizada a análise de tensão x deformação, utilizando o teste de tração.

A tensão (σ) foi determinada medindo-se a força necessária para romper o filme. Calculou-se os valores de (σ) utilizando a equação 5, em que F é o valor da força de ruptura exercida e S é a área seccional do filme⁶⁴.

A deformação (ϵ) dos filmes foi determinada pela Equação 5, onde L e L₀ são os comprimentos de alongação do filme durante o experimento e o comprimento inicial do filme,

respectivamente. Através da medição da força necessária para se romper o filme, foi determinada a tensão (σ). A qual foi calculada pela Equação 6, onde F é o valor da força de ruptura exercida e S é a área seccional do filme.

O módulo de elasticidade (E) foi calculado pela inclinação inicial da curva tensão-deformação obtida.

$$\varepsilon = \ln\left(\frac{l}{l_0}\right) * 100$$

(EQUAÇÃO 5)

$$\sigma = F/S$$

(EQUAÇÃO 6)

4.3.6 Ângulo de Contato

A medição da molhabilidade de superfície dos filmes de couve é um importante parâmetro para a caracterização superficial dos filmes, podendo avalia-los quanto a hirofobicidade ou hidrofilicidade de suas respectivas superfícies, desta forma a técnica foi feita através de um medidor de ângulo de contato (KSV Instruments - Helsinki, Finlândia) na Embrapa Instrumentação de São Carlos/SP, (Figura 11). No teste, uma gota (5-9 μ L) do líquido padrão (água destilada) foi depositada sobre a superfície do filme com o auxílio de uma seringa de precisão, sendo realizadas seis repetições a 25 °C para cada filme. Em um intervalo de tempo de 60 segundos foi calculado o valor do ângulo de contato através da média dos ângulos dos dois lados da gota. dos ângulos determinados nas extremidades direita e esquerda da gota.

Figura 11 - Analisador de ângulo de contato equipado ao microcomputador



Fonte: Próprio autor.

4.3.7 Solubilidade dos filmes em água

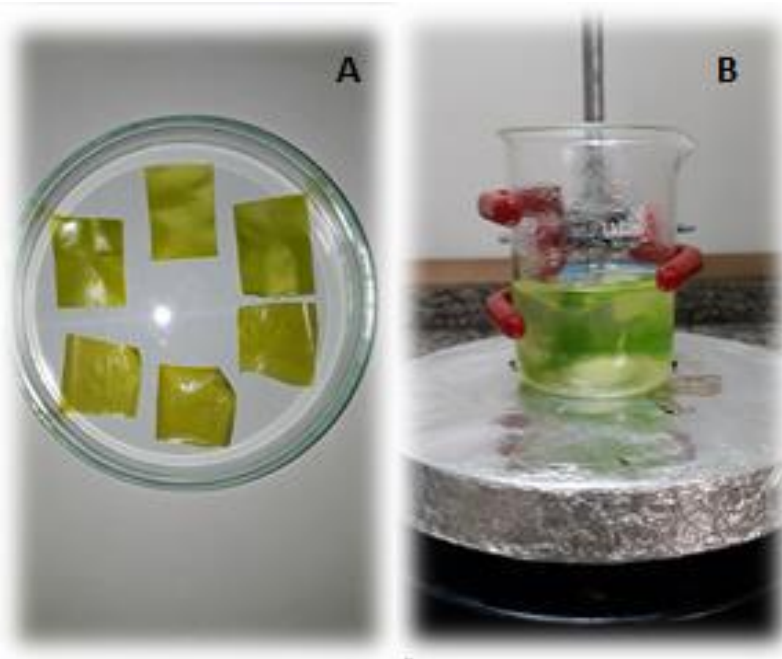
A solubilidade em água dos filmes é definida como a quantidade de matéria seca solubilizada após 24 h de imersão em água, e medida de acordo com Pena-Serna e Lopes-Filho (2013). Os filmes foram cortados em amostras de cerca de 0,5 g (em quadruplicata) e secos em estufa a 105 °C por 24 h, obtendo-se a massa inicial, (m_i) e imersos em 50 mL de água destilada a $25 \pm 2^\circ\text{C}$ por 24 h sob agitação a 100 rpm (figura 12). Após a imersão, os discos são retirados e secos a 105°C pelo tempo necessário para 3 pesagens consecutivas com peso constante.

Após a secagem, os filmes foram acondicionados por 1h em dessecador antes da pesagem (massa final, m_f). O teor de matéria insolúvel é definido como:

$$Mi = \frac{m_f}{m_i} \times 100$$

(EQUAÇÃO 7)

Figura 12 – Secagem dos filmes de couve (A) e posterior solubilização água destilada a 25± 2°C por 24 h sob agitação a 100 rpm (B)



Fonte: Próprio autor.

4.3.8 Grau de intumescimento (swelling)

A capacidade de água absorvida pelos filmes insolúveis foi investigada por medidas do grau de intumescimento (GI). Após secos, a massa dos filmes foi medida e imersos em um béquer contendo 20 mL por 24h. A amostra cortada do filme, de 2,5 x 2,5 cm, foi quantificada (*mo*) e o material imerso em água destilada sob leve agitação, a 25 °C. De hora em hora, a amostra foi retirada da água, o excesso de umidade superficial das amostras foi removido colocando-se o filme entre duas folhas de papel de filtro, sua massa total (*mu*) determinada e a amostra retornava à água (Figura 13).

O grau de intumescimento (GI) foi calculado pela relação da massa intumescida (Mt) pela massa seca (Ms):

$$GI = \frac{Mt}{Ms}$$

(Equação 8)

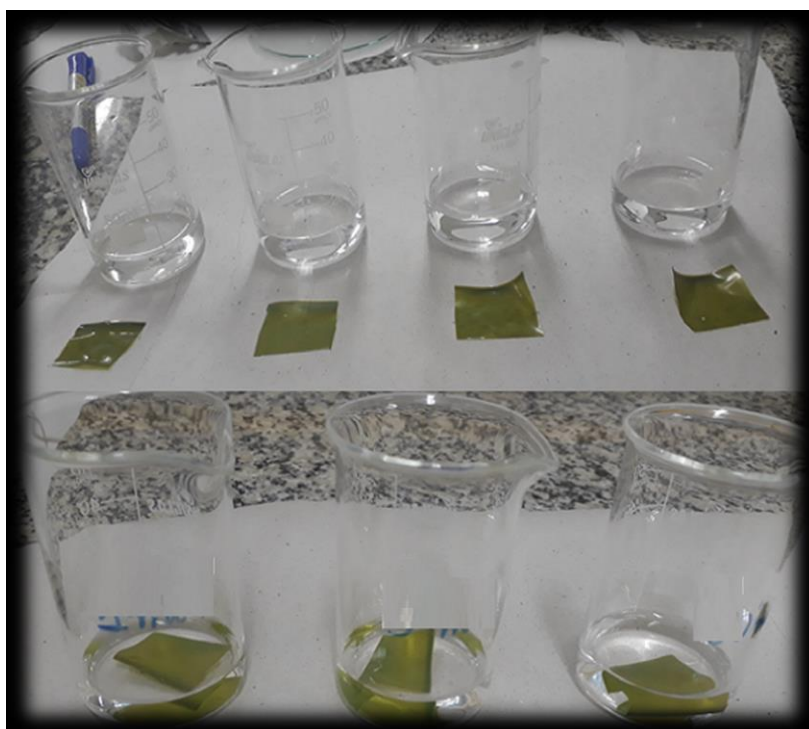
E os valores de intumescimento em porcentagem GI (%) foram determinados a partir da Equação 9:

$$GI \% = \frac{M_t - M_s}{M_s} \times 100$$

(Equação 9)

Onde M_t representa a massa intumescida após 24h e M_s representa a massa seca. Essas determinações foram realizadas em triplicata para os filmes no segundo estágio (FAR e FACR).

Figura 13 - Procedimento para caracterização das propriedades hidrofílicas dos filmes de couve.



Fonte: Próprio autor.

4.3.9 Cor

Esta técnica quantifica a cor medindo os três componentes primários da luz que vista pelo olho humano, especificamente; vermelho, verde e azul (também conhecido como "RGB" – red, green, blue). Além disso, fornece a quantidade de cada um desses componentes presentes na luz refletida (materiais sólidos) ou transmitida (materiais transparentes) por um alimento.

A cor dos filmes foi analisada no sistema CIELAB (ou CIE $L^* A^* B^*$), que define três coordenadas tridimensionais, L^* representa a luminosidade, que varia entre 0 (preto) e 100

(branco), o A^* e o B^* representam, (Figura 14) as coordenadas de cor, que indicam, respectivamente, o valor associado ao vermelho/verde e o valor associado ao amarelo/azul⁶⁴. (Figura 14)

Figura 14 – Colorímetro Minolta usado para colorimetria dos filmes de couve



Fonte: Próprio autor.

4.3.10 Análise Termogravimétrica (TG)

As análises termogravimétricas foram realizadas no equipamento TGA Q-500. Uma massa entre 5 e 8 mg de amostra foi utilizada nessa análise, as quais foram colocadas em uma panela de platina e analisadas com a seguinte programação: rampa de aquecimento até 800 °C, razão de aquecimento de 10 °C/min para cada amostra e vazão de ar sintético de 40 mL/min.

4.3.11 Espectroscopia no Infravermelho com transformada de Fourier (FT-IR)

Essa técnica espectroscópica foi uma análise utilizada a fim de investigar os grupos funcionais dos materiais e possíveis interações entre eles. Foi utilizado um espectrofotômetro NEXUS 670, Nicolet Instrument Corporation, onde as amostras foram mantidas em um dessecador durante 48h a 30% de umidade relativa, maceradas, misturados com brometo de potássio (KBr) e prensadas para obtenção de uma pastilha. A faixa espectral investigada foi de 4000 a 400 cm^{-1} registrando neste intervalo 128 varreduras com resolução de 2 cm^{-1} .

4.3.12 Análise estatística

Realizou-se análise de variância e a comparação de médias foi feita pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade, utilizando-se o programa estatístico Sisvar®.

4.4 Análise Subjetiva

4.4.1 Aspecto visual e potencial aplicação

As análises visuais e táteis foram realizadas de forma subjetiva⁶⁶. Os filmes foram avaliados levando em consideração parâmetros como homogeneidade ausência de partículas insolúveis e coloração uniforme, continuidade indicada pela ausência de rupturas ou fraturas após a secagem, flexibilidade, facilidade de desprendimento do suporte e facilidade de manuseio, além do potencial de aplicação do novo material.

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1. Caracterização dos filmes biodegradáveis

5.1.1 Umidade e sólidos totais

A secagem em estufas é o método mais utilizado em alimentos e se baseia na remoção da água por aquecimento. É um método barato e simples pois necessita apenas de uma estufa, uma balança analítica e cadinhos para colocar as amostras. No entanto a exatidão depende de vários fatores como por exemplo a temperatura de secagem, o tamanho das partículas da amostra, o número e posição das amostras na estufa e a formação de crosta na superfície da amostra, entre outros. A temperatura de secagem deve ser um pouco acima de 100 °C para evaporar a água à pressão atmosférica na estufa simples, preservando a amostra e evitando a formação de crostas na superfície o que dificulta a evaporação da água.

Tabela 1 – Porcentagem de umidade nos filmes e na folha de couve *in natura*

AMOSTRA	UMIDADE FINAL (%)
Couve <i>in natura</i>	83 ± 1,2 ^a
FA	21 ± 0,8 ^b
FAC	17 ± 0,9 ^b
FAR	18 ± 0,6 ^b
FACR	13 ± 0,9 ^c

Fonte: próprio autor

*Médias seguidas de mesma letra não diferem estatisticamente entre si, pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade

A umidade da amostra da folha de couve foi superior à dos filmes, devido a elevada quantidade de água encontrada na folha, comparada ao estudo realizado por Medeiros et al., 2006 com 78%. Nos filmes a umidade foi relativamente baixa evidenciado pela secagem que são expostos, assim como a amostra FACR (13%) que possui menor higroscopicidade pelo fato de passar pela reticulação. Determinar o valor real do teor de umidade é interessante, uma vez que indica a quantidade de água que é fortemente adsorvido em sítios específicos do alimento e é

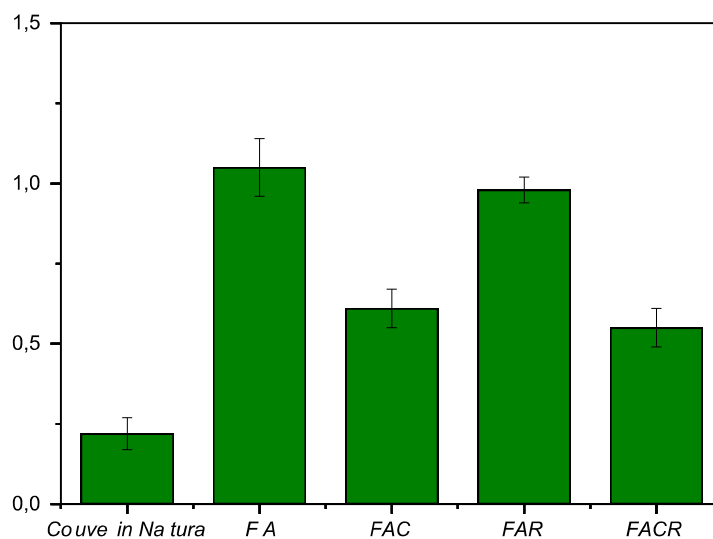
considerado como o valor ótimo para a estabilidade, uma vez que produtos alimentícios desidratados mostram melhor estabilidade com conteúdo de umidade comparável ao teor de umidade⁶⁷.

5.1.2 Permeabilidade ao vapor de água

Determinar essa propriedade em um filme é fundamental, pois, como uma barreira ao vapor de água, um filme pode estender o prazo de validade e elevar a qualidade dos alimentos, limitando a passagem de umidade, que pode acelerar reações deteriorantes⁶⁹.

Os resultados de permeabilidade ao vapor de água dos filmes são apresentados na Figura 15. Como pode ser observado, o filme da matriz pura foi o que apresentou os maiores valores de WVP. A adição de do purê de couve causou uma diminuição desse valor, sendo essa diminuição mais acentuada de maneira geral nos filmes reticulados com cloreto de cálcio 2%.

Figura 15 - Valores de permeabilidade ao vapor de água dos filmes



Fonte: Próprio autor

*Médias seguidas de mesma letra não diferem estatisticamente entre si, pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade

Um dos objetivos de fazer o processo de reticulação em matrizes poliméricas é diminuir a permeabilidade ao vapor de água⁷⁰. A concentração de 2% da solução de cloreto de cálcio utilizada para a reticulação dos filmes também dificulta a passagem de vapor de água comparada a trabalho realizado por Pires, et al 2016 os quais observaram diminuição significativa nos os valores de WVP. Isso ocorre, pois, uma matriz com menos grupamento polares, possui menor

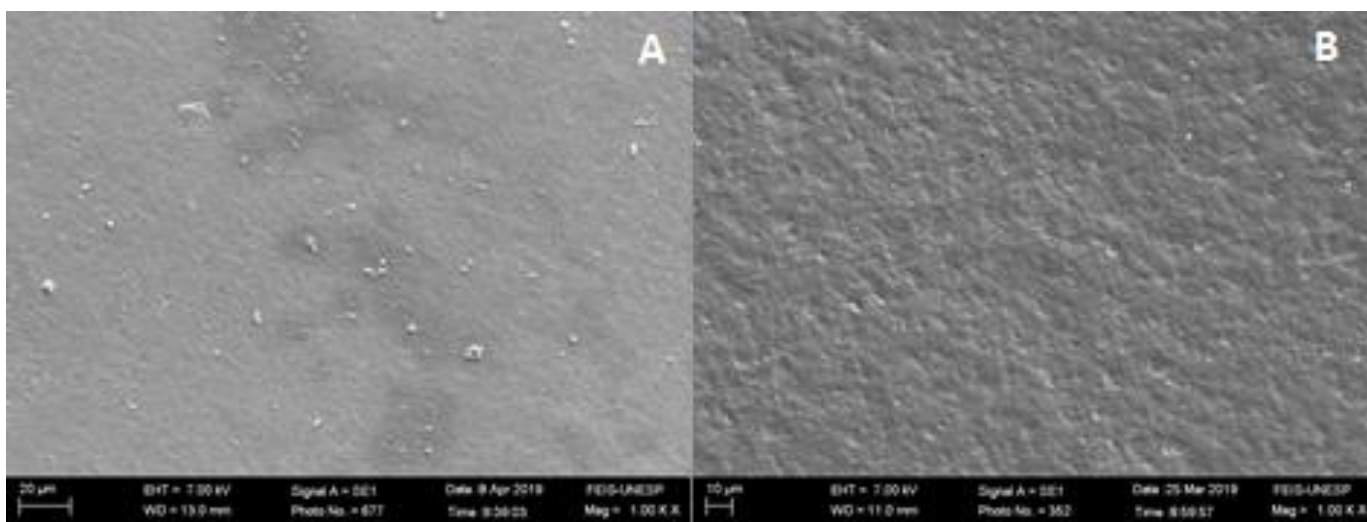
concentração de alginato que pode não interagir com todas as fibras do purê, fazendo com que elas dificultem a passagem de vapor de água, além da aproximação das cadeias que ocorre devido a reticulação. Entretanto, com a matriz pura e sem reticulação, aumenta-se também a quantidade de grupamentos polares livres. Essa interação faz com que os vapores de água passem livremente, aumentando os valores de WVP.

Portanto, propriedades hidrofóbicas de lipídios são exploradas devido a sua elevada propriedade de barreira a água. Entretanto, a eficiência dessa propriedade nos filmes depende da polaridade e da distribuição uniforme das partículas de lipídios na matriz⁷². Dessa forma, estudos focados na interação dos compostos adicionados com os demais componentes, são necessários para entender a influência de tais compostos nas propriedades dos filmes⁷³.

5.1.3 Microscopia eletrônica de varredura (MEV)

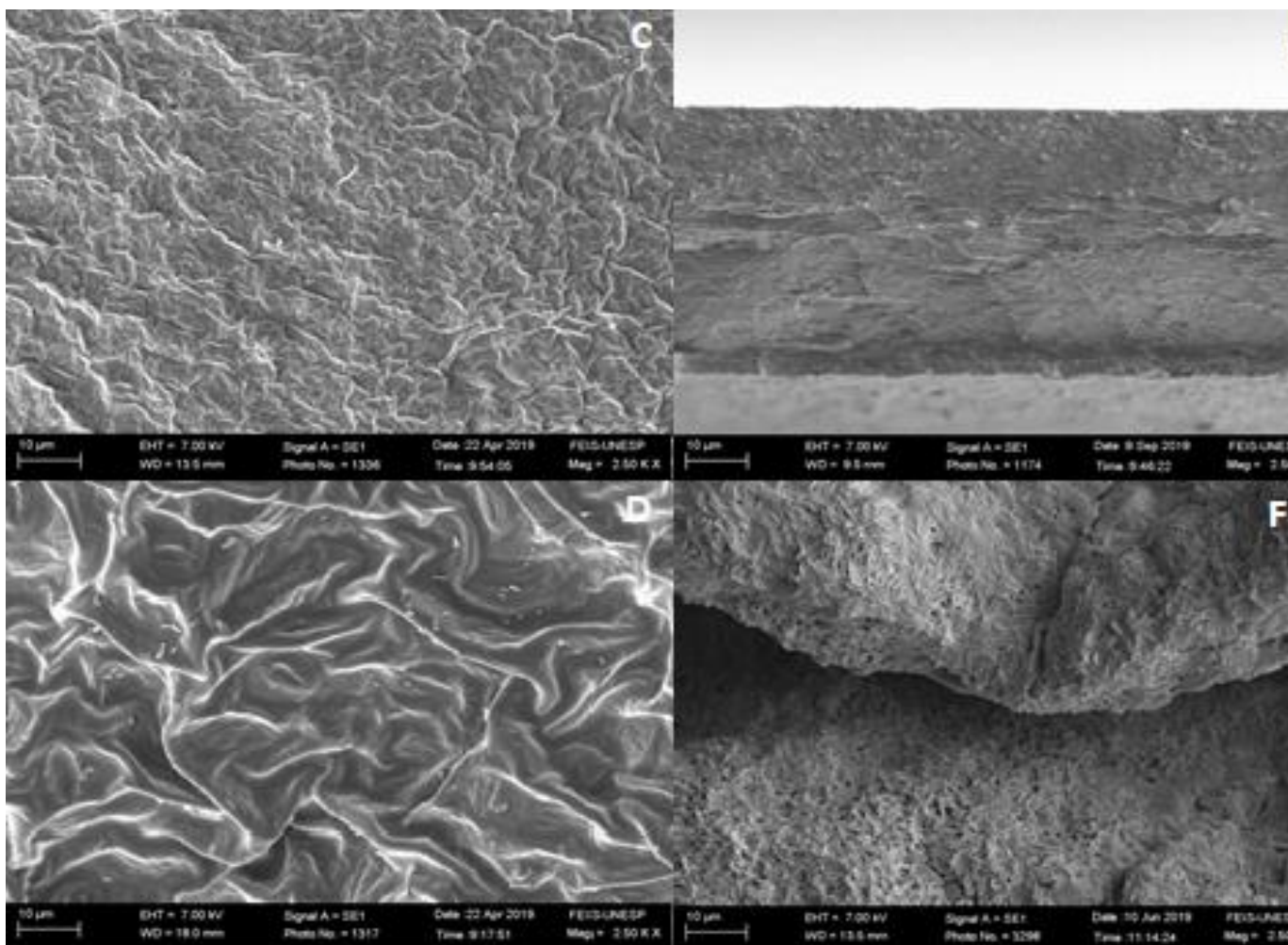
A morfologia superficial dos filmes, bem como as fraturas criogênicas da secção transversal dos filmes de couve estão apresentadas na figura 16 e figura, respectivamente. A imagem A filme de alginato, apresenta uma superfície lisa e homogênea, sem separação de fases ou formação de aglomerados. Já a imagem B, que mostra a superfície da matriz polimérica de alginato e purê de couve no primeiro estágio (sem reticulação), apresenta uma superfície com alguns aglomerados, mostrando elevada similaridade com as apresentadas por Fernando (2014) e Alexandre (2016), para a matriz contendo somente alginato. Essa mudança na textura da superfície do filme quando adicionada o purê de couve está relacionada possivelmente à formação de aglomerados causados pela interação entre os componentes do filme e as fibras contidas no purê⁷³.

Figura 16. Micrografias obtidas por MEV da superfície dos filmes, A - FA e B – FAC.



Fonte: próprio autor

Figura 17. Micrografias obtidas por MEV da superfície dos filmes, C - FACR e D – Folha de couve in natura e fraturas criogênicas E – FACR e F – Folha de couve in natura.



Fonte: próprio autor.

A Figura 16 apresenta tanto a morfologia superficial quanto as de fraturas criogênicas dos filmes FACR e da folha de couve in natura. Na imagem C é possível observar uma superfície com rugosidade superficial quando comparada com a imagem B da Figura 22, que representa o filme de alginato e couve sem reticulação. É possível identificar que houve alteração quanto à rugosidade devido a imersão superficial feita em cloreto de cálcio 2%, devido a aproximação das cadeias polares que ocorre da matriz polimérica. No entanto, como pode ser observada na imagem C da figura 17, a imersão na solução de cloreto de cálcio provocou mudanças na microestrutura dos filmes. Claramente é possível verificar a presença de poros nos filmes, indicando, de acordo com Melquiades (2014), com a adição de farinha de hortaliças em filmes comestíveis. Isso ocorre devido à incorporação de um componente de natureza hidrofóbica, e com elevada quantidade de fibra, em uma fase hidrofílica. Possivelmente, a adição do purê causou certa perturbação entre as interações da rede polimérica, dificultando o alinhamento ordenado das cadeias e, conseqüentemente, causando uma heterogeneidade no sistema, conforme apresentado nas micrografias de secção transversal.

A rugosidade superficial pode ser relacionada ao ângulo de contato obtido para cada superfície, ou seja, a superfície que se tornou mais rugosa após a reticulação, também apresentou maior ângulo de contato, conseqüentemente uma superfície com características mais hidrofóbica; o mesmo pode ser observado para variações dos filmes sem reticulação.

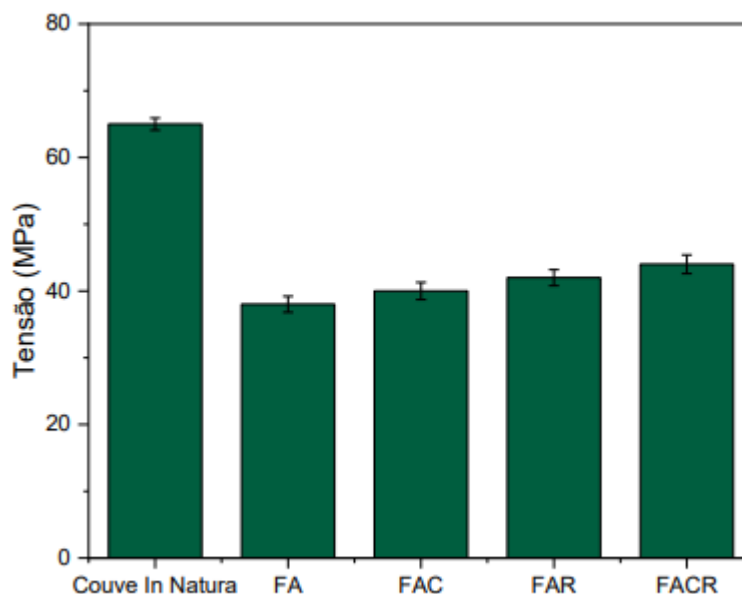
5.1.4 Propriedades mecânicas

O uso pretendido de filmes requer uma clara compreensão das propriedades mecânicas tais como resistência a tensão (σ) e alongação na ruptura (ϵ). Estes parâmetros relacionam propriedades mecânicas de filmes com as suas estruturas químicas e dependem fortemente da composição da película⁷⁴.

Polissacarídeos e proteínas são materiais muito utilizados na elaboração de filmes, dando origem a filmes com excelentes propriedades mecânicas e estruturais, porém com barreira ao vapor de água reduzida.

Fibras alimentares derivadas das frutas (polpas) e dos vegetais (folhas e flores) têm sido escritas com uma proporção significativa de fibra alimentar solúvel em comparação com outros alimentos. Os resíduos vegetais (ou seja, bagaço, caule e sementes) geralmente têm maior proporção de fibras alimentares insolúveis, principalmente devido ao conteúdo de lignina e celulose⁷⁵. Através dos ensaios de tração foi possível obter os valores de tensão na ruptura (σ) e a deformação na ruptura dos filmes. Na Figura 18 observa-se a variação da tensão em função da composição dos filmes.

Figura 18 – Valores médios de tensão dos FA, FAC, FACR e Folha de couve *in natura*. A barra de erros indica o desvio padrão*



Fonte: próprio autor

*Médias seguidas de mesma letra não diferem estatisticamente entre si, pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade

O conhecimento sobre fibras em folhas é interessante também no ponto de vista tecnológico. As fibras podem melhorar algumas propriedades funcionais dos alimentos como a capacidade de absorção de água e capacidade de absorção de óleo vegetal e emulsificação e seu potencial vem sendo testado como um componente de reforço na elaboração de filmes biodegradáveis⁷⁴. Alguns estudos evidenciaram que a incorporação de fibras melhora as propriedades mecânicas dos filmes além de melhorar significativamente a resistência a umidade dos mesmos⁷⁶⁻⁷⁹.

A adição de purê de couve e a reticulação causou um aumento significativo na tensão na ruptura no filme contendo somente alginato, sendo, de todos, o que apresentou melhor desempenho mecânico nesse quesito comparado a folha *in natura*. Trabalhos anteriores trouxeram resultados apontando melhora da propriedade mecânica de filmes com a incorporação de farinha de hortaliças como agente de reforço. Melquiades (2014) obtiveram aumento nos valores de tensão máxima na ruptura em filmes de isolado quando a eles foi adicionado farinha de cascas de batata²⁶, a sua adição em filmes baseados em resíduos de frutas e hortaliças aumenta o teor de amido nos filmes, resultando em filmes com maior resistência a tensão (σ)⁷⁴.

A baixa tensão na ruptura encontrada pode ser explicada pela diversidade de compostos químicos da matéria-prima que podem interferir na integração da matriz polimérica além do elevado teor de açúcares totais presentes nas frutas e algumas hortaliças que podem

atuar como plastificante e, dessa forma, interagir com as cadeias de polímeros gerando volumes "livres" entre as cadeias, enfraquecendo as forças intermoleculares e, conseqüentemente, reduzindo a resistência dos filmes⁷².

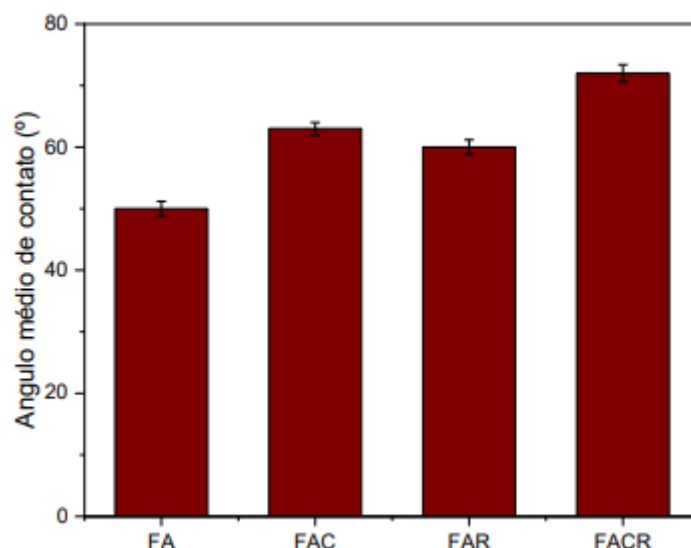
Os plastificantes influenciam diretamente no comportamento mecânico dos filmes. Esses materiais são, em geral, polímeros de baixa massa molecular, miscíveis nas matrizes poliméricas, e que quando a elas adicionados, preenchem os espaços entre as cadeias, diminuindo as interações cadeia-cadeia através das forças intermoleculares³⁶. Como resultado, o material final poderá apresentar uma diminuição do módulo elástico, relacionado à rigidez do polímero, tendo, portanto, melhor resistência ao impacto, tornando-se sua aplicação mais versátil na área de embalagens.

5.1.5 Ângulo de contato

A medida de ângulo de contato (θ) é definida como o ângulo formado entre a superfície sólida e uma tangente traçada entre a superfície da gota, passando através do ponto triplo, atmosfera-líquido-sólido. O fenômeno de espalhamento de um líquido sobre uma superfície sólida, como acontece na medida de ângulo de contato, é dependente da magnitude relativa das forças moleculares coesivas e adesivas que existem respectivamente dentro o líquido, e entre o líquido e o sólido (Figura 19). Quando as forças adesivas com a superfície do sólido são muito grandes em relação às forças coesivas, o ângulo de contato é menor que 90° , tendo como resultado uma superfície mais hidrofílica; por outro lado, se o ângulo de contato for maior que 90° , temos como resultado uma superfície mais hidrofóbica⁷⁷

Nos compósitos, as fibras absorvem parte do glicerol, resultando numa matriz menos hidrofílica (Curvelo et al.,2001 e Angles e Dufrene, 2000). De acordo com Angles e Dufresne (2000), as moléculas de amilopectina têm forte afinidade pela superfície da fibra celulósica, através da alta densidade dos grupos hidroxila, reduzindo assim a mobilidade global dos domínios da amilopectina. Assim, nos compósitos amido-celulose, o recobrimento cristalino de glicerol e amilopectina pode resultar em mobilidade restrita na superfície da fibra celulósica. Este fato pode ser confirmado nas propriedades mecânicas, pelo aumento da resistência à tração e diminuição do alongamento na ruptura. Assim, o índice de umidade é sempre maior no amido do que no compósito amido-celulose.

Figura 19 - Ângulo de contato para uma gota molhante sobre uma superfície sólida dos filmes de alginato e couve



Fonte: Próprio autor

*Médias seguidas de mesma letra não diferem estatisticamente entre si, pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade

De forma prática, um maior o ângulo de contato representa uma superfície mais hidrofóbica, ou seja, baixa molhabilidade, tendendo com que a gota conserve sua forma, reduzindo assim o contato com a superfície⁶⁴. Uma definição quantitativa em relação aos termos superfície “hidrofóbica” e “hidrofilica” tem sido aplicada, sendo assim, superfícies exibindo ângulo de contato (com água) $\theta > 65^\circ$ caracterizam uma superfície hidrofóbica, e superfícies exibindo ângulo de contato (com água).

O filme de Alginato puro (FA) apresentou ângulo de contato igual a $50 \pm 1^\circ$, com a adição do purê de couve (FAC), esse valor obteve um aumento igualando-se a $62 \pm 2^\circ$, o mesmo evento foi observado para o filme de alginato e purê de couve reticulado (FACR) teve aumento no ângulo de $72 \pm 5^\circ$. Apesar da reticulação ser superficial, em todos os filmes reticulados, a sua dispersão agregou hidrofobicidade ao material, este fato é decorrente da compatibilidade entre a matriz polimérica e o agente reticulante, de forma que quanto mais polar a matriz polimérica melhor a interação iônica entre suas cadeias e a estrutura do agente reticulador³⁶. Para fins demonstrativos, a figura 20 mostra o comportamento do líquido padrão (água destilada), para os filmes que obtiveram maior ângulo de contato (FACR), e para aquele que obteve menor ângulo de contato (FA). A partir dessas imagens é possível claramente observar a relação do ângulo de contato com a molhabilidade da superfície do material, onde em um material com maior molhabilidade, a gota perde sua forma original, espalhando-se sobre a superfície do filme; e o oposto pode ser observado onde percebe-se um menor contato da gota com a superfície, justamente para aquele material com menor molhabilidade (FACR).

Figura 20. Gota de líquido padrão sobre a superfície dos filmes de alginato e couve reticulados, em t=30s.



Fonte: próprio autor

5.1.6 Cor

O sistema CIE (Comissão internacional de iluminação) foi utilizado para descrever a cor das amostras, onde a coloração verde das folhas da couve refere-se à presença de clorofila e sua intensidade que está diretamente relacionada com a concentração do pigmento⁵⁶. Os filmes formulados apresentaram aspecto homogêneo, de cor verde escura e odor da folha pronunciado. Neste contexto, a simples aferição no colorímetro fornece parâmetros capazes de estimar o que está sendo analisado de forma rápida e econômica, uma vez que diminui a quantidade de repetições necessárias e de produto destruído. O colorímetro foi utilizado de forma eficiente para estimar a quantidade de clorofila presente em folhas de couve e a comparação da coloração verde com os filmes obtidos apresentados na tabela 2.

Tabela 2 – Valores da comparação de cor, Luminosidade (L^*), parâmetros da cor verde ($-a^*$) e amarelo (b^*) nos experimentos usando a folha de couve

AMOSTRA	L^*	A^*	B^*
<i>Couve in natura</i>	$46,36 \pm 1,4^a$	$-15,00 \pm 0,9^a$	$19,93 \pm 1,0^a$
FAC	$54,04 \pm 0,3^b$	$-18,79 \pm 0,5^b$	$47,42 \pm 0,3^b$
FACR	$58,60 \pm 0,3^b$	$-15,25 \pm 0,3^a$	$48,45 \pm 0,5^b$

Fonte: próprio autor.

*Médias seguidas de mesma letra não diferem estatisticamente entre si, pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Podemos observar a semelhança entre as folhas e os filmes através dos valores de A^* que indica a coloração verde, apresentando uma coloração mais clara na amostra FAC que difere das outras amostras, enquanto o parâmetro B^* da folha teve maior variação em relação aos filmes, devido algumas partes amareladas da folha, o que representou a cor uniforme nos filmes. Identificando uma maior luminosidade no filme reticulado devido sua reticulação.

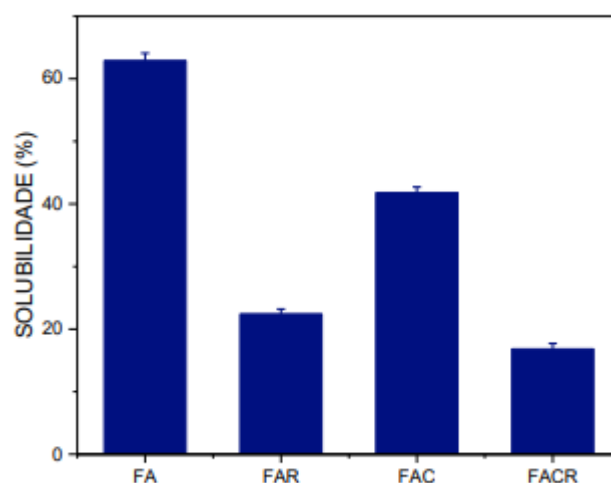
5.1.7 Solubilidade em água

A solubilidade em água de filmes comestíveis é uma propriedade importante a ser investigada, uma vez que algumas aplicações necessitam que os filmes sejam insolúveis e resistentes na presença de água, enquanto para outras é melhor uma maior porcentagem de solubilidade⁶⁴. Além disso, o uso do agente reticulador pode agregar novas propriedades ao filme comestível a base de purê de couve, sua preparação e composição influenciam na solubilidade do material⁷².

A solubilidade em água dos filmes variou de 16,8 a 62,9%. A adição de purê de couve e o processo de reticulação apresentou efeito significativo ($P < 0,05$) positivo para a amostra de FACR, indicando que a adição de purê e a reticulação menor a solubilidade em água. Com referência o uso do glicerol alguns trabalhos indicam que a concentração de glicerol até aproximadamente 30% ocasiona a elevação da solubilidade, o que foi identificado nas amostras do estágio I sem reticulação, que contém apenas o polímero e o glicerol.

As respostas de solubilidade dos filmes estudados foram obtidas através da interação dos fatores, entre estágio I e II (Figura 21), a interação foi significativa ao nível de ($P \leq 0,05$) de probabilidade.

Figura 21 - Solubilidade (%) dos filmes para os estágios I e II



Fonte: Próprio autor

Tais resultados são identificados devido as características hidrofóbicas inseridas como as fibras da folha no estágio I e o agente reticulador no estágio II, eles podem estar interagindo com os domínios hidrofóbicos do cloreto de cálcio, provocando um afastamento das cadeias poliméricas e facilitando a passagem da água. A partir dessas considerações, a solubilização do FA e FAC mostrou-se ineficiente, enquanto que nas amostras do estágio I houve a solubilização parcial. E levando em consideração a hidrofobicidade da folha de couve, os autores optaram por ter uma melhor caracterização dos filmes no estágio II, agregando valor ao produto final.

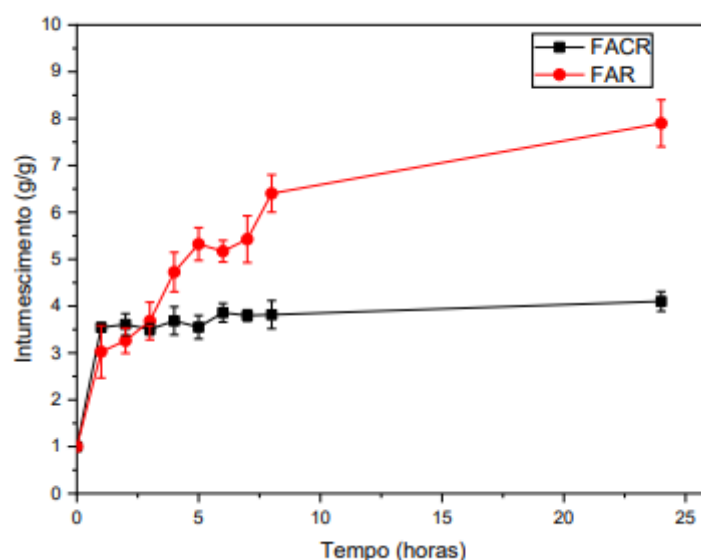
Uma alta solubilidade não inviabiliza o filme, pois esta pode ser necessária, como é o caso de filmes que precisam ser submetidos ao contato com a água durante o processamento do alimento desidratado embalado. Nesse caso, embalagens comestíveis têm sido utilizadas para acondicionamento de porções de ingredientes ou aditivos alimentares destinados a serem dispersos em misturas alimentares (porções individuais de sopas, chás, açúcar e temperos), onde é desejável uma alta solubilidade, ou seja, uma dissolução instantânea no meio utilizado³⁴. A solubilidade também é vantajosa em casos onde o filme é consumido junto com o produto.

5.1.8 Intumescimento em água

Ao realizar a síntese dos filmes comestíveis, existem fatores que podem alterar o grau de intumescimento, esses fatores vão desde as concentrações de reagentes empregados (monômero, agente reticulante, agente de reforço), até o método de preparação⁷⁸.

O comportamento de intumescimento apresentado pelas amostras foi estudado em função dos valores de intumescimento (g/g) e tempo (min), e entre as razões dos filmes do estágio II contendo 2% ClCa₂ (Figura 22).

Figura 22 – Intumescimento dos filmes comestíveis com agente reticulador cloreto de cálcio 2%



Fonte: Próprio autor

Comparando os valores de intumescimento dos filmes reticulados com 2% ClCa é visto que o FAR apresenta valores de intumescimento ligeiramente mais alto em relação aos FACR. Isto acontece devido ao fato de que quando aumenta a concentração de fibras da couve na formulação aproximando as cadeias dificultando a absorção de água. Onde conseguimos identificar que em 2 horas o FACR passa a estabilizar e não absorver água como o FAR, podendo ser explicado pelo fato do alginato possuir mais grupamentos aniônicos $-\text{COO}^-$ e OH livres que podem interagir com as moléculas de água.

5.1.9 Análise Termogravimétrica

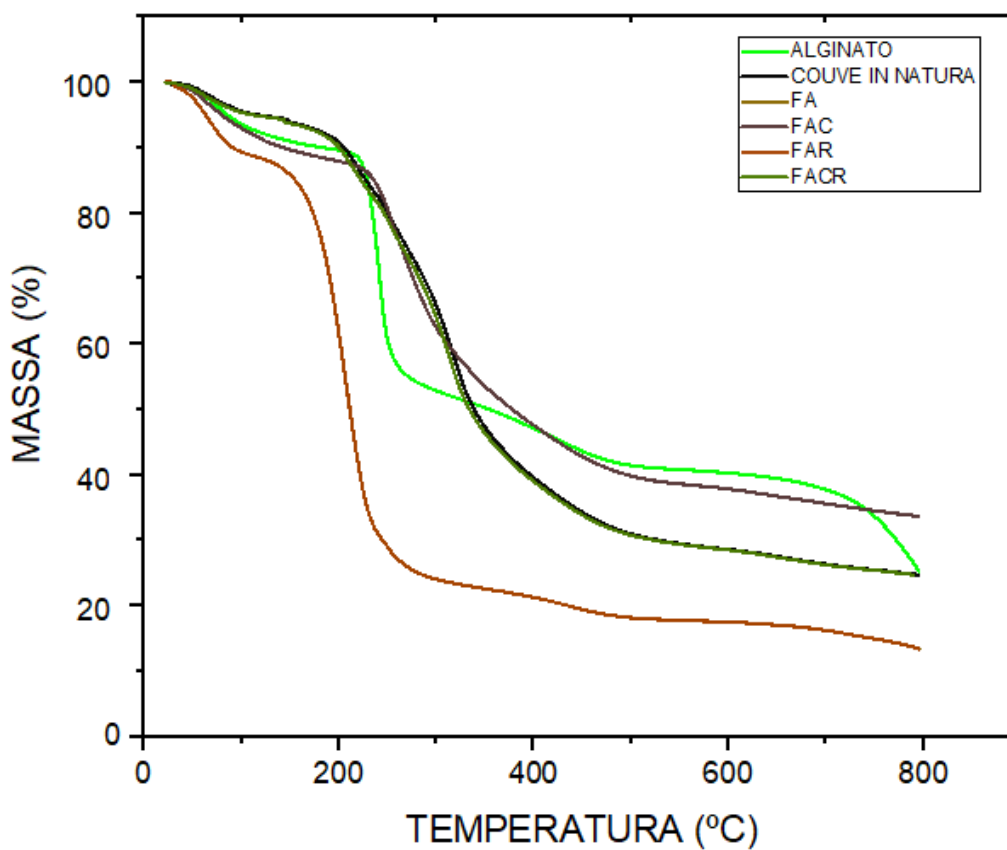
O agente plastificante é um componente essencial na formulação de biofilmes. Com o aumento da concentração do plastificante, a temperatura de transição vítrea (T_g) do sistema diminui devido ao abaixamento da massa molar média da mistura polímero/plastificante. Galiotta et al. (1998) observaram que a concentração de glicerol diminuiu a T_g em filmes de proteína de soro de leite. Da mesma forma, Zactiti (2004) observou um abaixamento da T_g de filmes de alginato de sódio de $29,7^\circ\text{C}$ para $24,9^\circ\text{C}$ sem e com a adição de glicerol (0,6 g/g de alginato).

Em biopolímeros, geralmente, a faixa de temperatura em que a transição vítrea (T_g) de biopolímeros ocorre é ampla e as mudanças no fluxo de calor decorrentes deste tipo de transição são sutis e difíceis de serem detectadas⁶⁴. O conhecimento da temperatura de transição vítrea é essencial para a definição das condições de armazenamento, manuseio e transporte de biofilmes.

A Tg de matrizes poliméricas destinadas à utilização como embalagem ativa devem ser próximas à temperatura de utilização. Se a Tg do filme for muito abaixo desta temperatura, poderá haver modificações das características físicas da estrutura polimérica inviabilizando a sua utilização. Em caso contrário, o filme vitrifica e não haverá difusão⁶⁸.

A temperatura de transição vítrea de uma mistura de polímeros é normalmente utilizada como critério para avaliar a miscibilidade dos componentes. Lucas et al. (2001) afirmam que sistemas miscíveis apresentam apenas um pico combinado, cuja localização dependerá do sistema. Os filmes de quitosana e alginato puros apresentaram uma única queda na curva do módulo de armazenamento, assim como um único pico de $\tan \delta$ 26,71°C, para o filme de alginato, ou seja, não foi observada evidência de separação de fases para estes filmes. Zactiti (2004) determinou uma Tg de 24,92°C para um filme de alginato de sódio (da mesma fonte e com a mesma concentração de glicerol e íons cálcio no primeiro estágio utilizada neste trabalho). No entanto, o mesmo filme reticulado superficialmente com solução 2% de CaCl₂ apresentou dois picos compostos 110 curva de $\tan \delta$ (14,44 e 31,27°C). A autora atribui o aparecimento dos dois picos à ligação mais seletiva dos íons cálcio nas regiões ricas em blocos GG nas cadeias de alginato, de modo que a primeira transição estaria relacionada aos blocos MM e MG e a segunda com os blocos GG. Os Filmes reticulados FAC e FACR, por sua vez, apresentaram duas temperaturas de transição vítrea (dois picos de $\tan \delta$), sendo a primeira em uma temperatura mais baixa e a outra mais alta em relação as Tg's dos filmes dos polímeros puros (23,06/36,26°C e 24,48/39,79°C para o Filme FA e FAC, respectivamente)(Figura 23). O efeito plastificante sobre a Tg é relacionado a um incremento no volume livre, diminuição das forças das interações intermoleculares e incremento na mobilidade das cadeias, e tem sido extensamente relatado na literatura para diversas macromoléculas⁷⁶. Assim pode-se supor que a Tg mais elevadas nos filmes do estágio II estaria relacionada à reticulação, enquanto que a mais baixa seria referente ao estágio I.

Figura 23 – Representação gráfica da perda de massa em função da temperatura para curvas de TG para o alginato de sódio e filmes comestíveis.

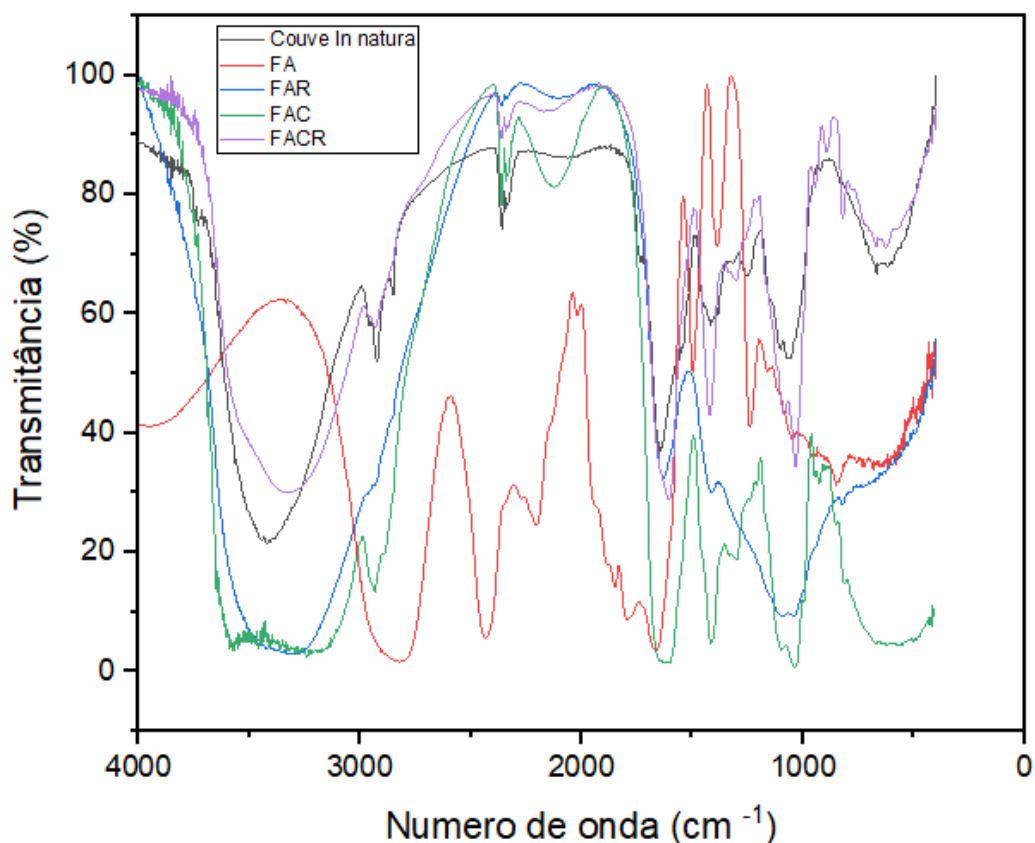


Fonte: Próprio autor.

5.1.10 Espectroscopia no Infravermelho com transformada de Fourier (FT-IR)

A técnica de espectroscopia no infravermelho por transformada de Fourier (FTIR) vem sendo amplamente utilizada para explicar qualitativamente a interação entre grupos funcionais de polímeros de cargas opostas⁶². Desta forma, as possíveis modificações químicas ocasionadas nos filmes foram analisadas por FTIR e os espectros de absorção no infravermelho dos filmes de couve *in natura* e estágios I e II, podem ser observados na Figura 24. O espectro do filme de alginato puro mostrou picos característicos do estiramento dos grupos O-H, COO- (simétrico), COO- (assimétrico), C-O e C-O-C em 3330, 1597, 1421, 1089 e 1034 cm^{-1} , respectivamente.

Figura 24 - Espectros das amostras de filmes nos estágios I e II



As bandas entre 800 e 1200, em ambos os estágios, está relacionada com a estrutura polissacarídica. Todas as bandas características encontradas no filme puro são semelhantes a dados descritos na literatura⁷².

Comparando-se os espectros do filme puro (FA) com os dois estágios verifica-se que há sobreposição das bandas de absorção características do alginato. Os espectros de infravermelho dos Filmes estágio I e II repetiram os picos encontrados no espectro do filme de alginato, o que era esperado devido a maior proporção deste polímero nas misturas. A ausência de novas bandas e a preservação daquelas dos componentes puros pode ser um indicativo que as interações entre o alginato e das fibras de couve.

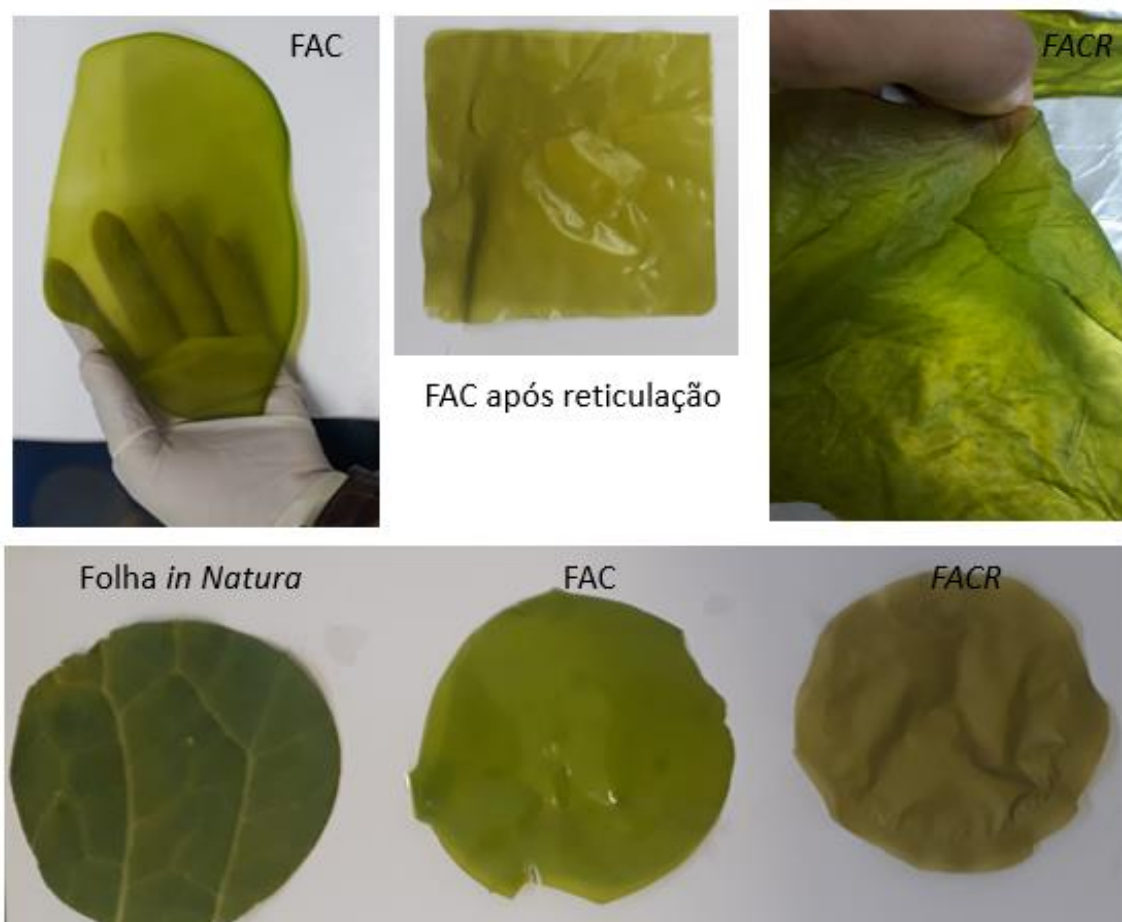
Outras ligações, tais como pontes de hidrogênio ou ligações covalentes, também podem ser importantes na formação dos complexos. Este indicativo de atração eletrostática no alginato poderia explicar as características físicas observadas nos filmes dos dois estágios, ou seja, não se constatou os efeitos esperados nas propriedades de massa solubilizada em água, grau de intumescimento e PVA, comparado aos filmes de alginato puro. A mistura do polímero juntamente com o purê, não foi suficiente para produzir filmes 100% homogêneos que não eram totalmente solubilizados em água, sendo ocasionado na segunda etapa de reticulação com íons cálcio.

5.2 Análise subjetiva

5.2.1 Aspecto visual e potencial aplicação

Foi possível observar no experimento, (mostrado na figura 25), bons resultados de continuidade, homogeneidade e manuseabilidade, além de cor característica da couve *in natura*. A pesquisa foi elaborar um material polimérico contendo polímeros naturais e hortaliça para possíveis substituições de wraps para a gastronomia, sendo tradicional dentro e fora do Brasil.

Figura 25 – Filmes elaborados a partir de purê de couve e alginato de sódio



Fonte: próprio autor

Os filmes produzidos anteriormente mostraram-se manuseáveis, visivelmente homogêneos com coloração e odor característico, para tal modo foi possível realizar teste laboratorial para potencial aplicação como teste subjetivo. Na figura 26 é possível identificar a similaridade entre a couve *in natura* e o filme de purê de couve. Para a potencial aplicação usou-se ingredientes tradicionais para desenvolvimento de Wraps.

Figura 26 – Potencial aplicação dos filmes comestíveis como Wraps



REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. MILLER, K. J.; BROWN, D. A.; IBRAHIM, M. M.; RAMCHAL, T. D.; LEVINSON, H. MicroRNAs in skin tissue engineering. **Advanced Drug Delivery Review**, Amsterdam, v. 88, p. 16-36, 2015.
2. CHANDIKA, P.; KO, S.; JUNG, W. Marine-derived biological macromolecule-based biomaterials for wound healing and skin tissue regeneration. **International Journal of Biological Macromolecules**, Amsterdam, v. 77, p. 24-35, 2015.
3. BALSÀ, I. M.; CULP, W. T. N. Wound Care. **Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice**, Philadelphia, v. 45, p. 1049–1065, 2015.
4. LIAO, N.; UNNITHAN, A. R.; JOSHI, M. K.; TIWARI, A. P.; HONG, S. T.; PARK, C.; KIM, C. S. Electrospun bioactive poly (ϵ -caprolactone)–cellulose acetate–dextran antibacterial composite mats for wound dressing applications. **Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects**, Amsterdam, v. 469, p. 194–201, 2015.
5. MOMOH, F. U.; BOATENG, J. S.; RICHARDSON, S. C. W.; CHOWDHRY, B. Z.; MITCHELL, J. C. Development and functional characterization of alginate dressing as potential protein delivery system for wound healing. **International Journal of Biological Macromolecules**, Amsterdam, v. 81, p.137–150, 2015.
6. ZAHRAN, M. K.; AHMED, H. B.; EL-RAFIE, M. H. Surface modification of cotton fabrics for antibacterial application by coating with AgNPs–alginate composite. **Carbohydrate Polymers**, Oxford, v. 108, p.145-152, 2014.
7. AGUILA, J. S. del. Processamento mínimo de rabanete: estudos físico-químicos, fisiológicos e microbiológicos. 2004. 123p. Dissertação (Mestrado), Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2004.
8. ARRUDA, M. C.; JACOMINO, A. P.; SARANTÓPOULOS, C. I. G. L. Embalagens para produtos minimamente processados. In: LUENGO, R. F. A.; CALBO, A. G. (Ed.). Embalagens para comercialização de hortaliças e frutas no Brasil. Brasília: Embrapa Hortaliças, 2009. cap. 11, p. 205-246.
9. BRITTO, D.; CAMPANA FILHO, S. P.; ASSIS, O. B. G. Mechanical Properties of N,N,N-trimethylchitosan Chloride Films. **Polímeros: Ciência e Tecnologia**, São Carlos, v. 15, n. 2, p. 129-132, 2015.
10. COOPLANTIO - Cooperativa dos Agricultores de Plantio Direto. Galeria de fotos. 2003.

11. DEVLIEGHIERE, F.; VERMEULEN, A.; DEBEVERE, J. Chitosan: antimicrobial activity, interactions with food components and applicability as a coating on fruit and vegetables. *Food Microbiology*, London, v. 421, p. 703-714, 2004.
12. EWEIS, M.; ELKHOLY, S. S.; ELSABEE, M. Z. Antifungal efficacy of chitosan and its thiourea derivatives upon the growth of some sugar-beet pathogens. *International journal of biological macromolecules*, Guildford, v. 38, p. 18, 2006.
13. FARES, C. B.; NANTES, J. F. D. Transações comerciais entre a indústria de vegetais minimamente processados e o setor varejista. In: CONGRESSO INTERNACIONAL DE ECONOMIA E GESTÃO DE REDES AGROALIMENTARES, 4., Ribeirão Preto, 2003. Ribeirão Preto: FEA/USP, 2003.
14. FORATO, L. A.; YUSHMANOV, V.; COLNAGO, L. A. The interaction of two prolamins with 1-¹³C oleic acid by ¹³C NMR. *Biochemistry*, Easton, v. 43, p. 7121-7126, 2004.
15. NEDOROSTOVA, L.; KLOUCEK, P.; KOKOSKA, L.; STOLCOVA, M.; PULKRABEK, J.; Antimicrobial properties of selected essential oils in vapour phase against foodborne bacteria. *Food Control*. 20 (2009) 157–160.
16. OLIVEIRA, L. F. de; SRUR, A. U. O. S.; VACARI, F. Aproveitamento do chuchu (*Sechium edule*, Swartz) pelo processo de saturação com açúcar – uma alternativa alimentar. *Revista Universidade Rural, Série Ciências da Vida*. Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, v.22, p.09-14, 2003.
17. HOFFMAN, H. I.; HAN, I.Y.; DAWSON, O. I. Antimicrobial effects of corn zein films impregnated with Nisin, Lauric acid and EDTA. *Journal of food Protection*, Des Moines, v. 64, n. 6, p. 885-889, 2001.
18. JACOMINO, A. P.; ARRUDA, M. C. de; MOREIRA, R. C.; KLUGE, R. A. Processamento mínimo de frutas no Brasil. In: SIMPOSIUM “Estado actual del mercado de frutos y vegetales cortados em Iberoamérica”. San José, Costa Rica. p.79-86, abr. 2004.
19. KESTER, J. J.; FENNEMA, O. R. Edible films and coatings: a review. *Food Technology*, Chicago, v. 42, p. 47-59, 2018.
20. KLUGE, R. A.; VITTI, M. C. D. Processamento mínimo de beterraba. In: III Encontro Nacional sobre Processamento Mínimo de Frutas e Hortaliças, Viçosa. v.1, 2004. p.82-90.
21. BENDER, R. J.; LUNARDI, R. Perdas qualitativas de maçãs cv Gala em armazenamento refrigerado. *Revista Brasileira de Fruticultura*, Cruz das Almas, v. 23, n. 3, p. 563-567, 2001.

22. BENEDETTI, B. C. Contribuição da engenharia agrícola na agregação de valor. Campinas: FEAGRI-UNICAMP, 2018.
23. LUENGO, R. F. A.; LANA, M. M. Processamento mínimo de hortaliças. Brasília: EMBRAPA, 2009.
24. LUPETTI, K. O.; CARVALHO, L. C.; MOURA, A. F. Image analysis in analytical chemistry: didactic and simple methodologies to understand and prevent the browning of vegetable tissues. *Química Nova*, São Paulo, v. 28, n. 3, p. 548- 554, 2005.
25. MARTÍN-BELLOSO, O.; SOLIVA-FORTUNY, R. C.; BALDWIN, E. A. Conservación mediante recubrimientos comestibles. In: GONZÁLEZ-AGUILAR, et al. (Ed.). *Nuevas tecnologías de conservación: produtos vegetales frescos cortados*. Guadajarara: Ciad, 2005.
26. MELO, B.; SILVA, C. A.; ALVES, P. R. B. Processamento mínimo de hortaliças e frutas. 2011.
27. MOREIRA, R. C. Processamento mínimo de tangor ‘Murcott’: caracterização fisiológica e recobrimentos comestíveis. 2004. 84p. Dissertação (Mestrado), Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Piracicaba, 2004.
28. MORETTI, C. L. (Ed.). *Manual de processamento mínimo de frutas e hortaliças*. Brasília, DF: Embrapa Hortaliças: Sebrae, 2007. 527 p.
29. MURIEL-GALET, V.; CRAN, M. J.; BIGGER, S. W.; HERNÁNDEZ-MUÑOZ, P.; GAVARA, R.; Antioxidant and antimicrobial properties of ethylene vinyl alcohol copolymer films based on the release of oregano essential oil and green tea extract components, *J. Food Eng.* 149 (2015) 9–16.
30. MUTHIAH, K.; SUJA, S.; A study on sense, feel, think, act, relate factors of experiential marketing in retailing, *Transform. Bus. Econ.* 16 (2017) 85–99.
31. ASSIS, O. B. G. e BRITTO, D. Review: edible protective coatings for fruits: fundamentals and applications. *Braz. J. Food Techno.* Campinas, v. 17, n. 2, p. 87-97, abr./jun. 2018
32. LAKSMANA, F. L.; VAN VLIET, L. J.; KOK, P. J. A. H.; VROMANS, H.; FRIJLINK, H. W.; VAN DER VOORT MAARSCHALK, K. Quantitative Image Analysis for Evaluating the Coating Thickness and Pore Distribution in Coated Small Particles. *Pharmaceutical Research*, New York, v. 26, n. 4, p. 965-976, 2009.

33. LANA, M. M.; SANTOS, F. F. dos; LUENGO, R. de F. A.; TAVARES, S. A.; MELO, M. F. de; MATOS, M. J. L. F. Hortaliças: cará. Embrapa Hortaliças. 2005.
34. ASSIS, O. B. G. The effect of chitosan as a fungistatic agent on cut apples. Revista Iberoamericana de Tecnologia Postcosecha, [S. l.], v. 9, n. 2, p. 148- 152, 2008.
35. ASSIS, O. B. G.; FORATO, L. A.; BRITTO, D. Revestimentos Comestíveis Protetores em Frutos Minimamente Processados. Higiene Alimentar, São Paulo, v. 22, n. 160, p. 99-106, 2008.
36. BARBOSA-CÁNOVAS, G. V.; FERNÁNDEZ-MOLINA, J. J.; ALZAMORA, S. M.; TAPIA, M. S.; LÓPEZ-MALO, A.; CHANES, J. W. Handling and Preservation of Fruits and Vegetables by Combined Methods for Rural Areas. Rome: FAO, 2003.
37. BEERLI, K. M. C.; VILAS BOAS, E. V. de B.; PICCOLI, R. H. Influência de sanificantes nas características microbiológicas, físicas e físico-químicas de cebola (*allium cepa* l) minimamente processada. Ciência e Agrotecnologia. Lavras, v.28, n.1, p.107-112, jan./fev., 2009.
38. BETT, K. L.; INGRAM, D. A.; GRIMM, C. C.; LLOYD, S. W.; SPANIER, A. M.; MILLER, J. M.; GROSS, K. C.; BALDWIN, E. A.; VINYARD, B. T. Flavor of fresh-cut gala apples, in barrier film packaging as affected by storage time. Journal of Food Quality, Westport, v. 24, n. 2, p. 141-156, 2001.
39. BRAVIN, B.; PERESSINI, D.; SENSIDONI, A. Development and application of polysaccharide-lipid edible coating to extend shelf-life of dry bakery products. Journal of food engineering, Essex, v. 76, n. 3, p. 280-290, 2016.
40. BRITTO, D.; ASSIS, O. B. G. Synthesis and mechanical properties of quaternary salts of chitosan-based films for food application. International Journal of Biological Macromolecules, Guildford, v. 41, p. 198-203, 2007.
41. NAGARAJANA, M.; BENJAKULA, S.; PRODPRANB, T.; SONGTIPYA. P.; Properties of film from splendid squid (*Loligo formosana*) skin gelatin with various extraction temperatures. International Journal of Biological Macromolecules. 51 (2012) 489– 496.
42. NAZMI, N.N.; ISA, M.I.N.; SARBON, N.M.; Preparation and characterization of chicken skin gelatin/CMC composite film as compared to bovine gelatin film. Food Bioscience. (2017).
43. OLIVEIRA, L. M.; QUEIROZ, G. C. (Org.). Embalagens plásticas rígidas: principais polímeros e avaliação da qualidade. Campinas: CETEA/ITAL, 2008. 372 p

44. PAIVA, L. B.; MORALES, A. R.; DÍAZ, F. R. V.; Argilas organofílicas: características, metodologias de preparação, compostos de intercalação e técnicas de caracterização. *Cerâmica*. 54 (2008) 213-226.
45. PALHARINI, M. C. A.; SARANTÓPOULOS, C. I. G. L.; SIMIONATO, E. M. R. S.; CECHIN, T. F. F. Preservation of minimally processed snap beans in passive modified atmosphere packaging. *Braz. J. Food Technol. Campinas*, v. 19, e2015114, 2016
46. 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*. 25 (2011) 1372-1381.
47. PEREIRA, L. M. A condicionamento de goiabas minimamente processadas por desidratação osmótica em embalagens sob atmosfera modificada passiva. FEA, Unicamp, 2005.
48. PEREZ-CORDOBA, L. J.; NORTON, I.T.; BATCHELOR, H.K.; GKATZIONIS, K.; SPYROPOULOS, F.; SOBRAL, P.J.A.; Physico-chemical, antimicrobial and antioxidant properties of gelatinchitosan based films loaded with nanoemulsions encapsulating active compounds. *Food Hydrocolloids*. 79 (2018) 544-559.
49. PIRES, V.G.A; Incorporação de nanoemulsões de óleos essenciais de melaleuca, copaíba e limão em filmes de alginato de sódio para utilização como curativo. (2016), 81 f. Dissertação (Mestrado em Ciência dos Materiais). Universidade Estadual Paulista.
50. SOARES, A.G. Perdas Pós-Colheita de Frutas e Hortaliças. In: FÓRUM AGRONEGÓCIOS DA UNICAMP, maio 2009, Campinas. Qualidade e Segurança de Alimentos. Campinas: UNICAMP, 2009.
51. TEIXEIRA, G. H. A.; DURIGAN, J. F.; MATTIUZ, B.; ROSSI JUNIOR, O. D. Processamento mínimo de mamão 'Formosa'. *Ciência e Tecnologia de Alimentos, Campinas*, v.21, n.1, p.47-50, 2001.
52. TURBIANI, Franciele Rezende Barbosa; KIECKBUSCH, Theo Guenter. Propriedades mecânicas e de barreira de filmes de alginato de sódio reticulados com benzoato de cálcio e/ou cloreto de cálcio. *Brazilian Journal Of Food Technology*, [s.l.], v. 14, n. 02, p.82-90, 10 maio 2011.
53. Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). (2012). Performance standards for antimicrobial disk Susceptibility tests; approved standard (11th ed). Wayne, PA, USA: Clinical and Laboratory Standards Institute. CLSI document M02eA11 www.clsi.org
54. LIMA, Aline Margarete Furuyama et al. Influência da adição de plastificante do processo de reticulação na morfologia, absorção de água e propriedades mecânicas de filmes de alginato de sódio. *Química Nova*, v. 30, n. 4, p.832-837, ago. 2007.

55. LIMA, Aline Margarete Furuyama et al. Influência da adição de plastificante do processo de reticulação na morfologia, absorção de água e propriedades mecânicas de filmes de alginato de sódio. *Química Nova*, [s.l.], v. 30, n. 4, p.832-837, ago. 2007. FapUNIFESP (SciELO).
56. MOURA, Márcia R de et al. Efficiency Improvement of Cellulose Derivative Nanocomposite Using Titanium Dioxide Nanoparticles. *Journal Of Nanoscience And Nanotechnology*, [s.l.], v. 17, n. 3, p.2206-2211, 1 mar. 2017.
57. EGHBALIFAM, Naeimeh; FROUNCHI, Masoud; DADBIN, Susan. Antibacterial silver nanoparticles in polyvinyl alcohol/sodium alginate blend produced by gamma irradiation. *International Journal Of Biological Macromolecules*, [s.l.], v. 80, p.170- 176, set. 2015.
58. VALERIANO, C.; PICCOLI, R.H.; CARDOSO, M.G.; ALVES, E.; Atividade antimicrobiana de óleos essenciais em bactérias patogênicas de origem alimentar, *Rev. Bras. Plantas Med.* 14 (2012) 57–67.
59. VANIN, F.M.; SOBRAL, P.J.A.; MENEGALLI, F.C.; CARVALHO, R.A.; HABITANTE, A.M.Q.B.; Effects of plasticizers and their concentrations on thermal and functional properties of gelatin-based films, *Food Hydrocoll.* 19 (2005) 899–907.
60. VARGAS, M.; PASTOR, C.; CHIRALT, A.; MCCLEMENTS, D. J.; GONZÁLEZ MARTÍNEZ, C. Recent Advances in Edible Coatings for Fresh and Minimally Processed Fruits. *Critical. Reviews in Food Science and Nutrition*, Boca Raton, v, 48, n. 6, p. 496-511, 2008.
61. VERA, R.R.; CHANE-MING, J.; FRAISSE, D.J.; Chemical composition of the essential oil of sage (*salvia officinalis* L.) from reunion Island, *J. Essent. Oil Res.* 11 (1999) 399–402.
62. VILLADIEGO, A. M. D.; SOARES, N.F.F.; ANDRADE, N. J.; PUSCHMANN, R.; MINIM, V. P. R.; CRUZ, R.; Filmes e revestimentos comestíveis na conservação de produtos alimentícios; *Revista Ceres*, 52 (2005) 221-244.
63. WORRELL, D. B.; CARRINGTON, C. M. S.; HUBER, D. J. The use of low temperature and coating to maintain storage quality of breadfruit, *Artocarpus altilis* (Parks.) Fosb. *Postharvest Biology and Technology*, Amsterdam, v. 25, n. 1, p. 33-40, 2002.
64. YAHYAOU, M.; GORDOBIL, O.; DÍAZ, R. H.; ABDERRABBA, M.; LABIDI, J.; Development of novel antimicrobial films based on poly (lactic acid) and essential oils, *React. Funct. Polym.* 109 (2016)

65. CALO, J. R.; CRANDALL, P. G.; O'BRYAN, C. A.; RICKE, S. C. Essential oils as antimicrobials in food systems - A review. **Food Control**, Oxford, v. 54, p. 111–119, 2015.
66. AL-JABRI, N. N.; HOSSAIN, M. A. Comparative chemical composition and antimicrobial activity study of essential oils from two imported lemon fruits samples against pathogenic bacteria. **Beni-Suef University Journal of Basic and Applied Sciences**, Beni-Suef, v. 3, p. 247–253, 2014.
67. LEANDRO, L. M.; VARGAS, F. S.; BARBOSA, P. C. S.; NEVES, J. K. O.; SILVA, J. A.; JUNIOR, V. F. V. Chemistry and biological activities of terpenoids from copaiba (*Copaifera* ssp.) oleoresins. **Molecules**, Basel, v. 17, p. 3866-3889, 2012.
68. 10. PIERI, F. A.; SILVA, V. O.; VARGAS, F. S.; JUNIOR, V. F. V.; MOREIRA, M. A. S. Antimicrobial activity of *Copaifera langsdorffii* oil and evaluation of its most bioactive fraction against bacteria of dog's dental plaque. **Pakistan Veterinary Journal**, Oxford, v. 34, p. 165-169, 2014.
69. SILVERTEIN, R.M; WEBSTER, F. X; KIEMLE, D.J. Identificação Espectrométrica de Compostos Orgânicos. 7^aed., R. Janeiro, 490 p., 2006.
70. NAVARRO, M. M. S.; GARROTE, N. C.; AÍLS, F. A.; BARCELÓ, C. O. Microencapsulation of *Melaleuca alternifolia* (Tea Tree) oil as biocide for footwear applications. **Journal of Dispersion Science and Technology**, Philadelphia, v. 32, p. 1722-1727, 2011.
71. PONTES, A. B.; CORREIA, D. Z.; COUTINHO, M. S.; MOTHÉ, C. G. Emulsão dermatológica à base de copaíba. **Revista analytica**, São Paulo, v.7, p. 36-42, 2003.
72. BAJPAI, V.K.; BAEK, K.H.; KANG, S.C.; Control of Salmonella in foods by using essential oils: A review, **Food Res. Int.** 45 (2012) 722–734.
73. BONILLA, J.; POLONI, T.; LOURENÇO, R. V.; SOBRAL, P.J.A.; Antioxidant potential of eugenol and ginger essential oils with gelatin/chitosan films, **Food Biosci.** 23 (2018) 107–114.
74. ALTIOK, D.; ALTIOK, E.; TIHMINLIOGLU, F. Physical, antibacterial and antioxidant properties of chitosan films incorporated with thyme oil for potential wound healing applications. **Journal of Materials Science: Materials in Medicine**, v. 21, p. 2227-2236, 2010.

75. AMERICAN SOCIETY FOR TESTING AND MATERIALS - ASTM. Standard test method for water vapor transmission of materials (1980). E96 - 80. In: Annual Book of American Standard Testing Methods. Philadelphia, American Society for Testing and Materials, 1980.
76. AOUADA, M. R. de M. Aplicação de nanopartículas em filmes utilizados em embalagens para alimentos. 2009. 138 f. Tese (Doutorado em Química) - Universidade Federal de São Carlos, São Carlos, 2009.
77. ARRONDO, J. L. et al. Quantitative studies of the structure of proteins in solution by Fourier-transform infrared spectroscopy. Progress in biophysics and molecular biology, v. 59, p. 23-56, 1993.
78. FISHER, K.; PHILLIPS, C. Potential antimicrobial uses of essential oils in food: is citrus the answer. Trends in Food Science & Technology, v. 19, p. 156-164, 2008.
79. FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS - FAO. World tea production and trade Current and future development. Disponível em: <<http://www.fao.org/3/a-i4480e.pdf>>. Acesso em: 20 mar. 2020