

UNIVERSIDADE TECNOLÓGICA FEDERAL DO PARANÁ
PPGTA- PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM TECNOLOGIA DE
ALIMENTOS
NÍVEL MESTRADO ACADÊMICO

GISLAINE FRANCO LEMES

**CARACTERIZAÇÃO REOLÓGICA DE SOLUÇÕES
FILMOGÊNICAS E SUA APLICAÇÃO NA QUALIDADE PÓS-
COLHEITA DE UVAS**

Dissertação

CAMPO MOURÃO

2016

GISLAINE FRANCO LEMES

**CARACTERIZAÇÃO REOLÓGICA DE SOLUÇÕES
FILMOGÊNICAS E SUA APLICAÇÃO NA QUALIDADE PÓS-
COLHEITA DE UVAS**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Tecnologia de Alimentos (PPGTA), da Universidade Tecnológica Federal do Paraná (UTFPR), como parte dos requisitos para obtenção do título de mestre em Tecnologia de Alimentos.

CAMPO MOURÃO

2016

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação

L552c Lemes, Gislaine Franco

Caracterização reológica de soluções filmogênicas e sua aplicação na qualidade pós-colheita de uvas / Gislaine Franco Lemes – 2016.
86 f. : il. ; 30 cm.

Orientadora: Fernanda Vitória Leimann.

Coorientadora: Angela Maria Gozzo.

Dissertação (Mestrado) – Universidade Tecnológica Federal do Paraná. Programa de Pós-Graduação em Tecnologia de Alimentos. Campo Mourão, 2016.

Inclui bibliografias.

1. Uva - Cultivo. 2. Cúrcuma. 3. Alimentos – Dissertações. I. Leimann, Fernanda Vitória, orient. II. Gozzo, Angela Maria, coorient. III. Universidade Tecnológica Federal do Paraná. Programa de Pós-Graduação em Tecnologia de Alimentos. IV. Título.

CDD: 664

Biblioteca Câmpus Medianeira
Marci Lucia Nicodem Fischborn CRB 9/1219

TERMO DE APROVAÇÃO

CARACTERIZAÇÃO REOLÓGICA DE SOLUÇÕES FILMOGÊNICAS E SUA APLICAÇÃO NA QUALIDADE PÓS-COLHEITA DE UVAS

Por:

GISLAINE FRANCO LEMES

Esta dissertação foi apresentada às quatorze horas do dia vinte e um de março de dois mil e dezesseis, como requisito para obtenção do título de Mestre em Tecnologia de Alimentos, Linha de Pesquisa Processos Tecnológicos na Indústria de Alimentos, pelo Programa de Pós-Graduação em Tecnologia de Alimentos, da Universidade Tecnológica Federal do Paraná. A candidata foi arguida pela Banca Examinadora composta pelos professores abaixo assinados. Após deliberação, a Banca Examinadora considerou o trabalho aprovado.

Profa. Dra. Fernanda Vitória Leimann (Orientadora – PPGTA)

Prof. Dr. Bogdan Demczuk Junior (DALIM- UTFPR)

Profa. Dra. Lyssa Setsuko Sakanaka (UTFPR- Londrina)

Orientadora

Professora Dra. Fernanda Vitória Leimann

Coorientadora

Professora Dra. Angela Maria Gozzo

*Dedico este trabalho a Deus, autor de
minha vida.*

*Aos meus amados pais José e Eunice
que se dedicaram a minha educação e
formação pessoal e profissional. A minhas
irmãs Jacqueline e Mayra, meu tio Natanael
e meu companheiro Ildevan que estiveram
presentes nesta jornada.*

*E em especial às queridas
professoras Fernanda e Angela, pacientes e
dedicadas que Deus colocou em meu
caminho.*

AGRADECIMENTOS

Obrigada a Deus, por ser essencial em minha vida, autor de meu destino, meu guia, socorro presente na hora da angústia.

Meus sinceros agradecimentos às minhas orientadoras Fernanda Vitória Leimann e Angela Maria Gozzo e a minha companheira de pesquisa Nicolli Grecco Marchiori, que com competência e profissionalismo se dedicaram para que esta pesquisa fosse concluída.

Minha eterna admiração aos meus pais, José e Eunice, exemplos de ensinamentos, educação e amor para suas filhas. Às minhas irmãs Jacqueline e Mayra e meu tio Natanael, que me ensinam diariamente a ter perseverância e buscar por meus objetivos.

Ao meu amado companheiro e melhor amigo, Ildevan Junior, por me acalantar durante os momentos difíceis dessa trajetória e por vivenciar comigo todas as superações.

Toda admiração ao meu grupo de amigos: Anderson, Karla, Genivaldo, Greyce, Thiago, Jenefer, Elton e Cristiane, por todo incentivo e garantir momentos de descontração e de verdadeira amizade.

RESUMO

A produção de uvas no Brasil é uma atividade rentável, porém são necessários tratamentos pós-colheita, já que esta apresenta susceptibilidade à desidratação e infecções causadas por patógenos. Estes problemas podem ser evitados pelo tratamento com compostos como a curcumina, proveniente da *Curcuma longa*, que possui atividade antimicrobiana reconhecida, e o propionato de cálcio (CaP), amplamente usado na panificação e que pode também prevenir a maturação prematura das uvas pela reposição de íons Ca^{+2} . Neste estudo, o efeito de revestimentos comestíveis compostos por gelatina enzimaticamente reticulada adicionados de CaP e curcumina nanoencapsulada em zeína foram caracterizados quanto as propriedades reológicas e de textura bem como seu efeito nas características de qualidade da uva Benitaka recoberta. Nanopartículas de zeína contendo curcumina foram sintetizadas por nanoprecipitação e apresentaram eficiência de encapsulação de $96,0 \pm 1,5\%$, diâmetro médio em intensidade de 585 ± 45 nm (Espalhamento Dinâmico de Luz) e geometria esférica (Microscopia Eletrônica de Transmissão). Também foram caracterizadas por Calorimetria Diferencial de Varredura e Espectroscopia de Infravermelho por Transformada de Fourier (FTIR) confirmando a encapsulação. A influência destas nanopartículas e do CaP nas propriedades reológicas e de textura dos hidrogéis de gelatina foi avaliada para caracterizar a solução filmogênica a ser aplicada na superfície das uvas. As propriedades reológicas mostraram que o hidrogel de gelatina apresenta baixa energia de ativação e comportamento pseudoplástico, confirmados pelos modelos matemáticos (Lei da Potência, Herschel-Bulkley, Casson e Mizraki-Berk). Também observou-se que as formulações adicionadas de agentes antifúngicos tiveram seu comportamento pseudoplástico aumentado em função de aumento de temperatura confirmado pelo ajuste a Lei da Potência. Um comportamento reopético foi obtido bem como um aumento na viscosidade da mistura quando o tempo de reticulação foi aumentado. Os hidrogéis adicionados de CaP apresentaram maior força de compressão comparados aos com nanopartículas indicando que os íons Ca^{+2} também contribuíram para a rede de proteína formada. Finalmente, os hidrogéis controle (gelatina), contendo CaP e contendo as nanopartículas ($1\%_{p/p}$ em relação a gelatina) foram aplicados nas uvas Benitaka como recobrimento comestível. Os parâmetros de qualidade das uvas (sólidos solúveis, cor, acidez titulável, perda de massa e Análise do Perfil de Textura, TPA) foram avaliados durante 15 dias de armazenamento a $25 \pm 1^\circ\text{C}$. Não foi possível prevenir a perda de massa após 15 dias de armazenamento. Também não houve influência na acidez titulável e sólidos solúveis das uvas. A cor não foi influenciada pelo revestimento a não ser no tratamento contendo as nanopartículas sendo consequência da cor característica da zeína e da curcumina (amarelo). Um aumento na firmeza das uvas foi observado na análise de TPA das amostras recobertas. Um padrão para a mastigabilidade foi mantido para as amostras recobertas quando comparado com as amostras controle (sem recobrimento).

Palavras-chave: Uvas Benitaka. Propriedades reológicas. Análise de Perfil de Textura. Propionato de cálcio. Curcumina.

ABSTRACT

The grape production in Brazil is a profitable activity, but post-harvest treatment are still necessary since grapes show dehydration and infections caused by pathogens susceptibility. These problems can be avoided by treatment with compounds such as curcumin from the *Curcuma longa*, which has antimicrobial activity recognized, and calcium propionate (CaP), widely used in baking and that can also prevent grapes premature ripening with Ca^{+2} replacement. In this study the effect of an edible coating composed of enzymatically cross-linked gelatin added of CaP and curcumin nanoencapsulated in zein was characterized on the rheological and textural properties as well as its effect as an edible coating on Benitaka grape quality characteristics. Zein nanoparticles containing curcumin were synthesized by nanoprecipitation and presented encapsulation efficiency of $96.0 \pm 1.5\%$, average intensity diameter of 585 ± 45 nm (Dynamic Light Scattering) and spherical geometry (Transmission Electron Microscopy). Nanoparticles were also characterized by Differential Scanning Calorimetry and Fourier Transform Infrared Spectroscopy (FTIR) confirming curcumin encapsulation. The influence of these nanoparticles and CaP addition on rheological and textural properties of gelatin hydrogels was evaluated to characterize the filmogenic solution to be applied at grapes surface. The rheological properties showed that gelatin hydrogel has low activation energy and pseudoplastic behavior, confirmed by mathematical models (Power Law, Herschel-Bulkley and Casson). It was also observed that formulations added of antifungal agents presented an increase on pseudoplastic behavior with temperature elevation confirmed by the power law model adjustment. A rheopectic behavior was obtained as well as an increase in mixture viscosity when crosslinking time was increased. Hydrogels added of CaP had higher compressive strength when compared to those with nanoparticles indicating that the Ca^{+2} also contributed to protein network. Finally, control formulation (gelatin), the hydrogel containing CaP as well as the one containing nanoparticles ($1\%_{\text{w/w}}$ related to gelatin) were applied to Benitaka grapes as an edible coating. The quality of the grapes parameters (soluble solids, color, acidity, weight loss and analysis of the texture profile, TPA) were evaluated over 15 days of storage at 25 ± 1 °C. It was not possible to prevent weight loss after 15 days of storage. The treatments also did not present effect on grapes soluble solids and titratable acidity. The color was not affected by the coating with the exception of the treatment containing nanoparticles as a result of the characteristic color of zein and curcumin (yellowish). An increase on grapes firmness was observed in TPA analysis of grape coated samples. A standard for chewiness was maintained for the coated samples compared with control samples (without edible coating).

Key-words: Benitaka Grapes. Rheological properties. Texture profile analysis. Calcium propionate. Curcumin.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Estrutura química do propionato de cálcio.....	25
Figura 2. Estrutura química da curcumina	26
Figura 3. Reação de reticulação de gelatina com TGase	30
Figura 4. Gráfico típico de força por tempo para dois ciclos de compressão para determinação de perfil de textura para amostras. O primeiro pico “1” é a firmeza; a coesividade= Area 2/Area 1; espalhabilidade= Legth 2/Legth 1; resiliência= (Area 1- Area 2)/2; adesividade= Area 3 e mastigabilidade= Firmeza x coesividade x espalhabilidade	34
Figure 5. TEM images of the curcumin-loaded zein nanoparticles.....	49
Figure 6. FTIR spectra of sodium caseinate (NaCas), zein, curcumin, physical mixture (NaCas, zein and curcumin) and curcumin-loaded zein nanoparticles.....	49
Figure 7. DSC thermograms of sodium caseinate (NaCas), zein, curcumin, physical mixture (NaCas, zein and curcumin) and curcumin loaded zein nanoparticles stabilized with NaCas.....	51
Figure 8. Shear stress curves at (a) 25 °C, (b) 30 °C and (c) 35 °C and viscosity curves at (d) 25 °C, (e) 30 °C and (f) 35 °C (G-gelatin control, GR-gelatin crosslinked, GRP- gelatin crosslinked added of CaP and GRN- gelatin crosslinked added of curcumin loaded zein nanoparticles).....	53
Figure 9. Shear stress curves at different crosslinking times a) 8 min; b) 18 min; c) 30 min and viscosity curves d) 8 min; e) 18 min; f) 30 min to 10% gelatin formulations (G-gelatin control, GR-gelatin crosslinked, GRP- gelatin crosslinked added of CaP and GRN- gelatin crosslinked added of curcumin loaded zein nanoparticles).....	56
Figure 10. Texture profiles for gelatin hydrogels (G-gelatin control, GR-gelatin crosslinked, GRP- gelatin crosslinked added of CaP and GRN- gelatin crosslinked added of curcumin loaded zein nanoparticles): (a) 5 wt% gelatin; (b) 10wt% gelatin.....	59
Figura 11. Perda de massa de uvas Benitaka durante 30 dias de armazenamento à 25°C: GR (a), Controle (b), GRP (c) e GRN (d).....	75
Figura 12. Gráficos para perfil de textura de uvas Controle e tratadas com revestimentos a base de GR, GRP e GRP: (A) Firmeza; (B) Mastigabilidade, (C) Gomosidade, (D) Adesividade, (E) Espalhabilidade, (F) Resiliência e (G) Coesividade.....	78

LISTA DE TABELAS

Table 1. Gelatin hydrogel formulations.....	41
Table 2. FTIR absorption bands (cm^{-1}) for zein, NaCas, curcumin, physical mixture and nanoparticles.....	50
Table 3. Parameters of mathematical models at different temperatures to 5% gelatin formulations (G-gelatin control, GR-gelatin crosslinked, GRP- gelatin crosslinked added of CaP and GRN- gelatin crosslinked added of curcumin loaded zein nanoparticles).....	54
Table 4. Parameters of mathematical models at different crosslinking time intervals (10 % wt gelatin formulations: G-gelatin control, GR-gelatin crosslinked, GRP- gelatin crosslinked added of CaP and GRN- gelatin crosslinked added of curcumin loaded zein nanoparticles).....	57
Table 5. Texture analysis profile for hydrogels (5 % wt gelatin).....	59
Table 6. Texture analysis profile for hydrogels (10 % wt gelatin)	60
Tabela 7. Médias obtidas para ângulo de tonalidade (h^0) e saturação (C^*) de uvas sem revestimento comestível (Controle) e revestidas com gelatina reticulada (GR) e contendo propionato de cálcio (GRP) e nanopartículas (GRN).....	76
Tabela 8. Efeito dos revestimentos de gelatina reticulada (GR) e contendo aditivos propionato de cálcio (GRP) e nanopartículas (GRN) sobre acidez total titulável (AT) e sólidos solúveis de uvas Benitaka armazenadas à 25 °C.....	77
Tabela 9. Médias para parâmetros obtidos do perfil de textura para amostras de uvas.....	79

SUMÁRIO

CAPÍTULO I	15
1 INTRODUÇÃO	16
2 REFERÊNCIAS.....	18
CAPÍTULO II	20
2 OBJETIVOS	21
2.1 OBJETIVO GERAL	21
2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	21
CAPÍTULO III	22
3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	23
3.1 PRODUÇÃO E COMÉRCIO DE UVA	23
3.2 DOENÇAS FÚNGICAS	24
3.3 NANOENCAPSULAÇÃO EM ZEÍNA.....	27
3.4 REVESTIMENTOS COMESTÍVEIS CONTENDO COMPOSTOS ATIVOS.....	29
3.5 PROPRIEDADES DOS HIDROGÉIS DE GELATINA	31
CAPÍTULO IV	41
RHEOLOGICAL AND TEXTURAL CHARACTERIZATION OF GELATIN HYDROGELS ADDED OF CALCIUM PROPIONATE AND CURCUMIN LOADED ZEIN NANOPARTICLES	42
4.1 INTRODUCTION.....	42
4.2 MATERIAL AND METHODS	43
4.2.1. Materials.....	43
4.2.2. Nanoparticles synthesis and characterization	43
4.2.3 Gelatin hydrogels rheological profile	45
4.2.4 Texture profile analysis.....	47
4.3 RESULTS AND DISCUSSION	47
4.3.1. Nanoparticles Characterization	47
4.3.2 Rheological analysis.....	52
4.3.3 Texture Profile Analysis.....	58
4.4 CONCLUSIONS	63
4.5 REFERENCES.....	63
CAPÍTULO V	69

EFEITO DA APLICAÇÃO DE FILMES COMESTÍVELS DE GELATINA RETICULADA CONTENDO PROPIONATO DE CÁLCIO E NANOPARTÍCULAS DE ZEÍNA CONTENDO CURCUMINA NA QUALIDADE DE UVAS BENITAKA	70
5.1. INTRODUÇÃO	70
5.2. MATERIAIS E MÉTODOS.....	70
5.2.1. Recobrimento das uvas com os filmes comestíveis	72
5.2.2. Qualidade das uvas tratadas.....	72
5.2.3. Análises colorimétricas.....	72
5.2.4. Análise de textura das uvas	73
5.2.5. Análises estatísticas	74
5.3. RESULTADOS E DISCUSSÕES	74
5.3.1. Perda de Massa	74
5.3.2 análise colorimétrica.....	75
5.3.3. Acidez titulável e sólidos solúveis	76
5.3.4. Perfil de textura para uvas.....	77
5.4. CONCLUSÃO.....	81
5.5.REFERÊNCIAS.....	81
CAPÍTULO VI.....	85
6. CONCLUSÃO GERAL.....	86

APRESENTAÇÃO

Esta dissertação é composta por 6 Capítulos. Nos Capítulos 1 e 2 são apresentados uma introdução geral e os objetivos do trabalho, respectivamente. No Capítulo 3 a revisão bibliográfica é apresentada abordando a produção e conservação pós-colheita de uvas bem como o uso de revestimentos comestíveis contendo compostos antimicrobianos, antifúngicos, etc. São abordadas as caracterizações do perfil reológico e de textura do revestimento, além das novas tecnologias utilizadas para a biodisponibilidade de aditivos naturais, utilizados como conservadores.

No Capítulo 4, é apresentada a primeira fase da dissertação denominada "Caracterização reológica e de textura de hidrogéis de gelatina adicionados de propionato de cálcio e nanopartículas de zeína contendo curcumina". Os resultados referentes a esta etapa da pesquisa foram submetidos ao periódico *LWT- Food Science and Technology* e encontram-se em avaliação pelos revisores. O capítulo encontra-se formatado de acordo com as normas da revista.

No Capítulo 5, são apresentados os resultados de aplicação dos hidrogéis em uvas Benitaka na manutenção da qualidade das mesmas. Os resultados referentes a este capítulo foram submetidos ao periódico *REBRAPA – Brazilian Journal of Food Research*, sendo que o manuscrito encontra-se aguardando avaliação.

No Capítulo 6 é apresentada uma conclusão geral sobre o trabalho desenvolvido.

CAPÍTULO I

1 INTRODUÇÃO

No Brasil, a produção de uva de mesa estimada no ano de 2013 foi de 1.412.854 toneladas em 81.607 ha de área plantada. Deste total, a região sul corresponde a 75,7% da área plantada com produção de 66,6% (IBGE, 2014). A produção de uvas proporciona um bom retorno econômico aos produtores, porém, se tratando de um produto delicado e perecível, requer investimento elevado, conhecimento técnico e uma série de operações e cuidados, para se produzir uvas de mesa com qualidade (NACHTIGAL et al., 2010).

A uva é susceptível à desidratação, escurecimento do engaço e incidência de fungos, responsáveis pela podridão, o que dificulta todos os cuidados da pós-colheita (CASTRO, PARKER, HONÓRIO, 1999). A infecção por patógenos fúngicos na videira, varia com a região geográfica e a resistência varietal. Assim, o ambiente pode contribuir para aumentar ou limitar o desenvolvimento das doenças. O clima seco da região Nordeste do Brasil, é favorável para epidemias de oídio (*Uncinula necator*). Enquanto doenças como o míldio e as podridões do cacho (*Botrytis cinerea*), tornam-se severas acarretando altas perdas na produção na região Sul e Sudeste do Brasil (SÔNEGO, GARRIDO, JÚNIOR, 2005). Mesmo com os cuidados obtidos durante a coleta dos cachos de uva diretamente no campo e aparentemente saudáveis, os mesmos carregam patógenos latentes (CAMARGO et al., 2011).

A crescente busca para manter a qualidade dos alimentos por maior tempo tem sido possível pelo uso de filmes e revestimentos comestíveis. Este material biodegradável é um sistema de embalagem alternativa que não causa impactos ambientais (LIMA et al., 2010), já que seu emprego em alguns produtos alimentícios, pode minimizar o uso de embalagens comerciais, atmosferas controladas e até uso de refrigeração (ASSIS; BRITO; FORATO, 2009). Vários estudos vêm demonstrando sua capacidade de reduzir a taxa de transferência de gás em frutas, (LIMA et al., 2010), evitar a perda de massa, sólidos solúveis, firmeza e cor durante o período de armazenamento (ALI et al., 2010) e de conservar algumas características dos alimentos como a atividade antioxidante (ALI et al., 2013) e aspecto sensorial (ASSIS; BRITO; FORATO, 2009), sendo uma importante ferramenta para estender seu prazo de validade. Além disso, novas pesquisas no setor alimentício mostram

que a aplicação da nanotecnologia pode melhorar a funcionalidade dos filmes comestíveis (ZAMBRANO-ZARAGOZA et al., 2013).

Um fator importante no armazenamento pós-colheita das uvas de mesa é a rápida senescência que propicia perdas durante a sua comercialização. Os íons de cálcio atuam como retardadores do amadurecimento em frutos, participando na estrutura e na resistência mecânica da parede celular, facilitando ligações entre polímeros de pectina na lamela média (CHITARRA; CHITARRA, 2005). Em geral emprega-se CaCl_2 para retardar a senescência das uvas e diversos trabalhos têm demonstrado sua eficiência para tal (SILVA et al., 2012). Ácidos orgânicos fracos, tais como sorbato de potássio, propionato de cálcio e benzoato de sódio são usados para suprimir o crescimento de microorganismos e para prolongar a vida útil dos produtos de padaria (GUYNOT et al., 2005). O propionato de cálcio apresenta duas vantagens nesse sentido: a eficiência contra os microorganismos e a presença dos íons cálcio que retardam a senescência dos frutos.

Outro composto que vem sendo estudado amplamente na área de alimentos na tentativa de inibir o desenvolvimento de fungos e suas toxinas, são obtidas de plantas que possuem propriedades antifúngicas, como é o caso da curcuma (FERREIRA et al., 2013). A curcumina é um dos principais componentes encontrados no rizoma da *Curcuma longa*, planta da família *Zingiberaceae*, popularmente chamada de açafrão da Índia, originária do sudoeste da Ásia (FILHO et al., 2000). Pesquisas apontam o efeito tóxico da curcumina sobre algumas espécies de fungos como *Aspergillus flavus* (FERREIRA et al., 2013) e *Candida albicans* (KHALIL et al., 2012) por exemplo.

Tendo em vista a melhoria das características pós-colheita de uvas de mesa a proposta do presente trabalho é a avaliação do efeito do tratamento superficial de uvas de mesa com filmes comestíveis de gelatina reticulada com transglutaminase, adicionados de propionato de cálcio ou de nanopartículas de zeína com curcumina encapsulada, nas características pós-colheita dos frutos.

2 REFERÊNCIAS

ALI, Asgar; MAQBOOL, Mehdi; ALDERSON, Peter G.; ZAHID, Noosheen. Effect of gum arabic as an edible coating on antioxidant capacity of tomato (*Solanum lycopersicum* L.) fruit during storage. **Postharvest Biology and Technology**. v. 76, p. 119–124, 2013.

ALI, Asgar; MAQBOOL, Mehdi; RAMACHANDRAN, Senthil; ALDERSON, Peter G. Gum arabic as a novel edible coating for enhancing shelf-life and improving postharvest quality of tomato (*Solanum lycopersicum* L.) fruit. **Postharvest Biology and Technology**. v. 58, p. 42–47, 2010.

ASSIS, Odílio B. G.; BRITTO, Douglas; FORATO, Lucimara A. O uso de biopolímeros como revestimentos comestíveis protetores para conservação de frutas *in natura* e minimamente processadas. **Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento**. Embrapa Instrumentação Agropecuária. São Carlos, 2009. 23 p.

CAMARGO, Rúbia B.; PEIXOTO, Ana R.; TERAQ, Daniel; ONO, Elizabeth O.; CAVALCANTI, Leonardo S. Fungos causadores de podridões pós-colheita em uvas apirênicas no pólo agrícola de Juazeiro-ba e petrolina-pe. **Revista Caatinga**. v. 24, n. 1, p. 15-19, 2011.

CASTRO, Josalba V.; PARK, Kil J.; HONÓRIO, Sylvio L. Emprego de embalagens para conservação pós-colheita de uvas. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**. v.3, n.1, p.35-40, 1999.

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

FERREIRA, Flavio D.; KEMMELMEIER, Carlos; ARROTÉIA, Carla C.; COSTA, Christiane L.; MALLMANN, Carlos A.; JANEIRO, Vanderly; FERREIRA, Francine M. D.; MOSSINI, Simone A. G.; SILVA, Expedito L.; MACHINSKI JR. Miguel. Inhibitory effect of the essential oil of *Curcuma longa* L. and curcumin on aflatoxin production by *Aspergillus flavus* Link. **Food Chemistry**. v.136, p. 789-793, 2013.

FILHO, Arthur B. C.; SOUZA, Rovilson J.; BRAZ, Leila T.; TAVARES, M. Cúrcuma: planta medicinal, condimentar e de outros usos potenciais. **Ciência Rural**. v. 30, n. 1, p.171-175, 2000.

GUYNOT, M. E.; RAMOS, A. J.; SANCHIS, V.; MARÍN, S. Study of benzoate, propionate, and sorbate salts as mould spoilage inhibitors on intermediate moisture bakery products of low pH (4.5–5.5). **International Journal of Food Microbiology**. v. 101, p. 161-168, 2005.

IBGE – Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Levantamento Sistemático da Produção Agrícola. Rio de Janeiro: v.27, n.01, 116 f., 2014.

KHALIL, Omar A. K.; OLIVEIRA, Olga M. M. F.; VELLOSA, José C. R.; QUADROS, Andreza U.; DALPOSSO, Loriangela M.; KARAM, Thaysa K.; MAINARDES, Rubiana M.; KHALIL, Najeh M. Curcumin antifungal and antioxidant

activities are increased in the presence of ascorbic acid. **Food Chemistry**. v. 133, p. 1001-1005, 2012.

LIMA, Álvaro M.; CERQUEIRA, Miguel A.; SOUZA, Bartolomeu W. S.; SANTOS, Ed Carlos M.; TEIXEIRA, José A.; MOREIRA, Renato A.; VICENTE, António A. New edible coatings composed of galactomannans and collagen blends to improve the postharvest quality of fruits – Influence on fruits gas transfer rate. **Journal of Food Engineering**. v. 97, p. 101–109, 2010.

NACHTIGAL, Jair C.; BOTTON, Marcos; SANTOS, Henrique P.; GARRIDO, Lucas R.; HILLEBRAND, Flávio; ONSI, Gilmar; BELLÉ, Valdemir. Recomendações para produção de uvas de mesa em cultivo protegido na região da Serra Gaúcha. **EmbrapaUva e Vinho**. Bento Gonçalves: 32 f., 2010.

SILVA, Rosana S.; SILVA, Silvanda M.; DANTAS, Ana L.; MENDONÇA, Rejane M. N.; GUIMARÃES George H. C. Qualidade de uva 'isabel' tratada com cloreto de cálcio em pós-colheita e armazenada sob atmosfera modificada. **Revista Brasileira Fruticultura**. v. 34, n. 1, p. 050-056, 2012.

SÔNEGO, Olavo R.; GARRIDO, Lucas R.; JÚNIOR, Albino G. Principais doenças fúngicas da videira no Sul do Brasil. **Embrapa**. Bento Gonçalves: 32 f., 2005.

ZAMBRANO-ZARAGOZA, M. L.; MERCADO-SILVA, E.; RAMIREZ-ZAMORANO, P.; CORNEJO-VILLEGAS, M. A.; GUTIÉRREZ-CORTEZ, E.; QUINTANAR-GUERRERO, D. Use of solidlipid nanoparticles (SLNs) in edible coatings to increase guava (*Psidiumguajava* L.) shelf-life. **Food Research International**. v. 51, p. 946-953, 2013.

CAPÍTULO II

2 OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

Desenvolver e caracterizar um revestimento comestível a base de gelatina reticulada para manter a qualidade pós-colheita de uvas de mesa.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- ✓ Nanoencapsular curcumina em zeína via nanoprecipitação;
- ✓ Caracterizar as nanopartículas com relação ao tamanho, morfologia, percentual de recuperação e eficiência de encapsulação;
- ✓ Elaborar uma solução filmogênica a base de gelatina reticulada com transglutaminase, acrescidos das nanopartículas de zeína contendo curcumina e /ou propionato de cálcio;
- ✓ Avaliar efeito da reticulação da gelatina sobre as propriedades reológicas e de textura dos géis;
- ✓ Determinar o efeito do recobrimento nas características da uva em função do tempo de armazenamento, com relação a cor, textura, sólidos solúveis totais, acidez titulável e perda de massa.

CAPÍTULO III

3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1 PRODUÇÃO E COMÉRCIO DE UVA

A produção mundial de uvas ocupa em torno de sete milhões e quinhentos mil hectares de vinhas, sendo distribuída pela maior produtora Europa com 54% da área, seguida pela Ásia (24%) e as Américas (14%). Os maiores produtores são a China, Estados Unidos, França, Itália e Espanha, destinando seus produtos ao consumo *in natura*, produção de uvas passas ou vinhos respectivamente. Já Itália e Espanha destinam um sexto da produção para consumo *in natura*, sendo o restante para vinhos (OIV, 2015).

As condições climáticas do país influenciam a produção e qualidade da uva pela videira que preferem climas secos com temperaturas entre 10 ° e 40 °C. Assim, em regiões de temperatura mais baixas, o ciclo de produção permite uma safra por ano, enquanto sob temperaturas mais elevadas, podem-se ter duas safras ao ano (SANTILLO, 2011). A uva é um dos produtos frutíferos com bom potencial econômico. Cada vez mais popular, a uva é fonte de antioxidantes, tais como os polifenóis e antocianinas (ORAK, 2007). Seu valor comercial é influenciado pela sua aparência e preço (ROBERTO et al., 2012).

Com duas colheitas por ano, a América do Sul tem mostrado um aumento da produção e exportação produzindo uma média anual entre 1,3 e 1,4 milhões de toneladas/ano (IBGE, 2015). No Brasil, a viticultura ocupou 24.894 *ha* de área plantada em 2013. Destes, 27% estão localizados na região norte do Paraná (SCATENA, 2014) com as variedades mais cultivadas *Vitis vinifera L.* que são as uvas finas Itália, Benitaka e Rubi (ROBERTO et al., 2012). A produção total de uvas se distribui da seguinte forma: Vale do São Francisco, (PE/BA) compreendendo 21,7% da produção do país, seguido por São Paulo com 15,5% e Paraná com 7,6%. O Rio Grande do Sul produz uva principalmente para a elaboração de vinho, enquanto as demais destinam parte da sua produção para comercialização e consumo *in natura*. O Vale do São Francisco (PE/BA) tem como foco a produção para exportação (SANTILLO, 2011) colaborando para que o país exportasse em

2014, pouco mais de 27 mil toneladas de uva, 35% a menos na comparação com o mesmo período de 2013 (OLIVEIRA, 2015).

Em 2015 o país já colheu 1,5 milhões de toneladas na primeira safra do ano, estimada até junho de 2015, 5,12% a mais do que a primeira safra de 2014. A região nordeste produziu 315.338 toneladas na primeira safra do ano representando 0,17% a mais comparando a produção de 2014, enquanto a região sul do país foi responsável pela produção de 1.029.068 toneladas, com aumento de 7,1% em relação ao ano anterior (IBGE, 2015).

As regiões norte, noroeste e oeste do estado do Paraná apresentam pouco risco climático para o cultivo de uvas finas de mesa (*Vitis vinifera*). A videira consome em torno de 450 a 900 mm de água e as condições meteorológicas (temperatura, umidade e radiação solar) auxiliam no desenvolvimento, produção e qualidade da uva durante os estádios fenológicos da videira. Fatores como precipitação pluviométrica acima de 1.800 mm, umidade relativa acima de 75% e temperatura superior a 20 °C, elevam a incidência de doenças (SANTILLO, 2011; RICCE et al., 2014).

A uva é uma fruta não climatérica cujo amadurecimento ocorre em 8-9 semanas após a antese (início do ciclo produtivo da flor). No início do amadurecimento o teor em açúcares começa a aumentar, oriundo da fotossíntese nas folhas e transportados para a baga (ZHAO et al., 2015). A coloração resulta da síntese ou degradação das antocianinas, pigmentos naturais, responsáveis por uma vasta gama de cores na uva e vinhos tintos e contribuem fortemente para as propriedades antioxidantes, sendo o 3-glicosídeo a antocianina antioxidante mais ativa. A pigmentação da casca depende da variedade, estágio de maturação, época e manejo (temperatura, radiação solar, poda) (ORAK, 2007; SANTILLO, 2011).

3.2 QUALIDADE PÓS-COLHEITA DE UVAS

As doenças fúngicas na pós-colheita afetam a produção de uvas no Brasil. O manuseio inadequado é responsável por aproximadamente 90% da perda pós-colheita em decorrência de contaminação microbiológica (CAMARGO et al., 2011). A umidade e temperatura alta podem favorecer a ocorrência de doenças como a

infecção por míldio, mancha-da-folha, ferrugem e podridão do fruto (RICCE et al., 2014) por *Botrytis cinerea* (YOUSSEF, ROBERTO, 2014). Em sua maioria, as infecções quiescentes são relatadas após 8 dias da colheita com as presenças de *Aspergillus niger*, *Alternaria alternata*, *Cladosporium herbarum*, *Lasiodiplodia theobromae* (CAMARGO et al., 2011).

Para controlar espécies de fungos que causam a deterioração em alimentos, têm sido usados conservantes sintéticos como o propionato de cálcio (CaP) (GUYNOT et al., 2005). O CaP, que tem sua estrutura química apresentada na Figura 1, é um conservante autorizado pela *Food and Drug Administration* (FDA) para uso em alimentos considerado seguro (*Generally Recognized as Safe*, GRAS), cujos testes de teratogenicidade e toxicidade apresentam-se negativos (BANIPAL et al., 2015).

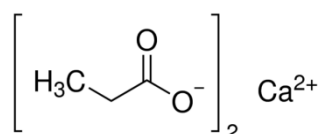


Figura 1. Estrutura química do propionato de cálcio. (Fonte: MSDS Sigma-Aldrich (2016))

Segundo Guynot et al. (2005) o uso de CaP em baixa concentração (0,03%) combinado a uma atividade de água (*aw*) de 0,85, permite retardar o crescimento de *Aspergillus spp.* Concentrações maior (0,3%) e *Aa* de 0,80 restringem o desenvolvimento destas cepas. Kwak, Kim e Rhee (2011) relatam que o uso de propionato de cálcio contribuiu para a inativação de *E. coli* O157: H7 e *S. typhimurium* permitindo estender a vida útil de aipo com características físicas de um produto minimamente processado fresco.

O cálcio pode preservar a integridade estrutural da casca de frutas devido a ligação de íons Ca^{2+} com a pectina presente nas mesmas, prolongando o tempo de armazenamento em função da conservação da qualidade e firmeza dos frutos durante mais tempo (QUILES et al., 2007). A pulverização de soluções contendo íons Ca^{2+} como ingrediente ativo em maçãs, comprovam o efeito dos mesmos na

manutenção da casca e no córtex dos frutos tratados (BLANCO, FERNANDÉZ, VAL, 2010). Além de consolidar as estruturas das parênquimas em maçãs minimamente processadas, a aplicação de propionato de cálcio diminui a atividade de enzimas devido a inibição causada pelos íons propionato, e formação de pectatos de cálcio, que geram uma barreira natural impedindo o acesso da enzima para o substrato (QUILES et al., 2007).

O uso de conservantes sintéticos têm auxiliado no controle de doenças em plantas, mas a crescente preocupação ambiental e dos efeitos que estes produtos têm sobre o organismo humano têm feito com que os consumidores aumentem a procura por produtos mais naturais. Uma alternativa se encontra na atividade antifúngica de extratos de plantas. Um exemplo é a curcumina, que tem sua estrutura química apresentada na Figura 2, obtida por isolamento a partir do extrato da planta *Curcuma longa* L. que apresenta potencial antimicrobiano, antifúngico, inseticida e propriedades anti-inflamatórias e anti-oxidantes (FERREIRA et al., 2013). Essa especiaria originária do sudeste asiático, também é uma alternativa ao uso de corantes sintéticos permitindo o emprego nas áreas de cosméticos, têxtil, medicinal e alimentício (FILHO et al., 2000).

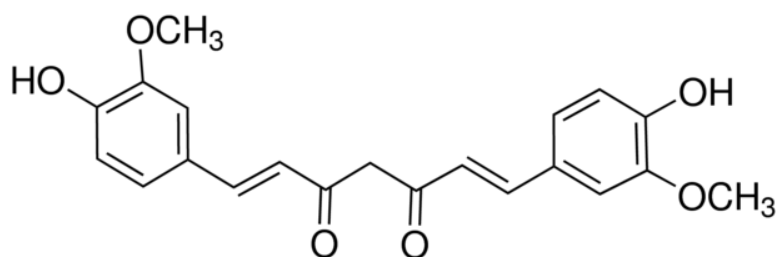


Figura 2. Estrutura química da curcumina. (Fonte: MSDS Sigma-Aldrich (2016)).

O mecanismo de atividade antifúngica da curcumina não está completamente elucidado, mas é aceita a teoria de que os grupos metoxila e hidroxila são os responsáveis pela sua ação (KHALIL et al., 2012). Um exemplo de sua aplicação neste sentido está na inibição de aflatoxinas geradas por *Aspergillus flavus*. A

presença de compostos fenólicos capacita a formação de ligações de hidrogênio com os sítios ativos das enzimas impedindo que ocorra o *stress* oxidativo e peroxidação de células que por sua vez daria início a biossíntese da aflatoxina (FERREIRA et al., 2013).

3.3 NANOENCAPSULAÇÃO DE COMPOSTOS ATIVOS EM ZEÍNA

Alguns compostos ativos são afetados pela degradação ou perda de funcionalidade devido aos efeitos da luz, oxigênio, pH, umidade ou interação com outros componentes numa matriz alimentar (GOMEZ-ESTACA et al., 2012). A curcumina tem seu uso limitado pela baixa solubilidade em água, degradação em pH maior que 7,0 além de sua pigmentação ser afetada a partir de temperaturas acima de 125 °C. No entanto, a incidência de luz tem maior efeito sobre a degradação da curcumina, responsável por cerca de 30% de perda do pigmento, enquanto que a presença de oxigênio pouco influencia as características da mesma (MOHANTY, SAHOO, 2010; FILHO et al., 2000).

Uma alternativa para contornar o problema de instabilidade é a nanoencapsulação dos compostos. A nanotecnologia tem ganhado força nos últimos anos também por melhorar a dispersão e aumentar a biodisponibilidade dos compostos encapsulados (GOMEZ-ESTACA et al., 2012). A curcumina pode ser encapsulada em nanopartículas de zeína estabilizadas por caseinato de sódio, alcançando uma boa solubilização em meio aquoso (PATEL et al., 2010).

A zeína abriu espaço para novas pesquisas a fim de melhorar as técnicas de dispersão das nanopartículas (CHEN e ZHONG, 2014; LI et al., 2014), modificações das características de solubilidade em água de compostos hidrofóbicos (LI et al., 2013) e aumentar a estabilidade das partículas coloidais (PATEL; BOUWENS; VELIKOV, 2010). Além disso, tem sido utilizada como revestimento ou filmes (YIN et al., 2014) e é reconhecida como um biomaterial seguro (GRAS) com características promissoras devido à sua biocompatibilidade, biodegradabilidade e baixa toxicidade (LUO; WANG, 2014).

Originária da produção de amido de milho, o glúten do milho é um subproduto de baixo custo, contendo de 60% à 70% de zeína (FORATO et al., 2013) composta principalmente pelas proteínas α , β e δ -zeína, de diferentes sequência de aminoácidos, massa molecular e solubilidade enquanto que as propriedades físico-químicas são bem semelhantes (ZHU; KALE; CHERYAN, 2007). A zeína é solúvel em concentrações alcoólicas de 55-90% e insolúvel em água (ZHONG; JIN, 2009). Este comportamento se atribui a sequência dos aminoácidos leucina, prolina, alanina, fenilalanina, isoleucina, e valina, sendo 50% destes apolares (LUO; WANG, 2014). Além disso, em pH quase neutro (PATEL; BOUWENS; VELIKOV, 2010) e em baixas concentrações de etanol (ZHONG; JIN, 2009) ocorre sua precipitação. As propriedades físico-químicas da zeína têm contribuído para sua aplicação em diversas indústrias, principalmente no setor de alimentos e biomedicina (LUO; WANG, 2014), como a liberação controlada de compostos bioativos (HU et al., 2012), compostos antioxidantes e antimicrobianos (WU; LUO, WANG, 2012).

As propriedades hidrofóbicas e a solubilidade da zeína permitem a elaboração de nanopartículas que servem como veículo e liberação controlada de nutrientes hidrofóbicos, pois a digestibilidade via oral da zeína é mais lenta comparada a outras proteínas (LUO; WANG, 2014). Esta liberação lenta, torna a técnica da nanoencapsulação importante por possibilitar o aumento da biodisponibilidade do material (MOHANTY; SAHOO, 2010).

A técnica de nanoprecipitação, ou anti-solvente, que utiliza do princípio de dispersão líquido-líquido é usada para preparar partículas de zeína. Inicialmente, a zeína é dissolvida em solução de álcool e então, a solução recebe doses de água, reduzindo a concentração de solvente, causando a separação de fases e consequente formação de partículas de zeína (ZHANG; LUO; WANG, 2011). É uma técnica simples, de baixo custo e aplicada em vários estudos para elaboração de partículas coloidais de zeína (LI et al., 2014) possibilitando a encapsulação de substâncias bioativas (HU et al., 2012) e antimicrobianos solúveis em água (LI et al., 2013).

A morfologia e o tamanho das partículas são características importantes e influenciadas pelo teor alcoólico e pH formando nanopartículas uniformes de 100 a 200 nm (LUO; WANG, 2014), conforme observado por Zhong e Jin (2009) que

obtiveram redução das partículas de zeína de aproximadamente 150 nm para 100 nm, com o aumento da concentração de etanol e aumento do número de partículas alterando a concentração de zeína em solução (0,1 para 1,0 g/15 ml de 80% etanol) e elevando o pH de 3 para 9 pH.

A eficiência de encapsulação utilizando nanopartículas de zeína têm resultados promissores, com até 70% e 90% de eficiência para carvacrol e timol respectivamente (WU; LUO; WANG, 2012) podendo-se alcançar até 99% de eficiência conforme os resultados apresentados para a substância mesalazina (LAU et al. 2013).

3.4 REVESTIMENTOS COMESTÍVEIS CONTENDO COMPOSTOS ATIVOS

Para auxiliar na manutenção da vida útil de frutas, algumas pesquisas apostam na incorporação de agentes antimicrobianos em revestimentos comestíveis para manter esses agentes ativos na superfície do alimento por maior tempo. Além disso, os revestimentos comestíveis conferem uma proteção adicional formando barreira capaz de reduzir a respiração e trocas gasosas que, como consequência, evita a perda de peso (ALOUJ et al., 2014), sólidos solúveis, firmeza e cor durante o período de armazenamento (ALI et al., 2010), mantendo a atividade antioxidante (ALI et al. 2013) e aspecto sensorial (ASSIS; BRITO; FORATO, 2009) da fruta.

O emprego de coberturas comestíveis em alguns produtos alimentícios, pode minimizar o emprego de embalagens comerciais, atmosferas controladas e até do uso da refrigeração. Estes filmes podem ser elaborados a partir de polissacarídeos ou proteínas, e tanto filmes hidrofílicos como hidrofóbicos atuam reduzindo a desidratação e inibindo microorganismos preservando a qualidade de frutos (ASSIS; BRITO; FORATO, 2009). Comparada ao controle, algumas frutas revestidas apresentam redução significativa da senescência, deterioração pós-colheita e intensidade respiratória (GAO; ZHU; ZHANG, 2013).

Geralmente, os filmes hidrofóbicos de proteínas são eficientes contra a deterioração natural, controlando a umidade, oxigênio, perda de dióxido de carbono, rancificação lipídica e perda dos demais compostos voláteis. Filmes de gelatina têm sido amplamente empregados como revestimentos comestíveis em frutas

(NOWZARI et al., 2013), filés de tilápia (YIN et al., 2001), carne fresca (ANTONIEWSKI et al., 2007), mangas (GOL, RAO 2014) e morangos (JANG et al., 2011). Porém, as proteínas formam filmes frágeis e com baixa flexibilidade, tornando-se quebradiços principalmente com alterações de umidade e temperatura (ASSIS; BRITO; FORATO, 2009). Uma alternativa para maior estabilização dos filmes de gelatina é a sua reticulação com agentes alternativos, que apresentam baixa toxicidade, como a enzima transglutaminase (TGase) (PRATA et al., 2008).

A reticulação permite formar hidrogéis de gelatina através da introdução de ligações cruzadas covalentes, influenciando a reologia dependente do tempo e termo reversibilidade dos géis de gelatina de baixa concentração. A TGase atua como catalisador das reações de acil-transferência entre grupos γ -carboxiamídicos e resíduos de glutamina da cadeia polipeptídica (acil-doadores) e uma variedade de aminas primárias (acil-receptores) e, em determinadas proteínas, os grupos ϵ -amino de resíduos de lisina, formando ligações tipo N- ϵ - (γ -glutamil)lisina, de acordo com a Figura 3 (CHEN et al., 2003; DONG et al., 2008). A criação das ligações reduz a mobilidade da cadeia polimérica impedindo a solubilização do material e afetando a capacidade de inchamento do material reticulado (PRATA et al., 2008).

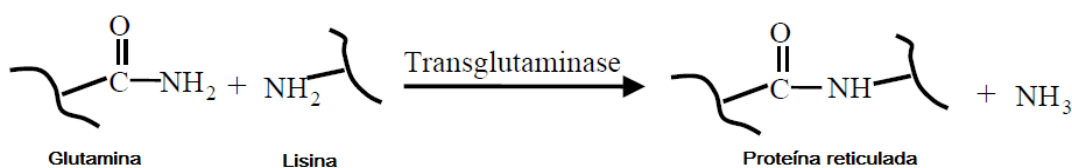


Figura 3. Reação de reticulação de gelatina com TGase. (FONTE: Adaptado de CHEN et al., 2003).

Os benefícios dos revestimentos comestíveis ou biodegradáveis sobre as uvas de mesas foram abordados por alguns grupos de pesquisadores. Shiri et al., (2013) fizeram aplicação de revestimento a base de putrescina com ou sem quitosana em uvas de mesa de cultivar "Shahroudi" armazenadas sob refrigeração de $0 \pm 1^\circ\text{C}$, e observaram a redução da perda de peso, da incidência de podridões e

de escurecimento, além de manter o teor de fenólicos totais, catequina, quercetina total e atividade antioxidante das uvas, quando revestida somente com putrescina. Chauhan, Gupta e Agrawal (2014) também observaram que revestimentos biodegradáveis a base de gel de Aloe vera favoreceram a manutenção das características sensoriais com o aumento de sólidos solúveis totais e acidez titulável, perda de peso e incidência de microorganismo em uva. Filmes à base de alginato de sódio incorporados com extrato de semente de uva ou óleo essencial de toranja foram desenvolvidos por Aloui et al. (2014) e demonstraram capacidade de manter a qualidade da uva e estender sua vida útil, com maior efeito antifúngico, podendo evitar o desenvolvimento de *Penicillium digitatum*.

3.5 PROPRIEDADES DOS HIDROGÉIS

A gelificação é uma transição gradual de um líquido viscoelástico até formar-se um sólido viscoelástico. Consiste na formação de uma rede protéica, sendo necessária a desnaturação e agregação posterior de sua estrutura, predominando as interações proteína-proteína (DEINA et al., 2009). O aminoácido hidroxiprolina é um dos responsáveis pela estabilidade da tripla hélice presente na estrutura secundária do colágeno, além da presença de cadeias α e β que são importantes no processo de re-naturação da cadeia proteica. Durante a re-formação da tripla hélice, as cadeias proteicas nem sempre retornam a forma nativa e esse processo é necessário para que ocorra a geleificação (PRESTES et al., 2013).

As determinações das propriedades reológicas são muito úteis para caracterizar soluções, géis e hidrogéis (MOURA et al., 2008), seja para adequar o produto ao gosto do consumidor ou por razões técnicas, por exemplo, o deslocamento do produto por sistema de bombeamento (BARNES, 2000).

A avaliação reológica envolve a relação entre tensão de cisalhamento com a taxa de deformação. O modelo reológico mais simples é o newtoniano, que apresenta uma relação linear entre estes fatores. Porém, esse comportamento não se dá para todos os alimentos, requerendo modelos mais complexos para sua caracterização. Nos casos em que a relação não é linear e o fluido é classificado como não newtoniano, estes podem ser considerados como pseudoplástico,

apresentando diminuição da viscosidade conforme ocorre o aumento da taxa de cisalhamento (MATHIAS et al., 2013), ou como dilatante, se a viscosidade aumenta com o aumento da taxa de cisalhamento (LEE; MOTURI; LEE, 2009).

Os fluidos pseudoplásticos, que também apresentam dependência com o tempo de cisalhamento, são chamados tixotrópicos. Neste caso, mesmo para taxas cisalhantes constantes, a viscosidade sofre uma redução em função do tempo (OLIVEIRA et al., 2008). Já os fluidos que tornam-se mais viscosos com o tempo de aplicação da força, e aumento da sua taxa de aplicação, são conhecidos como reopéticos. É um processo de endurecimento, contrário ao processo tixotrópico (LEE; MOTURI; LEE, 2009). Para os dois comportamentos existem a ocorrência do fenômeno de histerese, que é a distinção entre as curvas de taxa crescente e de taxa decrescente de cisalhamento (MATHIAS et al., 2013). A área da histerese define a magnitude da dependência com o tempo (tixotropia ou reopexia) e indica a energia necessária para romper a estrutura do fluido (BRANCO, 2011).

Os modelos mais comumente utilizados para caracterização reológica dos fluidos são: Ostwald de Waele, Hershel-Bulkley e Casson (MATHIAS et al., 2013). A escolha do modelo a ser utilizado para descrição do comportamento do fluido deve ser baseada no ajuste aos dados experimentais.

O modelo de Ostwald de Waele é amplamente utilizado para líquidos não-newtonianos (MARCOTTE, HOSHAHILI, RAMASWAMY, 2001), e descreve as propriedades do fluido através do índice de consistência (n). Quando o fluido tem característica Newtoniana obtém-se o valor de n igual a 1, se n for menor que 1 tem-se um fluido pseudoplástico, que acontece quando ocorre a redução da viscosidade aparente (η_a) em função do aumento da taxa de deformação ($\dot{\gamma}$), comportamento oposto acontece para fluido dilatante onde n é maior que 1, devido ao aumento da η_a mesmo quando se aumenta a $\dot{\gamma}$ (TREVISAN, 2011).

Em um estudo sobre a consistência de soluções de benzeno de borracha em 1929, os pesquisadores Winslow H. Herschel e Ronald Bulkley, chegaram ao modelo matemático então batizado de Hershel-Bulkley (HERSHEL, BULKLEY, 1929). Partindo do modelo proposto por Ostwald-De-Waele, este difere pela existência de uma tensão residual (τ_0) sendo que, se a tensão (τ) aplicada ao fluido ultrapassar o valor da tensão residual, o material passa a se comportar de acordo

com o modelo da Lei da Potência (TONELI MURR, PARK, 2005). A tensão inicial descrito pelo modelo de Herschel-Bulkley representa a tensão necessária para o fluido começar a escoar ou fluir, por exemplo, quando em sistema de bombeamento (BRANCO, 2011).

Assim como o modelo de Herschel-Bulkley, a equação de Casson é útil para resolver problemas relacionados ao processamento de alimentos, devido ao amplo intervalo de taxas de cisalhamento. Adaptada pelo Instituto Internacional de Cacau e Chocolate, o modelo de Casson é utilizada oficialmente na interpretação do comportamento do fluxo de chocolate (STEFF, 1996). Em alimentos, este modelo tem sido usado para estimar a o coeficiente de consistência inicial (K_{oc}) durante o escoamento de uma suspensão (IZIDORO, 2007). O modelo proposto por Casson surgiu em 1959, onde relacionou a tensão de cisalhamento à taxa de corte sofrida para suspensões de tintas de forma que pôde definir para a estrutura de sua suspensão sua força coesiva definitiva (BLAIR, 1966).

As propriedades de textura estão intimamente relacionadas à deformação, desintegração do produto sob a aplicação de uma força, medidas pelas funções: tempo, força, massa e distância (GIESE, 1995).

Dureza, adesividade, elasticidade, gomosidade, coesividade e espalhabilidade são características de textura que dependem da estrutura e do rearranjo das moléculas de proteína. Estes parâmetros podem ser analisados pelo método de TPA (*Texture Profile Analysis*) que consiste em comprimir o alimento pelo menos duas vezes e quantificar os parâmetros mecânicos a partir das curvas de força-deformação (Figura 4) (GIESE, 1995).

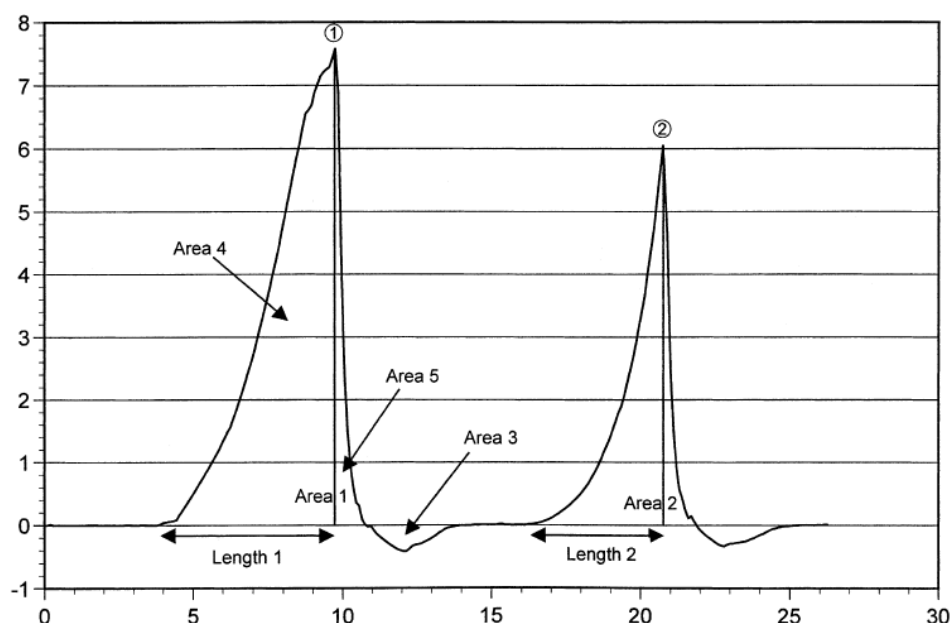


Figura 4. Gráfico típico de força por tempo para dois ciclos de compressão para determinação de perfil de textura para amostras. O primeiro pico “1” é a firmeza; a coesividade= $\text{Area 2}/\text{Area 1}$; espalhabilidade= $\text{Legth 2}/\text{Legth 1}$; resiliência= $(\text{Area 1}-\text{Area 2})/2$; adesividade= Area 3 e mastigabilidade= $\text{Firmeza} \times \text{coesividade} \times \text{espalhabilidade}$ (FONTE: GIESE, 1995).

A dureza é definida pelo pico de força durante o primeiro ciclo de compressão, expressa em quilograma. A elasticidade é definida como a capacidade da amostra para recuperar seu formato original depois de sofrer uma força de deformação, expressa em centímetros (entre o final da primeira mordida e início da segunda). A coesão é calculada como a razão entre a área da curva sob a segunda compressão e a área da curva da primeira compressão, expressando o grau em que a amostra poderia ser deformada antes da ruptura. Mastigabilidade é o produto de dureza, elasticidade e coesividade e expressa em kg.mm (GONZÁLES-FERNANDES et al., 2006).

3.6 REFERÊNCIAS

ALI, Asgar; MAQBOOL, Mehdi; ALDERSON, Peter G.; ZAHID, Noosheen. Effect of gum arabic as an edible coating on antioxidant capacity of tomato (*Solanum lycopersicum* L.) fruit during storage. **Postharvest Biology and Technology**. v. 76, p. 119–124, 2013.

ALI, Asgar; MAQBOOL, Mehdi; RAMACHANDRAN, Senthil; ALDERSON, Peter G. Gum arabic as a novel edible coating for enhancing shelf-life and improving postharvest quality of tomato (*Solanum lycopersicum* L.) fruit. **Postharvest Biology and Technology**. v. 58, p. 42–47, 2010.

ALLOUI, Hajer; KHWALDIA, Khaoula; SÁNCHEZ-GONZÁLEZ, Laura; MUNERET, Laurence; JEANDEL, Carole; HAMDY, Moktar; DESOBRY, Stéphane. Alginate coatings containing grapefruit essential oil or grapefruit seed extract for grapes preservation. **International Journal of Food Science and Technology**. v. 49, p. 952-959, 2014.

ANTONIEWSKI, M.N.; BARRINGER, S.A.; KNIPE, C.L.; ZERBY, H.N.. Effect of a Gelatin Coating on the Shelf Life of Fresh Meat. **Journal of Food Science**. v. 72, n. 6, p. 382-387, 2007.

ASSIS, Odílio B. G.; BRITTO, Douglas; FORATO, Lucimara A. O uso de biopolímeros como revestimentos comestíveis protetores para conservação de frutas *in natura* e minimamente processadas. **Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento**. Embrapa Instrumentação Agropecuária. São Carlos, 2009. 23 p.

BANIPAL, Tarlok S.; KAUR, Navalpreet; KAUR, Amanpreet; GUPTA, Mehak; BANIPAL, Parampaul K. Effect of food preservatives on the hydration properties and taste behavior of amino acids: A volumetric and viscometric approach. **Food Chemistry**. v. 181, p. 339-346, 2015.

BARNES, H. A.. **The Handbook of Elementary**. 1 ed. Freeman Press, Michigan, 2000.

BLAIR, G. W. S. The success of Casson's equation. **Rheological Acta**. v. 5, n. 3, p. 184-187, 1966.

BLANCO, Alvaro; FERNÁNDEZ, Victoria; VAL, Jesús. Improving the performance of calcium-containing spray formulations to limit the incidence of bitter pit in apple (*Malus x domestica* Borkh). **Scientia Horticulture**. v. 127, p. 23-28, 2010.

BRANCO, Natália B. C. **Mucilagem do cladódio de *Cereus hildmaniannus* K. Schum: caracterização física, química e reológica**. Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2011.

CAMARGO, Rúbia B.; PEIXOTO, Ana R.; TERAPO, Daniel; ONO, Elizabeth O.; CAVALCANTI, Leonardo S. Fungos causadores de podridões pós-colheita em uvas apirênicas no pólo agrícola de Juazeiro-ba e Petrolina-pe. **Revista Caatinga**. v. 24, n. 1, p. 15-19, 2011.

CHAUHAN, Shweta; GUPTA, K. C.; AGRAWAL, Mukesh. Application of Biodegradable Aloe vera gel to control post harvest decay and longer the shelf life of

Grapes. **International Journal Current Microbiology Applied Sciences**. V. 3, p. 632-642, 2014.

CHEN, Huaiqiong; ZHONG, Qixin. Processes improving the dispersibility of spray-dried zein nanoparticles using sodium caseinate. **Food Hydrocolloids**. v. 35, p. 358-366, 2014.

CHEN, Tianhong; EMBREE, Heather D.; BROWN, Eleanor M.; TAYLOR, Maryann M.; PAYNE, Gregory F. Enzyme-catalyzed gel formation of gelatin and chitosan: potential for in situ applications. **Biomaterials**. v. 24, p. 2831–2841, 2003.

DEINA, Laís E.; FINGER, Cristina L.; SCHEIDT, Desirée T.; TEIXEIRA, Marcelo M.; ROMAN, Janesca A. Geleificação termicamente induzida da gelatina e das proteínas do soro de leite bovino. In: Exposição da Universidade Tecnológica-EXPOUT, 2009, Toledo. **Anais... I ENDICT – Encontro de Divulgação Científica e Tecnológica**. 5 f. 2009.

DONG, Z.-J. et al. Optimization of cross-linking parameters during production of transglutaminase-hardened spherical multinuclear microcapsules by complex coacervation. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**. n. 63, p. 41–7, 2008.

FERREIRA, Flavio D.; KEMMELMEIER, Carlos; ARROTÉIA, Carla C.; COSTA, Christiane L.; MALLMANN, Carlos A.; JANEIRO, Vanderly; FERREIRA, Francine M. D.; MOSSINI, Simone A. G.; SILVA, Expedito L.; MACHINSKI JR. Miguel. Inhibitory effect of the essential oil of *Curcuma longa* L. and curcumin on aflatoxin production by *Aspergillus flavus* Link. **Food Chemistry**. v.136, p. 789-793, 2013.

FILHO, Arthur B. C.; SOUZA, Rovilson J.; BRAZ, Leila T.; TAVARES, M. Cúrcuma: planta medicinal, condimentar e de outros usos potenciais. **Ciência Rural**. v. 30, n. 1, p.171-175, 2000.

FORATO, Lucimara A.; BRITTO, Douglas; SCRAMIN, Juliana A.; COLNAGO, Luiz A.; ASSIS, Odilio B. G. Propriedades Mecânicas e Molhabilidade de Filmes de Zeínas Extraídas de Glúten de Milho. **Polímeros**. v. 23, n. 1, p. 42-48, 2013.

GAO, Pisheng; ZHU, Zhiqiang; ZHANG, Ping. Effects of chitosan–glucose complex coating on postharvest quality and shelf life of table grapes. **Carbohydrate Polymers**. v. 95, p. 371– 378, 2013.

GIESE J. Color measurement in foods as a quality parameter. **Food Technology**. V.54. 1995.

GOL, Neeta B.; RAO, T.V. Ramana. Influence of zein and gelatin coatings on the postharvest quality and shelf life extension of mango (*Mangifera indica* L.). **Fruits**. vol. 69, p. 101–115, 2014.

GOMEZ-ESTACA, J.; BALAGUER, M. P; GAVARA, R.; HERNANDEZ-MUNOZ, P. Formation of zein nanoparticles by electrohydrodynamic atomization: Effect of the main processing variables and suitability for encapsulating the food coloring and active ingredient curcumin. **Food Hydrocolloids**. v. 28, p. 82-91, 2012.

GONZÁLEZ-FERNÁNDEZ, C., SANTOS, E. M., ROVIRA J., JAIME, I. The effect of sugar concentration and starter culture on instrumental and sensory textural

properties of chorizo-Spanish dry-cured sausage. **Meat Science**, v. 74. 467-75. 2006.

GUYNOT, M. E.; RAMOS, A. J.; SANCHIS, V.; MARÍN, S. Study of benzoate, propionate, and sorbate salts as mould spoilage inhibitors on intermediate moisture bakery products of low pH (4.5–5.5). **International Journal of Food Microbiology**. v. 101, p. 161-168, 2005.

HERSCHEL, Winslow H.; BULKLEY, Ronald. Konsistenzmessungen von Gummi-Benzollösungen. **Colóide Journal**. v. 39, n. 4, p. 291-300, 1926.

HU, Daode; LIN, Changchun; LIU, Liang; LI, Sining; ZHAO, Yaping. Preparation, characterization, and in vitro release investigation of lutein/zein nanoparticles via solution enhanced dispersion by supercritical fluids. **Journal of Food Engineering**. v. 109, p. 545–552, 2012.

IBGE – Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Levantamento Sistemático da Produção Agrícola. Disponível em: <http://www.sidra.ibge.gov.br/bda/prevsaf/default.asp?t=1&z=t&o=26&u2=1&u3=1&u4=31&u1=3>. Acesso em 2015.

IZIDORO, Dayane R. **Influência da polpa de banana (musa cavendishii) verde no comportamento reológico, sensorial e físico-químico de emulsão**. Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2007.

JANG, Sung-Ae; SHIN, Yoon-Ji; SONG, Kyung Bin. Effect of rapeseed protein–gelatin film containing grapefruit seed extract on ‘Maehyang’ strawberry quality. **International Journal of Food Science and Technology**. v. 46, p. 620–625, 2011.

KHALIL, Omar A. K.; OLIVEIRA, Olga M. M. F.; VELLOSA, José C. R.; QUADROS, Andreza U.; DALPOSSO, Loringela M.; KARAM, Thaysa K.; MAINARDES, Rubiana M.; KHALIL, Najeh M. Curcumin antifungal and antioxidant activities are increased in the presence of ascorbic acid. **Food Chemistry**. v. 133, p. 1001-1005, 2012.

KWAK, Tae Y.; KIM, Nam H.; RHEE Min S. Response surface methodology-based optimization of decontamination conditions for Escherichia coli O157:H7 and Salmonella Typhimurium on fresh-cut celery using thermoultrasound and calcium propionate. **International Journal of Food Microbiology**. v. 150, p. 128-135, 2011.

LAU, Esther T. L.; GIDDINGS, Steven J.; MOHAMMED, Salmaan G.; DUBOIS, Paul; JOHNSON, Stuart K.; STANLEY, Roger A.; HALLEY, Peter J.; STEADMAN, Kathryn J. Encapsulation of Hydrocortisone and Mesalazine in Zein Microparticles. **Pharmaceutics**. v. 5, p. 277-293, 2013.

LEE, Chi H.; MOTURI, Venkat; LEE, Yugyung. Thixotropic property in pharmaceutical formulations. **Journal of Controlled Release**. v. 136, p. 88–98, 2009.

LI, Kang-Kang; YIN, Shou-Wei; YIN, Ye-Chong; TANG, Chuan-He; YANG, Xiao-Quan; WEN, Shao-Hong. Preparation of water-soluble antimicrobial zein nanoparticles by a modified antisolvent approach and their characterization. **Journal of Food Engineering**. v. 119, p. 343–352, 2013.

LI, Kang-Kang; ZHANG, Xi; HUANG, Qin; YIN, Shou-Wei; YANG, Xiao-Quan; WEN, Qi-Biao; TANG, Chuan-He; LAI, Fu-Rao. Continuous preparation of zein colloidal particles by Flash Nano Precipitation (FNP). **Journal of Food Engineering**. v. 127, p. 103–110, 2014.

LUO, Yangchao; WANG, Qin. Zein-Based Micro- and Nano-Particles for Drug and Nutrient Delivery: A Review. **Journal of Applied Polymer Science**. 12 p., 2014.

MARCOTTE, Michèle; HOSHAHILI, Ali R. T.; RAMASWAMY H.S. Rheological properties of selected hydrocolloids as a function of concentration and temperature. **Food Research International**. v. 34, p. 695–703, 2001.

MATHIAS, Thiago R. S.; ANDRADE, Kelita C. S.; ROSA, Cíntia L. S.; SILVA, Bárbara A. Avaliação do comportamento reológico de diferentes iogurtes comerciais. **Brasilian Journal of Food and Technology**. v. 16, n. 1, p. 12-20, 2013.

MOHANTY, Chandana; SAHOO, Sanjeeb K. The in vitro stability and in vivo pharmacokinetics of curcumin prepared as an aqueous nanoparticulate formulation. **Biomaterials**. v. 31, p. 6597-6611, 2010.

MOURA, M. J.; FIGUEIREDO, M. M.; GIL, M. Helena. Rheological Study of Genipin Cross-Linked Chitosan Hydrogels. **Biomacromolecules**. v. 8, p. 3823–3829, 2007.

NOWZARI, Fariba; SHÁBANPOUR, Bahareh; OJAGH, Seýed Mahdi. Comparison of chitosan–gelatin composite and bilayer coating and film effect on the quality of refrigerated rainbow trout. **Food Chemistry**. v. 141, p. 1667–1672, 2013.

OIV- International Organisation of Vine and Wine. Word viticulture situation. 2015, 15f.

OLIVEIRA, Felipe V. Uva: clima adverso afeta desde área até exportações em 2014. **Hortifruti Brasil**. Dez-Jan, 2015.

OLIVEIRA, Katherine H.; SOUZA, José A. R.; MONTEIRO, Alcilene R. Caracterização reológica de sorvetes. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**. v. 28, p. 592-598, 2008.

ORAK, H. H. Total antioxidant activities, phenolics, anthocyanins, polyphenoloxidase activities of selected red grape cultivars and their correlations. **Scientia Horticulturae**. v. 111, p. 235-241, 2007.

PATEL, Ashok R.; BOUWENS, Elisabeth C. M.; VELIKOV, Krassimir P. Sodium Caseinate Stabilized Zein Colloidal Particles. **Journal of Agricultural Food Chemistry**. v. 58, p. 12497–12503, 2010.

PATEL, Ashok; HU, Yingchun; TIWARI, Jyoti K.; VELIKOV, Krassimir P. Synthesis and characterisation of zein–curcumin colloidal particles. **Soft Matter**. v. 6, p. 6192-6199, 2010.

PRATA, Ana S.; ZANIN, Maria H.A.; RÉ, Maria I.; GROSSO, Carlos R.F. Release properties of chemical and enzymatic crosslinked gelatin-gum Arabic microparticles containing a fluorescent probe plus vetiver essential oil. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**. v. 67, p. 171-178, 2008.

PRESTES, Rosa C.; GOLUNSKI, Simone M.; TONIAZZO, Geciane; KEMPKA, Aniela P.; LUCCHIO, Marco Di. Caracterização da fibra de colágeno, gelatina e

colágeno hidrolisado. **Revista Brasileira de Produtos Agroindustriais**. v.15, n.4, p.375-382, 2013.

QUILES, Amparo; HERNANDO, Isabel; PÉREZ-MUNUERA, Isabel; LLUCH, Maria A. Effect of calcium propionate on the microstructure and pectin methylesterase activity in the parenchyma of fresh-cut Fuji apples. **Journal of the Science of Food and Agriculture**. v. 87, p. 511-519, 2007.

RICCE, Wilian S.; CARVALHO, Sérgio L. C. CARAMORI, Paulo H.; ROBERTO, Sergio R. Zoneamento agroclimático da cultura da videira no Estado do Paraná. **Semina: Ciências Agrárias**. v. 35, n. 4, p. 2327-2336, 2014.

ROBERTO, Sergio R.; ASSIS, Adriane M.; YAMAMOTO, Lilian Y.; MIOTTO, Lidiane C. V.; SATO, Alessandro J.; KOYAMA, Renata; GENTA, Werner. Application timing and concentration of abscisic acid improve color of 'Benitaka' table grape. **Scientia Horticulturae**. v. 142, p. 44-48, 2012.

SANTILLO, Amanda G. **Efeitos da radiação ionizante nas propriedades nutricionais das uvas de mesa benitaka e uvas passas escuras**. Universidade de São Paulo- USP. Dissertação: São Paulo, 2011, 96 f.

SCATENA, Henrique S. Uva: Com exceção do Paraná, regiões têm bons resultados em 2013. **Hortifruti Brasil**. Dez-Jan, 2014

SHIRI, Mohammad A.; GHASEMNEZHAD, Mahmood; BAKHSHI, Davood; SARIKHANI, Hasan. Effect of postharvest putrescine application and chitosan coating on maintaining quality of table grape cv. "shahroudi" during long-term storage. **Journal of Food Processing and Preservation**. v. 37, p. 999-1007, 2013.

SIGMA-ALDRICH. **Calcium propionate**. Disponível em: <http://www.sigmaaldrich.com/catalog/substance/calciumpropionate18622407581411?lang=pt®ion=BR>. Acesso em: 02 abr. 2016.

SIGMA-ALDRICH. **Curcumin**. Disponível em: <http://www.sigmaaldrich.com/catalog/substance/curcumin3683845837711?lang=pt®ion=BR>. Acesso em: 02 abr. 2016.

STEFFE, J. F. **Rheological Methods in Food Process Engineering**, 2ª Ed. Michigan: Freeman Press, p. 418, 1996.

TONELI, Juliana T. C. L.; MURR, Fernanda E. X.; PARK, Kil J. Estudo da reologia de polissacarídeos utilizados na indústria de alimentos. **Revista Brasileira de Produtos Agroindustriais**. v.7, n.2, p.181-204, 2005.

TREVISAN, Bruno P. **Avaliação da tensão superficial, parâmetros reológicos e atenuação acústica de suspensões de açaí**. Dissertação (Mestrado) – Universidade de São Paulo, São Carlos, 2011.

WU, Yunpeng; LUO, Yaguang; WANG, Qin. Antioxidant and antimicrobial properties of essential oils encapsulated in zein nanoparticles prepared by liquid-liquid dispersion method. **LWT Food Science and Technology**. v. 48, p. 283-290, 2012.

YIN, Chan O.; TSAY, Shwu-Fen; LAI, Chen-Hsein; WENG, Yih-Ming. Using gelatin-based antimicrobial edible coating to prolong shelf-life of tilapia fillets. **Journal of Food Quality**. v. 25, p. 213-222, 2002.

YIN, Ye-Chong; YIN, Shou-Wei; YANG, Xiao-Quan; TANG, Chuan-He; WEN, Shao-Hong; CHEN, Zhuo; XIAO, Bang-jie; WU, Lei-Yan. Surface modification of sodium caseinate films by zein coatings. **Food Hydrocolloids**. v. 36, p. 01-08, 2014.

YOUSSEFA, Khamis; ROBERTO, Sergio R. Salt strategies to control Botrytis mold of 'Benitaka' table grapes and to maintain fruit quality during storage. **Postharvest Biology and Technology**. v. 95, p. 95-102, 2014.

ZHANG, Boce; LUO, Yangchao; WANG, Qin. Effect of acid and base treatments on structural, rheological, and antioxidant properties of α -zein. **Food Chemistry**. v. 124, p. 210–220, 2011.

ZHAO, Y.; ZHAO, X.; ZHAO, S.; HAN, N. A novel bud sport from the 'Benitaka' table grape cultivar (*Vitis vinifera* L.) improves sugar and anthocyanin accumulation at the berry ripening stage. **South African Journal of Botany**. v. 97, p. 111-116, 2015.

ZHONG, Qixin; JIN, Minfeng. Zein nanoparticles produced by liquid–liquid dispersion. **Food Hydrocolloids**. v. 23, p. 2380–2387, 2009.

ZHU, Fangyi; KALE, Aniket V.; CHERYAN, Munir. Fractionation of Zein by Size Exclusion Chromatography. **Journal of Agricultural Food Chemistry**. v. 55, p. 3843-3849, 2007.

CAPÍTULO IV

RHEOLOGICAL AND TEXTURAL CHARACTERIZATION OF GELATIN HYDROGELS ADDED OF CALCIUM PROPIONATE AND CURCUMIN LOADED ZEIN NANOPARTICLES

4.1 INTRODUCTION

Edible coatings have been widely investigated due to advantages they offer over conventional films such as edibility, biocompatibility, esthetic appearance, barrier properties, non-toxicity, non-polluting and its low cost. Another relevant point is the possibility to carry antioxidants and antimicrobial agents to be considered in food preservation (Elsabee & Abdou, 2013). The incorporation of such active compounds on coatings aiming food preservation was investigated by many research groups including. Rojas-Graü et al., (2007) added natural antimicrobial agents (oregano, lemongrass and vanillin essential oils) in fruit puree-polysaccharide edible coatings in fresh-cut 'Fuji' apples. An, Zhang, Wang, & Tang, (2008) that added silver nanoparticles on polyvinylpyrrolidone based coating applied to green asparagus. Nisin was added to a pullulan edible film and used to coat fresh eggs (Morsy, Khalaf, Sharoba, El-Tanahi, & Cutter, 2014).

The use of active natural antimicrobial agents together with calcium propionate (CaP) remains to be investigated because CaP has been widely used by the food industry since it is classified as GRAS (Generally Regarded as Safe). Furthermore, calcium treatment is also able to improve firmness in a wide variety of whole, peeled and fresh-cut fruits and vegetables by crosslinking with cell wall and middle lamella pectin, stabilizing cell membranes and/or affecting cell turgor potential (Saftner, Bai, Abbott, & Lee, 2003).

Among the natural antimicrobial agents applied for food preservation, curcumin has become known for its antifungal and antimicrobial effect (Gomez-Estaca, Balaguer, Gavara, & Hernandez-Munoz, 2012; Patel, Hu, Tiwari, & Velikov, 2010), however its low water solubility hampering its use in edible films that usually use water as solvent. In this way, nanoencapsulation presents an interesting alternative to improve curcumin application and to accurately disperse curcumin in the film-forming solution. Curcumin nanoencapsulation can be achieved by different techniques as antisolvent precipitation (Patel et al., 2010), electrohydrodynamic

atomization (Gomez-Estaca et al., 2012) and emulsification) (Rao & Khanum, 2016; Silva et al., 2016).

In any case, rheological properties of filmogenic solution may be affected by the addition of these compounds, either *in natura* or in nanoparticulated form (Jorge et al., 2014). It is also important to note that crosslinking is usually necessary when gelatin is used as film forming material, since protein films present poor mechanical properties (fragile behavior and low flexibility) becoming brittle when in contact with moisture or by temperature variations (Assis, Britto, & Forato, 2009). These covalent crosslinks formed may create a time dependent rheology and gelatin gels with thermal reversible which is worth investigating (Chen, Embree, Brown, Taylor, & Payne, 2003). The objective of the present work was to nanoencapsulate curcumin in zein by nanoprecipitation and characterize the nanoparticles as well as to investigate the addition of these nanoparticles and calcium propionate on the rheological and texture properties of enzymatically crosslinked gelatin hydrogels.

4.2 MATERIAL AND METHODS

4.2.1. Materials

Zein (Sigma Aldrich), sodium caseinate (Sigma Aldrich), curcumin (Sigma Aldrich), ethanol (Biotec, 99.5%) and ethyl acetate (Próquimios, P.A) were used in the synthesis and characterization of the curcumin-loaded zein nanoparticles. Calcium propionate (Sigma Aldrich), gelatin (Dinâmica) and transglutaminase (Activa WM, 100 U/g, Ajinomoto) were used in hydrogels synthesis. Sodium bromide (Sigma Aldrich, spectroscopic degree), copper grids (200 mesh) and collodion (2% in amyl acetate, Electron Microscopy Sciences) were used in the Fourier Transform Infrared Spectroscopy and Transmission Electron Microscopy analysis, respectively.

4.2.2. Nanoparticles synthesis and characterization

The nanoprecipitation method proposed by A. R. Patel, Bouwens, & Velikov, (2010) was adapted as follows. First, zein (0.90 g) was solubilized in 30 ml of a

hydroalcoholic solution (85% vol ethanol) under magnetic stirring during 15 min. After that, curcumin (3 % wt related to zein mass) was added. Separately, an aqueous solution (90 mL) containing sodium caseinate (1.8 g) was prepared at 90 °C under magnetic stirring. Then, the aqueous solution was stirred at. The solution containing zein and curcumin was then added dropwise into the aqueous solution during 30 min under vigorous stirring (10,000 rpm, Ultra-turrax, IKA-T25) and an ice bath was used to control the temperature of the mixture. The final mixture was transferred to a magnetic stirrer and kept during 24h at ambient temperature to allow ethanol evaporation.

Intensity average diameter (Dz) as well as the polydispersity index (PDI) were determined by Dynamic Light Scattering (DSL, Nano Sizer, Malvern Instruments). The morphology of the nanoparticles was accessed by Transmission Electron Microscopy (TEM, JEOL JEM-1011 at 80 kV). The nanoparticles dispersion was diluted to 0.01% (wt/v) and dropped on collodion coated TEM grids. All grids were dried and kept in a desiccator prior analysis.

Curcumin recovery (R, %) was determined by the methodology described by Patel et al., (2010). For that, the nanoparticles dispersion (4 mL) was dried at 60 °C in a convection oven. The dried sample was solubilized with ethanol (4 mL) and then ethyl acetate (4 mL) were added to precipitate zein and sodium caseinate. The solution was filtered (Millipore, 0.45 µm) and the absorbance was determined in a UV-Vis spectrophotometer (Ocean Optics, Red Tide USB650 Fiber Optic Spectrometer) at 418 nm. The absorbance was compared to a previously prepared calibration curve and applied to Equation 1, where w_r (mg/mL) is the curcumin concentration determined by UV-Vis and w_0 (mg/mL) is the theoretical curcumin concentration used in the experiment.

$$R\% = \frac{w_R}{w_0} \times 100 \quad \text{Eq. (1)}$$

For the encapsulation efficiency (EE, %) a sample of the nanoparticles suspension (4 mL) was centrifuged (14,000 RPM, 90 min, Mini Spin Plus, Eppendorf). The supernatant was oven dried (60 °C) and the same procedure as for curcumin recovery was applied. Encapsulation efficiency was then calculated with

Equation 2 where w_L (mg/mL) is the concentration of free (non encapsulated) curcumin.

$$EE = \frac{w_R - w_L}{w_R} \times 100 \quad \text{Eq. (2)}$$

The chemical interactions between curcumin and zein were determined by Fourier Transform Infrared Spectroscopy (Shimadzu, IR Affinity-1). Potassium bromide (KBr, 100 mg) pellets were prepared with freeze dried (Liotop, 101 Freeze Drier) nanoparticles (10 mg). Samples spectra were obtained in the range of 4,000-400 cm^{-1} using 32 accumulations and 1 cm^{-1} resolution (Freiberger et al., 2015).

Thermal characterization was performed with a differential scanning calorimeter (DSC, Perkin Elmer, 4,000) was initially calibrated with zinc and indium standards and after that 5 mg of the samples were analyzed at closed aluminum pans at 20 $^{\circ}\text{C}/\text{min}$ from 0 to 300 $^{\circ}\text{C}$ under nitrogen atmosphere (20 mL/min). All samples analysed by FTIR and DSC were previously freeze-dried and stored at a desiccator with silica.

4.2.3 Gelatin hydrogels rheological profile

The formulations studied were prepared according to de Carvalho & Grosso, (2004) with some modifications (Table 1), where the addition of zein nanoparticles containing curcumin and calcium propionate percentages are related to the gelatin amount in the formulations. Formulations containing 5 and 10% gelatin were used to evaluate the effect of temperature during the crosslinking and the effect of crosslinking time, respectively. In both cases, gelatin was initially hydrated (25 $^{\circ}\text{C}$, 60 min) under magnetic stirring, heated at 80 $^{\circ}\text{C}$ during 10 min and then cooled to 25 $^{\circ}\text{C}$. The nanoparticles dispersion (containing 1 wt/v% of curcumin loaded zein nanoparticles) was poured in this gelatin solution and water was added according to Table 1. After that TGase was added under magnetic stirring and the samples were immediately submitted to the rheological analysis. No TGase was used in the control sample (G). Measurements were carried out in triplicate in a DVIII – plus Brookfield rheometer, using a probe-spindle SP18, defined according to the viscous characteristics from the samples.

Table 1. Gelatin hydrogel formulations.

Formulation	Gelatin (%)	TGase (U/g _{gelatin})	H ₂ O (mL)	CZN (%wt _{gelatin})	CZN dispersion (mL)	CaP (%wt _{gelatin})	CaP (g)
Effect of temperature during crosslinking (gelatin 5%)							
G	5	0	100	0	0	0	0
GR	5	10	100	0	0	0	0
GRN	5	10	10	18	90	0	0
GRP	5	10	100	0	0	18	1
Effect of crosslinking time (gelatin 10%)							
G	10	0	100	0	0	0	0
GR	10	10	100	0	0	0	0
GRN	10	10	10	9	90	0	0
GRP	10	10	100	0	0	9	1

G- control sample without crosslinking; GR- crosslinked control sample; GRN- crosslinked hydrogel added of curcumin loaded zein nanoparticles; GRP- crosslinked hydrogel added of calcium propionate (CaP). TGase- Transglutaminase. CZN- curcumin-zein nanoparticles

The flow curves (up-down steps) were applied for the analysis and to evaluate the effect of temperature during crosslinking, samples were initially placed at a jacketed steel vessel (5 mL) with the temperature controlled by a thermostatic bath (TECNAL, TE-184) at 25, 30 or 35 °C. The device was not able to obtain data above this temperature due to the sharp increase in viscosity.

In a second set of experiments, the effect of crosslinking time was investigated to follow the crosslinking kinetics with a better resolution (Mironi-Harpaz, Wang, Venkatraman, & Seliktar, 2012). The experiments were conducted at 40 °C with the same procedure described above. It is worth noting that TGase is stable up to 40 °C but temperatures up to 50 °C can be used for short reactions (Schorsch, Carrie, Clark, & Norton, 2000).

Results were fitted to different models to find the best suitable model: Power Law (Equation 3), Herschel–Bulkley (Equation 4), Casson (Equation 5) and Mizrahi-Berk (Equation 6), where η is the apparent viscosity (mPa.s), (s^{-1}) is the shear rate, K (Pa.s⁻¹) is the consistency index, τ is the shear stress (N/m²), n is the dimensionless flow behavior index. The Arrhenius equation (Equation 7) was applied to solution with 10% gelatin.

$$\tau = \eta \times \dot{\gamma}^n \quad \text{Eq. (3)}$$

$$\tau = \tau_0 + K \times \dot{\gamma}^n \quad \text{Eq. (4)}$$

$$\tau^{\frac{1}{2}} = K_0 + K \times \dot{\gamma}^{\frac{1}{2}} \quad \text{Eq. (5)}$$

$$\tau = \sqrt{\tau_0 + K \times \dot{\gamma}^n} \quad \text{Eq. (6)}$$

$$\ln(\eta) = \ln(\eta_0) - \left(\frac{E_a}{R}\right) \cdot \left(\frac{1}{T}\right) \quad \text{Eq. (7)}$$

4.2.4 Texture profile analysis

Hydrogels texture profile analysis was carried out with the procedure described by Guo et al., (2013) in a TA-XT Express Enhanced Texture Analyzer (Stable Microsystems) equipped with a SMS/P36R probe and a 10 Kg charge cell at 25 ± 2 °C. Before analysis the hydrogels were kept at constant temperature (25 ± 2 °C) during 48 h. Samples prepared according to item 4.2.3 description (50 mm diameter and 10 mm height) were compressed twice at 5 mm (50% compression) with a test speed of 1 mm/s and a time interval of 5 seconds between measurements. The following properties were determined: hardness, adhesiveness, springiness, chewiness, gumminess, cohesiveness and resilience.

4.3 RESULTS AND DISCUSSION

4.3.1. Nanoparticles Characterization

Results obtained for the curcumin recovery and encapsulation efficiency were equal to 51.0 ± 0.5 % and 96.0 ± 1.5 % respectively. The encapsulation efficiency value is consistent to the founds of Patel et al., (2010) for curcumin (86.8%). Physicochemical properties of the encapsulated compound, particularly its polarity, as well as the type and content of the surfactant can strongly influence the

encapsulation efficiency (Noronha et al., 2013). Generally, the encapsulation efficiency increases in proportion to the lipophilicity of the encapsulated compound.

DLS results showed that curcumin-loaded zein nanoparticles presented an average intensity diameter (D_z) equal to 585 ± 45 nm with a polydispersity index (PDI) of 0.27 ± 0.1 . Patel et al., (2010) applied the same method to produce curcumin-loaded zein nanoparticles and obtained similar values of D_z and PDI (499 nm and 0.25, respectively). Polydisperse size distributions may be related to the lack of electrostatic stabilization during particles formation and an aleatory aggregation process (Joye & McClements, 2013; Leimann et al., 2013; Zhang, Pansare, Prud'homme, & Priestley, 2012). According to Geissler, Biesalski, Heinze, & Zhang, (2014), synthesis parameters such as the presence of small molecular size additives to the formulation, stirring rate and viscosity of the dispersed phase play an important role in determining the size of nanoprecipitated nanoparticles.

Nanoparticles morphology was accessed by Transmission Electron Microscopy and the obtained images are presented at Figure 5. FTIR spectra from nanoparticles and their components are presented in Figure 6 and characteristic bands are listed at Table 2. The nanoparticles presented spherical shape with large size distribution, corroborating the DLS results. Other authors also obtained similar nanoparticles morphology for zein nanoparticles loaded with 5-fluorouracil (Lai & Guo, 2011), curcumin (Patel et al., 2010) and thymol (Zhang et al., 2014).

Its is possible to observe the characteristic bands from curcumin at 1629 cm^{-1} (C=O), 1603 cm^{-1} (aromatic C-C), 1509 cm^{-1} (C=C), 1428 cm^{-1} (olefinic C-H), 1280 cm^{-1} (phenolic axial C-O) and at 1027 cm^{-1} (C-O-C axial symmetric) (Paramera; Kontheles; Kathano, 2011). In the nanoparticles spectrum the only curcumin characteristic band still in evidence is the double carbon (C=C) since the other ones were overlapped by zein and sodium caseinate bands. Although this overlapping, it is possible to note that in the nanoparticles spectrum this region presents peaks with smaller intensity when compared to the physical mixture spectrum. This is an indicative of higher interaction between the components on nanoparticles sample and indicates curcumin encapsulation. Phenolic C-O band from curcumin (1280 cm^{-1}) is visible at the physical mixture but is overlapped in the nanoparticles spectrum.

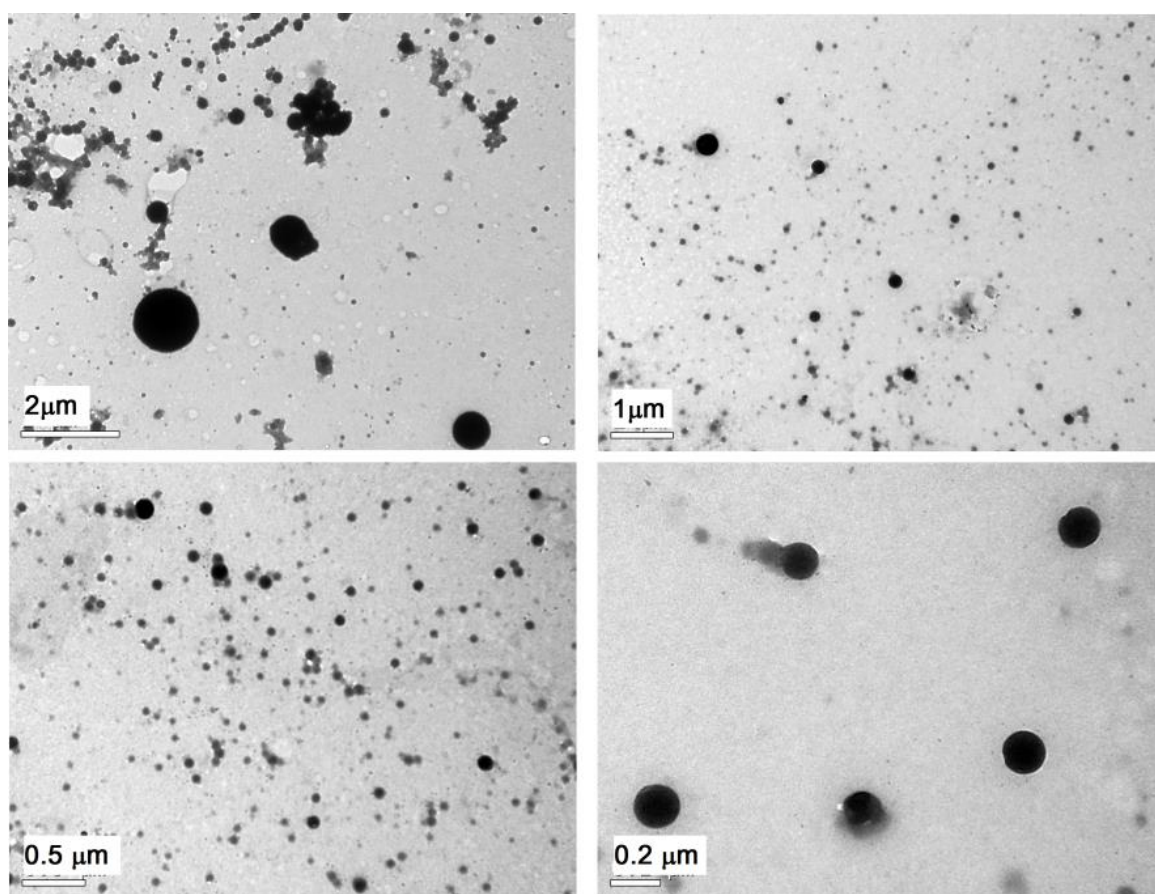


Figure 5. TEM images of the curcumin-loaded zein nanoparticles.

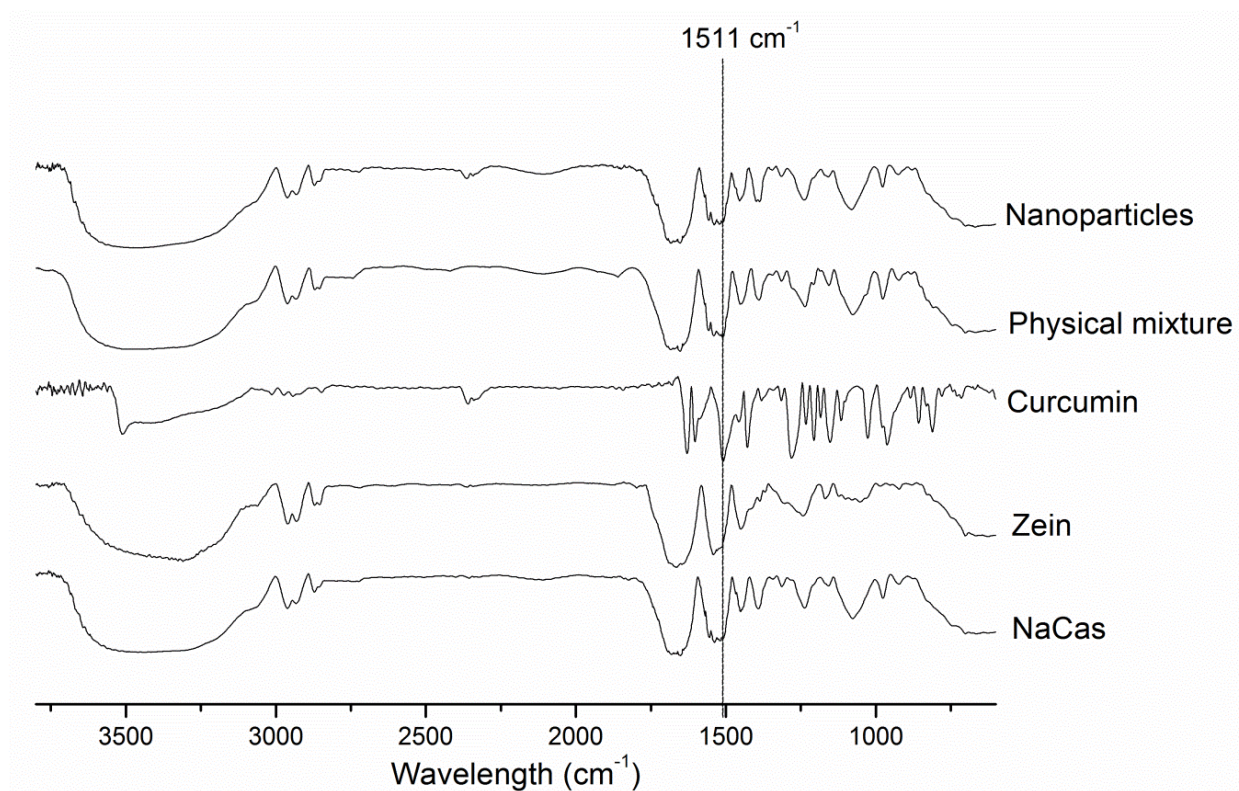


Figure 6. FTIR spectra of sodium caseinate (NaCas), zein, curcumin, physical mixture (NaCas, zein and curcumin) and curcumin-loaded zein nanoparticles.

The same behavior was observed by Mangolim et al., (2014) for curcumin encapsulated in β -cyclodextrine in this spectra region. Leimann et al., (2015) evaluated the chemical interactions of progesterone and different polymeric nanoparticles (poly(hydroxybutirate-co-hydroxyvalerate), poly(ϵ -caprolactone), poly(L-lactic acid)) and observed that the higher encapsulation efficiency, the higher FTIR characteristics bands modification was detected.

According to Chen & Zhong, (2014) slight differences of some zein characteristic bands at FTIR spectra from zein nanoparticles stabilized by sodium caseinate produced by spray-drying indicate a slight change of protein α -helix structure. This shift (Table 2) was computed from 1645 cm^{-1} (unprocessed zein) to 1652 cm^{-1} (nanoparticles), although in the physical mixture this shift was also detected. On the other hand an intensity difference is evident between this two last spectra, indicating a structural modification in the protein conformation.

Table 2. FTIR absorption bands (cm^{-1}) for zein, NaCas, curcumin, physical mixture and nanoparticles.

Structure	Zein	NaCas	Curcumin	Physical mixture	Curcumin loaded zein nanoparticles	Chemical group*
			1629	Overlapped	overlapped	C=O
			1603	Overlapped	overlapped	Aromatic C-C
			1509	1511	1511	C=C
			1428	overlapped	overlapped	Olefinic C-H
			1280	1279	overlapped	C- O phenolic (axial)
			1027	1028	Overlapped	C-O-C (axial simetric)
Amide I	1645	1651		1653	1652	C=O stretch/hydrogen bond coupled with COO-
Amide II	1541	1520		1539	1541	NH bend coupled with CN stretch
	1448	1448		1551	1556	CH ₂ bend
Amide B	3062	3062		3068	3072	C-H stretching
	2959	2964		2960	2960	CH ₃ asymmetric
	2930	2932		2932	2930	CH ₂ asymmetric
	2853	2871		2866	2872	CH ₂ stretching

*Chen & Zhong, 2014; Paramera, Konteles, & Karathanos, 2011.

DSC thermograms of sodium caseinate (NaCas), zein, curcumin, physical mixture (NaCas, zein and curcumin) and curcumin-loaded zein nanoparticles are presented in Figure 7. Curcumin crystalline melting temperature (T_m) can be observed in the curcumin and in the physical mixture thermograms at 160 °C (Mohanty & Sahoo, 2010; Patel et al., 2010). NaCas and zein glass transition temperatures (T_g) were detected at 202 °C and 165 °C, respectively (Pan & Zhong, 2016). In the case of the physical mixture it is possible to observe an overlapping between curcumin T_m and zein T_g (162 °C). In the nanoparticles thermogram only a peak at 198 °C can be observed. Pan & Zhong, (2016) commented that for zein nanoparticles stabilized with NaCas the presence of only one peak at the thermogram indicates the complete mixing between zein and NaCas. Furthermore, there is no evidence of curcumin T_m in the nanoparticles thermogram, indicating its presence in a complete amorphous phase on nanoparticles matrix (Hu, Lin, Liu, Li, & Zhao, 2012).

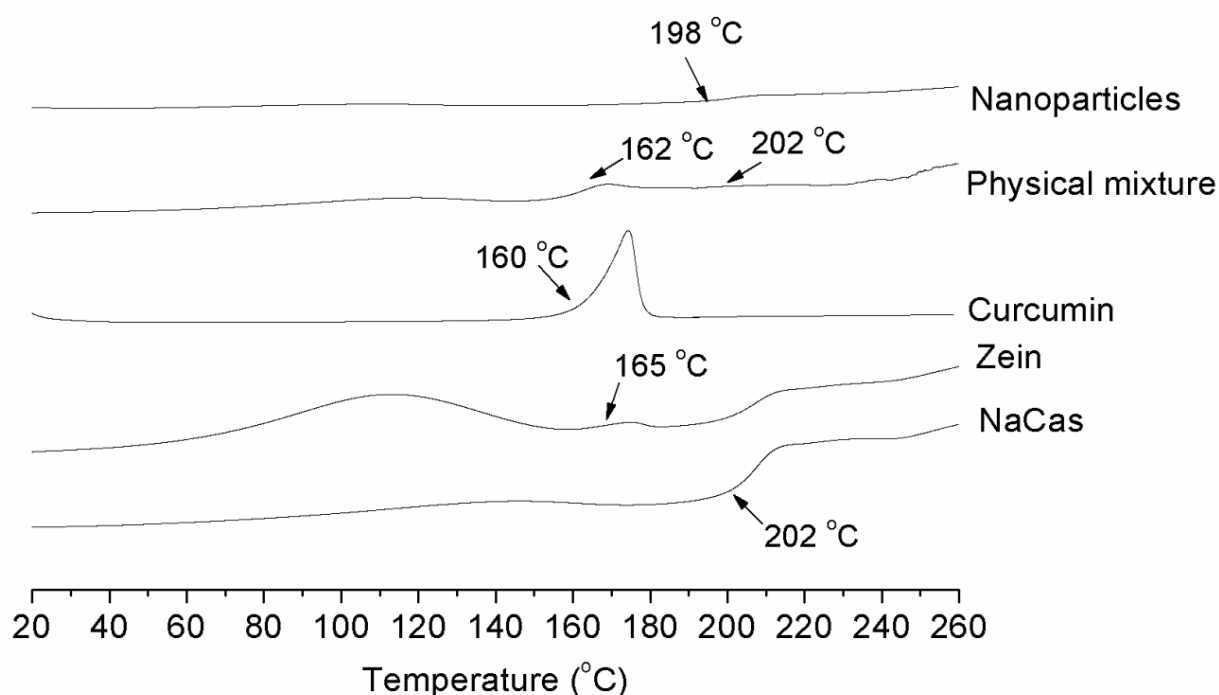


Figure 7. DSC thermograms of sodium caseinate (NaCas), zein, curcumin, physical mixture (NaCas, zein and curcumin) and curcumin loaded zein nanoparticles stabilized with NaCas.

4.3.2 Rheological analysis

Shear stress curves and viscosity curves were obtained for pure gelatin (control sample) and for gelatin hydrogel formulations with 5 and 10 %wt and the results are presented at Figure 8. All results were fitted to mathematical models (Power Law, Herschel–Bulkley, Casson and Mizrahi-Berk) and the results are summarized in Tables 3 and 4.

All mathematical models evaluated were able to satisfactorily fit the experimental data. In Figure 8 (D, e and F), the increase in the viscosity of the crosslinked samples is evident when compared to the gelatin control sample (G) when submitted to a slight increase in temperature. When covalent bonds are formed between the protein molecules by the TGase action, a change in the rheological behavior takes place (Kim, Kee, Lee, & Yoo, 2014) leading to an increase in its pseudo plastic behavior. This is confirmed by the fitting to Power Law model (Marcotte, Taherian, & Ramaswamy, 2001) as presented in Table 3. Also, the increase in the temperature promoted a reduction on viscosity of all samples as well as on consistency coefficients as expected (Marcotte et al., 2001). With the increase on temperature from 25 °C to 30°C and 35°C, the presence of nanoparticles on gelatin formulation (GRN) committed the crosslinking effect on samples rheological properties. The fast formation of crosslinks did not allow the measurements at higher deformation rates. This fact can be related to zein isoelectric point at pH 6.2 (Patel et al., 2010) resulting in solution instability as well as the shear promoted during the analysis. On the other hand, all samples presented higher consistency coefficient (K) at 30 °C and 35°C when compared to gelatin control sample (G) at the same temperature for all mathematical models evaluated. At 30 °C gelatin control sample (G) presented a consistency coefficient equal to 0.019 and the other samples (GR, GRP and GRN) presented values 152%, 158% and 536% higher than gelatin control.

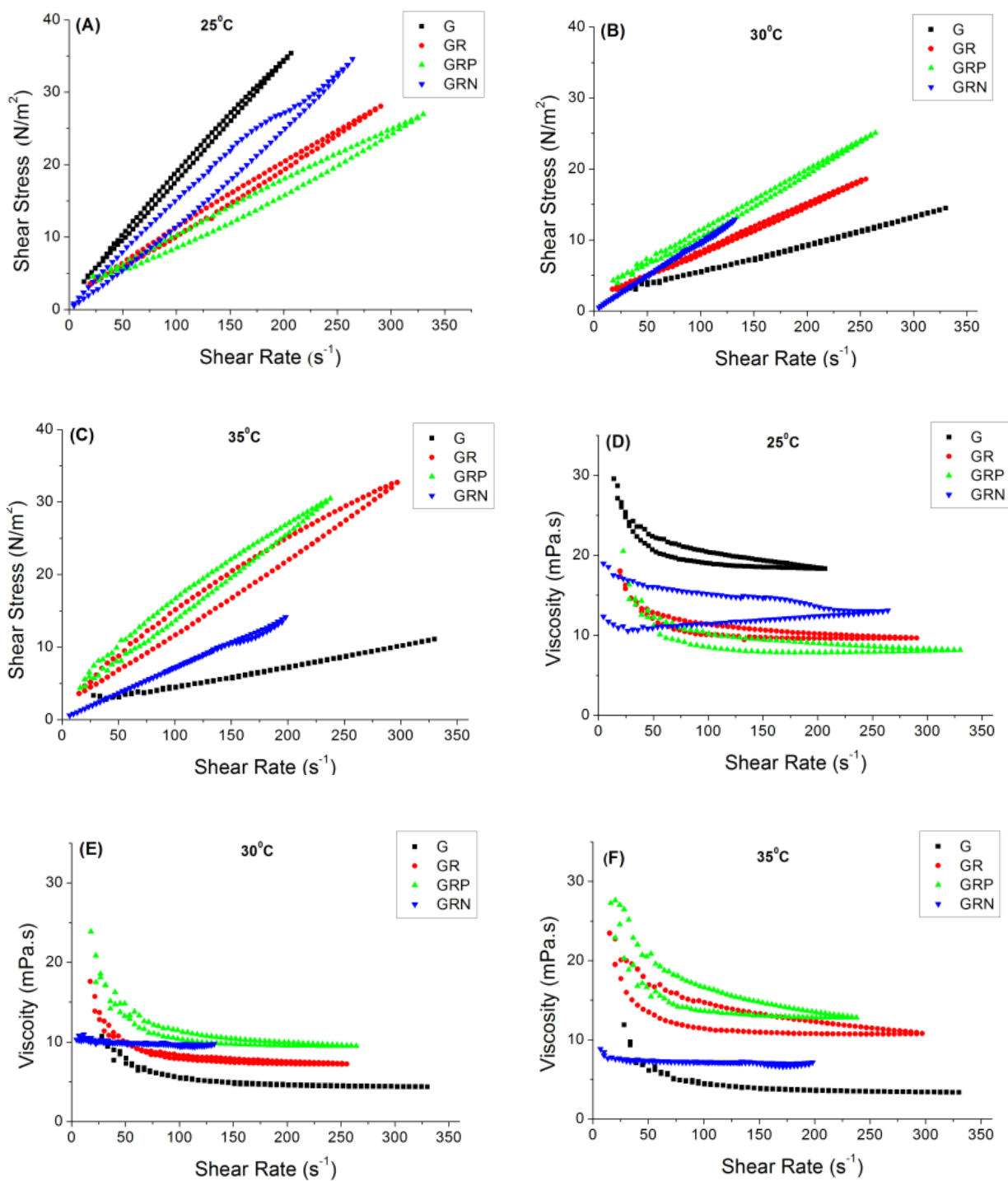


Figure 8. Shear stress curves at (A) 25 °C, (B) 30 °C and (C) 35 °C and viscosity curves at (D) 25 °C, (E) 30 °C and (F) 35 °C (G-gelatin control, GR-gelatin crosslinked, GRP- gelatin crosslinked added of CaP and GRN- gelatin crosslinked added of curcumin loaded zein nanoparticles).

Table 3. Parameters of mathematical models at different temperatures to 5% gelatin formulations (G-gelatin control, GR-gelatin crosslinked, GRP- gelatin crosslinked added of CaP and GRN- gelatin crosslinked added of curcumin loaded zein nanoparticles).

Sample	T (°C)	Power Law			Hurschel-Bulkley			Casson		Mizraki-Berk		
		η (Pa.s)	n	R ²	K (Pa.s ⁿ)	N	R ²	K (Pa.s ⁿ)	R ²	K (Pa.s ⁿ)	n	R ²
G	25	0.259	0.920	0.999	0.134	1.036	1.000	0.387	1.000	0.040	1.937	1.000
	30	0.162	0.795	0.991	0.019	1.110	1.000	0.171	0.996	0.004	1.859	1.000
	35	0.170	0.714	0.986	0.011	1.150	0.999	0.141	0.993	0.002	1.853	0.999
GR	25	0.144	0.926	0.996	0.042	1.133	1.000	0.289	0.998	0.008	2.026	1.000
	30	0.179	0.832	0.992	0.029	1.140	1.000	0.232	0.996	0.007	1.942	1.000
	35	0.172	0.917	0.997	0.059	1.093	1.000	0.307	0.998	0.013	1.979	1.000
GRP	25	0.121	0.925	0.988	0.011	1.313	1.000	0.261	0.991	0.002	2.204	1.000
	30	0.214	0.840	0.992	0.030	1.180	1.000	0.269	0.995	0.008	2.005	1.000
	35	0.260	0.867	0.995	0.063	1.108	1.000	0.318	0.997	0.021	1.947	0.999
GRN	25	0.065	1.122	1.000	0.050	1.167	1.000	0.385	0.999	0.004	2.258	1.000
	30	0.106	0.982	1.000	0.102	0.988	1.000	0.307	1.000	0.011	1.965	1.000
	35	0.833	0.968	1.000	0.079	0.978	1.000	0.259	1.000	0.007	1.940	1.000

η -viscosity; n -behavior index; K - coefficient of consistence and R^2 - linear coefficient.

The viscosity of a fluid depends on the nature of solvent, nature of solute, their interaction, and amount of solid content in solution, solute shape, size, molecular weight and hydration state (Kumar et al., 2014). The presence of calcium ions during the gelation process can enhance or hinder the helices aggregation in the formation of three-dimensional protein network, depending on its concentration. In excess (15 mM), Ca²⁺ ions may occupy anionic sites of the chain, causing repulsive forces capable of reducing the formation of bonds between aggregates propellers, which leads to weakened gel structures (Lau, Tang, & Paulson, 2000). The structural disorder of the solution may affect the activity of TGase, since the viscosity of the solution is time and temperature dependent. This increase in viscosity promoted by TGase solution containing calcium carbonate/gelatin can take more than 1.5 h (Wang, Liu, Ye, Wang, & Li, 2015). The strong ionic interactions between anionic residues of gelatin and Ca²⁺ can be responsible for the increase in viscosity of the solution as seen in Figure 8 (D, e and F) (Choi & Kim, 2012). This may explain the low viscosity of the sample GRP compared to other samples (GR and GRN) at 25 °C and subsequent increase in viscosity at 35°C.

GRN sample containing 5%wt gelatin showed no increase in viscosity during the analysis. On the other hand, mathematical model results do not show this constant effect, but indicate an increase on viscosity such as crosslinked samples. Such behavior may be related to the nanoparticles proportion compared to gelatin. It is important to note that sodium caseinate is also cross-linked by TGase. However the cross-linking leads to increased amounts of hydrophobic amino acids, since the primary structures of casein contains many hydrophobic amino acid residues with nonpolar side chains (35-45 % of total residues) (Chambi & Grosso, 2006). This may led to system destabilization since zein is highly nonpolar.

At Figure 9 the results obtained for 10 wt% gelatin can be observed. To evaluate the effect of the crosslinking time on the rheological properties, the hydrogel formulations were evaluated at 40 °C during 30 min (10% wt gelatin; 9% wt CaP or curcumin loaded zein nanoparticles). Mironi-Harpaz et al., (2012) evaluated the crosslinking of macromolecular precursors (poly(ethylene glycol)-fibrinogen) to prepare hydrogels and observed that when the concentration of precursors was increased from 5 to 10 mg/mL there was an increase in crosslinking time from 40 to 100 min. Another point to be noted is that although at temperatures below 40 °C TGase presents low activity there was an important increase in hydrogels viscosity at 35 °C not allowing the equipment to perform measurements. In this way gelatin concentration was increase to 10% wt and temperature was set at 40 °C to obtain a better resolution of the collected data.

The mathematical models (Table 4) applied to hydrogels with gelatin concentration of 10% wt presented good fitting even as 5% wt hydrogels. Results confirmed a pseudo plastic behavior with strong Newtonian tendency according to “n” values obtained to Power law (0.96), Hershel-Bulkley (1.01) and Mizraki-Berk (1.95). At Figure 9 it is possible to observe a sharp viscosity decrease for gelatin control sample (G) up to 100 s⁻¹ demonstrating the pseudo plastic behavior. After that, a tendency to Newtonian behavior took place. The crosslinked samples presented pseudoplastic behavior which was more important in function of TGase action with time, presenting a decrease on each mathematical models “n” values.

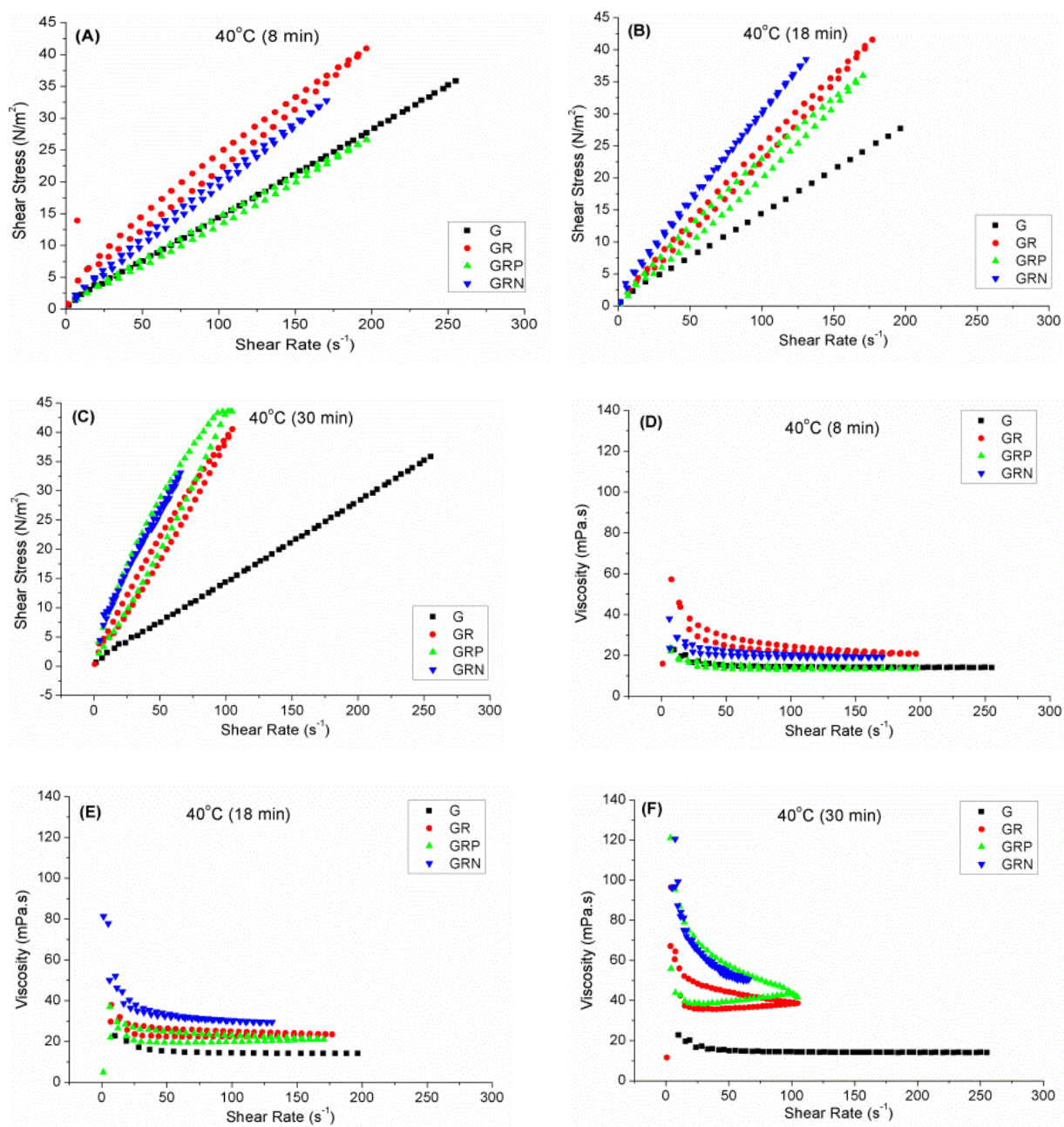


Figure 9. Shear stress curves at different crosslinking times A) 8 min; B) 18 min; C) 30 min and viscosity curves D) 8 min; E) 18 min; F) 30 min to 10% gelatin formulations (G-gelatin control, GR-gelatin crosslinked, GRP- gelatin crosslinked added of CaP and GRN- gelatin crosslinked added of curcumin loaded zein nanoparticles).

Table 4. Parameters of mathematical models at different crosslinking time intervals (10 % wt gelatin formulations: G-gelatin control, GR-gelatin crosslinked, GRP- gelatin crosslinked added of CaP and GRN- gelatin crosslinked added of curcumin loaded zein nanoparticles).

Samples		Power Law			Herschel-Bulkley			Casson		Mizraki-Berk		
		η (Pa.s)	n	R ²	K (Pa.s ⁿ)	N	R ²	K (Pa.s ⁿ)	R ²	K (Pa.s ⁿ)	n	R ²
G	60 min	0.16	0.97	0.9997	0.13	1.01	1.0000	0.36	0.9998	0.02	1.95	0.9998
	8 min	0.8	0.74	0.9997	0.71	0.76	1.0000	0.38	0.9992	0.64	1.48	0.9996
GR	18 min	0.38	0.91	0.9999	0.37	0.91	0.9999	0.46	0.9998	0.14	1.81	0.9999
	30 min	0.83	0.84	0.9998	0.92	0.82	0.9999	0.56	0.9988	0.71	1.66	0.9998
GRP	8 min	0.23	0.90	0.9998	0.22	0.91	0.9999	0.34	0.9999	0.05	1.79	0.9998
	18 min	0.42	0.87	0.9998	0.44	0.86	0.9999	0.42	0.9992	0.18	1.72	0.9998
	30 min	2.02	0.67	0.9962	2.37	0.64	0.9966	0.52	0.9887	5.00	1.30	0.9968
GRN	8 min	0.37	0.87	0.9999	0.31	0.90	1.0000	0.40	0.9999	0.12	1.76	0.9999
	18 min	0.62	0.84	0.9989	0.38	0.94	0.9998	0.48	0.9999	0.28	1.75	0.9999
	30 min	1.69	0.70	0.9962	0.68	0.89	0.9982	0.54	0.9982	1.36	1.58	0.9981

For Herschel-Bulkley, for instance, gelatin control sample presented “n” equal to 1.01 and after 30 min the crosslinked samples of gelatin (GR) and gelatin with CaP and nanoparticles presented values equal to 0.82, 0.64 and 0.89 respectively. In the same way, Power Law and Mizraki-Berk models presented similar results.

A gradual increase on shear stress with crosslinking time was also observed in Figure 9 for all samples, except by gelatin control (G). This was confirmed by an increase on consistency coefficients (K) from 0.22 to 2.37 when Hershel-Bulkey model was applied to GRP sample. For the same sample, consistency coefficients from Casson model varied from 0.34 to 0.52 and from Mizraki-Berk range between 0.05 and 5.00.

The smallest variation on “K” value was detected for GRN sample (with curcumin loaded zein nanoparticles) and the highest variation was found to GRP (with CaP). These consistency coefficient (K) variations characterize rheopectic behavior due to crosslinking reaction. TGase promotes crosslinking reaction between gelatin polymeric chains forming covalent bonds between ϵ -amino group of a peptide-bound lysine residue and a γ -carboxamide group of a peptide-bound

glutaminy residue (Babin & Dickinson, 2001). This process is intensified with crosslinking time producing a gradual increase on viscosity.

GRP sample (10% wt gelatin) presented rheological properties similar to sample GRP (5% wt), which has a low viscosity at the beginning of the rheological analysis and has its increase observed after 30 minutes at 40 °C, which may be related to calcium ions. However, GRN sample containing 10% wt gelatin showed higher viscosity than 5% wt solution. The difference is in the smaller proportion of nanoparticles in relation to the gelatin content of the solution, allowing extended crosslinking on the sample. Chambi & Grosso, (2006) confirmed the formation of gelatin blends and sodium caseinate whose crosslinking with TGase has improved some property as tensile strength and elongation of produced films.

The basic solution used to prepare formulations with 10% of gelatin was adjusted to Arrhenius mathematical model, resulting in an adequate adjustment with $R^2 = 0.84$ and activation energy (E_a) equal to $10.32 \text{ KJ.mol}^{-1}$. Ding et al (2005) observed an E_a of 20 KJ.mol^{-1} to gelatin/pullulan system. Horn, Martins and Plepis (2010) obtained a result equal to $14.84 \text{ KJ.mol}^{-1}$ to a chitosan/xanthan/collagen blend. These results show that gelatin applied to formulations of the present study presents a more organized structure than the cited hydrocolloids, in addition to a higher dependency of rheological parameters on temperature (STEFFE, 1996).

4.3.3 Texture Profile Analysis

The texture profile analysis from hydrogel samples was performed with to comprehend the additives (curcumin loaded zein nanoparticles and CaP) on texture parameters: hardness, adhesiveness, springiness, chewiness, gumminess, cohesiveness and resilience. The results are presented at Figure 10 and Tables 5 (hydrogels with 5% wt gelatin) and Table 6 (hydrogels with 10% wt gelatin).

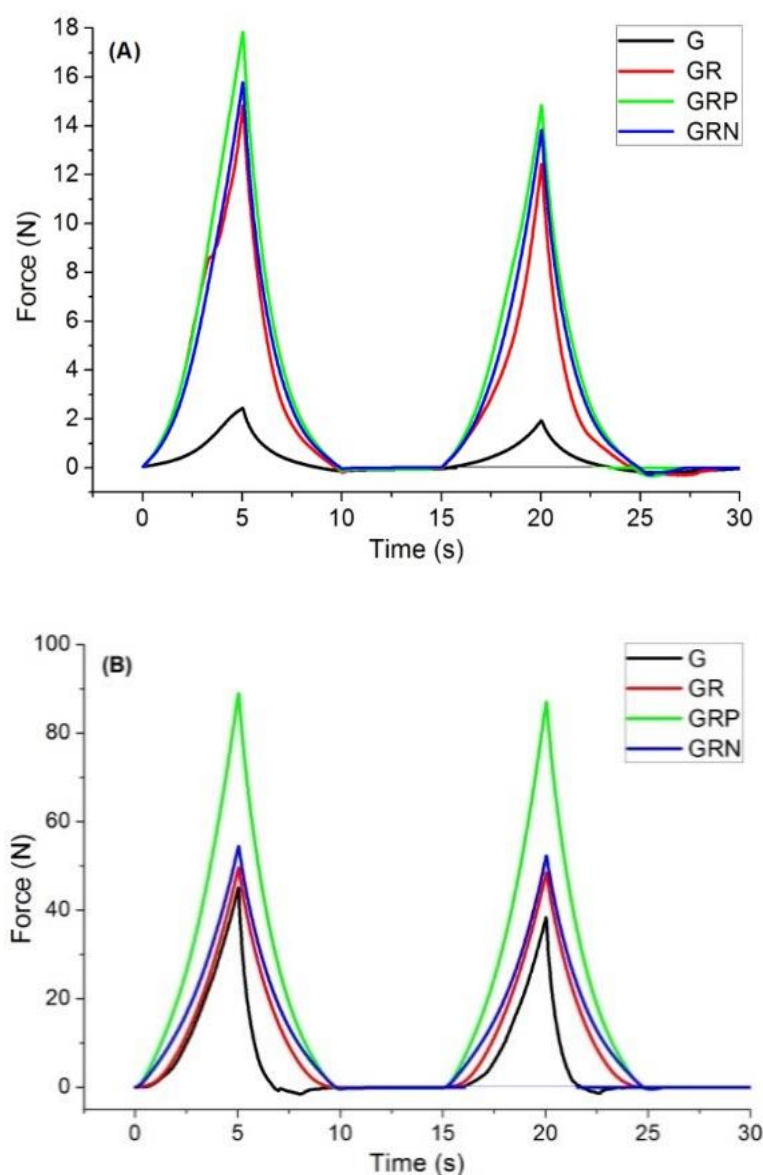


Figure 10. Texture profiles for gelatin hydrogels (G-gelatin control, GR-gelatin crosslinked, GRP- gelatin crosslinked added of CaP and GRN- gelatin crosslinked added of curcumin loaded zein nanoparticles): (A) 5 wt% gelatin; (B) 10 wt% gelatin.

Table 5. Texture analysis profile for hydrogels (5 % wt gelatin).

Samples	G	GR	GRP	GRN
Hardness (N)	2.44 ^a ±0.21	14.81 ^b ±2.36	17.84 ^c ±0.66	15.79 ^{bc} ±0.82
Adhesiveness (N.s)	-0.45 ^a ±0.22	-0.33 ^a ±0.31	-0.27 ^a ±0.30	-0.02 ^a ±0.02
Springiness	0.94 ^a ±0.03	0.98 ^a ±0.01	1.02 ^a ±0.05	1.71 ^b ±0.33
Chewiness	166.19 ^a ±4.68	1041.95 ^b ±282.66	1519.17 ^b ±160.84	2351.76 ^c ±497.57
Gumminess	177.04 ^a ±4.88	1054.18 ^b ±281.00	1494.35 ^c ±131.21	1370.04 ^{bc} ±47.96
Cohesiveness	0.71 ^a ±0.05	0.69 ^a ±0.12	0.82 ^a ±0.07	0.85 ^a ±0.02
Resilience	0.60 ^a ±0.07	0.59 ^a ±0.09	0.71 ^a ±0.05	0.72 ^a ±0.06

^{a-c} Values in lines followed by the same letter did not present statistically difference ($p > 0.05$).

Table 6. Texture analysis profile for hydrogels (10 %wt gelatin).

Samples	G	GR	GRP	GRN
Hardness (N)	45.1 ^a ±7.84	49.64 ^a ±8.62	89.01 ^b ±5.79	54.47 ^a ±7.70
Adhesiveness (N.s)	-2.09 ^a ±2.52	-0.02 ^a ±0.03	-0.53 ^a ±0.50	-0.69 ^a ±0.29
Springiness	1.92 ^a ±0.12	1.99 ^a ±0.03	1.18 ^b ±0.40	0.98 ^b ±0.00
Chewiness	6806.55 ^{ab} ±959.94	9724.36 ^{ab} ±1641.56	10293.92 ^a ±3279.13	5136.79 ^b ±651.28
Gumminess	3542.87 ^a ±434.94	4878.43 ^{ab} ±874.07	8728.92 ^c ±753.22	5216.52 ^b ±676.58
Cohesiveness	0.77 ^a ±0.06	0.97 ^b ±0.01	0.96 ^b ±0.03	0.94 ^b ±0.02
Resilience	0.37 ^a ±0.15	0.89 ^b ±0.02	0.84 ^b ±0.03	0.89 ^b ±0.02

^{a-c} Values in lines followed by the same letter did not present statistically difference ($p > 0.05$).

Gelatin concentration presented strong influence on gels properties (Figure 10) since for control samples (G) the force needed to break the gel containing 5% wt was up to 2.44 N and for 10% wt this limit shifted to 45.13 N. Pang et al., (2014) also observed this effect varying gelatin concentration from 2.5 to 5%. Another point to be noted is the 5% wt gelatin control sample low slope which indicates that the gel deformed easily and tend to flow more than break (Pang et al., 2014).

All gelatin hydrogels presented superior firmness when compared to gelatin control sample (G) and this difference was more pronounced to 5% wt gelatin concentration. This result is in agreement with other studies that evaluated gelatin crosslinking with TGase (Kaewudom, Benjakul, & Kijroongrojana, 2013; Schäfer, Zacherl, Engel, Neidhart, & Carle, 2007). The slope of gelatin hydrogels was similar with exception of the hydrogel with 10% wt of gelatin containing nanoparticles (GRN). This higher slope indicates that deformation was more difficult and the hydrogel tend to break (Pang et al., 2014). This behavior must be related to interactions between gelatin and curcumin loaded zein nanoparticles that are stabilized with sodium caseinate (NaCas). Since NaCas can also be crosslinked by TGase action (Flanagan, Gunning, & FitzGerald, 2003) a more complex polymeric network was created leading to higher firmness. Hsu & Sun, (2006) reported that NaCas promoted brittle characteristics when used as fat substitute in meat-balls formulations.

Texture profile parameters from 5% wt gelatin hydrogels are presented at Table 5. There was no significant difference ($P > 0.05$) for adhesiveness, cohesiveness and resilience parameter for all treatments. Adhesiveness is related to the work (N.s) needed to overcome the attractive force between sample and probes surface (Singh, Guizani, Al-Alawi, Claereboudt, & Rahman, 2013). Cohesiveness

reports product's resistance to compression, high values report materials that can retain their internal structure without break when subjected to compression forces (Danalache, Beirão-da-Costa, Mata, Alves, & Moldão-Martins, 2015). Resilience can be defined as the capacity of the sample to fight back to regain its original position (Singh et al., 2013). The presence of crosslinks in gelatin matrix with 5% wt concentration did not modified gelatin gel properties (control G sample).

When hardness was evaluated a significant increase ($P < 0.05$) was observed between gelatin control sample (G) and all other formulations (GR, GRP and GRN). There was an increase of 731% on hardness value from gelatin control sample to crosslinked hydrogel containing CaP. Carboxylic groups (COO^-) are prone to interact with Ca^{2+} , leading to distinct conformational changes or intermolecular bridges between polyelectrolyte chains (Peng & Wu, 2001; Xing et al., 2014). Probably calcium ions promoted these molecular interactions hardening the hydrogel network. According to Lau et al., (2000) , the presence of calcium ions can lead to crosslinks between gelatin molecules even at low concentration.

Gumminess is a parameter that defines the required energy to promote chewing and disintegrate the material in a semisolid state (Paker & Matak, 2015; Prommajak & Raviyan, 2013). In Table 5 it is possible to observe that crosslinking promoted a significant increase ($P < 0.05$) on gumminess. The sample containing nanoparticles (GRN) was statistically equivalent to the other two hydrogels (GR and GRP) but there was significant difference between those last ones.

There was a significant increase ($P < 0.05$) in chewiness from gelatin control sample (G) to crosslinked gelatin (GR) and hydrogel added of CaP (GRP), wherein the latter two were statistically equal ($P > 0.05$). In addition, crosslinked hydrogel added of nanoparticles presented the higher value being significantly different from all samples 5%. Since chewiness is defined as the number of chews necessary for food to be swallowed (Maldo de Paula & Conti-Silva, 2014) the crosslinked hydrogels need a higher numbers of chews than gelatin control sample (G) and even more the hydrogels containing nanoparticles (GRN). Foo, Yew, Liong, & Azhar (2011) evaluated the texture profiles of noodles containing soy protein isolate and TGase and observed that texture was greatly dependent on the protein network. Similar values were also found to gelatin based jelly beans (Charoen, 2015). Jin & Zhong,

(2013) produced soy protein hydrogels crosslinked with TGase and intercalated montmorillonite nanoclay. Authors observed an improvement on gel strength for montmorillonite nanoclay containing sample and concluded that the contribution from crosslinks created between proteins bound on montmorillonite nanoclay and those in the matrix. Probably the same effect occurred with gelatin hydrogel and the curcumin loaded zein nanoparticles that may interact with hydrogels matrix.

In relation to springiness, the only significant difference ($P < 0.05$) was detected to crosslinked sample containing nanoparticles (GRN). Springiness is a measure explaining the ability of the product to spring back after deformation on the first compression cycle (Chamanara, Shabanpour, Gorgin, & Khomeiri, 2012) and values above 0.9 correspond to materials higher elastic recovery after compression (Danalache et al., 2015). Crosslinked hydrogel containing nanoparticles (GRN) presented a higher elastic capacity to spring back and recover its original conformation than the other evaluated samples 5%.

In the case of 10% wt gelatin hydrogels texture profile analysis results are presented at Table 6. Comparing both control samples (5 and 10% wt gelatin), it is possible to note a sharp increase in hardness (1850%). Crosslinked samples presented similar hardness values ($p > 0.05$) with the exception of CaP added hydrogel (GRP) probably due to Ca^{2+} interactions with gelatin carboxylic groups (COO^-) (Peng & Wu, 2001). The similarity observed between samples was not observed for formulations prepared with 5% wt gelatin, as mentioned before in function of gelatin concentration strong influence (Pang et al., 2014). When comparing the crosslinked samples prepared with 5% wt and 10% wt the evident hardness increase reflects the effect of crosslinking amount at hydrogels matrix (Vlierberghe, Schacht, & Dubruel, 2011).

Cohesiveness results showed that the control sample (G) statistically differed ($P < 0.05$) from hydrogels samples (GR, GRP and GRN) indicating that this sample is less resistant to breakage than hydrogels. This result influenced chewiness because sample did not break during the first compression so more energy was required to break it in the second cycle (Lau et al., 2000).

10% wt control and crosslinked samples (G and GR, respectively) presented equivalent statistical results ($P > 0.05$) but differed significantly ($p < 0.05$) from

hydrogels containing CaP and nanoparticles. Although gelatin control sample (10%wt concentration) presented harder, springer and cohesive profile than the 5%wt sample resilience was reduced. This may be attributed to the smaller amount of biopolymers in this solution, with reduced ability to recover from deformation during compression promoted (Prommajak & Raviyan, 2013). Comparing gelatin control sample to hydrogels (Table 6) it is possible to observe that all hydrogels presented equivalent statistical values ($P > 0.05$) independent of the formulation.

4.4 CONCLUSIONS

Curcumin was encapsulated with success in zein nanoparticles that showed spherical shape and a large size distribution. It was possible to conclude with FTIR and DSC results that curcumin presented a high interaction with zein and after encapsulation presents a complete amorphous organization inside nanoparticles matrix.

The rheological evaluation of the addition of curcumin loaded zein nanoparticles and calcium propionate on gelatin hydrogels showed that TGase action increased the pseudoplastic behavior of hydrogels with temperature increase, confirmed by the fitting to Power Law model. With the increase on temperature from 25 °C to 30 °C and 35 °C, the presence of nanoparticles on gelatin formulation committed the crosslinking effect on samples rheological properties due to instability of nanoparticles at the solution. The temperature increase also promoted a reduction on viscosity of all samples as well as on consistency coefficients as expected. With the evaluation of crosslinking time a rheopectic behavior was observed as well as a gradual increase on viscosity.

Texture analysis allowed to find that hydrogels added of calcium propionate presented a higher compression force than hydrogels with nanoparticles, indicating that calcium ions contributed to hydrogel protein network gelation.

4.5 REFERENCES

- An, J., Zhang, M., Wang, S., & Tang, J. (2008). Physical, chemical and microbiological changes in stored green asparagus spears as affected by coating of silver nanoparticles-PVP. *LWT - Food Science and Technology*, 41(6), 1100–1107. <http://doi.org/10.1016/j.lwt.2007.06.019>
- Assis, O. B. G., Britto, D. De, & Forato, L. A. (2009). O Uso de Biopolímeros como

Revestimentos Comestíveis Protetores Para Conservação de Frutas in natura e minimamente processadas. *Embrapa*, (1), 1–24.

- Babin, H., & Dickinson, E. (2001). Influence of transglutaminase treatment on the thermoreversible gelation of gelatin. *Food Hydrocolloids*, 15, 271–276. [http://doi.org/10.1016/S0268-005X\(01\)00025-X](http://doi.org/10.1016/S0268-005X(01)00025-X)
- Chamanara, V., Shabanpour, B., Gorgin, S., & Khomeiri, M. (2012). An investigation on characteristics of rainbow trout coated using chitosan assisted with thyme essential oil. *International Journal of Biological Macromolecules*, 50(3), 540–544. <http://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2012.01.016>
- Chambi, H., & Grosso, C. (2006). Edible films produced with gelatin and casein cross-linked with transglutaminase. *Food Research International*, 39, 458–466. <http://doi.org/10.1016/j.foodres.2005.09.009>
- Charoen, R. (2015). Development of Antioxidant Gummy Jelly Candy Supplemented with Psidium guajava Leaf Extract, 8(x), 3–9.
- Chen, H., & Zhong, Q. (2014). Processes improving the dispersibility of spray-dried zein nanoparticles using sodium caseinate. *Food Hydrocolloids*, 35, 358–366. <http://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2013.06.012>
- Chen, T., Embree, H. D., Brown, E. M., Taylor, M. M., & Payne, G. F. (2003). Enzyme-catalyzed gel formation of gelatin and chitosan: potential for in situ applications. *Biomaterials*, 24(17), 2831–2841. [http://doi.org/10.1016/S0142-9612\(03\)00096-6](http://doi.org/10.1016/S0142-9612(03)00096-6)
- Choi, M. O., & Kim, Y. J. (2012). Fabrication of gelatin/calcium phosphate composite nanofibrous membranes by biomimetic mineralization. *International Journal of Biological Macromolecules*, 50(5), 1188–1194. <http://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2012.04.001>
- Danalache, F., Beirão-da-Costa, S., Mata, P., Alves, V. D., & Moldão-Martins, M. (2015). Texture, microstructure and consumer preference of mango bars jellified with gellan gum. *LWT - Food Science and Technology*, 62(1), 584–591. <http://doi.org/10.1016/j.lwt.2014.12.040>
- de Carvalho, R. ., & Grosso, C. R. . (2004). Characterization of gelatin based films modified with transglutaminase, glyoxal and formaldehyde. *Food Hydrocolloids*, 18(5), 717–726. <http://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2003.10.005>
- Elsabee, M. Z., & Abdou, E. S. (2013). Chitosan based edible films and coatings: A review. *Materials Science and Engineering: C*, 33(4), 1819–1841. <http://doi.org/10.1016/j.msec.2013.01.010>
- Flanagan, J., Gunning, Y., & FitzGerald, R. J. (2003). Effect of cross-linking with transglutaminase on the heat stability and some functional characteristics of sodium caseinate. *Food Research International*, 36(3), 267–274. [http://doi.org/10.1016/S0963-9969\(02\)00168-0](http://doi.org/10.1016/S0963-9969(02)00168-0)
- Foo, W. T., Yew, H. S., Liong, M. T., & Azhar, M. E. (2011). Influence of formulations on textural, mechanical and structural breakdown properties of cooked yellow alkaline noodles. *International Food Research Journal*, 18(4), 1295–1301.

- Geissler, A., Biesalski, M., Heinze, T., & Zhang, K. (2014). Formation of nanostructured cellulose stearoyl esters via nanoprecipitation. *Journal of Materials Chemistry A*, 2(4), 1107–1116. <http://doi.org/10.1039/c3ta13937a>
- Gomez-Estaca, J., Balaguer, M. P., Gavara, R., & Hernandez-Munoz, P. (2012). Formation of zein nanoparticles by electrohydrodynamic atomization: Effect of the main processing variables and suitability for encapsulating the food coloring and active ingredient curcumin. *Food Hydrocolloids*, 28(1), 82–91. <http://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2011.11.013>
- Guo, J., Jin, Y.-C., Yang, X.-Q., Yu, S.-J., Yin, S.-W., & Qi, J.-R. (2013). Computed microtomography and mechanical property analysis of soy protein porous hydrogel prepared by homogenizing and microbial transglutaminase cross-linking. *Food Hydrocolloids*, 31(2), 220–226. <http://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2012.10.023>
- Hsu, S. Y., & Sun, L.-Y. (2006). Comparisons on 11 plant oil fat substitutes for low-fat Kung-wans. *Journal of Food Engineering*, 51(3), 215–220. [http://doi.org/10.1016/S0260-8774\(01\)00059-0](http://doi.org/10.1016/S0260-8774(01)00059-0)
- Hu, D., Lin, C., Liu, L., Li, S., & Zhao, Y. (2012). Preparation, characterization, and in vitro release investigation of lutein/zein nanoparticles via solution enhanced dispersion by supercritical fluids. *Journal of Food Engineering*, 109(3), 545–552. <http://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2011.10.025>
- Jin, M., & Zhong, Q. (2013). Transglutaminase cross-linking to enhance elastic properties of soy protein hydrogels with intercalated montmorillonite nanoclay. *Journal of Food Engineering*, 115(1), 33–40. <http://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2012.09.016>
- Jorge, M. F. C., Caicedo Flaker, C. H., Nassar, S. F., Moraes, I. C. F., Bittante, A. M. Q. B., & Do Amaral Sobral, P. J. (2014). Viscoelastic and rheological properties of nanocomposite-forming solutions based on gelatin and montmorillonite. *Journal of Food Engineering*, 120(1), 81–87. <http://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2013.07.007>
- Joye, I. J., & McClements, D. J. (2013). Production of nanoparticles by anti-solvent precipitation for use in food systems. *Trends in Food Science and Technology*, 34(2), 109–123. <http://doi.org/10.1016/j.tifs.2013.10.002>
- Kaewudom, P., Benjakul, S., & Kijroongrojana, K. (2013). Properties of surimi gel as influenced by fish gelatin and microbial transglutaminase. *Food Bioscience*, 1, 39–47. <http://doi.org/10.1016/j.fbio.2013.03.001>
- Kim, Y., Kee, J. I., Lee, S., & Yoo, S.-H. (2014). Quality improvement of rice noodle restructured with rice protein isolate and transglutaminase. *Food Chemistry*, 145, 409–16. <http://doi.org/10.1016/j.foodchem.2013.08.078>
- Kumar, R., Manjunatha, S., Kathiravan, T., Vijayalakshmi, S., Nadasabapathi, S., & Raju, P. S. (2014). Rheological characteristics of inulin solution at low concentrations: Effect of temperature and solid content. *Journal of Food Science and Technology*, 52(September), 5611–5620. <http://doi.org/10.1007/s13197-014-1671-5>
- Lai, L. F., & Guo, H. X. (2011). Preparation of new 5-fluorouracil-loaded zein

- nanoparticles for liver targeting. *International Journal of Pharmaceutics*, 404(1-2), 317–23. <http://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2010.11.025>
- Lau, M. H., Tang, J., & Paulson, a. T. (2000). Texture profile and turbidity of gellan/gelatin mixed gels. *Food Research International*, 33(8), 665–671. [http://doi.org/10.1016/S0963-9969\(00\)00111-3](http://doi.org/10.1016/S0963-9969(00)00111-3)
- Leimann, F. V., Biz, M. H., Musyanovych, A., Sayer, C., Landfester, K., & De Araújo, P. H. H. (2013). Hydrolysis of poly(hydroxybutyrate-co-hydroxyvalerate) nanoparticles. *Journal of Applied Polymer Science*, 128(5), 3093–3098. <http://doi.org/10.1002/app.38506>
- Maldo de Paula, A., & Conti-Silva, A. C. (2014). Texture profile and correlation between sensory and instrumental analyses on extruded snacks. *Journal of Food Engineering*, 121(1), 9–14. <http://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2013.08.007>
- Mangolim, C. S., Moriwaki, C., Nogueira, A. C., Sato, F., Baesso, M. L., Neto, A. M., & Matioli, G. (2014). Curcumin- β -cyclodextrin inclusion complex: Stability, solubility, characterisation by FT-IR, FT-Raman, X-ray diffraction and photoacoustic spectroscopy, and food application. *Food Chemistry*, 153, 361–370. <http://doi.org/10.1016/j.foodchem.2013.12.067>
- Marcotte, M., Taherian, A. R., & Ramaswamy, H. S. (2001). Rheological properties of selected hydrocolloids as a function of concentration and temperature. *Food Research International*, 34, 695–703.
- Mironi-Harpaz, I., Wang, D. Y., Venkatraman, S., & Seliktar, D. (2012). Photopolymerization of cell-encapsulating hydrogels: Crosslinking efficiency versus cytotoxicity. *Acta Biomaterialia*, 8(5), 1838–1848. <http://doi.org/10.1016/j.actbio.2011.12.034>
- Mohanty, C., & Sahoo, S. K. (2010). The in vitro stability and in vivo pharmacokinetics of curcumin prepared as an aqueous nanoparticulate formulation. *Biomaterials*, 31(25), 6597–6611. <http://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2010.04.062>
- Morsy, M. K., Khalaf, H. H., Sharoba, A. M., El-Tanahi, H. H., & Cutter, C. N. (2014). Incorporation of Essential Oils and Nanoparticles in Pullulan Films to Control Foodborne Pathogens on Meat and Poultry Products. *Journal of Food Science*, 79(4). <http://doi.org/10.1111/1750-3841.12400>
- Noronha, C. M., Granada, A. F., de Carvalho, S. M., Lino, R. C., de O.B. Maciel, M. V., & Barreto, P. L. M. (2013). Optimization of α -tocopherol loaded nanocapsules by the nanoprecipitation method. *Industrial Crops and Products*, 50, 896–903. <http://doi.org/10.1016/j.indcrop.2013.08.015>
- Paker, I., & Matak, K. E. (2015). Influence of pre-cooking protein paste gelation conditions and post-cooking gel storage conditions on gel texture. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, (January), n/a–n/a. <http://doi.org/10.1002/jsfa.7091>
- Pan, K., & Zhong, Q. (2016). Low energy, organic solvent-free co-assembly of zein and caseinate to prepare stable dispersions. *Food Hydrocolloids*, 52, 600–606. <http://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2015.08.014>

- Pang, Z., Deeth, H., Sopade, P., Sharma, R., & Bansal, N. (2014). Rheology, texture and microstructure of gelatin gels with and without milk proteins. *Food Hydrocolloids*, 35, 484–493. <http://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2013.07.007>
- Paramera, E. I., Konteles, S. J., & Karathanos, V. T. (2011). Microencapsulation of curcumin in cells of *Saccharomyces cerevisiae*. *Food Chemistry*, 125(3), 892–902. <http://doi.org/10.1016/j.foodchem.2010.09.063>
- Patel, A., Hu, Y., Tiwari, J. K., & Velikov, K. P. (2010). Synthesis and characterisation of zein–curcumin colloidal particles. *Soft Matter*, 6(24), 6192. <http://doi.org/10.1039/c0sm00800a>
- Patel, A. R., Bouwens, E. C. M., & Velikov, K. P. (2010). Sodium caseinate stabilized zein colloidal particles. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 58(23), 12497–503. <http://doi.org/10.1021/jf102959b>
- Peng, S., & Wu, C. (2001). Ca²⁺-induced complexation between thermally sensitive spherical poly(N-vinyl-caprolactam-co-sodium acrylate) microgels and linear gelatin chains in water. *Polymer*, 42, 7343–7347. [http://doi.org/10.1016/S0032-3861\(01\)00176-8](http://doi.org/10.1016/S0032-3861(01)00176-8)
- Prommajak, T., & Raviyan, P. (2013). Physical properties of gelatin extracted from skin of Thai pangas fish (*Pangasius bocourti* Sauvage). *Food and Applied Bioscience Journal*, 1(3), 131–145.
- Rao, P. J., & Khanum, H. (2016). LWT - Food Science and Technology A green chemistry approach for nanoencapsulation of bioactive compound e Curcumin. *LWT - Food Science and Technology*, 65, 695–702. <http://doi.org/10.1016/j.lwt.2015.08.070>
- Rojas-Graü, M. A., Raybaudi-Massilia, R. M., Soliva-Fortuny, R. C., Avena-Bustillos, R. J., McHugh, T. H., & Martín-Belloso, O. (2007). Apple puree-alginate edible coating as carrier of antimicrobial agents to prolong shelf-life of fresh-cut apples. *Postharvest Biology and Technology*, 45(2), 254–264. <http://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2007.01.017>
- Saftner, R. a., Bai, J., Abbott, J. a., & Lee, Y. S. (2003). Sanitary dips with calcium propionate, calcium chloride, or a calcium amino acid chelate maintain quality and shelf stability of fresh-cut honeydew chunks. *Postharvest Biology and Technology*, 29(3), 257–269. [http://doi.org/10.1016/S0925-5214\(03\)00041-3](http://doi.org/10.1016/S0925-5214(03)00041-3)
- Schäfer, C., Zacherl, C., Engel, K. H., Neidhart, S., & Carle, R. (2007). Comparative study of gelation and cross-link formation during enzymatic texturisation of leguminous proteins. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 8(2), 269–278. <http://doi.org/10.1016/j.ifset.2007.01.005>
- Schorsch, C., Carrie, H., Clark, a. H., & Norton, I. T. (2000). Cross-linking casein micelles by a microbial transglutaminase conditions for formation of transglutaminase-induced gels. *International Dairy Journal*, 10(2000), 519–528. [http://doi.org/10.1016/S0958-6946\(00\)00052-2](http://doi.org/10.1016/S0958-6946(00)00052-2)
- Silva J., Silva A., Rocha B., Bracht L., Amado C., Leimann F., G. O. (2016). Curcumin Nano and Microencapsulation and its Implications on Clinical Uses. In N. S. Publishers (Ed.), *Curcumin: Clinical Uses, Health Effects and Potential Complications* (pp. 25–64). Hauppauge, NY.

- Singh, V., Guizani, N., Al-Alawi, A., Claereboudt, M., & Rahman, M. S. (2013). Instrumental texture profile analysis (TPA) of date fruits as a function of its physico-chemical properties. *Industrial Crops and Products*, 50, 866–873. <http://doi.org/10.1016/j.indcrop.2013.08.039>
- Vlierberghe, S. Van, Schacht, E., & Dubruel, P. (2011). Reversible gelatin-based hydrogels: Finetuning of material properties. *European Polymer Journal*, 47(5), 1039–1047. <http://doi.org/10.1016/j.eurpolymj.2011.02.015>
- Wang, Y., Liu, A., Ye, R., Wang, W., & Li, X. (2015). Transglutaminase-induced crosslinking of gelatin-calcium carbonate composite films. *Food Chemistry*, 166, 414–22. <http://doi.org/10.1016/j.foodchem.2014.06.062>
- Xing, Q., Yates, K., Vogt, C., Qian, Z., Frost, M. C., & Zhao, F. (2014). Increasing mechanical strength of gelatin hydrogels by divalent metal ion removal. *Scientific Reports*, 4, 4706. <http://doi.org/10.1038/srep04706>
- Zhang, C., Pansare, V. J., Prud'homme, R. K., & Priestley, R. D. (2012). Flash nanoprecipitation of polystyrene nanoparticles. *Soft Matter*, 8(1), 86–93. <http://doi.org/10.1039/C1SM06182H>
- Zhang, Y., Niu, Y., Luo, Y., Ge, M., Yang, T., Yu, L., & Wang, Q. (2014). Fabrication, characterization and antimicrobial activities of thymolloaded zein nanoparticles stabilized by sodium caseinate-chitosan hydrochloride double layers. *Food Chemistry*, 142, 269–275. <http://doi.org/10.1016/j.foodchem.2013.07.058>

CAPÍTULO V

EFEITO DA APLICAÇÃO DE FILMES COMESTÍVEIS DE GELATINA RETICULADA CONTENDO PROPIONATO DE CÁLCIO E NANOPARTÍCULAS DE ZEÍNA CONTENDO CURCUMINA NA QUALIDADE DE UVAS BENITAKA

5.1. INTRODUÇÃO

No Brasil, a produção de uva de mesa estimada no ano de 2013 foi de 1.412.854 toneladas em 81.607 ha de área plantada. Deste total, a região sul corresponde a 75,7% da área plantada com produção de 66,6% (IBGE, 2014). A produção de uvas proporciona um bom retorno econômico aos produtores, porém, se tratando de um produto delicado e perecível, requer investimento elevado, conhecimento técnico e uma série de operações e cuidados, para se produzir uvas de mesa com qualidade (NACHTIGAL et al., 2010).

A uva é susceptível à desidratação, escurecimento do engaço e incidência de fungos, responsáveis pela podridão, o que dificulta todos os cuidados da pós-colheita (CASTRO, PARK, HONÓRIO, 1999). A infecção por patógenos fúngicos na videira, varia com a região geográfica e a resistência varietal. Assim, o ambiente pode contribuir para aumentar ou limitar o desenvolvimento das doenças. O clima seco da região Nordeste do Brasil, é favorável para epidemias de oídio (*Uncinula necator*). Enquanto doenças como o míldio e as podridões do cacho (*Botrytis cinerea*), tornam-se severas acarretando altas perdas na produção na região Sul e Sudeste do Brasil (SÔNEGO, GARRIDO, JÚNIOR, 2005). Mesmo com os cuidados obtidos durante a coleta dos cachos de uva diretamente no campo e aparentemente saudáveis, os mesmos carregam patógenos latentes (CAMARGO et al., 2011).

A crescente busca para manter a qualidade dos alimentos por maior tempo tem sido possível pelo uso de filmes e revestimentos comestíveis. Este material biodegradável é um sistema de embalagem alternativa que não causa impactos ambientais (LIMA et al., 2010), já que seu emprego em alguns produtos alimentícios, pode minimizar o uso de embalagens comerciais, atmosferas controladas e até uso de refrigeração (ASSIS; BRITO; FORATO, 2009). Vários estudos vêm demonstrando sua capacidade de reduzir a taxa de transferência de gás em frutas, (LIMA et al., 2010), evitar a perda de massa, sólidos solúveis, firmeza e cor durante o período de armazenamento (ALI et al., 2010) e de conservar algumas características dos

alimentos como a atividade antioxidante (ALI et al., 2013) e aspecto sensorial (ASSIS; BRITO; FORATO, 2009), sendo uma importante ferramenta para estender seu prazo de validade. Além disso, novas pesquisas no setor alimentício mostram que a aplicação da nanotecnologia pode melhorar a funcionalidade dos filmes comestíveis (ZAMBRANO-ZARAGOZA et al., 2013).

Um fator importante no armazenamento pós-colheita das uvas de mesa é a rápida senescência que propicia perdas durante a sua comercialização. Os íons de cálcio atuam como retardadores do amadurecimento em frutos, participando na estrutura e na resistência mecânica da parede celular, facilitando ligações entre polímeros de pectina na lamela média (CHITARRA; CHITARRA, 2005). Em geral emprega-se CaCl_2 para retardar a senescência das uvas e diversos trabalhos têm demonstrado sua eficiência para tal (SILVA et al., 2012). Ácidos orgânicos fracos, tais como sorbato de potássio, propionato de cálcio e benzoato de sódio são usados para suprimir o crescimento de microorganismos e para prolongar a vida útil dos produtos de padaria (GUYNOT et al., 2005). O propionato de cálcio apresenta duas vantagens nesse sentido: a eficiência contra os microorganismos e a presença dos íons cálcio que retardam a senescência dos frutos.

Outro composto que vem sendo estudado amplamente na área de alimentos na tentativa de inibir o desenvolvimento de fungos e suas toxinas, são obtidas de plantas que possuem propriedades antifúngicas, como é o caso da curcuma (FERREIRA et al., 2013). A curcumina é um dos principais componentes encontrados no rizoma da *Curcuma longa*, planta da família *Zingiberaceae*, popularmente chamada de açafrão da Índia, originária do sudoeste da Ásia (FILHO et al., 2000). Pesquisas apontam o efeito tóxico da curcumina sobre algumas espécies de fungos como *Aspergillus flavus* (FERREIRA et al., 2013) e *Candida albicans* (KHALIL et al., 2012) por exemplo.

Tendo em vista a melhoria das características pós-colheita de uvas de mesa a proposta do presente trabalho é a avaliação do efeito do tratamento superficial de uvas de mesa com filmes comestíveis de gelatina reticulada com transglutaminase, adicionados de propionato de cálcio ou de nanopartículas de zeína com curcumina encapsulada, nas características pós-colheita dos frutos.

5.2. MATERIAIS E MÉTODOS

5.2.1. Recobrimento das uvas com os filmes comestíveis

As uvas Benitaka avaliadas neste estudo, foram colhidas na cidade de Nova América da Colina, estado do Paraná (23° 19' 50" S, 50° 43' 03" W) em abril de 2015. Após sanitizadas com solução de hipoclorito de sódio 0,01%, foram divididas em quatro grupos identificados da seguinte forma: 1) Grupo C (controle, uvas higienizadas). 2) Grupo GR (filme de gelatina reticulada). 3) Grupo GRP (filme de gelatina reticulada contendo propionato de cálcio). 4) Grupo GRN (filme de gelatina contendo nanopartículas de zeína com curcumina). Foram preparados 3 L de solução filmogênica de acordo com as proporções estudadas no “item 4.2.3” para cada formulação contendo 5% de gelatina reticulada.

O procedimento adotado para o recobrimento foi descrito por Gao, Zhu e Zhang (2013), porém foram adotadas algumas modificações. Os cachos de uva foram imersos nas soluções por 1 min, e então suspensos em varais (fixados pelas hastes) e secos em temperatura controlada de 25 ± 1 °C. Depois de secos, os frutos foram acondicionados em bandejas com tampa perfurada, e finalmente acondicionados em estufas BOD (Tecnal) a 25 °C por até 15 dias.

5.2.2. Qualidade das uvas tratadas

A qualidade das uvas foi avaliada nos tempo 0, 7 e 15 dias, quanto ao teor de sólidos solúveis (°Brix), determinado em refratômetro (DIGIT, 2WAJ); acidez titulável, por titulação (NaOH 0,1 mol/100g de ácido tartárico e indicador fenolftaleína) e perda de massa (gravimetria) (LIMA et al., 2002; SILVA et al., 2012).

Para análises de perda de peso, as amostras foram reservadas até o tempo de 30 dias para verificar sua variação após o tempo mínimo de armazenamento

5.2.3. Análises colorimétricas

Análises colorimétricas foram realizadas para avaliar a influência do filme na característica cor da uva e também para acompanhar a senescência das frutas. Foi utilizado o aparelho MiniScan EZ (marca) onde foram obtidos os parâmetros L^* (Luminosidade), a^* (- tende a verde; + tende a vermelho) e b^* (- tende a amarelo; + tende a azul) (ZAMBRANO-ZARAGOZA et al., 2013). Estes parâmetros foram utilizados para calcular o ângulo de tonalidade (h°) e saturação (C) conforme as Equações 8 e 9 (TAO et al., 2012; CHAMPA et al., 2014):

$$h^\circ = \arctang\left(\frac{b^*}{a^*}\right) \quad \text{Eq. (7)}$$

$$C^* = \sqrt{a^{*2} + b^{*2}} \quad \text{Eq. (8)}$$

5.2.4. Análise de textura das uvas

A Análise do Perfil de Textura (*Texture Profile Analysis*, TPA) foi realizada de acordo com Segade et al. (2008) em um texturômetro (TA-XT Express Enhanced, Texture Analyzer — Stable Microsystems) equipado com um probe P/2 (2 mm de diâmetro) e uma célula de carga de 10 kg. Um conjunto de 20 bagas foram amostrados aleatoriamente de cada tratamento. O teste de punção foi feito sobre a face lateral da baga, a fim de minimizar a variabilidade dos resultados. A velocidade de teste utilizada foi de 0,2 mm/s, o teste foi realizado à temperatura ambiente e os parâmetros determinados a partir das curvas força-tempo foram adesividade, espalhabilidade, mastigabilidade, gomosidade, coesividade, resiliência e dureza.

5.2.5. Análises estatísticas

Os resultados obtidos nos testes foram submetidos à análise de variância (ANOVA) a um nível de significância de 5% e ao teste de Tukey utilizando o *software* Origin Pro 8.

5.3. RESULTADOS E DISCUSSÕES

5.3.1. Perda de Massa

Quatro tratamentos foram considerados para avaliação da qualidade das uvas Benitaka ao longo de 15 dias a temperatura de 25 °C: amostras controle (somente sanitizadas), amostras recobertas com gelatina reticulada (GR), recobertas com gelatina reticulada adicionada de nanopartículas contendo curcumina (GRN) e gelatina reticulada contendo propionato de cálcio (GRP). Os resultados obtidos estão apresentados na Figura 11. Após 7 dias de armazenamento as amostras com GR e GRN já apresentaram diferença significativa com relação as demais tendo mais perda de massa. Após este período a amostra com GR demonstrou maior capacidade em manter o peso constante. Possivelmente os hidrogéis perderam umidade da sua estrutura tridimensional e mantiveram o teor de água nas frutas. Lima et al., (2002) relata uma elevação da desidratação após 28 dias, mesmo sob em ambiente refrigerado. A desidratação e respiração são responsáveis por essa perda (SHIRI et al., 2013).

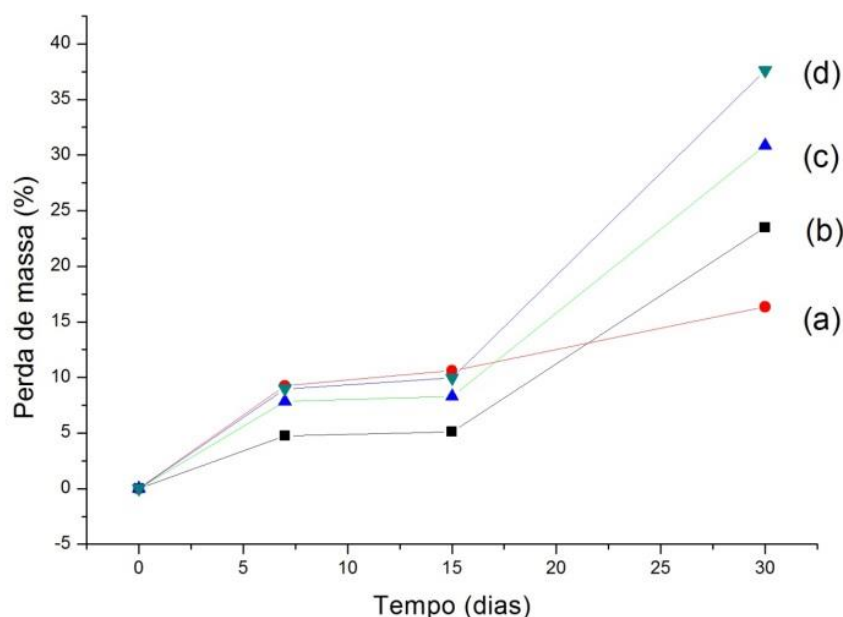


Figura 11. Perda de massa de uvas Benitaka durante 30 dias de armazenamento à 25°C: GR (a), Controle (b), GRP (c) e GRN (d).

5.3.2 Análise colorimétrica

As uvas Benitaka avaliadas (controle, GR, GRN e GRP) tiveram sua superfície analisada quanto a coloração durante os 15 dias de armazenamento a 25 °C. Foi possível detectar pouca variação dos parâmetros ao ângulo de tonalidade Hue (h°) e cromaticidade (C^*) durante o tempo de armazenamento para todos os tratamentos (Tabela 7). Após maturidade completa, a uva Benitaka apresenta uma distribuição de cor uniforme sobre toda a superfície das bagas comparada a outras uvas (ROBERTO et al., 2012).

As uvas tratadas com GRN apresentaram diferença significativa ($p < 0,05$) dos demais tratamentos quanto ao ângulo de tonalidade Hue (h°) para todos os dias de avaliação. O valor obtido para 15 dias de avaliação foi maior que as demais médias. O parâmetro h° obtido para as amostras próximo a 0° é característico da cor vermelho-púrpura, quando próximo à 60° tende a amarelo, verde a 120° e azul em 240° (BAI et al., 2013). Os valores maiores obtidos para as uvas tratadas com gelatina reticulada contendo as nanopartículas está relacionado com a coloração

das próprias nanopartículas de zeína contendo curcumina que apresentam forte coloração amarelada, alterando então a tonalidade da superfície das uvas tratadas.

Assim como para o parâmetro de tonalidade a amostra GRN apresentou diferença significativa ($p < 0.05$) para a cromaticidade no dia inicial (após o tratamento). Além disso os tratamentos com GRP e GRN apresentaram diferença significativa do controle após 7 dias de armazenamento ($p < 0,05$). De acordo com Mooz et al., (2012) quanto mais alto for o valor de cromaticidade mais viva será a cor observada. Os apresentados valores para C^* são semelhantes aos apresentados por Roberto et al., (2012) para uvas Benitaka submetidas a diferentes concentrações de ácido abscísico.

Tabela 7. Médias obtidas para ângulo de tonalidade (h°) e saturação (C^*) de uvas sem revestimento comestível (Controle) e revestidas com gelatina reticulada (GR) e contendo propionato de cálcio (GRP) e nanopartículas (GRN)

Dias	h°			
	Controle	GR	GRP	GRN
0	0,15 ^{aa} ± 0,06	0,37 ^{aa} ± 0,04	0,28 ^{aa} ± 0,03	-0,25 ^{ab} ± 0,13
7	0,29 ^{abA} ± 0,04	0,25 ^{aa} ± 0,02	0,29 ^{aa} ± 0,08	0,43 ^{ba} ± 0,05
15	0,32 ^{baB} ± 0,04	0,26 ^{aaB} ± 0,04	0,15 ^{aa} ± 0,09	0,46 ^{bb} ± 0,03
C^*				
0	6,36 ^{aa} ± 0,74	7,61 ^{aa} ± 0,89	6,79 ^{aa} ± 0,60	3,18 ^{ab} ± 0,30
7	6,47 ^{aa} ± 0,61	5,54 ^{abA} ± 0,43	4,14 ^{ba} ± 0,38	4,91 ^{abAB} ± 0,44
15	6,40 ^{aa} ± 0,60	6,31 ^{aa} ± 0,56	5,32 ^{abA} ± 0,48	7,00 ^{ba} ± 0,31

^{a-b} Médias seguidas de letras minúsculas iguais na mesma coluna não diferem significativamente entre si ($p < 0,05$).

^{A-B} Médias seguidas de letras maiúsculas iguais na mesma linha não diferem significativamente entre si ($p < 0,05$).

5.3.3. Acidez titulável e sólidos solúveis

De acordo com Mattiuz et al., (2009) os teores de sólidos solúveis (SS) e de acidez titulável (AT) estão relacionados com o índice de maturação que indica o sabor do produto, uma vez que é o resultado do balanço entre os constituintes ácidos e doces da fruta. Nenhum dos tratamentos afetou os níveis de SS e de AT das uvas Benitaka durante 15 de armazenamento, conforme apresentados na Tabela 8, com exceção do tratamento GRP. Este apresentou um ligeiro aumento de 12 °Brix para 17,275 °Brix. São poucos os tratamentos que tem impacto sobre os parâmetros de qualidade de uvas 'Benitaka' mas ainda em níveis aceitáveis, seja

com o uso de soluções salinas (YOUSSEF; ROBERTO , 2014) ou com diferentes intensidades de irradiação (SANTILLO, 2011).

Tabela 8. Efeito dos revestimentos de gelatina reticulada (GR) e contendo aditivos propionato de cálcio (GRP) e nanopartículas (GRN) sobre acidez total titulável (AT) e sólidos solúveis de uvas Benitaka armazenadas à 25 °C.

Tempo (dias)	AT (% ácido tartárico)			Sólidos Solúveis (°Brix)		
	0	7	15	0	7	15
Controle	0,80 ^{aA} ±0,10	0,75 ^{aA} ±0,15	0,73 ^{aA} ±0,04	15,650 ^{aA} ±0,00	15,025 ^{aA} ±0,38	15,275 ^{aA} ±0,62
GR	0,66 ^{aA} ±0,11	0,90 ^{aA} ±0,02	0,79 ^{aA} ±0,19	16,400 ^{aA} ±0,00	16,400 ^{aA} ±0,25	17,150 ^{aA} ±0,50
GRP	0,60 ^{aA} ±0,05	0,59 ^{aA} ±0,03	0,81 ^{aA} ±0,06	12,775 ^{aA} ±0,38	17,275 ^{aB} ±0,38	17,275 ^{aB} ±0,38
GRN	0,70 ^{aA} ±0,00	0,59 ^{aA} ±0,07	0,66 ^{aA} ±0,03	14,400 ^{aA} ±2,25	16,400 ^{aA} ±1,00	15,400 ^{aA} ±0,00

^{a-b} Médias seguidas de letras minúsculas iguais na mesma coluna não diferem significativamente entre si ($p < 0,05$).

^{A-B} Médias seguidas de letras maiúsculas iguais na mesma linha não diferem significativamente entre si ($p < 0,05$).

5.3.4. Perfil de textura para uvas

A textura é um fator importante na qualidade pós-colheita de frutas que influencia fortemente a aceitabilidade do produto pelo consumidor (ALLOUI et al., 2014). Os parâmetros de textura para os diferentes tratamentos aplicados às uvas Benitaka são apresentados na Figura 12 e Tabela 9.

Comparadas ao controle, a partir do 7^o dia de vida útil, as amostras GR e GRP apresentaram menor valores para firmeza, porém somente a GRN apresentou diferenças significativas ($p < 0,05$). Mas ao 15^o dia, a amostra GR diferiu significativamente ($p < 0,05$) das demais amostras, apresentando maior firmeza para uva tratada. O aumento da firmeza pode estar relacionado com a desidratação do revestimento de gelatina reticulada com o tempo de armazenamento. Remunan-Lopez e Bodmeier (1997) observaram em testes mecânicos de punção em hidrogéis de alginato de sódio reticulados com cloreto de cálcio que a firmeza do material seco dobrava de valor com relação ao mesmo material úmido (inchado). O mesmo efeito sobre a firmeza se observa com relação ao recobrimento das uvas.

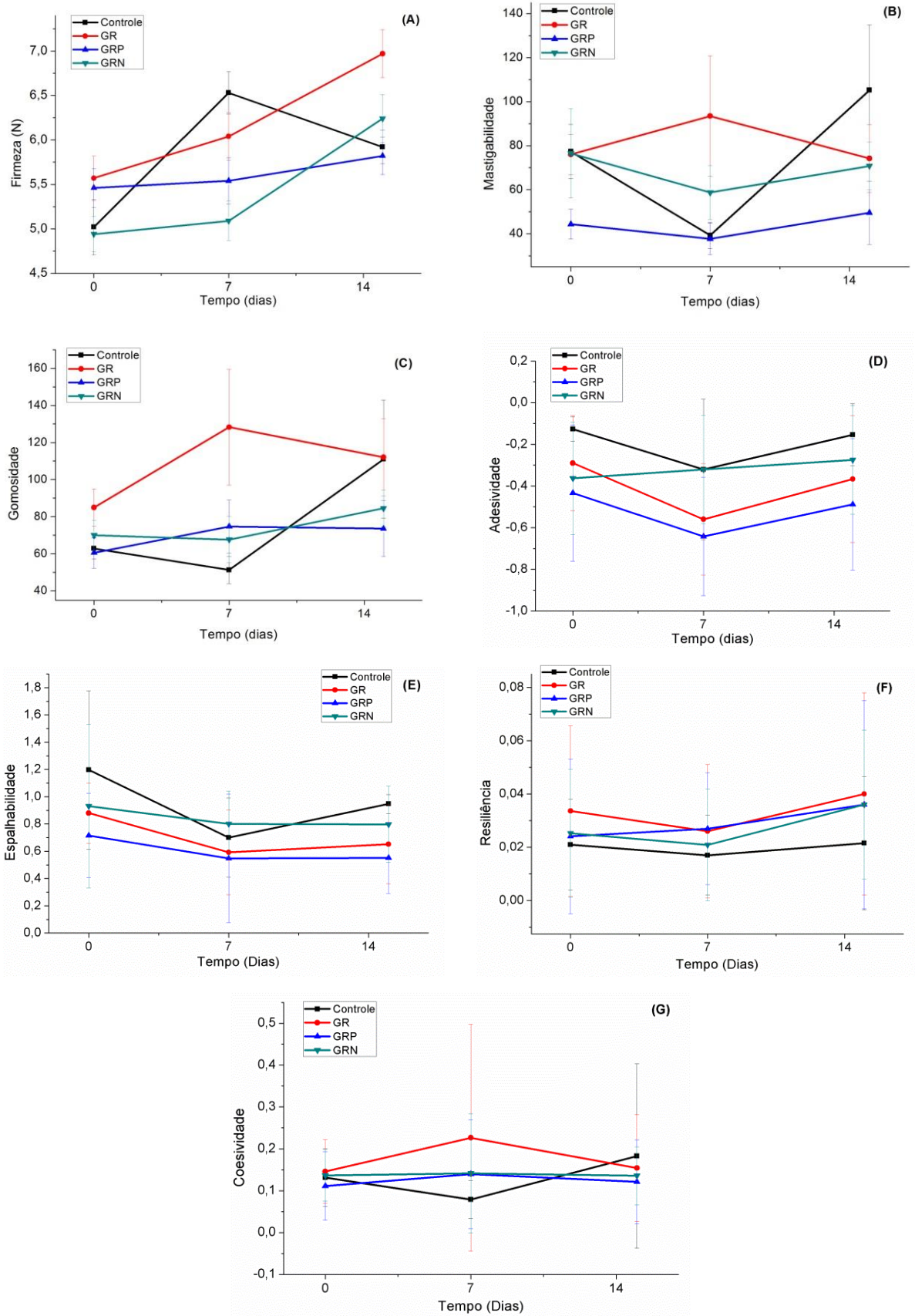


Figura 12. Gráficos para perfil de textura de uvas Controle e tratadas com revestimentos a base de GR, GRP e GRP: (A) Firmeza; (B) Mastigabilidade, (C) Gomosidade, (D) Adesividade, (E) Espalhabilidade, (F) Resiliência e (G) Coesividade.

Tabela 9. Médias para parâmetros obtidos do perfil de textura para amostras de uvas.

Firmeza			
Tempo (dias)	0	7	15
Controle	5,02 ^{aA} ±0,31	6,35 ^{aB} ±0,24	5,92 ^{aB} ±0,19
GR	5,57 ^{aA} ±0,25	6,04 ^{aA} ±0,27	6,97 ^{bB} ±0,27
GRP	5,46 ^{aA} ±0,22	5,54 ^{abA} ±0,26	5,82 ^{aA} ±0,21
GRN	4,94 ^{aA} ±0,20	5,09 ^{bA} ±0,22	6,24 ^{abB} ±0,27
Mastigabilidade			
Tempo (dias)	0	7	15
Controle	77,30 ^{aAB} ±12,28	39,24 ^{aA} ±5,93	105,23 ^{aB} ±29,71
GR	75,99 ^{aA} ±9,08	93,50 ^{aA} ±27,29	74,13 ^{aA} ±15,37
GRP	44,29 ^{aA} ±6,80	37,63 ^{aA} ±7,07	49,52 ^{aA} ±14,36
GRN	76,52 ^{aA} ±20,74	58,71 ^{aA} ±12,28	70,79 ^{aA} ±10,82
Gomosidade			
Tempo (dias)	0	7	15
Controle	62,86 ^{aA} ±5,52	51,29 ^{aA} ±7,32	111,02 ^{aA} ±31,83
GR	85,02 ^{aA} ±9,98	128,28 ^{bA} ±31,15	112,01 ^{aA} ±20,90
GRP	60,60 ^{aA} ±8,30	74,72 ^{abA} ±14,32	73,59 ^{aA} ±15,08
GRN	70,04 ^{aA} ±7,98	67,68 ^{abA} ±12,41	84,53 ^{aA} ±9,84
Adesividade			
Tempo (dias)	0	7	15
Controle	-0,13 ^{aA} ±0,06	-0,32 ^{acB} ±0,34	-0,15 ^{aA} ±0,15
GR	-0,29 ^{abA} ±0,23	-0,56 ^{abB} ±0,27	-0,37 ^{abAB} ±0,30
GRP	-0,43 ^{bA} ±0,33	-0,64 ^{bA} ±0,28	-0,49 ^{bA} ±0,32
GRN	-0,36 ^{bA} ±0,27	-0,32 ^{cA} ±0,26	-0,28 ^{abA} ±0,26
Espalhabilidade			
Tempo (dias)	0	7	15
Controle	1,19 ^{aA} ±0,58	0,70 ^{aB} ±0,29	0,95 ^{aAB} ±0,07
GR	0,88 ^{abA} ±0,22	0,59 ^{aB} ±0,31	0,65 ^{bcB} ±0,29
GRP	0,72 ^{bA} ±0,31	0,54 ^{aA} ±0,47	0,55 ^{cA} ±0,26
GRN	0,93 ^{abA} ±0,60	0,80 ^{aA} ±0,24	0,79 ^{abA} ±0,28
Resiliência			
Tempo (dias)	0	7	15
Controle	0,02 ^{aA} ±0,02	0,02 ^{aA} ±0,02	0,02 ^{aA} ±0,02
GR	0,03 ^{aA} ±0,03	0,03 ^{aA} ±0,03	0,04 ^{aA} ±0,04
GRP	0,02 ^{aA} ±0,03	0,03 ^{aA} ±0,02	0,04 ^{aA} ±0,04
GRN	0,03 ^{aA} ±0,02	0,02 ^{aA} ±0,02	0,04 ^{aA} ±0,03
Coesividade			
Tempo (dias)	0	7	15
Controle	0,13 ^{aA} ±0,07	0,08 ^{aA} ±0,05	0,18 ^{aA} ±0,22
GR	0,14 ^{aA} ±0,08	0,23 ^{bA} ±0,27	0,15 ^{aA} ±0,13
GRP	0,11 ^{aA} ±0,08	0,14 ^{abA} ±0,13	0,12 ^{aA} ±0,1
GRN	0,14 ^{aA} ±0,06	0,14 ^{abA} ±0,14	0,14 ^{aA} ±0,07

^{a-b} Médias seguidas de letras minúsculas iguais na mesma coluna não apresentam diferença significativas entre si (p<0,05).

^{A-B} Médias seguidas de letras maiúsculas iguais na mesma linha não apresentam diferença significativas entre si (p<0,05).

Os dados obtidos para parâmetro firmeza mostra que, nos dias iniciais de avaliação o hidrogel encontrava-se inchado e ao longo do tempo de armazenamento teve sua umidade reduzida. No caso das amostras recobertas com o hidrogel contendo o propionato de cálcio esse efeito da desidratação do hidrogel não foi observado. A presença de cálcio no revestimento GRP permitiu manter a firmeza da fruta durante os 15 dias de vida útil da fruta devido a reposição de íons Ca^{+2} ligados à protopectina e pectina das paredes celulares (CHAMPA et al., 2014). Ou seja, o efeito da desidratação do hidrogel foi compensado pela manutenção do teor de água na fruta. Quiles et al., (2007) trataram pedaços de maçã com uma solução de propionato de cálcio (40 g/L) e observaram que ao longo de duas semanas sob refrigeração a 4 °C, o tratamento reduziu a atividade enzimática da pectina metil esterase. Deytieux-Belleau et al., (2008) estudaram as modificações enzimáticas da casca de uvas viníferas como parâmetro para avaliação de amadurecimento e concluíram que a pectina metilesterase tem papel importante no amolecimento e mudança de cor das uvas.

Outros autores observaram a perda de firmeza de uvas ao longo do armazenamento. Em condições de armazenamento refrigerado a 4 ± 1 °C e 85–90% de umidade relativa, Aloui et al., (2014) observou a perda de firmeza para uva Itália, devida ao rompimento da estrutura celular durante sua senescência. Lima et al. (2002) utilizaram cloreto de cálcio em uvas Itália e observaram que este tratamento reduziu a atividade da polifenoloxidase e, conseqüentemente, os sintomas de danos mecânicos, resultando numa melhor aparência.

O uso de revestimento permitiu manter significativamente ($p < 0,05$) a característica de mastigabilidade e gomosidade durante os 15 dias de armazenamento para cada tratamento, o que não foi possível para a amostra controle que apresentou uma variação para mastigabilidade durante esse tempo. Mas nenhuma amostra apresentou diferença significativa ($p < 0,05$) comparada ao controle nos tempos 0, 7 e 15 dias. Gao, Zhu e Zhang (2013) também puderam manter estável os valores para mastigabilidade através com o uso de revestimento a base de quitosana-glicose até o final do período de armazenagem à frio de 60 dias.

Para os demais parâmetros de textura houve pouca variação durante os 15 dias de armazenamento, sendo que as amostras GRP e GRN apresentaram

diferença significativa ($p < 0,05$) das demais amostras no tempo inicial para adesividade, enquanto para Resiliência não houve nenhuma diferença entre as amostras e para 15 dias de armazenamento. A amostra GR no tempo 7, apresentou um aumento significativo de coesividade diferindo das demais ($p < 0,05$) e para espalhabilidade a mostra controle e de GR apresentou variação após 7 dias de armazenamento ($p < 0,05$).

O filme a base de gelatina provavelmente não é o revestimento ideal para aplicação em uvas Benitakas, conforme apresentam os resultados. De acordo com Assis, Brito e Forato (2009) não existe revestimento cuja composição seja adequada a todo tipo de fruto, onde se faz necessário testar sua eficiência em diversas condições de armazenamento.

5.4. CONCLUSÃO

As amostras tratadas com gelatina reticulada sem aditivos foi a que apresentou melhor conservação de uvas Benitakas durante os 15 dias de armazenamento. A interação dos aditivos com a matriz protéica permitiu formar um filme compacto o que não permitiu melhores características de preservação da fruta.

5.5. REFERÊNCIAS

ALI, Asgar; MAQBOOL, Mehdi; ALDERSON, Peter G.; ZAHID, Noosheen. Effect of gum arabic as an edible coating on antioxidant capacity of tomato (*Solanum lycopersicum* L.) fruit during storage. **Postharvest Biology and Technology**. v. 76, p. 119–124, 2013.

ALI, Asgar; MAQBOOL, Mehdi; RAMACHANDRAN, Senthil; ALDERSON, Peter G. Gum arabic as a novel edible coating for enhancing shelf-life and improving postharvest quality of tomato (*Solanum lycopersicum* L.) fruit. **Postharvest Biology and Technology**. v. 58, p. 42–47, 2010.

ALOUI, Hajer; KHWALDIA, Khaoula; SÁNCHEZ-GONZÁLEZ, Laura; MUNERET, Laurence; JEANDEL, Carole; HAMDÍ, Moktar; DESOBRY, Stéphane. Alginate coatings containing grapefruit essential oil or grapefruit seed extract for grapes preservation. **International Journal of Food Science and Technology**. v. 49, p. 952-959, 2014.

ASSIS, Odílio B. G.; BRITTO, Douglas; FORATO, Lucimara A. O uso de biopolímeros como revestimentos comestíveis protetores para conservação de frutas

in natura e minimamente processadas. **Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento**. Embrapa Instrumentação Agropecuária. São Carlos, 2009. 23 p.

BAI, Jun-Wen; SUN, Da-Wen; XIAO, Hong-Wei; MUJUMDAR, A.S.; GAO, Zhen-Jiang. Novel high-humidity hot air impingement blanching (HHAIB) pretreatment enhances drying kinetics and color attributes of seedless grapes. **Innovative Food Science and Emerging Technologies**. v. 20, p. 230–237, 2013.

CAMARGO, Rúbia B.; PEIXOTO, Ana R.; TERAÓ, Daniel; ONO, Elizabeth O.; CAVALCANTI, Leonardo S. Fungos causadores de podridões pós-colheita em uvas apirênicas no pólo agrícola de Juazeiro-ba e Petrolina-pe. **Revista Caatinga**. v. 24, n. 1, p. 15-19, 2011.

CASTRO, Josalba V.; PARK, Kil J.; HONÓRIO, Sylvio L. Emprego de embalagens para conservação pós-colheita de uvas. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**. v.3, n.1, p.35-40, 1999.

CHAMPA, W. A. Harindra; GILL, M. I. S.; MAHAJAN, B. V. C.; ARORA, N. K. Pre-harvest treatments of brassinosteroids on improving quality of table grapes (*Vitis vinifera* L.) cv. flame seedless. **International Journal of Agriculture Science and Veterinary Medicine**. v.2, n. 1, p. 96-104, 2014.

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

DEYTIEUX-BELLEAU, C.; VALLET, A.; DO-NÈCHE, B.; GENY, L. Pectin methylesterase and polygalacturonase in developing grape skin. **Plant Physiology and Biochemistry**. v. 46, p. 638-646, 2008.

FERREIRA, Flavio D.; KEMMELMEIER, Carlos; ARROTÉIA, Carla C.; COSTA, Christiane L.; MALLMANN, Carlos A.; JANEIRO, Vanderly; FERREIRA, Francine M. D.; MOSSINI, Simone A. G.; SILVA, Expedito L.; MACHINSKI JR. Miguel. Inhibitory effect of the essential oil of *Curcuma longa* L. and curcumin on aflatoxin production by *Aspergillus flavus* Link. **Food Chemistry**. v.136, p. 789-793, 2013.

FILHO, Arthur B. C.; SOUZA, Rovilson J.; BRAZ, Leila T.; TAVARES, M. **Cúrcuma: planta medicinal, condimentar e de outros usos potenciais**. **Ciência Rural**. v. 30, n. 1, p.171-175, 2000.

GAO, Pisheng; ZHU, Zhiqiang; ZHANG, Ping. Effects of chitosan–glucose complex coating on postharvest quality and shelf life of table grapes. **Carbohydrate Polymers**. v. 95, p. 371– 378, 2013.

GUYNOT, M. E.; RAMOS, A. J.; SANCHIS, V.; MARÍN, S. Study of benzoate, propionate, and sorbate salts as mould spoilage inhibitors on intermediate moisture bakery products of low pH (4.5–5.5). **International Journal of Food Microbiology**. v. 101, p. 161-168, 2005.

IBGE – Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Levantamento Sistemático da Produção Agrícola. Rio de Janeiro: v.27, n.01, 116 f., 2014.

KHALIL, Omar A. K.; OLIVEIRA, Olga M. M. F.; VELLOSA, José C. R.; QUADROS, Andreza U.; DALPOSSO, Loriangela M.; KARAM, Thaysa K.; MAINARDES, Rubiana M.; KHALIL, Najeh M. Curcumin antifungal and antioxidant

activities are increased in the presence of ascorbic acid. **Food Chemistry**. v. 133, p. 1001-1005, 2012.

LIMA, Álvaro M.; CERQUEIRA, Miguel A.; SOUZA, Bartolomeu W. S.; SANTOS, Ed Carlos M.; TEIXEIRA, José A.; MOREIRA, Renato A.; VICENTE, António A. New edible coatings composed of galactomannans and collagen blends to improve the postharvest quality of fruits – Influence on fruits gas transfer rate. **Journal of Food Engineering**. v. 97, p. 101–109, 2010.

LIMA, Maria A. C.; ALVES, Ricardo E.; ASSIS, Joston S.; FILGUEIRAS, Heloísa A. C.; COSTA, José T. Aparência, compostos fenólicos e enzimas oxidativas em uva 'Itália' sob influência do cálcio e do armazenamento refrigerado. **Revista Brasileira de Fruticultura**. v. 24, p. 39-43, 2002.

MATTIUZ, Ben-Hur; MIGUEL, Ana C. A.; GALATI, Vanessa C.; NACHTIGAL Jair C. Efeito da temperatura no armazenamento de uvas apirênicas minimamente processadas. **Revista Brasileira de Fruticultura**. v. 31, n. 1, p. 44-52, 2009.

MOOZ, Edinéia D.; CASTELUCCI, Ana C. L.; SPOTO, Marta H. F. Potencial tecnológico e alimentício de frutos de macaúba *Acrocomia aculeata* (Jacq.) Lodd. **Revista Brasileira de Pesquisa em Alimentos**. v.3, n.2, p.86-89, 2012.

NACHTIGAL, Jair C.; BOTTON, Marcos; SANTOS, Henrique P.; GARRIDO, Lucas R.; HILLEBRAND, Flávio; ONSI, Gilmar; BELLÉ, Valdemir. Recomendações para produção de uvas de mesa em cultivo protegido na região da Serra Gaúcha. **EmbrapaUva e Vinho**. Bento Gonçalves: 32 f., 2010.

QUILES, Amparo; HERNANDO, Isabel; PÉREZ-MUNUERA, Isabel; LLUCH, Maria A. Effect of calcium propionate on the microstructure and pectin methylesterase activity in the parenchyma of fresh-cut Fuji apples. **Journal of the Science of Food and Agriculture**. v. 87, p. 511-519, 2007.

REMUÑÁN-LÓPEZ, Carmen; BODMEIER, Roland. Mechanical, water uptake and permeability properties of crosslinked chitosan glutamate and alginate films. **Journal of Controlled Release**. v. 44, p. 215–225, 1997.

ROBERTO, Sergio R.; ASSIS, Adriane M.; YAMAMOTO, Lilian Y.; MIOTTO, Lidiane C. V.; SATO, Alessandro J.; KOYAMA, Renata; GENTA, Werner. Application timing and concentration of abscisic acid improve color of 'Benitaka' table grape. **Scientia Horticulturae**. v. 142, p. 44-48, 2012.

SANTILLO, Amanda G. **Efeitos da radiação ionizante nas propriedades nutricionais das uvas de mesa benitaka e uvas passas escuras**. Universidade de São Paulo- USP. Dissertação: São Paulo, 2011, 96 f.

SHIRI, Mohammad A.; GHASEMNEZHAD, Mahmood; BAKHSHI, Davood; SARIKHANI, Hasan. Effect of postharvest putrescine application and chitosan coating on maintaining quality of table grape cv. "shahroudi" during long-term storage. **Journal of Food Processing and Preservation**. v. 37, p. 999-1007, 2013.

SILVA, Rosana S.; SILVA, Silvanda M.; DANTAS, Ana L.; MENDONÇA, Rejane M. N.; GUIMARÃES George H. C. Qualidade de uva 'isabel' tratada com cloreto de cálcio em pós-colheita e armazenada sob atmosfera modificada. **Revista Brasileira Fruticultura**. v. 34, n. 1, p. 050-056, 2012.

SÔNEGO, Olavo R.; GARRIDO, Lucas R.; JÚNIOR, Albino G. Principais doenças fúngicas da videira no Sul do Brasil. **Embrapa**. Bento Gonçalves: 32 f., 2005.

TAO, Yang; SUN, Da-Wen; GÓRECKI, Adrian; BŁASZCZAK, Wioletta; LAMPARSKI, Grzegorz; AMAROWICZ, Ryszard; FORMAL, Józef; JELIŃSKI, Tomasz. Effects of high hydrostatic pressure processing on the physicochemical and sensorial properties of a red wine. **Innovative Food Science and Emerging Technologies**. v. 16, p. 409–416, 2012.

YOUSSEF, Khamis; ROBERTO, Sergio R. Salt strategies to control Botrytis mold of 'Benitaka' table grapes and to maintain fruit quality during storage. **Postharvest Biology and Technology**. v. 95, p. 95-102, 2014.

ZAMBRANO-ZARAGOZA, M. L.; MERCADO-SILVA, E.; RAMIREZ-ZAMORANO, P.; CORNEJO-VILLEGAS, M. A.; GUTIÉRREZ-CORTEZ, E.; QUINTANAR-GUERRERO, D. Use of solidlipid nanoparticles (SLNs) in edible coatings to increase guava (*Psidium guajava* L.) shelf-life. **Food Research International**. v. 51, p. 946-953, 2013.

CAPÍTULO VI

6. CONCLUSÃO GERAL

As nanopartículas de zeína contendo curcumina produzidas pela técnica de nanoprecipitação, apresentaram alto diâmetro médio e PDI de $655\pm 61\text{nm}$ e $0,4\pm 0,1$ respectivamente. Tal fato pode estar relacionado à elevada turbulência do sistema de agitação causando a colisão entre as nanopartículas além da baixa estabilidade proporcionada pelo caseinato de sódio. As análises MET, DLS e FTIR, mostraram que as nanopartículas elaboradas apresentaram forma esférica e comprovaram a encapsulação da curcumina pela zeína promovendo uma compatibilidade termodinâmica entre os componentes presentes nas nanopartículas.

Através das análises reológicas constatou-se que os hidrogéis de gelatina possuem comportamento pseudoplástico, sendo acentuado após 30 min de reticulação com a enzima transglutaminase, dados confirmados pelos modelos matemáticos. O aumento gradual da reticulação juntamente com o rápido rearranjo entre as moléculas dos hidrogéis fez com que estes apresentassem uma tendência reopética. A interação entre a zeína e a gelatina propiciou à amostra de hidrogel GRN maior gomosidade, seguido do hidrogel GRP, cuja a presença de íons Ca^{2+} auxiliou na ligação cruzada da rede proteica de gelatina.

Apesar de não conseguirem evitar a alta perda de peso em uva benitaka, os filmes de gelatina reticulada não influenciaram no h^0 mantendo os valores próximo a 0^0 característico da coloração vermelho púrpura e valores de C^* de acordo com outras referências, e não afetaram os terrores de ATT e SS.

As condições de armazenamento influenciaram as mudanças do perfil de textura das uvas benitaka em todos os tratamentos, sendo que a partir do 7º dia foi observado um aumento da firmeza do fruto. Embora a amostra controle não tenha proporcionado um padrão da característica mastigabilidade, o uso de filmes permitiu manter este parâmetro.