

UNIVERSIDADE TECNOLÓGICA FEDERAL DO PARANÁ
DEPARTAMENTO ACADÊMICO DE ALIMENTOS
CURSO DE ENGENHARIA DE ALIMENTOS

NATÁLIA GIMENES TORRES

**PLANEJAMENTO SIMPLEX-CENTROID APLICADO AO ESTUDO
DAS PROPRIEDADES MECÂNICAS DE FILME DE PECTINA,
EMULSÃO DE ÓLEO DE CANELA E POLPA DE CHUCHU**

TRABALHO DE CONCLUSÃO DE CURSO

CAMPO MOURÃO

2016

NATÁLIA GIMENES TORRES

**PLANEJAMENTO SIMPLEX-CENTROID APLICADO AO ESTUDO
DAS PROPRIEDADES MECÂNICAS DE FILME DE PECTINA,
EMULSÃO DE ÓLEO DE CANELA E POLPA DE CHUCHU**

Trabalho de Conclusão de Curso de graduação, apresentado a disciplina de Trabalho de Diplomação, do Curso Superior de Engenharia de Alimentos do Departamento Acadêmico de Alimentos – DALIM - da Universidade Tecnológica Federal do Paraná – UTFPR, como requisito parcial para obtenção do título de Engenheiro.

Orientadora: Profa. Dra. Fernanda Vitória Leimann.

Campo Mourão

2016



Ministério da Educação
UNIVERSIDADE TECNOLÓGICA FEDERAL DO
PARANÁ
Campus Campo Mourão
Departamento Acadêmico de Alimentos (DALIM)
Engenharia de Alimentos



TERMO DE APROVAÇÃO

PLANEJAMENTO SIMPLEX-CENTROID APLICADO AO ESTUDO DAS PROPRIEDADES MECÂNICAS DE FILME DE PECTINA, EMULSÃO DE ÓLEO DE CANELA E POLPA DE CHUCHU

por

Natália Gimenes Torres

Este Trabalho de Conclusão de Curso foi apresentado em 13 de junho de 2016 como requisito parcial para obtenção do título de Engenheiro de Alimentos. O candidato foi arguido pela Banca Examinadora composta pelos professores abaixo assinados. Após a deliberação, a Banca Examinadora considerou o trabalho aprovado.

Profa. Dra. Fernanda Vitória Leimann
Orientador

Profa. Dra. Márcia Regina Ferreira Geraldo Perdoncini
Membro Titular

Profa. Dra. Stéphanie Caroline Beneti
Membro Titular

NOTA: O documento original e assinado pela Banca Examinadora encontra-se no Departamento Acadêmico de Alimentos da UTFPR campus Campo Mourão.

AGRADECIMENTOS

Seguramente não poderei expressar aqui a minha gratidão a todos que me acompanharam nesta jornada tão importante de minha vida, desta forma peço, desde já, desculpas aqueles que não foram citados, mas que com certeza são reconhecidos em meu pensamento.

Agradeço primeiramente ao Senhor Jesus pela vida, sabedoria e conforto dado nas horas difíceis, por responder aos anseios de meu coração e nunca permitir que eu desistisse. A Ele toda honra e glória para sempre.

Aos meus pais, Cleusa Maria Gimenes Torres e Antônio Torres *in memoriam*, por me ensinarem a importância do conhecimento, do trabalho, os valores de um lar cristão e por todo amor e apoio a mim dados. Aos meus irmãos, Sergio e Mariele, pelos conselhos e incentivo, e aos meus sobrinhos por serem a alegria de nossa casa.

Agradeço a professora Dra. Fernanda Vitória Leimann, pela orientação, paciência, inspiração e confiança ao longo de meu trabalho. Foi um grande prazer tê-la como orientadora. A esta universidade, seu corpo docente, direção e administração que oportunizaram a busca pelo título que tanto vislumbrei.

A todos meus amigos que sempre mostraram prontidão em todos os momentos incertos, especialmente a Jeanyne Mendes dos Santos e Katielle Viana da Silva, que foram minha família em Campo Mourão, as irmãs que sempre carregarei em meu coração. Ao meu querido companheiro Vinicius de Oliveira Lima, que sempre esteve ao meu lado nos momentos felizes e difíceis, me encorajando a almejar sempre mais.

A todos meu muito obrigada!

RESUMO

TORRES, Natália G. **Planejamento simplex-centroid aplicado ao estudo das propriedades mecânicas de filme de pectina, emulsão de óleo de canela e polpa de chuchu**. 2016. 46 f. Trabalho de Conclusão de Curso – Engenharia de Alimentos, Universidade Tecnológica Federal do Paraná (UTFPR). Campo Mourão, 2016.

Filmes ativos são embalagens produzidas para atuar interrompendo reações oxidativas, proliferação bacteriana/fúngica, no alimento. Compostos ativos são incorporados ao filme que quando em contato com o alimento, são liberados para sua superfície, onde a maioria das reações químicas e microbiológicas ocorre. Filmes ativos comestíveis podem ser preparados à base de carboidratos e proteínas. Óleos essenciais, como o óleo de canela que possui importante atividade antimicrobiana, vêm sendo usados como alternativa à incorporação de aditivos químicos por não apresentarem toxicidade. Outro caminho promissor na formulação de filmes é a incorporação de polpas vegetais como a polpa de chuchu (*Sechium edule*), que possui um alto teor de carboidratos e nutrientes, agregando valor nutricional ao filme comestível e conseqüentemente ao produto embalado. Neste trabalho filmes comestíveis antimicrobianos à base de pectina (X1) contendo a polpa de chuchu (X2) e óleo de canela (X3) foram formulados com um planejamento simplex-centroid para modelar o comportamento mecânico do material em função da composição da mistura. Para os dados de Elongação na Ruptura (E%) o melhor resultado foi encontrado para o ajuste ao modelo cúbico especial ($p = 0,041903$) assim como para os dados de Resistência à Tração (RT) ($p = 0,006789$). O modelo para o módulo de Young (MY) não apresentou ajuste significativo a nenhum dos modelos aplicados. Para os modelos de E% e RT os componentes pectina, chuchu e óleo de canela apresentaram efeito positivo, sendo também mais significativo o termo referente à pectina. Dos efeitos combinados para E% o mais significativo foi o ternário (X1.X2.X3) com $p = 0.024092$. No modelo de E% a interação ternária apresentou influência positiva, porém para a RT o efeito foi inverso. A formulação contendo 0; 0,5; 0,5 (X1; X2; X3) em termos de pseudocomponentes foi produzida para avaliar a atividade antimicrobiana e apresentou ação contra os microrganismos *S. aureus* e *E. coli*. Com este trabalho podemos concluir que os modelos matemáticos descreveram a influência da composição do filme nas respostas E% e RT adequadamente.

Palavras-chave: Filmes biodegradáveis de pectina. Óleo essencial de canela. Polpa de chuchu. Propriedades mecânicas. Propriedade antimicrobiana.

ABSTRACT

TORRES, Natália G. **Simplex-centroid design applied to the study of pectin, cinnamon oil emulsion and chayote pulp films mechanical properties**. 2016. 46 f. Trabalho de Conclusão de Curso – Engenharia de Alimentos, Universidade Tecnológica Federal do Paraná (UTFPR). Campo Mourão, 2016.

Active films are packages produced to act interrupting oxidative reactions, bacterial / fungal proliferation, etc. in food. Active compounds are incorporated into films matrix when and when in contact with food are released to its surface, that is where most of the chemical and microbiological reactions occur. Edible active films can be prepared on carbohydrates basis and protein basis. Essential oils, such as cinnamon oil which has significant antimicrobial activity, have been used as an alternative to the incorporation of chemical additives and do not present toxicity. Another promising way in films formulation is the incorporation of vegetable pulps such as chayote pulp (*Sechium edule*), which has a high content of carbohydrates and nutrients, adding nutritional value to the edible film and consequently to the packaged product. In this study, antimicrobial films based on pectin containing chayote pulp and cinnamon oil were formulated with a simplex centroid design for modeling the mechanical behavior of materials depending on mixtures composition. For Elongation at Break data (E%) the best results were found for the adjustment to the special cubic model ($p = 0.041903$) as well as for data Tensile Strength (TS) ($p = 0.006789$). In the case of Young's modulus (YM) any of the tested models showed significant adjustment for the experimental results. For E% and TS models the components related to pectin, chayote and cinnamon oil had a positive effect. Also, the term referring to pectin was more significant. Furthermore, E% model the most significant interaction component was the ternary ($X_1.X_2.X_3$) with $p = 0.024092$, presenting a positive influence, but for the TS effect was inverse. The formulation produced to with 0; 0,5; 0,5 ($X_1; X_2; X_3$) in terms of pseudocomponent was used to evaluate the antimicrobial activity and presented effect against microorganisms *S. aureus* and *E. coli*. With the results it was possible to conclude that the mathematical models described the influence of films composition in the responses E% and TS properly.

KEY-WORDS: Pectin biodegradable films. Cinnamon essential oil. Chayote pulp. Mechanical properties. Antimicrobial property.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Estrutura molecular da pectina	14
Figura 2. Estrutura molecular da pectina com alto teor de metoxilação.....	15
Figura 3. Estrutura molecular da pectina com baixo teor de metoxilação.....	15
Figura 4. Gráfico de tensão <i>versus</i> deformação de amostras das formulações 2 e 9.....	28
Figura 5. Gráfico de valores observados <i>versus</i> valores preditos para o modelo de Elongação na Ruptura (E%).....	29
Figura 6. Gráfico de valores observados <i>versus</i> valores preditos para o modelo de Resistência Máxima à Tração ($R_{m\acute{a}x}$).....	30
Figura 7. Gráfico de pareto para os coeficientes do modelo de Elongação na Ruptura (E%) (x1-pectina, x2-polpa de chuchu e x3-óleo de canela).....	31
Figura 8. Gráfico de pareto para os coeficientes do modelo de Resistência Máxima à Tração ($R_{m\acute{a}x}$) (x1-pectina, x2-polpa de chuchu e x3-óleo de canela).....	31
Figura 9. Superfície de resposta obtida para o modelo matemático de Elongação na Ruptura (E%).....	34
Figura 10. Superfície de resposta obtida para o modelo matemático de Resistência Máxima à Tração ($R_{m\acute{a}x}$).....	34
Figura 11. Imagem da placa utilizada para avaliação da atividade antimicrobiana da formulação 4 frente a <i>Staphylococcus aureus</i>	35
Figura 12. Imagem da placa utilizada para avaliação da atividade antimicrobiana da formulação 4 frente a <i>Escherichia coli</i>	36

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Composição do chuchu por 100 gramas da parte comestível.....	17
Tabela 2. Matriz experimental do planejamento de mistura.....	22
Tabela 3. Resultados obtidos para as propriedades mecânicas dos filmes formulados através da aplicação de planejamento de mistura simplex-centroid em função dos fatores descritos em termos de pseudo componentes.....	26
Tabela 4. Resultados da análise de variância (anova) do modelo cúbico especial ajustado para a propriedade Elongação na Ruptura (E%).....	26
Tabela 5. Resultados da análise de variância (anova) do modelo cúbico especial ajustado para a propriedade Resistência Máxima à Tração (R _{máx}).....	27
Tabela 6. Resultados da análise de variância (anova) dos modelos linear, quadrático e cúbico especial ajustados para a propriedade Módulo de Young (MY).....	27
Tabela 7. Coeficientes de regressão e regressão ajustado dos modelos obtidos para Elongação na Ruptura e Resistência Máxima à Tração dos filmes.....	29

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

E%.....Elongação Na Ruptura

RT.....Resistência a Tração

Rmáx.....Resistência Máxima a Tração

MY.....Módulo De Young

UR.....Umidade Relativa

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	10
2	OBJETIVOS.....	13
2.1	OBJETIVO GERAL	13
2.2	OBJETIVOS ESPECÍFICOS	13
3	REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	14
3.1	PECTINA.....	14
3.2	EMBALAGENS ATIVAS E FILMES DE PECTINA.....	15
3.3	CHUCHU (<i>SECHIAM EDULE</i>)	17
3.4	ÓLEO DE CANELA	18
3.5	PLANEJAMENTO DE MISTURAS	19
4	MATERIAL E MÉTODOS	21
4.1	MATERIAIS.....	21
4.3	DELINEAMENTO EXPERIMENTAL	21
4.4	PREPARO DOS FILMES	22
4.5	PROPRIEDADES MECÂNICAS	23
4.5.1	Espessura	23
4.5.2	Resistência Máxima a Tração.....	23
4.5.3	Elongação na Ruptura.....	24
4.5.4	Módulo de Young.....	24
4.6	ANÁLISE DE SUPERFÍCIE DE RESPOSTA	24
4.7	ANÁLISE MICROBIOLÓGICA	25
5	RESULTADOS	26
5.1	ATIVIDADE ANTIMICROBIANA	34
6	CONCLUSÃO	37
7	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	38

1. INTRODUÇÃO

Por muito tempo a indústria de plásticos procurou desenvolver materiais que fossem cada vez mais duráveis e resistentes com a finalidade de proporcionar alta vida útil nas embalagens em geral. Porém, juntamente com o desenvolvimento destas também surgiram preocupações com o meio ambiente em função do descarte desses materiais que geravam grande acúmulo de lixo (MOTA, 2009). Polímeros obtidos a partir de fontes renováveis podem ser utilizados para tais aplicações, como a zeína, gelatina, pectina, caseinato de sódio, isolado proteico de soja etc. (TANG et al., 2012), além de nanocompósitos utilizando materiais lignocelulósicos de resíduos agroindustriais (KHALIL et al., 2012).

Segundo Gallo et al., (2000) os filmes elaborados a partir da pectina são sensíveis à umidade e apresentam alto coeficiente de permeabilidade ao vapor d'água devido a sua hidrofilicidade, mas por outro lado possuem excelentes propriedades mecânicas, ópticas e sensoriais, que lhe atribuem considerável resistência ao oxigênio devido ao empacotamento das moléculas, formando uma rede estrutural ordenada através de ligações de hidrogênio.

Com a finalidade de desenvolver filmes capazes de não só proteger, mas de interagir com o produto, surgiu o conceito de filmes ativos. Os filmes ativos são desenvolvidos para interagir de forma desejável com o produto, mudando as condições de acondicionamento para aumentar a vida de prateleira e melhorar a sua segurança ou as suas propriedades sensoriais. Os filmes que recebem aditivos e estão em contato com a superfície do produto liberam, de forma gradativa, o composto para a superfície do alimento, onde a maioria das reações químicas e microbiológicas ocorrem (SOARES et al., 2006).

Com o objetivo de inibir ou retardar o crescimento da microbiota presente, na superfície dos alimentos embalados, foram desenvolvidos os filmes com atividade antimicrobiana, uma forma promissora de filmes ativos, pois se baseiam na incorporação de conservantes alimentares na estrutura do polímero durante o processo de produção do filme (SOARES et al., 2009). Uma opção para alcançar este objetivo é a incorporação de óleos essenciais à matriz polimérica utilizada para a produção dos filmes ativos. A utilização de temperos, condimentos e extratos vegetais, tende a ser uma alternativa aos aditivos químicos convencionais, principalmente quando empregados em combinação com outras tecnologias já existentes (SILVA et al., 2010).

Os óleos essenciais são substâncias naturais de origem vegetal, o que os torna atrativos ao consumidor por não apresentarem efeito tóxico, mesmo quando empregados em concentrações relativamente elevadas (PEREIRA et al., 2006). Segundo Andrade et. al., (2012) o uso de óleo essencial de canela torna-se interessante, pois este possui propriedades antimicrobianas e antioxidantes comprovadas. Moura et. al., (2014) afirma ainda que esta técnica pode aumentar a resistência do organismo e promover uma boa atividade do sistema circulatório. Além disso, Otoni et al., (2014) observaram que a adição de emulsões de cinamaldeído a filmes de pectina adicionados de purê de papaia balanceou o efeito de plastificante do purê, aumentando a rigidez e diminuindo a extensibilidade e a permeabilidade ao vapor de água dos filmes de pectina.

Outro caminho promissor na pesquisa e desenvolvimento de filmes comestíveis é a incorporação de polpa de frutas e vegetais na formulação. 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 conter uma rica fonte de nutrientes, principalmente biopolímeros (como polissacarídeos e fibras alimentares) e compostos bioativos (AJILA; PRASADA RAO, 2007). Por essas questões, filmes podem também agregar valor nutricional e melhorar características sensoriais quando consumidos junto com o produto a qual foram aplicados (MARTELLI et al., 2013). Neste sentido a literatura apresenta a utilização de polpa de papaia (OTONI et al., 2014; LOREVICE et al., 2016), de manga (AZEREDO et al., 2009), de banana (MARTELLI et al., 2013), acerola (AZEREDO et al., 2012) e tomates (DU et al., 2012).

Sechium edule comumente conhecido como chuchu, é uma herbácea, monoica e montanhista. Suas folhas jovens, brotos, caules e raízes tuberosas são comestíveis e o fruto tem importância econômica e nutricional na América Central, México e Brasil (ORDOÑEZ et al., 2003). O chuchu (*Sechium edule*) é relativamente pobre em fibras, proteínas e vitaminas em comparação com outros vegetais. No entanto, ele possui um alto teor de carboidratos e calorias, especialmente em jovens caules, raízes e sementes, sendo que a fruta tem um conteúdo de micro e macro nutriente adequado às necessidades da dieta humana, e também é rica em vários aminoácidos importantes (ORDOÑEZ, 2006). As propriedades diuréticas, anti-hipertensivas, anti-inflamatórias e cardiovasculares das folhas, frutos e sementes do chuchu foram confirmadas por estudos farmacológicos (GORDON et al., 2000). Tendo também reportadas propriedades antimicrobianas, antioxidantes e anti-hipertensivas (MARTINS-RAMOS; BORTOLUZZI; MANTOVANI, 2010).

Sabendo que em muitas ocasiões a combinação de vários componentes/ingredientes, conferem características diferentes das que possuem os compostos puros, um planejamento experimental visando modelar o comportamento de uma mistura, é viável e de aplicação direta no desenvolvimento de novos produtos, principalmente os que estão ligados a produção de alimentos (SPANEMBERG, 2010). Nesse sentido, o planejamento de misturas é uma alternativa para determinar as proporções adequadas de cada formulação (BARROS-NETO; SCARMINIO; BRUNS, 2010).

Dentro desse contexto, neste trabalho buscou-se aplicar um planejamento experimental tipo simplex-centroid para a avaliação das propriedades mecânicas de filmes comestíveis antimicrobianos baseados em pectina incorporados com polpa de chuchu e emulsão de óleo de canela.

2. OBJETIVOS

2.1. OBJETIVO GERAL

Aplicar o planejamento experimental tipo simplex centroid para produzir e caracterizar mecanicamente filmes comestíveis de pectina adicionados de óleo de canela e polpa de Chuchu.

2.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Delinear um planejamento de misturas ternário, tipo simplex centroid, utilizando o *software* Statistica 7.0;
- Caracterizar as propriedades mecânicas (resistência à tração, módulo de Young e alongamento na ruptura) dos filmes de acordo com as composições indicadas pelo planejamento experimental;
- Obter um modelo de resposta para cada propriedade mecânica em função da composição da mistura;
- Avaliar a atividade antimicrobiana do filme adicionado de emulsão de óleo de canela e polpa de Chuchu frente às bactérias *Escherichia coli* (Gram negativa) e *Staphylococcus aureus* (Gram positiva).

3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1. PECTINA

A pectina é um polissacarídeo hidrossolúvel heterogêneo, linear e aniônico, composto por α -1,4 D-ácido galacturônico e α -1,2 L-ramnose, com cadeias laterais de D-galactose e L-arabinose (Figura 1). A pectina é um componente estrutural da parede celular vegetal, tipicamente isolado a partir de plantas de importância econômica (frutas cítricas, açúcar de beterraba, maçã, etc.) (CABELLO et al., 2015).

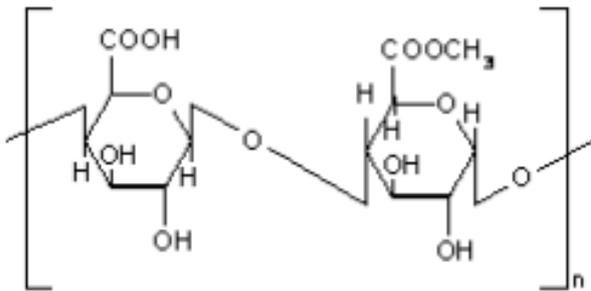


Figura 1. Estrutura molecular da pectina

Fonte: SINHA, KUMRIA (2001)

As pectinas são classificadas como pectinas de alto teor de metoxilação (ATM) (Figura 2), quando possuem acima de 50% de seus grupos carboxílicos esterificados, e como pectinas de baixo teor de metoxilação (BTM) (Figura 3), quando 50% ou menos de seus grupos estão esterificados. As pectinas BTM são obtidas a partir da pectina ATM isolada pelo controle do processo de desesterificação em meio homogêneo na presença de álcool, com ácido ou amônia. Quando o processo de desesterificação é realizado com amônia, alguns grupos metil éster são substituídos por grupos amidas, resultando em pectinas BTM com grau de amidação (ESPITIA et al., 2014).

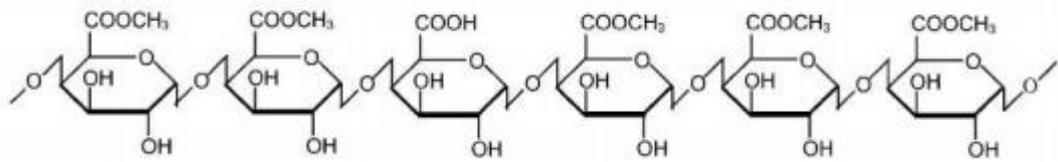


Figura 2. Estrutura molecular da pectina com alto teor de metoxilação.

Fonte: THARANATHAN, 2003.

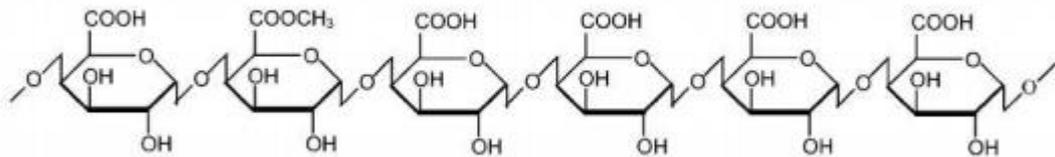


Figura 3. Estrutura molecular da pectina com baixo teor de metoxilação.

Fonte: THARANATHAN, 2003.

Comercialmente, a pectina é usada na indústria de alimentos como espessante ou estabilizante. As características espessantes e estabilizantes da pectina cítrica são dependentes da estrutura, composição e propriedades físicas da mesma. A habilidade espessante da pectina depende da sua solubilidade e viscosidade, que são medidas do seu peso molecular (KAR e ARSLAN, 1999). Uma importante característica da pectina é a sua resistência à hidrólise pelas enzimas digestivas do corpo humano (ROLIN et al., 1996) e por isso é bastante aplicada na indústria farmacêutica, principalmente na área de liberação de fármacos. Pode ser usada também como embalagem de alimentos, onde tem a função de inibir a migração lipídica (MARINIELLO et al., 2003).

3.2. EMBALAGENS ATIVAS E FILMES DE PECTINA

Uma considerável e crescente atenção tem sido tomada sobre as embalagens ativas, que são um grupo de embalagens desenvolvidas para proteger e interagir com o produto,

como forma de preservar a qualidade e segurança deste durante o armazenamento (SARANTÓPOULOS e MORAES, 2009).

As embalagens ativas também podem ser definidas como aquelas que além de atuarem como uma barreira a agentes externos procuram corrigir deficiências presentes na embalagem passiva. Possuem elementos adicionais que foram deliberadamente incluídos no material ou no espaço-livre da embalagem, para melhorar seu desempenho (ROBERTSON, 2006).

Para serem ditas comestíveis as formulações de filmes devem possuir no mínimo um componente capaz de formar uma matriz adequada, contínua, coesa e aderente (BUREAU e MULTON, 1995), envolvendo diversos outros componentes na formulação, cada um com sua finalidade específica, estas são constituídas de pelo menos por um agente formador de filme (macromoléculas), solvente e plastificante (BERTAN, 2003).

O prolongamento da vida útil e a preservação da qualidade e segurança dos alimentos através da aplicação de embalagens ativas biodegradáveis vêm sendo mostrado através de inúmeros estudos. Souza (2010) avaliou a caracterização de filmes incorporados com polpa de manga e acerola como aditivos antioxidantes para embalagens biodegradáveis ativas obtidas de fécula de mandioca e conferiu um pronunciado efeito protetor contra oxidação lipídica e alteração das propriedades físico-químicas, mecânicas e térmicas do mesmo.

Soares et al. (2009) desenvolveu embalagens ativas incorporadas com extrato natural de alecrim e testou suas propriedades antioxidantes em mioglobina pura e bifos de carne bovina fresca. Resultados mostraram a estabilização da mioglobina mantendo a carne com aspecto mais atrativo.

Min e Krochta (2007) desenvolveram uma película de cobertura à base de proteína do soro contendo ácido ascórbico para controle da oxidação em amendoim. Os autores verificaram que a cobertura retardou significativamente a oxidação lipídica dos mesmos.

A pectina vem sendo aplicada em diversas pesquisas para desenvolvimento de filmes ativos como: com alginato (SILVA et al., 2009), com poli(álcool vinílico) e quitosana (TRIPATHI et al., 2010), com gelatina (JO et al., 2005), com óleo de canela (AYALA-ZAVALA et al., 2013), com alginato de sódio (GALUS e LENART, 2013), e extratos de frutas como acerola, caju, mamão, pequi, e morango (EÇA, 2015). Estes últimos autores destacam que os filmes de pectina contendo extrato de fruta agiram como barreira de luz adequada, impedido a foto oxidação. Entre as películas preparadas, o filme de pectina

contendo extrato de acerola proporcionou a maior capacidade antioxidante, com tempo de meia-vida de 99 dias. No geral, os resultados revelaram que a incorporação de extratos de fruta em películas de pectina produziram filmes potencialmente antioxidantes e revestimentos para diferentes aplicações alimentares.

3.3.CHUCHU (*SECHIUM EDULE*)

O chuchu é um vegetal multiuso amplamente consumido nos países da América Latina. Os frutos do chuchu, folhas e raízes tuberosas contêm carboidratos complexos, como fibra dietética e amido, vitaminas e minerais. A fruta também é pobre em calorias (17 kcal por 100 g) e em açúcares solúveis (1,6 g por 100 g), mas é uma fonte rica de minerais, tais como potássio, cálcio, fósforo e magnésio, e vitamina C (11-20 mg por 100 g), como pode ser observado na Tabela 1. No Brasil, os campos de chuchu são rotineiramente apurados para replantio, resultando em uma grande produção de raiz que é destruída, apesar de seu potencial elevado valor comercial. Além disso, as frutas que não estão em conformidade com a norma de classificação de mercado são desperdiçadas.

Tabela 1: Composição do Chuchu por 100 gramas da parte comestível.

Componentes	Composição
Água (%)	94,8
Energia (Kcal)	17
Proteína (g)	0,7
Lipídeos (g)	0,1
Colesterol (mg)	NA
Carboidratos (g)	4,1
Fibra Alimentar (g)	1,3
Cinzas (g)	0,3
Cálcio (mg)	12
Magnésio (mg)	7

Fonte: Unicamp, 2011.

3.4. ÓLEO DE CANELA

A canela (*Cinnamomun sp*) é proveniente de uma árvore da família da *Lauraceae*, existindo aproximadamente 250 espécies distribuídas na China, Índia e Austrália (JAYAPRAKASHA et al., 2003). O seu óleo essencial é extraído das folhas e casca, e a especiaria, canela em pó e em casca, é obtida parte interna do tronco (BRASIL, 2010).

Segundo a ANVISA, os óleos essenciais constituem-se em complexas misturas voláteis, geralmente lipofílicas, de origem vegetal, podendo ser encontrados em todas as estruturas vegetais, sendo mais frequentes em folhas, flores, frutos e sementes (BRASIL, 1999). Podem ser obtidos por diferentes processos físicos, dependendo da localização no vegetal, da quantidade a ser extraída e das características desejadas no produto final. Os métodos mais utilizados para a extração são: hidrodestilação, prensagem ou expressão, enfloração, extração com solventes orgânicos, extração com fluido supercrítico, destilação por arraste de vapor e destilação por microondas. Sendo que, dentre estes, o método de maior aplicação é o de hidrodestilação (BAKKALI et al., 2008), que segundo dados da literatura, proporciona um rendimento de óleo essencial de canela de 0,2 a 2,0% quando extraído da casca e 0,7 a 1,2% quando extraído das folhas (KOKETSU et al., 1997; FREIRE, 2008).

A composição do óleo essencial de canela pode variar extremamente conforme a parte da planta da qual foi extraído. Pesquisas de Andrade (2010) identificaram 14 constituintes no óleo essencial proveniente da casca seca da canela, sendo o (E)-cinemaldeído (77,72%) o componente majoritário. Jayaprakasha et al. (2003), por sua vez, ao analisarem o óleo essencial dos galhos verificaram dominante presença de (E)-cinamila (36,59%) e (E)-cariofileno (22,36%) dentre os 23 compostos identificados.

O óleo essencial extraído da canela também demonstra potencial antimicrobiano significativo (JEAUROUND et al., 2002), segundo estudos, apresenta atividade antibacteriana contra *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* e *Serratia odorífera* (DIAS, 2009), antifúngica contra *Cândida albicans* (CASTRO, 2010), acaricida contra *Tyrophagus putrescentiae* e *Suidasia pontifica* (ASSIS, 2010) e moluscicida contra *Biomphalaria glabrata*, (REIS, 2012), enquanto que seu extrato etanólico mostra efeito antioxidante natural, podendo ser usado em indústrias de alimentos, farmacêuticas e cosméticas (DIAS, 2009).

3.5. PLANEJAMENTO DE MISTURAS

Métodos estatísticos, em particular o delineamento de superfície de resposta, têm sido usados em ciência dos alimentos para explorar os efeitos das variáveis de processo sobre as respostas específicas de um sistema. A criação de misturas, tais como simplex-centróide, permite a investigação dos efeitos sinérgicos ou antagonistas dos componentes da mistura em variáveis de resposta, porque a proporção dos componentes é interdependente sobre a mistura (CORNELL, 2002; HANDA et al., 2016). Esta é uma ferramenta estatística importante que pode ajudar a esclarecer a relação entre os componentes do sistema operacional da formulação de uma solução filmogênica.

No delineamento de uma mistura experimental, a quantidade total dos componentes é mantida constante, porque a resposta depende das proporções relativas dos componentes (ingredientes) na mistura e não da quantidade da mistura (RAO e BARAL, 2011).

Modelo de misturas de três componentes (ou misturas ternárias) podem ser obtidos através da ampliação do modelo para misturas binárias. Esse modelo é denominado linear e está representado na Equação (1).

$$y = b_0 + b_1 \cdot X_1 + b_2 \cdot X_2 + b_3 \cdot X_3 \quad \text{Equação (1).}$$

Caso o modelo linear não seja satisfatório deve ser observado o modelo quadrático (Equação (2)).

$$y = b_0 + b_1 \cdot X_1 + b_2 \cdot X_2 + b_3 \cdot X_3 + b_{11} \cdot X_1^2 + b_{22} \cdot X_2^2 + b_{33} \cdot X_3^2 + b_{12} \cdot X_1 \cdot X_2 + b_{13} \cdot X_1 \cdot X_3 + b_{23} \cdot X_2 \cdot X_3 \quad \text{Equação (2).}$$

Entretanto, se existir efeitos não aditivos envolvendo a presença simultânea de três componentes, e se esses efeitos forem importantes para descrever a resposta de determinadas misturas ternárias (os produtos no interior do triângulo), então o modelo quadrático pode não

ser suficiente, desta forma se faz necessário acrescentar-lhe termos cúbicos (Equação (3)) (BARROS-NETO; SCARMINIO; BRUNS, 2010).

$$y = b_0 + b_1 \cdot X_1 + b_2 \cdot X_2 + b_3 \cdot X_3 + b_{11} \cdot X_1^2 + b_{22} \cdot X_2^2 + b_{33} \cdot X_3^2 + b_{12} \cdot X_1 \cdot X_2 + b_{13} \cdot X_1 \cdot X_3 + b_{23} \cdot X_2 \cdot X_3 + d_{12} \cdot X_1 \cdot X_2 \cdot (X_1 - X_2) + d_{13} \cdot X_1 \cdot X_3 \cdot (X_1 - X_3) + d_{23} \cdot X_2 \cdot X_3 \cdot (X_2 - X_3) + b_{123} \cdot X_1 \cdot X_2 \cdot X_3$$

Equação (3).

Onde:

y = resposta;

b_i são os efeitos lineares de cada componente da mistura;

b_{ij} são os efeitos de interação binário entre os componentes;

b_{ijk} é o efeito de interação ternária;

d_{ijk} é o efeito das interações;

X_i é a proporção do i -ésimo componente da mistura.

Para a estimativa de um bom modelo é necessário realizar análise de regressão. Nessa análise estimam-se os parâmetros desconhecidos do modelo de regressão e a verificação da adequação do modelo e a qualidade do ajuste obtido. Se a verificação do modelo indicar que esse não é adequado, ele deve ser modificado e seus parâmetros devem ser re-estimados. Para o planejamento de mistura os dados podem ser ajustados a modelos tipo linear, quadrático, cúbico especial e cúbico completo (MONTGOMERY; PECK; VINING, 2012).

Tendo em vista a discussão apresentada torna-se interessante produzir filmes de pectina contendo polpa e de chuchu e também óleo de canela, visando obter materiais com propriedades mecânicas e antimicrobiana que possibilitem sua aplicação com embalagens ativas para alimentos. Também destaca-se a utilização do planejamento de mistura para avaliação da composição dos filmes tendo como resposta as propriedades de interesse.

4. MATERIAL E MÉTODOS

4.1. MATERIAIS

Para elaboração dos filmes foram utilizados: Pectina cítrica (Vetec), óleo de Canela obtido por hidrodestilação, gentilmente cedido pela empresa Technessentia (Santo Amaro da Imperatriz, SC), frutos de chuchu (*Sechium edule*) adquiridos no mercado local de Campo Mourão (PR), Tween 80 (Dinâmica) e água destilada. Para as análises de atividade antimicrobiana foram empregados caldo Müller Hinton (Biomark) e ágar Baird-Parker (Prolab) e Eosina Azul de Metileno (Centerlab). Os microrganismos avaliados foram *Staphylococcus aureus* (ATCC 6538) e *Escherichia coli* (ATCC 25922). Nitrato de magnésio (Vetec) foi utilizado para controle da umidade relativa na análise de propriedades mecânicas.

4.2. OBTENÇÃO DA POLPA DE CHUCHU

Para a obtenção da polpa de chuchu foram utilizados frutos de chuchu (*Sechium edule*) adquiridos em um mercado local de Campo Mourão. A polpa foi obtida através da extração do vegetal *in natura*. Inicialmente o chuchu foi descascado e picado em pequenos pedaços, sendo, em seguida, triturado em liquidificador doméstico com adição de água destilada (1:10 água:chuchu p/p). A polpa obtida foi armazenada em freezer.

4.3. DELINEAMENTO EXPERIMENTAL

Um planejamento experimental do tipo *Simplex-Centroid* aumentado com pontos internos de pseudocomponentes foi obtido no *software Statistica 7.0* considerando a mistura ternária da formulação: polpa de chuchu, pectina e óleo de canela. A matriz experimental é apresentada na Tabela 2. Tomando como base estudos de Otoni et al. (2014) com a finalidade de delinear misturas capazes de formar filme e com propriedades antimicrobianas foram consideradas duas restrições, uma para a pectina (base do filme, com no mínimo 27%) e para o óleo de canela (mínimo de 18%).

Tabela 2. Matriz experimental do planejamento de mistura.

Experimento	Pectina X1	Polpa de Chuchu X2	Óleo de Canela X3	Pseudocomp. Pectina X1	Pseudocomp. Polpa de chuchu X2	Pseudocomp. Óleo de canela X3
1	0,2700	0,5500	0,1800	0	1	0
2	0,2700	0,0000	0,7300	0	0	1
3	0,8200	0,0000	0,1800	1	0	0
4	0,2700	0,2750	0,4550	0	0,5	0,5
5	0,5450	0,2750	0,1800	0,5	0,5	0
6	0,5450	0,0000	0,4550	0,5	0	0,5
7	0,4533	0,1833	0,3633	0,334	0,333	0,333
8	0,3617	0,3667	0,2717	0,167	0,666	0,167
9	0,3617	0,0917	0,5467	0,167	0,167	0,666
10	0,6367	0,0917	0,2717	0,666	0,167	0,167

4.4. PREPARO DOS FILMES

As formulações foram preparadas com massa de mistura (pectina, polpa de chuchu em base úmida e óleo de canela) igual a 27,5g mantendo-se as proporções indicadas pelo planejamento. Inicialmente pesou-se em um béquer a polpa de chuchu e adicionou água destilada (250 mL), dando origem a solução 1. A solução 2 foi constituída por água destilada (250mL), Tween 80 (3,75g) e a massa de óleo de canela estipulada pelo planejamento, sendo então, levada a homogeneização em Ultra-Turrax (IKA, T25) a 10.000 RPM durante 1 min. Sob agitação constante adicionou-se a solução 1 a solução 2 e por fim a pectina previamente pesada, sendo esta última acrescentada lentamente para que se evitasse a formação de aglomerados.

A mistura permaneceu em agitação por 10 minutos. Por fim, quando se finalizou o processo de agitação, transferiu-se a mistura final para uma forma retangular revestida de teflon (31,4 x 19,6 x 5,4 cm) sendo esta levada para estufa de secagem com circulação (Cienlab) de ar a 40°C durante 72 horas.

4.5. PROPRIEDADES MECÂNICAS

Para cada formulação cortou-se dez corpos de provas com dimensões de 5 x 2 cm. Acondicionando posteriormente os corpos de prova em dessecador contendo solução salina saturada de nitrato de magnésio proporcionando uma umidade relativa (UR) de 53% pelo período de 48 horas a 25°C e então foram analisados no texturomêtro. Os testes de tração no texturomêtro, marca *Stable Micro Systems*, modelo TAXT Express (Inglaterra), com distância inicial das garras de 50 mm e velocidade de tração de 0,8 mm s⁻¹. As propriedades mecânicas determinadas foram de Resistência Máxima a Tração (MPa), Elongação na Ruptura (%) e Módulo de Young (MPa).

4.5.1. Espessura

Determinou-se a espessura de cada um dos dez corpos de prova de cada formulação como auxílio de um micrômetro digital (Starret) com resolução de 0,001mm, medindo 10 pontos aleatórios de cada corpo de prova, chegando a um valor final de espessura através da média das medidas.

4.5.2. Resistência Máxima a Tração

Tal propriedade é dada pela relação entre a força máxima medida ($F_{m\acute{a}x}$, N) e a área (A , mm²) do corpo de prova, a qual é definida pela multiplicação da largura (L , mm) e espessura (e , mm) do mesmo. Desta forma utiliza-se a Equação (4) para o cálculo da Resistência Máxima a Tração ($R_{m\acute{a}x}$, MPa).

$$R_{m\acute{a}x} = \frac{F_{m\acute{a}x}}{A} = \frac{F_{m\acute{a}x}}{L.e} \quad \text{Equação (4).}$$

4.5.3. Elongação na Ruptura

Dada em porcentagem, a elongação na ruptura (E_{rup} , %) é a relação entre a elongação máxima ($E_{m\acute{a}x}$, mm) do corpo de prova até a ruptura e a distância entre as garras (D_{garras} , mm), que corresponde ao comprimento inicial do corpo, como mostrado na Equação (5).

$$E_{rup} = \frac{E_{m\acute{a}x}}{D_{garras}} \cdot 100 \quad \text{Equação (5).}$$

4.5.4. Módulo de Young

O módulo de Young (MY , MPa) é determinado através da Equação (6), a qual relaciona o coeficiente angular (b , N/mm) da linha de tendência ajustada à região linear da curva de tensão versus deformação, conhecida como região elástica, como é mostrado a seguir.

$$MY = \frac{b \cdot D_{garras}}{A} \quad \text{Equação (6).}$$

4.6. ANÁLISE DE SUPERFÍCIE DE RESPOSTA

Os resultados obtidos para cada propriedade mecânica foram modelados através da aplicação da equação canônica de Scheffé cúbico especial, representada pela Equação (7), onde: y = propriedade mecânica (resistência à tração, alongamento na ruptura ou módulo de Young); b_i são os efeitos lineares de cada componente; b_{ij} são os efeitos de interação binário; b_{ijk} é o efeito de interação ternária e X_i é a proporção do i ésimo componente da mistura (X1-pectina, X2- polpa de chuchu, X3- óleo de canela). Utilizou-se o *software* Statistica 7.0, o qual permitiu a obtenção das superfícies de resposta para cada propriedade mecânica, dos coeficientes para o modelo, além de apresentar seus níveis de significância, coeficientes de determinação e análise de variância.

$$y = b_0 + b_1 \cdot X_1 + b_2 \cdot X_2 + b_3 \cdot X_3 + b_{11} \cdot X_1^2 + b_{22} \cdot X_2^2 + b_{33} \cdot X_3^2 + b_{12} \cdot X_1 \cdot X_2 + b_{13} \cdot X_1 \cdot X_3 + b_{23} \cdot X_2 \cdot X_3 + d_{12} \cdot X_1 \cdot X_2 \cdot (X_1 - X_2) + d_{13} \cdot X_1 \cdot X_3 \cdot (X_1 - X_3) + d_{23} \cdot X_2 \cdot X_3 \cdot (X_2 - X_3) + b_{123} \cdot X_1 \cdot X_2 \cdot X_3$$

Equação (7).

4.7. ANÁLISE MICROBIOLÓGICA

Esta análise foi realizada com base na Metodologia dos Testes de Sensibilidade a Agentes Antimicrobianos por Diluição para Bactérias de Crescimento Aeróbico (NCCLS), sendo feitas algumas modificações necessárias. Inicialmente reativaram-se as bactérias *Escherichia coli* (ATCC 25922) (Gram negativa) e *Staphylococcus aureus* (ATCC 6538) (Gram positiva) em caldo Müller Hinton até alcançar a turbidez de uma solução padrão McFarland de 0,5. Posteriormente a bactéria *Staphylococcus aureus* foi inoculada por espalhamento, com o auxílio de um swab, na superfície da placa de ágar Baird-Parker (Prolab) e a bactéria *Escherichia coli* na placa de ágar Eosina Azul de Metileno (Centerlab), ambas previamente preparadas e esterilizadas. Discos do filme de 20mm diâmetro, previamente esterilizados em luz Ultravioleta, foram colocados sobre a superfície das placas, sendo as mesmas incubadas a 37°C por 24 horas. Após este período as placas foram analisadas, observando-se a formação de halos de inibição. O diâmetro dos halos foi medido com o auxílio de uma régua e os resultados expressos em milímetros. Para a escolha da formulação do filme para análise microbiológica levou-se em consideração a formulação em que obtinha o maior somatório de polpa de Chuchu e óleo de canela, desta forma utilizou-se a Formulação 4.

5. RESULTADOS

Os resultados obtidos para as propriedades mecânicas dos filmes e seus respectivos desvio padrão estão apresentados na Tabela 3 juntamente com as respectivas formulações expressas em pseudocomponentes. Nas Tabelas 4, 5 e 6 estão apresentados os resultados da análise de variância (ANOVA) para os modelos ajustados para as propriedades de Elongação da Ruptura (E%), Resistência Máxima á Tração (R_{máx}) e Módulo de Young (MY) respectivamente.

Tabela 3. Resultados obtidos para as propriedades mecânicas dos filmes formulados através da aplicação de planejamento de mistura simplex-centroid em função dos fatores descritos em termos de pseudo componentes.

	Pectina (X1)	Polpa de Chuchu (X2)	Óleo de Canela (X3)	E (%)	MY (MPa)	R _{máx} (MPa)
Form. 1	0	1	0	2,92	1,189	10,551
Form. 2	0	0	1	4,93	104,376	4,604
Form. 3	1	0	0	23,68	98,351	25,184
Form. 4	0	0,5	0,5	6,68	98,045	6,776
Form. 5	0,5	0,5	0	9,225	151,300	13,118
Form. 6	0,5	0	0,5	6,75	177,109	10,576
Form. 7	0,334	0,333	0,333	15,72	41,099	6,724
Form. 8	0,167	0,666	0,167	16,49	49,077	8,904
Form. 9	0,167	0,167	0,666	15,685	33,816	5,882
Form. 10	0,666	0,167	0,167	22,275	39,944	10,309
Desvio Padrão				7,331	59,962	5,857

Tabela 4. Resultados da análise de variância (ANOVA) do modelo cúbico especial ajustado para a propriedade Elongação na Ruptura (E%).

Fonte de variação	Soma dos quadrados	Graus de liberdade	Média quadrada	F _{Tabelado}	F _{calculado}	p-valor
Regressão cúbica especial	370,723	3	123,575	3,01	6,5643	0,0253
Resíduos	112,952	6	18,825			
Total	483,373	9	53,742			

Tabela 5. Resultados da análise de variância (ANOVA) do modelo cúbico especial ajustado para a propriedade resistência máxima à tração ($R_{m\acute{a}x}$).

Fonte de variação	Soma dos quadrados	Graus de liberdade	Média quadrada	$F_{Tabelado}$	$F_{calculado}$	p-valor
Regressão cúbica especial	296,447	6	49,408	3,01	12,065	0,0331
Resíduos	12,285	3	4,095			
Total	308,732	9	34,304			

Tabela 6. Resultados da análise de variância (ANOVA) dos modelos linear, quadrático e cúbico especial ajustados para a propriedade Módulo de Young (MY).

Fonte de variação	Soma dos quadrados	Graus de liberdade	Média quadrada	$F_{Tabelado}$	$F_{calculado}$	p-valor
Regressão linear	41,522	2	20,761	3,01	1,920	0,216
Resíduos	75,681	7	10,812			
Total	117,203	9	13,023			
Regressão quadrática	52,112	5	10,422	3,01	0,640	0,685
Resíduos	65,091	4	16,273			
Total	117,203	9	13,023			
Regressão cúbica especial	99,362	6	16,560	3,01	2,784	0,215
Resíduos	17,842	3	5,947			
Total	117,203	9	13,023			

É possível observar que os resultados de alongação na ruptura e de resistência máxima à tração tiveram os melhores ajustes ao modelo cúbico especial. Já os resultados de módulo de Young não tiveram ajuste significativo a nenhum dos possíveis modelos (linear, quadrático e cúbico especial). Pelissari et al., (2012) encontraram o melhor ajuste para o modelo quadrático na descrição da alongação na ruptura de filmes de amido de mandioca e quitosana obtidos por extrusão seguida de sopro. Os mesmo autores também concluíram que a

resistência à tração e o módulo de Young era descritos por modelos quadráticos. A composição dos filmes a base de pectina avaliados no presente trabalho, assim como apresentam uma complexidade de composição muito maior em função do óleo de canela e da polpa de chuchu, isso explica a maior complexidade dos modelos obtidos para a Elongação na Ruptura e para a Resistência máxima à Tração. No caso do Módulo de Young, a falta de ajuste para os modelos deve-se principalmente a erros durante o ajuste do comportamento linear durante a tração dos filmes. Na Figura 4 estão apresentadas as curvas de tensão *versus* deformação de duas amostras (Formulações 2 e 9). Pode-se observar que o filme da formulação 9 apresentou comportamento com tendência à plasticidade, limitando a determinação da parcela elástica no seu comportamento durante a análise de tração.

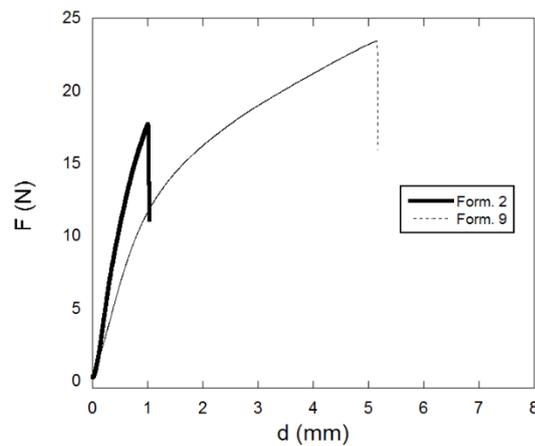


Figura 4. Gráfico de Tensão *versus* Deformação de amostras das formulações 2 e 9.

Os modelos obtidos para as propriedades de Elongação na Ruptura (E%) e Resistência Máxima à Tração ($R_{m\acute{a}x}$) têm seus resultados de coeficiente de regressão (R^2) e coeficiente de regressão ajustado ($R^2_{ajustado}$) de ajuste apresentados na Tabela 6. Nas Figuras 5 e 6 estão apresentados os gráficos que relacionam os valores observados e preditos pelos modelos, para E% e $R_{m\acute{a}x}$, respectivamente.

Tabela 7. Coeficientes de regressão e regressão ajustado dos modelos obtidos para alongação na ruptura e resistência máxima à tração dos filmes.

Modelo	R^2	$R^2_{ajustado}$
E % (cúbico especial)	0,8402	0,7124
$R_{m\acute{a}x}$ (cúbico especial)	0,9598	0,9095

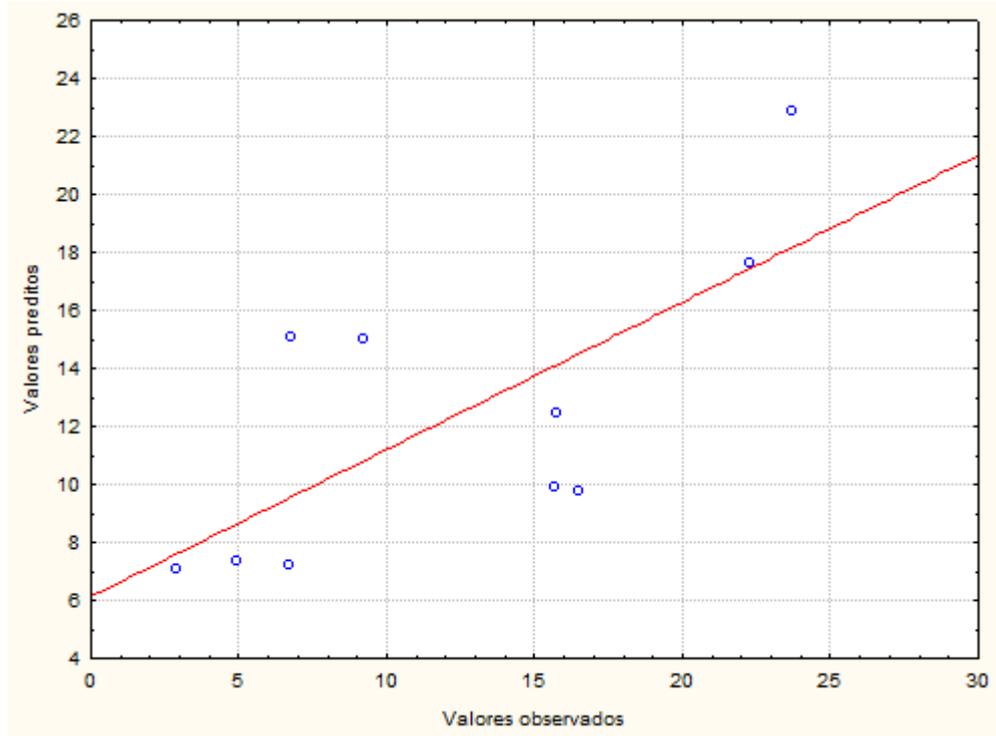


Figura 5. Gráfico de valores observados *versus* valores preditos para o modelo de Elongação na ruptura (E%).

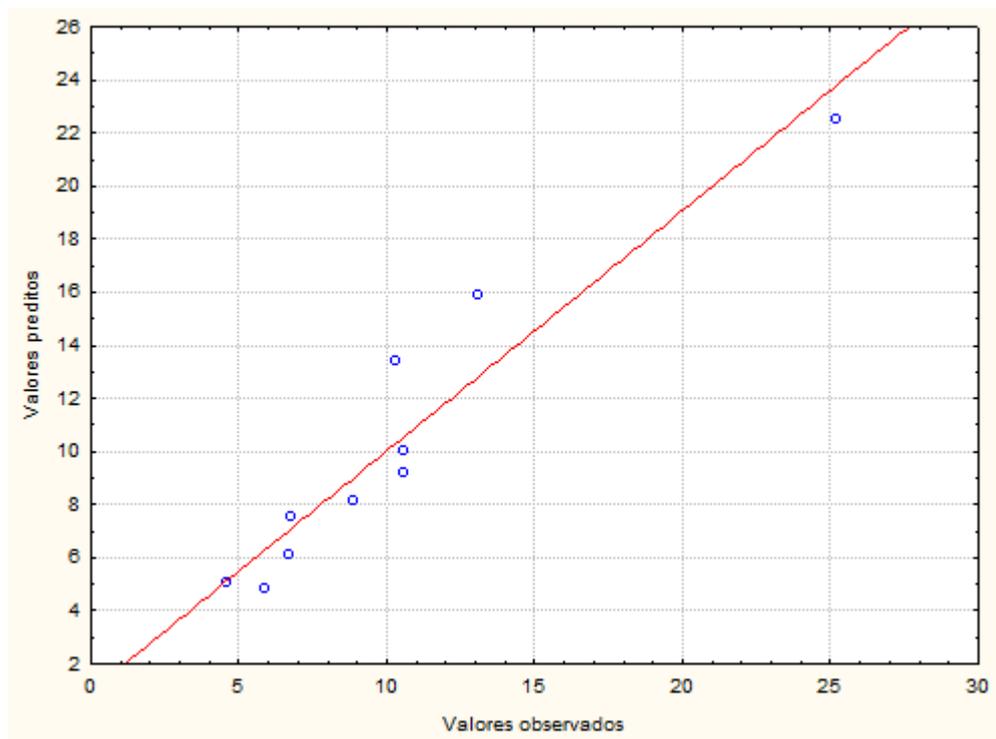


Figura 6. Gráfico de valores observados *versus* valores preditos para o modelo de resistência máxima à tração ($R_{máx}$).

É possível observar com os resultados da Tabela 6 que o modelo obtido para a resistência à tração mostrou um ajuste maior aos dados experimentais que o modelo de alongação na ruptura, o que se reflete nos resultados apresentados nas Figuras 5 e 6. Os valores preditos se ajustaram mais aos valores observados para o modelo de $R_{m\acute{a}x}$ que para o modelo de $E\%$. Possivelmente melhores resultados poderiam ser obtidos para a Alongação na Ruptura caso um maior número de pontos experimentais internos, ou repetições dos pontos avaliados, fossem incluídos ao planejamento na região experimental (MONTGOMERY, 2005). De qualquer forma o modelo apresentou-se significativo ($p < 0,05$, Tabela 3).

Na Figura 7 é apresentado o gráfico de Pareto dos efeitos considerados no modelo de alongação na ruptura e na Figura 8 o gráfico de Pareto para a resistência máxima à tração. Os modelos matemáticos obtidos para descrever as propriedades de alongação na ruptura e resistência máxima à tração estão apresentados nas Equações (7) e (8).

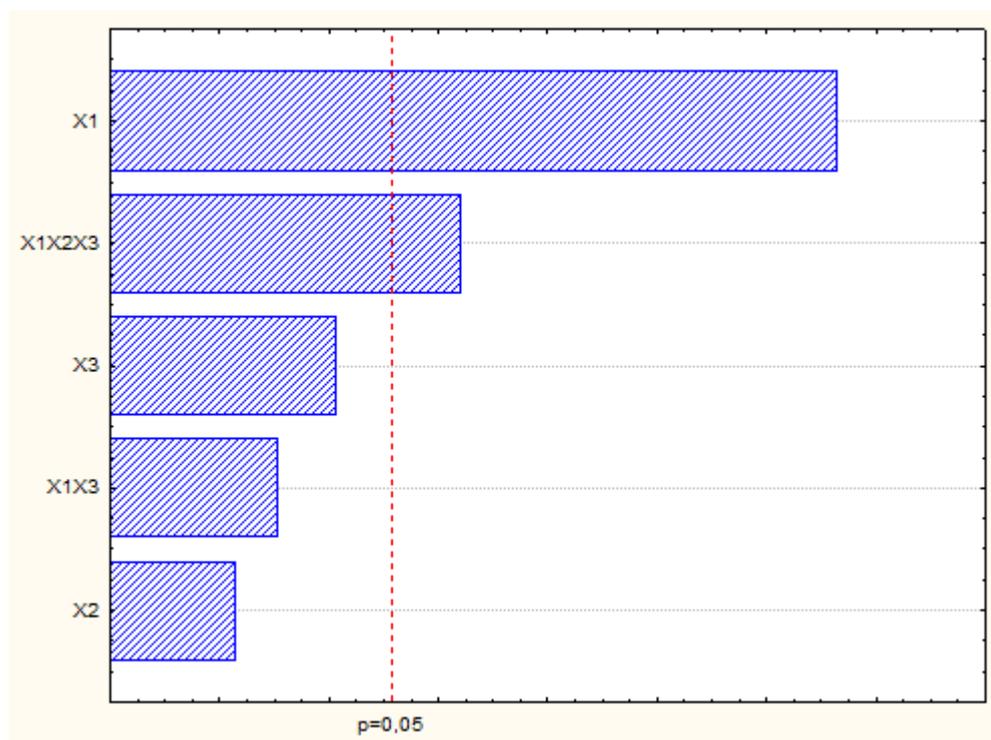


Figura 7. Gráfico de pareto para os coeficientes do modelo de Alongação na ruptura ($E\%$) (X1- pectina, X2- polpa de chuchu e X3- óleo de canela).

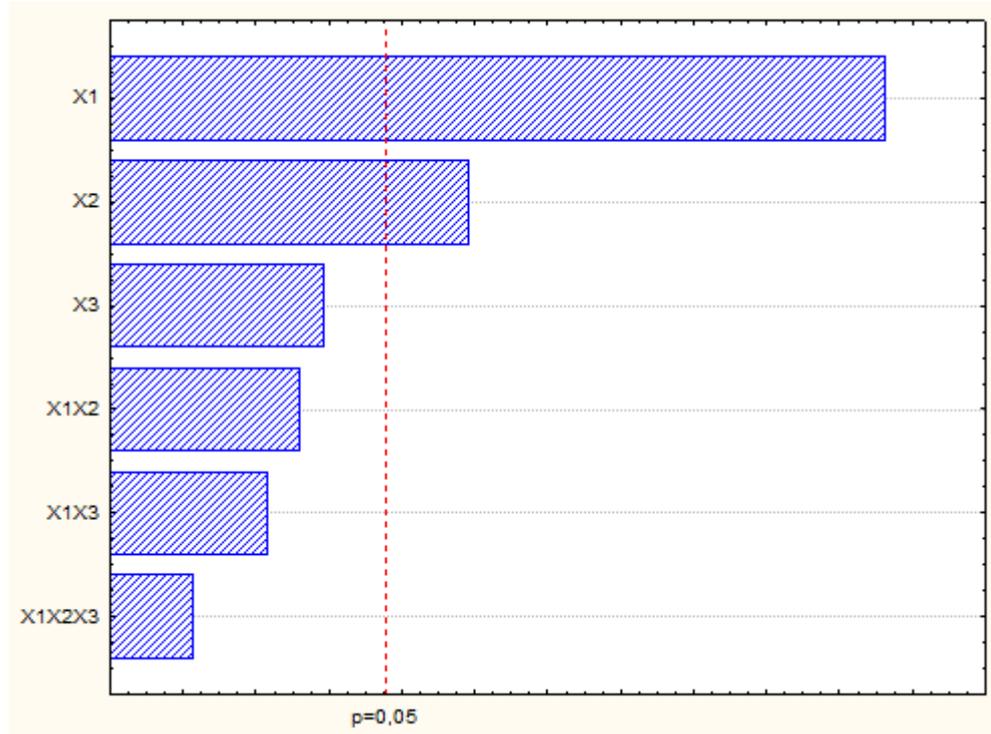


Figura 8. Gráfico de pareto para os coeficientes do modelo de resistência máxima à tração ($R_{máx}$) (X1- pectina, X2- polpa de chuchu e X3- óleo de canela).

$$E\% = 22,4997. X1 + 3,5564. X2 + 6,9519. X3 - 28,3289. X1. X3 + 341,1169. X1. X2. X3$$

Equação (7).

$$RT = 24,2992. X1 + 10,7916. X2 + 4,7902. X3 - 19,7060X1. X2 - 18,0880. X1. X3 - 73,0285. X1. X2. X3$$

Equação (8).

Os gráficos de Pareto (Figuras 7 e 8) demonstram a ordem dos fatores de maior para menor significância para as duas propriedades avaliadas. No caso da Elongação na Ruptura (E%) percebe-se que o fator de maior significância a afetar a propriedade é a pectina (X1), seguida da interação ternária dos componentes (X1X2X3). Elongação na Ruptura (E%) é uma propriedade mecânica, que dá informações sobre a forma como o material pode deformar-se antes da ruptura. Se o material destina-se a aplicações de embalagem de alimentos, alguma deformação é necessária antes de fraturar. Altos valores E% sugerem boa flexibilidade, extensibilidade e resistência devido à coesão entre as cadeias poliméricas (LOREVICE et al.,

2016). De acordo com Bonnaillie et al., (2014) a pectina pode apresentar arranjos moleculares diferentes em função da composição do filme, devido as interações com estes, favorecendo as propriedades mecânicas.

Apesar do fator óleo de canela (X3) não ter apresentado função significativa na alongação dos filmes, este apresenta função importante na plastificação dos mesmos. Otoni et al., (2014) também produziram filmes de pectina contendo óleo de canela e purê de mamão e não observaram efeito significativo da presença do óleo na alongação dos filmes. No presente trabalho possivelmente a função plastificante do óleo ficou interligada à complexidade da composição da mistura, por isso o efeito de interação ternária (X1X2X3) apresentou-se importante para a propriedade em questão. De acordo com diversos autores (SHOJAEI-ALIABADI et al., 2013; AGUIRRE et al., 2013; FERRI et al., 2016) a presença do óleo de canela permite que haja maior capacidade de alongamento, ou seja, maior mobilidade das cadeias da pectina na matriz polimérica. Shojaei-Aliabadi et al., (2013) produziram filmes de κ -carragena contendo óleo essencial de *Satureja hortensis* e Aguirre et al., (2013) que produziram filmes de proteína de triticale contendo óleo essencial de orégano. De acordo com os autores a presença de óleo essencial na solução de formação de película pode ter interferido com interações entre as proteínas de triticale, reduzindo as forças intermoleculares ao longo das cadeias de polímero, melhorando a mobilidade e flexibilidade cadeia. Assim, óleo essencial de orégano pode atuar como um plastificante aumentando a E% dos filmes. Outro ponto a ser destacado para a importância do fator de interação ternária (X1X2X3) é a configuração da pectina na estrutura polimérica, sendo dependente da composição total devido às interações intermoleculares (BONNAILLIE et al., 2014).

No caso da resistência máxima à tração os dois fatores que influenciaram de forma significativa o comportamento da propriedade foram a pectina (X1) e a polpa de chuchu (X2). Otoni et al., (2014) produziram filmes de pectina adicionados de óleo de canela e purê de papaya e observaram que a adição do purê da fruta reduziu significativamente a resistência à tração e aumentou a alongação dos filmes. No caso do presente trabalho a polpa de chuchu aumentou significativamente a resistência máxima à tração. Esse efeito provavelmente se deve à composição fibrosa da polpa de chuchu permitindo que o material se comportasse como um compósito. De acordo com Encalada et al., (2016) filmes podem ser obtidos através da adição de fibras de origem vegetal, tais como fruta, purê ou de celulose, para modificar as propriedades mecânicas e de barreira dos filmes. Os mesmos autores produziram filmes de pectina com fibras de cenoura e observaram que o tamanho das fibras de cenoura influenciava

significativamente as propriedades mecânicas. Fibras menores levaram a uma diminuição da alongação e a filmes com características mais frágeis (menor resistência à tração). Os autores comentam que acima da temperatura de transição vítrea (T_g), a propagação da fissura, que culmina com ruptura do material pode ser fortemente influenciada pela presença das fibras. A T_g da pectina fica em torno de -68°C , então nas condições de análise esta condição é certamente alcançada. No caso do presente trabalho o efeito positivo da polpa de chuchu (X2) na resistência à tração deve-se provavelmente a um tamanho de fibras adequado para manter o material sem que a propagação da fissura se dê de forma a perder resistência. Uma análise de microestrutura do material poderia corroborar com as informações discutidas acima.

As superfícies de resposta obtidas para os modelos apresentados nas Equações (7) e (8) estão apresentadas nas Figuras (9) e (10) respectivamente.

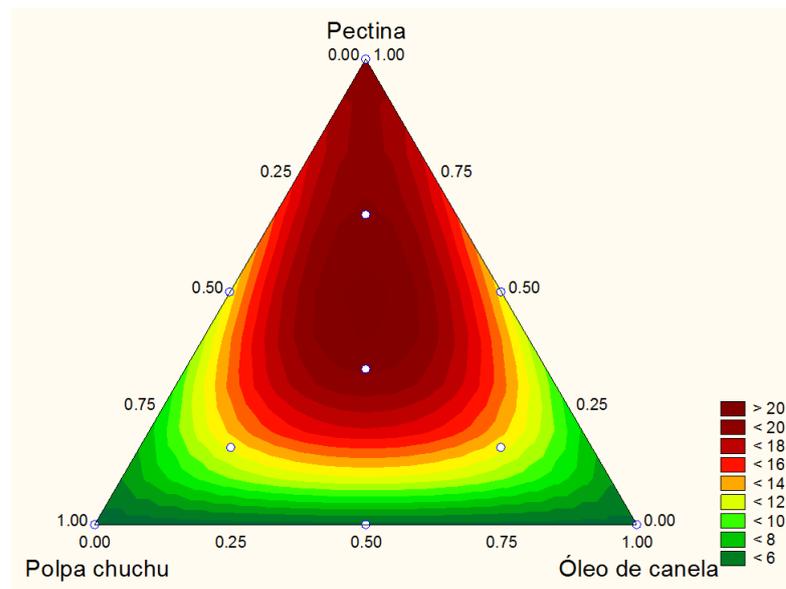


Figura 9. Superfície de resposta obtida para o modelo matemático de alongação na ruptura (E%).

Pode-se observar na Figura 9 que o material teve sua alongação fortemente aumentada quando maiores proporções de pectina foram utilizadas, como já descrito anteriormente (Figura 5). O efeito da interação ternária se destaca na Figura pela região ovalada na parte central superior, indicando a complexidade do sistema em relação à alongação.

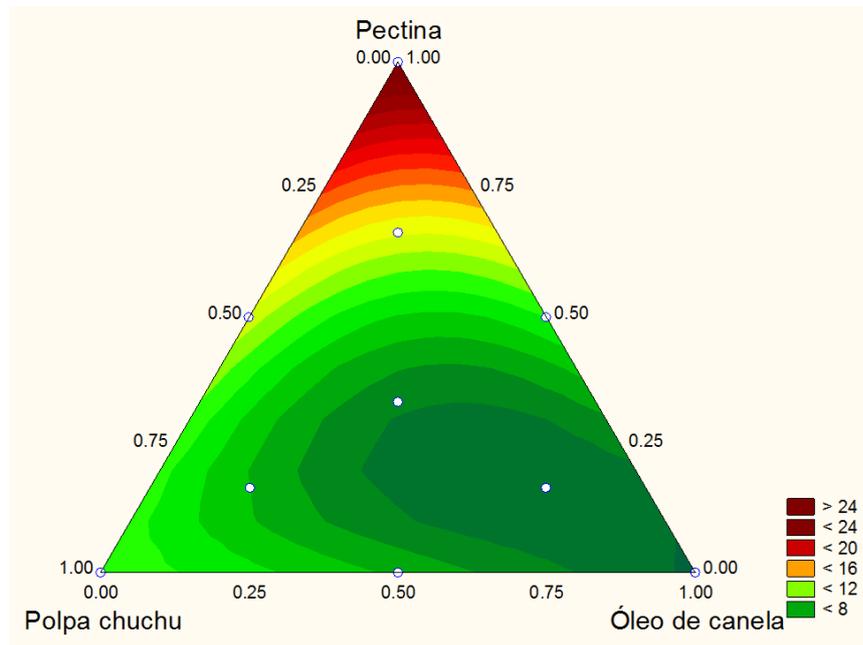


Figura 10. Superfície de resposta obtida para o modelo matemático de resistência máxima à tração ($R_{máx}$).

Já na Figura 10 é possível perceber que a região em que a Resistência à Tração encontra valores maiores está restrita à região experimental que compreende proporções de pectina acima de 75% e polpa de chuchu até 25%.

5.1. ATIVIDADE ANTIMICROBIANA

Uma formulação de filme foi escolhida para avaliação da atividade antimicrobiana frente a um microrganismo Gram-positivo (*Staphylococcus aureus*) e frente a um microrganismo Gram-negativo (*Escherichia coli*). Os resultados obtidos para a avaliação da formulação 4 estão apresentados nas Figuras 11 e 12 e indicam halos de inibição de 7 mm para *Staphylococcus aureus* e 4 mm para *Escherichia coli*, respectivamente.



Figura 11. Imagem da placa utilizada para avaliação da atividade antimicrobiana da formulação 4 frente a *Staphylococcus aureus*.

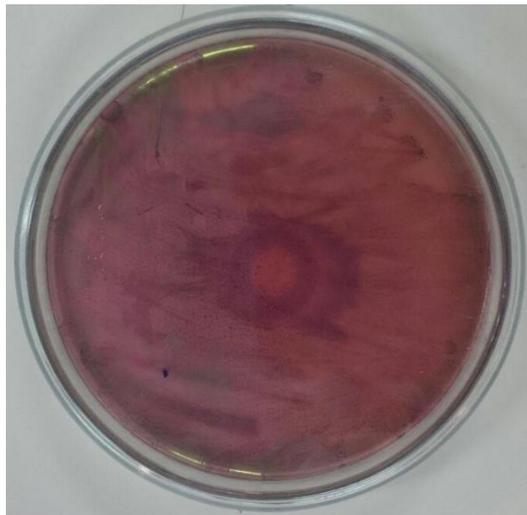


Figura 12. Imagem da placa utilizada para avaliação da atividade antimicrobiana da formulação 4 frente a *Escherichia coli*.

Chao et al. (2000), ao avaliar o efeito antimicrobiano de 45 óleos essenciais sobre oito bactérias (quatro Gram-positivas e quatro Gram negativas), constatou que todos os óleos possuem poder de inibição, porem dentre os óleos que apresentaram alta atividade antimicrobiana e maior gama de inibição esta o obtido da canela (*Cinnamomum zeylanicum*). Pesquisando cepas das bactérias *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 e *Escherichia coli*

ATCC 25992, Freire (2008) também observou a atividade inibitória do óleo essencial de canela (*Cinnamomum zeylanicum*) sobre o crescimento das bactérias em estudo.

Também foi relatada a atividade antimicrobiana do chuchu (*Sechium edule*) contra bactérias Gram negativas em estudos de Sibi et al. (2013) que verificou grande atividade inibitória contra todas as bactérias Gram negativas testadas com vasta gama de diâmetro de zona de inibição (6,7-16,7 mm).

6. CONCLUSÃO

Neste trabalho foi possível produzir filmes de pectina incorporados com óleo de canela e polpa de chuchu (*Sechium edule*) através da aplicação de um planejamento simplex centroid.

Os modelos matemáticos descreveram a influência da composição do filme nas respostas Elongação na Ruptura e Resistência a Tração adequadamente. Já o modelo para o Módulo de Young não apresentou ajuste, possivelmente em função de problemas a determinação da fase de comportamento elástico das amostras. A pectina teve influência significativa tanto na Elongação na Ruptura quanto na Resistência à Tração. A interação ternária mostrou comportamento inverso nas duas respostas, proporcionando características diferenciadas para os materiais formulados em função da composição. À medida que a Resistência à Tração diminui e a Elongação na Ruptura aumenta podem ser produzidos materiais de maior ductilidade, ou ao contrário com a redução de Elongação na Ruptura e aumento da Resistência à Tração caracterizam-se materiais frágeis. Este resultado mostra-se de extrema importância para formulação de materiais com propriedades mecânicas específicas que podem ser previstas através dos modelos apresentados.

O filme obtido pela formulação 4 proporcionou resultados satisfatórios como agente antimicrobiano, formando halo inibitório para os microrganismos *Staphylococcus aureus* e *Escherichia coli*.

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AGUIRRE, A.; BORNEO, R.; LEÓN, A. E. Antimicrobial, mechanical and barrier properties of triticale protein films incorporated with orégano essential oil. **Food Bioscience**, v. 1, p. 2-9, 2013.
- AJILA, C. M.; PRASADA RAO U. J. Protection against hydrogen peroxide induced oxidative damage in rat erythrocytes by *Mangifera indica* L. peel extract. **Food and Chemical Toxicology**, v. 46, p. 303-309, 2007.
- ANDRADE, M. A. Óleos essenciais de *Cinnamomum zeylanicum*, *Cymbopogon nardus* e *Zingiber officinale*: caracterização química, atividade antioxidante e antibacteriana. **Dissertação de Mestrado** – Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2010.
- ANDRADE, M. A.; CARDOSO, M. G; BATISTA, L. R. MALLETT, A. C. T.; MACHADO, S. M. F. M. Óleos essenciais de *Cymbopogon nardus*, *Cinnamomum zeylanicum* e *Zingiber officinale*: composição, atividades antioxidante e antibacteriana. **Revista Ciência Agronômica**, v. 43, n. 2, p. 399-408, 2012.
- ASSIS, C. P. O. Toxicidade de óleos essenciais sobre *Tyrophagus putrescentiae* (Schrank) e *Suidasia pontifica* Oudemans (acari: astigmata). **Dissertação de Mestrado**. Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife, 2010.
- AXELOS, M.A.V.; THIBAUT, J.F. The chemistry of low methyl pectin. In: WALTER, R. H. (Eds.). **The Chemistry and Technology of Pectin**. New York: Academic Press, v. 6, p. 109-118, 1991.
- AYALA-ZAVALA, J. F.; SILVA-ESPINOZA, B. A.; CRUZ-VALENZUELA, M. R.; LEYVA, J. M.; ORTEGA-RAMÍREZ, L. A.; CARRAZCO-LUGO, D. K.; MIRANDA, M. R. A. Pectin–cinnamon leaf oil coatings add antioxidant and antibacterial properties to fresh-cut peach. **Flavour and Fragrance Journal**, v. 28, n. 1, p. 39-45, 2013.
- AZEREDO, H. M. C.; MATTOSO, L. H. C.; WOOD, D.; WILLIAMS, T. G.; AVENABUSTILLOS, R. J.; McHUGH, T. H. Nanocomposite edible films from mango puree reinforce with cellulose nanofibers. **Journal of Food Science**, v. 74, n. 5, p. N31-N35, 2009.

AZEREDO, H. M.; MIRANDA, K. W.; ROSA, M. F.; NASCIMENTO, D. M.; DE MOURA, M. R. Edible films from alginate-acerola puree reinforced with cellulose whiskers. **LWT-Food Science and Technology**, 46(1), 294-297, 2012.

BAKKALI, F., AVERBECK, S., AVERBECK, D., IDAOMAR, M. Biological effects of essential oils: a review. **Food Chemistry Toxicology**, v. 46, p. 446-475, 2008.

BARROS-NETO, B.; SCARMINIO, I. S.; BRUNS, R. E. **Planejamento e otimização de experimentos**. Unicamp, Campinas, 2010.

BERTAN, L. C. Desenvolvimento e caracterização de filmes simples e compostos à base de gelatina, ácidos graxos e breu branco. **Dissertação de Mestrado**. Universidade Estadual de Campinas, Faculdade de Engenharia de Alimentos, Campinas, 2003.

BONNAILLIE, L. M.; ZHANG, H.; AKKURT, S.; YAM, K. L.; TOMASULA, P. M. Casein films: The effects of formulation, environmental conditions and the addition of citric pectin on the structure and mechanical properties. **Chemistry Polymers**, v. 6, p. 2018-2036, 2014.

BRASIL. MINISTÉRIO DA SAÚDE, Secretaria de Vigilância Sanitária. **Resolução 104/99, de 26/04/1999**. Diário Oficial da República Federativa do Brasil, 14/05/99, 1999.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Farmacopéia Brasileira**. Brasília: Anvisa, v. 2, 5 ed. p. 718-723, 2010.

BUREAU, G.; MULTON, J. L. **Embalaje de los alimentos de gran consume**. Editora Acríbia S.A., v. 22, p. 331-371. 1995.

CABELLO, S. D. P.; TAKARA, E. A.; MARCHESE, T. J.; OCHOA, N. A. Influence of plasticizers in pectin films: Microstructural changes. **Materials Chemistry and Physics**, v. 162, p. 491-497, 2015.

CASTRO, R. D. Atividade antifúngica do óleo essencial *Cinnamomum zeylanicum Blume* (canela) e sua associação com antifúngicos sintéticos sobre espécies de cândida. **Dissertação de Mestrado**. Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa, 2010.

CHAO, S. C.; YOUNG, D. G.; OBERG, C. J. Screening for inhibitory activity of essential oils on selected bacteria, fungi and viruses. **Journal of Essential Oil Research**, v. 12, n. 5, p. 639-649, 2000.

NCCLS. **Methods for dilution antimicrobial susceptibility tests for bacteria that grow aerobically: Approved Standard** – 6ª edição, documento NCCLS M7-A6, v. 23, n.2, USA, 2003.

CORNELL, J. A. **Experiments with mixture: Designs, models, and the analysis of mixture data**. Editora John Wiley & Sons, 3ªed., Nova York, 2002.

DIAS, V. L. N. Fitodisponibilidade de metais, caracterização nutricional, constituição química, avaliação da atividade antioxidante e antibacteriana do óleo essencial extraído das folhas da *Cinnamomum zeylanicum Breyn*. **Dissertação de Mestrado**. Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa ,2009.

DU, W. X.; AVENA-BUSTILLOS, R. J.; WOODS, R.; BREKSA, A. P.; McHUGH, T. H.; FRIEDMAN, C.; LEVIN, C. E.; MANDRELL, R. Sensory evaluation of baked chicken wrapped with antimicrobial apple and tomato edible films formulated with cinnamaldehyde and carvacrol. **Journal of Agriculture and Food Chemistry**, v. 60, n. 32, p. 7799-7804, 2012.

EÇA, K. S. Development of active films from pectin and fruit extracts: Light protection, antioxidant capacity, and compounds stability. **Journal of food science**, v. 80, n. 11, p. C2389-C2396, 2015.

ENCALADA, A. M. I.; BASANTA, M. F.; FISSORE, E. N.; De'NOBILI, M. D.; ROJAS, A. M. Carrot fiber (CF) composite films for antioxidant preservation: Particle size effect. **Carbohydrate Polymers**. v. 136, p. 1041-1051, 2016

ESPETIA, P. J. P.; DU, W. X.; AVENA-BUSTILLOS, R. J.; SOARES, N. F. F.; McHUGH, T. H. Edible films from pectin: Physical-mechanical and antimicrobial properties. **Food Hydrocolloids**, v. 35, p. 287-296, 2014.

FERRI, J. M.; SAMPER, M. D.; GARCIA-SANOGUEIRA, D.; REIG, M. J.; FENOLLAR, O.; BALART, R. Plasticizing effect of biobased epoxidized fatty acid esters on mechanical and thermal properties of poly(lactic acid). **Journal Mater Science**, v. 51, p. 5356-5366, 2016.

FREIRE, J. M. Óleos essenciais de canela, manjerona e anis-estrelado: caracterização química e atividade biológica sobre *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Aspergillus flavus* e *Aspergillus parasiticus*. **Dissertação de Mestrado** – Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2008.

GALLO, J. A. Q.; DEBEAUFORT, F.; CALLEGARIN, F.; VOILLEY, A. Lipidic hydrophobic, physical state and distribution effects on the properties of emulsion-based films. **Journal Member Science**, v. 180, n. 1, p. 37- 46, 2000.

GALUS, S.; LENART, A. Development and characterization of composite edible films based on sodium alginate and pectin. **Journal of Food Engineering**, v. 115, p. 459-465, 2013.

GORDON E. A.; GUPPY L. J.; NELSON M. The antihypertensive effects of the Jamaican Cho-Cho (*Sechium edule*). **West Indian Med J**, v. 49, p. 27-31, 2000.

HANDA, C. L.; LIMA, F. S.; GUELFY, M. F. G.; GEORGETTI, S. R.; IDA, E. L. Multi-response optimisation of the extraction solvent system for phenolics and antioxidant activities from fermented soy flour using a simplex-centroid design. **Food Chemistry**, v. 197, p. 175-184, 2016.

JAIN, A.; GUPTA, Y.; JAIN, S. K. Perspectives of biodegradable natural polysaccharides for site-specific drug delivery to the colon. **Journal of Pharmacy & Pharmaceutical Sciences**, v. 10, n. 1, p. 86-128, 2007.

JAYAPRAKASHA, G. K.; RAO, L. J. M.; SAKARIAH, K. K. Volatile constituents from *Cinnamomum zeylanicum* fruit stalks and their antioxidant activities. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, n. 51, p. 4344–4348, 2003.

JEAUROUND, E. et al. Supplementation of diets with herbal extracts enhances growth performance in newly-weaned piglets. **Journal of Animal Science**, v.20, n.1, p.394, 2002.

JO, C.; KANG, H.; LEE, N. Y.; KWON, J. H.; BYUN, M. W. Pectin-and gelatin-based film: effect of gamma irradiation on the mechanical properties and biodegradation. **Radiation Physics and Chemistry**, v. 72, p. 745-750, 2005.

KAR, F.; ARSLAN, N. Effect of temperature and concentration on viscosity of orange peel pectin solutions and intrinsic viscosity-molecular weight relationship. **Carbohydrate Polymers**, v. 40, p. 277-284, 1999.

KHALIL, A. H. P. S.; MAHAYUNI, R. A. R.; BHAT, I. U. H.; RUDI, D.; ALMULALI, M. Z.; ABDULLAH, C. K. Characterization of various organic waste nanofillers obtained from oil palm ash. **BioResources**, v. 7, n. 4, p. 5771-5780, 2012.

KOKETSU, M.; GONÇALVES, S. L.; GODOY, R. L. O. The bark and leaf essential oils of cinnamon (*Cinnamomum verum* Presl) grown at Paraná, Brazil. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 17, n. 3, p. 281-285, 1997.

LOREVICE, M. V.; OTONI, G. C.; MOURA, M. R.; MATTOSO, L. H. C. Chitosan nanoparticles on the improvement of thermal, barrier, and mechanical properties of high- and low-methyl pectin films. **Food Hydrocolloids**. v. 52, p. 732-740, 2016.

MARINIELLO, L.; DI PIERRO, P.; ESPOSITO, C.; SORRENTINO, A.; MASI, P.; PORTA, R. Preparation and mechanical properties of edible pectin-soy flour films obtained in the absence or presence of transglutaminase. **Journal of Biotechnology**, V. 102, P. 191-198, 2003.

MARTELLI, M. R.; BARROS, T. T.; MOURA, M. R.; MATTOSO, L. H. C.; ASSIS, O. B.G. Effect of chitosan nanoparticles and pectin content on mechanical properties and water vapor permeability of banana puree films. **Journal of Food Science**, v. 78, n. 1, p. 98-104, 2013.

MARTINS-RAMOS, D.; BORTOLUZZI, R. L. C.; MANTOVANI, A. Plantas medicinais de um remascente de Floresta Ombrófila Mista Altomontana, Urupema, Santa Catarina, Brasil. **Revista brasileira de Plantas Mediciniais de Botucatu**, 12(3), 380-397, 2010.

MIN, S.; KROCHTA, J. M. **Ascorbic acid containing whey protein film coatings for control of oxidation**. J. Agric Food Chem, v. 55, p. 2964-2969, 2007.

MONTGOMERY, D. C. **Introduction to statistical quality control**. Editora: Jhon Wiley & Sons, 5ª edição, Nova York, 2005.

MONTGOMERY, D. C.; PECK, E. A.; VINING, G. G. **Introduction to linear regression analysis**. Editora: Jhon Wiley & Sons, 5ª edição, Nova York, 2012.

MOTA, R. D. P. **Elaboração e Caracterização de Filmes Biodegradáveis Através de Blenda Polimérica de Amido de Lírio-do-brejo (*Hedychium Conorarium*) e de Amido Fruto-do-lobo (*Sonolum Lycocarpum St. Hill*)**. **Dissertação de mestrado**. Universidade Estadual de Goiás, 2009.

MOURA, M. R.; SOUZA, J. R.; MATTOSO, L. H. C. Preparação de novos nanobiocompósitos comestíveis ativos contendo nanoemulsão de canela e pectina. **Revista Polímeros**. São Carlos v. 24, n. 4, p. 486-490, 2014.

ORDOÑEZ, A. A. L.; GOMEZ, J. D.; CUDMANI, N.; VATTUONE, M.; ISLA, M. I. Antimicrobial activity of nine extracts of *Sechium edule* (Jacq.) Swartz. Microbial ecology in health and disease. **Food Chemistry**, v.80, p. 33–39, 2003.

ORDOÑEZ, A. A. L.; GOMEZ, J. D.; VATTUONE, M. A.; ISLA, M.I. Antioxidant activities of *Sechium edule*. **Food Chemistry**. v. 97, p. 452-458. 2006.

OTONI, C. G.; MOURA, M. R.; AOUADA, F. A.; CAMILLOTO, G. P.; CRUZ, R. S.; LOREVICE, M. V.; SOARES, N. F. F.; MATTOSO, L. H. C. Antimicrobial and physical-mechanical properties of pectin/papaya puree/cinnamaldehyde nanoemulsion edible composite films. **Food Hydrocolloids**, v. 41, p. 188-194, 2014.

PELLISSARI, F. M.; YAMASHITA, F.; GARCIA, M. A.; MARTINO, M. N.; ZARITZKY, N. E.; GROSSMANN, M. V. E. Constrained mixture design applied to the development of cassava starch-chitosan blown films. **Journal of Food Engineering**, v. 108, p. 262-267, 2012.

PEREIRA, M. C.; VILELA, G. R. COSTA, L. M. A. S.; SILVA, R. F.; FERNANDES, A. F.; FONSECA, E. W. N.; PICOLLI, R. H. Inibição do desenvolvimento fúngico através da utilização de óleos essenciais de condimentos. **Ciências e Agrotecnologia**, Lavras. v. 30, n. 4, p. 731-738, 2006.

RAO, P. V.; BARAL, S. S. Experimental design of mixture for the anaerobic co-digestion of sewage sludge. **Chemical Engineering Journal**, v. 172, p. 977-986, 2011.

REIS, J. B. Estudo analítico, avaliação da toxicidade e atividade moluscicida do óleo essencial *Cinnamomum Zeylanicum* Blume (canela) frente ao caramujo *Biomphalaria glabrata*. **Dissertação de Mestrado**. São Luís: Universidade Federal do Maranhão, 2012.

ROLIN, C.; NIELSEN, B. U.; GLAHN, P. E. Properties and food uses of pectin fractions. **Carbohydrate Polymers**, v. 12, p. 79-99, 1996.

ROBERTSON, G. L. **Food packaging: Principles and Practice**. Boca Raton - FL: CRC Press, 2006. 550 p.

SARANTÓPOULOS, C.I.G.L.; MORAES, B.B. Embalagens Ativas e Inteligentes para Frutas e Hortaliças. **ITAL - Instituto de Tecnologia de Alimentos**, v. 21, n.1, 2009.

SHOJAEE-ALIABADI, S.; HOSSEINI, H.; MOHAMMADIFAR, M. A.; MOHAMMADI, A.; GHASEMLOU, M.; OJAGH, S. M.; HOSSEINI, S. M.; KHAKSAR, R. Characterization of antioxidante-antimicrobial k-carrageenan films containing *Satureja hortensis* essential oil. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 52, p. 116-124, 2013.

SIBI, G.; KAUSHIK, K.; DHANANJAYA, K.; RAVIKUMAR, K. R.; MALLESHA, H. Antibacterial activity of *Sechium edule* (jacq.) Swartz against gram negative food borne bacteria. **Advances in Applied Science Research**, v. 4, n. 2, p. 259-261, 2013.

SILVA, M. A.; BIERHALZ, C. K.; KIECKBUSCH, T. G. Alginate and pectin composite films crosslinked with Ca^{2+} ions: effect of the plasticizer concentration. **Carbohydrate Polymers**, v.77, p. 736-742, 2009.

SILVA, J. P. L.; ALMEIDA, J. M. D.; PEREZ, D. V.; FRANCO, B. D. G. de M. Óleo essencial de orégano: interferência da composição química na atividade frente a *Salmonella enteritidis*. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas. v.30, p.136-141, 2010.

SINHA, V.; KUMRIA, R. Polysaccharides in colon-specific drug delivery. **International journal of pharmaceutics**, v. 224, n. 1, p. 19-38, 2001.

SOARES, N. F. F.; PIRES, A. C. S.; ENDO, E.; VILELA, M. A. P.; SILVA, A. F.; FONTES, E. A. F.; MELO, N. R. Desenvolvimento e avaliação de filme ativo na conservação de batata minimamente processada. **Revista Ceres**, Viçosa. v. 53, n. 307, p. 387-393, 2006.

SPANEMBERG, F. E. M. Planejamento de experimentos com mistura no estudo da vida útil de balas duras. **Dissertação de Mestrado**. Universidade Metodista de Piracicaba, Santa Barbara D'Oeste, 2010.

SOARES, N.F.F.; SILVA, W.A.; PIRES, A.C.S; CAMILLOTO, G.P.; SILVA, P.S. Novos desenvolvimentos e aplicações em embalagens de alimentos. **Revista Ceres**. 56(4), 370-378, 2009.

SOUZA, C. O. Preparação, caracterização e avaliação da eficácia de biofilmes a base de fécula de mandioca (*Manihot esculenta Crantz*) e incorporados compolpas de manga

(*Mangifera indica L*) e de acerola (*Malpighia emarginata L*) como aditivos antioxidantes. **Dissertação de Mestrado**. Universidade Federal da Bahia, Salvador, 2010.

UNICAMP- Tabela brasileira de composição de alimentos / NEPA – UNICAMP.- 4. ed. rev. e ampl. -- Campinas: NEPA- UNICAMP, 2011. 161 p.

TANG, X. Z.; KUMAR, P.; ALAVI, S.; SANDEEP, K. P. Recent advances in biopolymers and biopolymer-based nanocomposites for food packaging materials. **Critical reviews in food science and nutrition**, 52(5), 426-442, 2012.

THAKUR, B.R.; SINGH, R.K.; HANDA, A.K. Chemistry and uses of pectin – a review. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v. 37, n. 1, p. 47-73, 1997.

THARANATHAN, R. N. Biodegradable films and composite coatings: past, present and future. **Trends in Food Engineering**, v. 14, p. 71-78, 2003.

TRIPATHI, S.; MEHROTRA, G. K.; DUTTA, P. K. Preparation and physicochemical evaluation of chitosan/poly(vinyl alcohol)/pectin ternary film for food-packaging applications. **Carbohydrate Polymers**, v. 79, p. 711-716, 2010.