



UNIVERSIDADE TECNOLÓGICA FEDERAL DO PARANÁ
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM TECNOLOGIA
DE PROCESSOS QUÍMICOS E BIOQUÍMICOS



Carlize Bertotto

**DESENVOLVIMENTO DE FILMES BIODEGRADÁVEIS ATIVOS
CONTENDO COPRODUTOS DA EXTRAÇÃO DE PRÓPOLIS
COMERCIAL E DA INDÚSTRIA DE SUCO DE MAÇÃ**

DISSERTAÇÃO

Pato Branco

2019

Carlize Bertotto

**DESENVOLVIMENTO DE FILMES BIODEGRADÁVEIS ATIVOS
CONTENDO COPRODUTOS DA EXTRAÇÃO DE PRÓPOLIS
COMERCIAL E DA INDÚSTRIA DE SUCO DE MAÇÃ**

Dissertação de mestrado apresentada como requisito parcial para obtenção do título de “Mestre em Tecnologia de Processos Químicos e Bioquímicos” do Programa de Pós-graduação em Tecnologia de Processos Químicos e Bioquímicos da Universidade Tecnológica Federal do Paraná.

Professora Orientadora: Dr^a. Solange Teresinha Carpes.

Professora Coorientadora: Dr^a. Ana Paula Bilck.

Pato Branco

2019

B545d Bertotto, Carlize.

Desenvolvimento de filmes biodegradáveis ativos contendo coprodutos da extração de própolis comercial e da indústria de suco de maçã / Carlize Bertotto -- 2019.

125 f. : il. ; 30 cm.

Orientadora: Profa. Dra. Solange Teresinha Carpes

Coorientadora: Profa. Dra. Ana Paula Bilck

Dissertação (Mestrado) - Universidade Tecnológica Federal do Paraná. Programa de Pós-Graduação em Tecnologia de Processos Químicos e Bioquímicos. Pato Branco, PR, 2019.

Bibliografia: f. 94 - 114

1. Filmes plásticos. 2. Plásticos biodegradáveis. 3. Alimentos-embalagens I. Carpes, Solange Teresinha, orient. II. Bilck, Ana Paula, coorient. III. Universidade Tecnológica Federal do Paraná. Programa de Pós-Graduação em Tecnologia de Processos Químicos e Bioquímicos. IV. Título.

CDD 22. ed. 660.281

Ficha Catalográfica elaborada por
Rosana Silva CRB9/1745
Biblioteca da UTFPR Campus Pato Branco



TERMO DE APROVAÇÃO DE DISSERTAÇÃO Nº 101

A Dissertação de Mestrado intitulada “**Desenvolvimento de filmes biodegradáveis ativos contendo coprodutos da extração de própolis comercial e da indústria de suco de maçã**”, defendida em sessão pública pela candidata **Carlize Bertotto**, no dia 29 de outubro de 2019, foi julgada para a obtenção do título de Mestre em Tecnologia de Processos Químicos e Bioquímicos, área de concentração Tecnologia de Processos Químicos e Bioquímicos, e aprovada em sua forma final, pelo Programa de Pós-Graduação em Tecnologia de Processos Químicos e Bioquímicos.

BANCA EXAMINADORA:

Prof^a Dr^a Solange Teresinha Carpes - Presidente - UTFPR

Prof^a Dr^a Vidianny Aparecida Queiroz Santos - FADEP

Prof^a Dr^a Tatiane Luiza Cadorin Oldoni - UTFPR

A via original deste documento encontra-se arquivada na Secretaria do Programa, contendo a assinatura da Coordenação após a entrega da versão corrigida do trabalho.

Pato Branco, 25 de novembro de 2019.

Carimbo e assinatura do Coordenador do Programa.

AGRADECIMENTOS

Agradeço, primeiramente, ao meu esposo, Giovani Bernart, pelo incentivo, apoio e por, muitas vezes, nas minhas ausências em função do mestrado, ter sido o pai e a mãe da nossa filha Julia Isabel.

A minha filha, Julia Isabel, agradeço por ser a fonte da minha inspiração em querer ser melhor a cada dia.

Aos meus pais, Leonildo e Dolvina, pelo incentivo e apoio.

Agradeço também a Prof.^a Dr.^a Solange Teresinha Carpes, pela oportunidade e orientação.

A prof.^a Dr.^a Ana Paula Bilck pela confecção dos filmes biodegradáveis, por ter me ajudado em algumas dúvidas no laboratório e também a qualificar o projeto de mestrado.

Agradeço ao Engenheiro Agrônomo Dr. Anderson Wamser e ao professor Vanderlei de Lima, pelo auxílio na aplicação das análises estatísticas desta pesquisa.

Aos professores das disciplinas que cursei, pelos ensinamentos transmitidos.

Agradeço aos amigos que conheci no mestrado, Hellen, Rodrigo, Laís, Daiane, Marta, Juliana, João, Talita, Tamires, Jéssica Stadniki, Renata, Mateus, Junior e o alegre Evertão, que tornaram os dias mais tranquilos e alegres e as disciplinas mais suáveis, quando nos reuníamos para estudar e comemorar por termos sobrevivido às aulas dos professores Rodrigo e Raquel.

Enfim, agradeço a todos que contribuíram para a realização dessa pesquisa. Muito obrigado.

Nunca saberemos quão forte somos até que ser forte seja a única escolha. (Autor Desconhecido)

RESUMO

BERTOTTO, Carlize. **Desenvolvimento de filmes biodegradáveis ativos contendo coprodutos da extração de própolis comercial e da indústria de suco de maçã.** 2019. 125f. Dissertação (Mestrado em Tecnologia de Processos Químicos e Bioquímicos) - Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Pato Branco, PR, 2019.

A embalagem ativa é uma abordagem inovadora para manter ou prolongar a vida útil de produtos alimentícios, garantindo sua qualidade, segurança e integridade. A adição de substâncias ativas, como antimicrobianos e antioxidantes, pode prolongar o prazo de validade e diminuir o uso de conservantes nos alimentos. A partir dessa base teórica, o objetivo deste trabalho foi desenvolver filmes ativos com coproduto da extração comercial de própolis (CP) e coproduto de suco de maçã (CM) para elaboração de embalagens plásticas biodegradáveis para uso em alimentos. Inicialmente, o CP e CM foram caracterizados quanto a sua composição físico-química (umidade, cinzas, proteína, lipídios, açúcares em glicose e fibras). Posteriormente, os filmes plásticos biodegradáveis contendo os coprodutos elaborados por extrusão-sopro em balão foram analisados quanto as propriedades físicas (elasticidade, flexibilidade e rigidez dos filmes). Os extratos etanólicos dos coprodutos e dos filmes plásticos contendo os coprodutos foram preparados e analisados quanto ao teor de fenólicos totais, atividade antioxidante e atividade antimicrobiana. Além disso, o perfil dos compostos voláteis desses materiais foi determinado por extração em fase sólida, identificados e quantificados por cromatografia gasosa acoplado ao espectrômetro de massas. O teor de compostos fenólicos totais foi determinado pelo método de Folin-Ciocalteu, enquanto a atividade antioxidante foi determinada por três métodos: DPPH (2,2-difenil-1-picrilhidrazil); ABTS 2,2-azino-bis-(3-etil-benzotiazolina-6-ácido sulfônico) e FRAP (poder antioxidante redutor do ferro). A atividade antimicrobiana foi determinada pela concentração inibitória mínima (CIM) e concentração bactericida mínima (CBM) contra os microrganismos *Staphylococcus aureus*, *Salmonella thymimurium* e *Escherichia coli*. Como resultado, os dois coprodutos apresentaram fenólicos e atividade antioxidante (ABTS $226,58 \pm 10,89$ $\mu\text{mol TEAC/g}$ para CP e $16,83 \pm 4,41$ $\mu\text{mol TEAC/g}$ para CM) podendo ser utilizados para a confecção da embalagem ativa. O CP apresentou CIM frente à bactéria *Staphylococcus aureus* na concentração de 12,5 e 6,25 mg/mL. Quanto às propriedades mecânicas de flexibilidade, resistência e rigidez as concentrações adicionadas de coproduto mostraram-se satisfatórias em comparação ao filme controle. Pela análise de voláteis foi possível detectar 118 compostos para o CP e seu respectivo filme, as classes majoritárias de compostos identificados foram terpenos, ésteres e aldeídos, destacando-se o composto ácido benzenopropanóico éster etílico com 25,13% para CP e 32,93% no filme 4% CP da área total para ésteres. Para o CM e seus respectivos filmes foi identificado 65 compostos, as classes com maior número de compostos identificados foi aldeídos, ésteres e terpenos, destacando-se o composto α -Farneseno representando 25,72% da área total para a classe dos terpenos.

Palavras-chave: Filme biodegradável ativo. Coproduto de própolis. Coproduto de maçã.

ABSTRACT

BERTOTTO, Carlize. **Development of active biodegradable films containing co-products from commercial propolis extraction and apple juice industry.** 2019. 125 f. Master theses (Master in Technology of Chemical and Biochemical Processes) - Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Pato Branco, PR, 2019.

Active packaging is an innovative approach to maintain or extend the lifespan of food products, ensuring their quality, safety and integrity. The addition of active substances, such as antimicrobials and antioxidants may extend shelf life and decrease the use of preservatives in foods. Based upon this theoretical basis, the main goal of this study was to develop active films with the co-product (CP) from propolis commercial extraction, as well as with apple juice co-product (CM) in order to create a biodegradable plastic packaging for food use. Initially, CP and CM were described regarding their physicochemical composition (moisture, ashes, protein, lipids, glucose and fiber sugars). Subsequently, the biodegradable plastic films containing the co-products produced by blow extrusion in balloon were analyzed regarding their physical properties (elasticity, flexibility and stiffness of the films). Ethanolic extracts of co-products and plastic films containing co-products were prepared and analyzed for total phenolic content, antioxidant activity and antimicrobial activity. In addition, the profile of volatile compounds of these materials were determined by solid phase extraction, these compounds were also identified and quantified by gas chromatography coupled to the mass spectrometer. The content of total phenolic compounds was determined by the Folin-Ciocalteu method, while the antioxidant activity was determined by four methods: DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazine); ABTS 2,2-azino-bis- (3-ethyl-benzothiazoline-6-sulfonic acid) and FRAP (iron reducing antioxidant power). Antimicrobial activity was determined by the minimum inhibitory concentration (MIC) and minimum bactericidal concentration (CBM) against the microorganisms *Staphylococcus aureus*, *Salmonella thyphimurium* and *Escherichia coli*. As a result, both co-products showed phenolic and antioxidant activity and could be used to make the active packaging. The CP presented MIC against the *Staphylococcus Aureus* bacterium at the concentrations of 12.5 e 6,25 mg/mL. Regarding the mechanical properties of flexibility, strength and stiffness the added concentrations of co-product were satisfactory compared to the control film. By the volatile analysis, it was possible to detect 118 compounds for CP and its respective film, and 65 compounds for CM and its respective films. The major classes of compounds identified were terpenes, esters and aldehydes, with benzenopropanoic ethyl ester acid with 25.13% for PC and 32.93% in the 4% CP film of the total area for esters. For the CM and its respective films, 65 compounds were identified, the classes with the largest number of identified compounds were aldehydes, esters and terpenes, highlighting the compound α -Farnesene representing 25.72% of the total area for the class of terpenes.

Keywords: Active biodegradable packaging. Propolis co-product. Apple co-product.

LISTA DE TABELAS

TABELA 01 – FORMULAÇÕES DOS FILMES ATIVOS BIODEGRADÁVEIS	39
TABELA 02 – COMPOSIÇÃO QUÍMICA DOS COPRODUTOS DE MAÇÃ E PRÓPOLIS.....	48
TABELA 03 – COMPOSIÇÃO QUÍMICA DAS AMOSTRAS DE COPRODUTO DA PRÓPOLIS E MAÇÃ PARA FT E ANTIOXIDANTES, DPPH, FRAP E ABTS	51
TABELA 04 – CARACTERIZAÇÃO PARA AS FORMULAÇÕES DOS FILMES BIODEGRADÁVEIS ATIVOS PARA FT, E ANTIOXIDANTES COMO: DPPH, FRAP E ABTS	56
TABELA 05 – PROPRIEDADES MECÂNICAS DOS FILMES ATIVOS BIODEGRADÁVEIS	59
TABELA 06 – COMPONENTES VOLÁTEIS DO COPRODUTO DO EXTRATO DA PRÓPOLIS (CP), FILME COM 4% DO COPRODUTO DA PRÓPOLIS (Filme 4% CP) E FILME CONTROLE.....	65
TABELA 07 – COMPONENTES VOLÁTEIS DO COPRODUTO DE MAÇÃ (CM), FILME COM COPRODUTO DE MAÇÃ A 4% (FILME 4% CM), FILME COM COPRODUTO DE MAÇÃ 8%, (FILME 8% CM), FILME CONTROLE.....	80
TABELA 08 – MIC DAS AMOSTRAS QUE APRESENTARAM ATIVIDADE, FRENTE AOS MICRORGANISMOS TESTADOS.....	90

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

FIGURA 01 – REPRESENTAÇÃO DAS FONTES DE POLÍMEROS BIODEGRADÁVEIS	23
FIGURA 02 – ESTRUTURA QUÍMICA DO ECOFLEX® (M=COMPONENTES MODULARES, POR EXEMPLO, MONÔMEROS COM RAMIFICAÇÕES OU EFEITOS DE EXTENSÃO DE CADEIA) ...	23
FIGURA 03 – 4A: COPRODUTO DA EXTRAÇÃO DE SUCO DE MAÇÃ. 4B: COPRODUTO DA EXTRAÇÃO DE SUCO DE MAÇÃ APÓS SECAGEM, MOAGEM E PADRONIZAÇÃO DA GRANULOMETRIA	34
FIGURA 04 – COPRODUTO DA PRÓPOLIS APÓS PADRONIZAÇÃO	36
FIGURA 05 – FLUXOGRAMA DAS ATIVIDADES A SEREM DESENVOLVIDAS COM OS COPRODUTOS/FILME	37
FIGURA 06 – MISTURA DA MATÉRIA PRIMA PARA PRODUÇÃO DOS FILMES	39
FIGURA 07 – PROCESSO DE PELETIZAÇÃO DAS MISTURAS DE PBAT, AMIDO DE MANDIOCA, GLICEROL E ANTIOXIDANTES	40
FIGURA 08 – SEGUNDO PROCESSO DE EXTRUSÃO PARA A FORMAÇÃO E FILMES SOPRADOS	40
FIGURA 09 – FILME BIODEGRADÁVEL COM COPRODUTOS E ANTIOXIDANTE SINTÉTICO	41
FIGURA 10 – EXTRATOS DAS AMOSTRAS DE COPRODUTOS/FILMES	42

LISTA DE GRÁFICOS

GRÁFICO 01 – COMPOSTOS VOLÁTEIS IDENTIFICADOS NO COPRODUTO DA PRÓPOLIS E SEU RESPECTIVO FILME BIODEGRADAVEL E FILME CONTROLE	63
GRÁFICO 02 – COMPOSTOS VOLÁTEIS IDENTIFICADOS NO COPRODUTO DA MAÇÃ E SEUS RESPECTIVOS FILMES BIODEGRADAVEIS E FILME CONTROLE	78

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

DPPH	1,1-difenil-2-picrilhidrazil, α -difenil- β -picrilhidrazil
ABTS	2,2-azino-bis-(3-etil-benzotiazolina-6-ácido sulfônico)
FRAP	Poder Antioxidante de Redução do Ferro
CBM	Concentração bactericida mínima
MIC	Concentração inibitória mínima
BHA	3-terc-butil-4-hidroxianisol
PBAT	Poli (butileno de adipato co-tereftalato)
MPA	Resistência máxima a tração – Mega Pascal
Mg (NO ₃) ₂	Nitrato de magnésio
MgCl ₂	Cloreto de magnésio
NaCl	Cloreto de magnésio
Na ₂ CO ₃	Carbonato de sódio

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	16
2 OBJETIVOS	18
2.1. OBJETIVO GERAL	18
2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	18
3 REFERENCIAL TEÓRICO	20
3.1 EMBALAGENS.....	20
3.1.1 Embalagens Biodegradáveis	21
3.1.2 Embalagens Ativas	25
3.1.2.1 <i>Embalagens ativas antimicrobianas</i>	25
3.1.2.2 <i>Embalagens ativas antioxidantes</i>	26
3.1.2.3 <i>Antioxidantes Sintéticos Comerciais</i>	28
3.2 COPRODUTOS AGROINDUSTRIAIS.....	30
3.2.1 Coproduto da produção do suco de maçã	31
3.2.2 Coproduto da extração da própolis comercial	32
4 MATERIAL E MÉTODOS	34
4.1 COPRODUTOS DA MAÇÃ E DA PRÓPOLIS.....	34
4.2 CARACTERIZAÇÃO DOS COPRODUTOS	37
4.3 ELABORAÇÃO DOS FILMES	38
4.4 EXTRAÇÃO DOS COMPOSTOS BIATIVOS	38
4.5 DETERMINAÇÃO DE COMPOSTOS FENÓLICOS TOTAIS (FT)	42
4.6 ATIVIDADE ANTIOXIDANTE	42
4.6.1 Sequestro do radical 2,2-difenil-1-picril-hidrazil (DPPH)	43
4.6.2 Sequestro do radical 2,2-azino-bis-(3-etil-benzotiazolina-6-ácido sulfônico) (ABTS)	43
4.7.3 Poder antioxidante redutor do ferro (FRAP)	43
4.8 CARACTERIZAÇÃO DOS FILMES.....	44
4.9 DETERMINAÇÃO DOS COMPOSTOS VOLÁTEIS POR MICROEXTRAÇÃO EM FASE POR CROMATOGRAFIA GASOSA ACOPLADO A ESPECTRO DE MASSAS (HS-SPME E GC-MS)	44
4.10 ATIVIDADE ANTIMICROBIANA.....	46
4.10.1 Determinação da concentração Inibitória Mínima (CIM)	46

4.10.2 Concentração bactericida mínima (CBM)	47
4.11 ANÁLISES ESTATÍSTICAS	47
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO	48
5.1 COMPOSIÇÃO QUÍMICA DOS COPRODUTOS	48
5.2 FENÓLICOS TOTAIS E ANTIOXIDANTES PARA OS COPRODUTOS DE PRÓPOLIS E MAÇÃ	51
5.3 DETERMINAÇÃO DE COMPOSTOS FENÓLICOS TOTAIS E ANTIOXIDANTES NOS FILMES BIODEGRADÁVEIS ATIVOS.....	55
5.4 PROPRIEDADES MECÂNICAS DOS FILMES ATIVOS BIODEGRADÁVEIS ..	59
5.5 COMPOSTOS VOLÁTEIS POR HS-SPME E GC-MS	62
5.5.1 Componentes voláteis de coproduto da própolis e filme biodegradável adicionado do coproduto de própolis	62
5.5.2 Componentes voláteis de coproduto de maçã e filmes biodegradáveis adicionado de coproduto da maçã	77
5.6 ATIVIDADE ANTIMICROBIANA.....	89
5.6.1 Concentração Inibitória mínima (CIM) e Concentração bactericida mínima (CBM).	89
6. CONCLUSÃO	93
7 REFERÊNCIAS	95
APÊNDICES	116

1 INTRODUÇÃO

As embalagens plásticas são amplamente utilizadas no setor alimentício na forma de sacolas, garrafas, caixas e filmes. Essas embalagens possuem muitas vantagens, dentre elas estão o baixo custo e a elevada resistência mecânica e química. Entretanto, sua principal desvantagem é a não biodegradabilidade e a dependência do petróleo para sua produção (VITALE et al., 2018; LANDIM et al., 2016).

Em resposta às mudanças no consumo e tendências de mercado torna-se cada vez mais comum o desenvolvimento de novos materiais para embalagens, que além da biodegradabilidade, destinam-se a garantir a manutenção da qualidade e da segurança do produto. As embalagens ativas interagem de maneira intencional com os alimentos embalados, alterando suas condições e aumentando a vida de prateleira do produto em relação às embalagens convencionais (OTTONI, 2016).

Na busca por soluções para a questão da degradação ambiental causada pelo uso excessivo de plásticos, estão disponíveis no mercado diversos polímeros biodegradáveis, como ácido polilático (PLA), polihidroxialcanoatos (PHA), polihidroxibutirato (PHB), polihidroxibutirato-co-valerato (PHBV) e marcas comerciais como Bioplast[®], Ecoflex[®], Mater-Bi[®], NatureWorks[®], que apresentam características favoráveis para a produção de embalagens, entretanto o seu custo é elevado, praticamente o dobro ou mais, se comparado com os polímeros tradicionais (BRITO et al., 2011).

Uma alternativa estudada por diversos pesquisadores e pela indústria para reduzir os custos da produção desses materiais é a mistura ou *blenda* de polímeros biodegradáveis comerciais com amido e outros materiais celulósicos, que incorporados com agentes plastificantes como glicerol ou sorbitol podem ser processados nos mesmos equipamentos empregados na produção de filmes convencionais (BILCK et al., 2014, SHIRAI et al., 2016, REIS et al., 2018, BASF, 2019).

Uma das aplicações das embalagens ativas é a liberação de aditivos, como conservantes, que aumenta a segurança alimentar do consumidor, já que esses compostos, ao invés de diretamente adicionados ao alimento, são liberados

controladamente da embalagem para o alimento, com isso, estão presentes em menores quantidades e apenas onde sua presença é requerida, a saber, na superfície do produto, em que a maior parte das reações de deterioração ocorrem (SOUZA, 2012). Entre as embalagens ativas destacam-se as embalagens com adição de antioxidantes e antimicrobianos (SOARES et al., 2009).

A tecnologia de embalagens com antioxidantes e antimicrobianos tem como objetivo preservar alimentos sensíveis à oxidação e à deterioração por microrganismos. Esse sistema consiste na incorporação de substâncias antioxidantes e antimicrobianos em filmes, papéis ou sachês, as quais serão liberadas para proteger os alimentos da degradação oxidativa e microbiológica (DIBLAN, KAYA, 2018; SOARES et al., 2009).

Agentes antioxidantes e antimicrobianos naturais com ação comprovada têm sido isolados de diferentes partes de plantas tais como sementes, frutas, folhas e raízes. e possível também encontrar compostos bioativos nos coprodutos gerados por processamento de frutas (LOHANI, MELEHARAYIL, 2016) Esses compostos incluem flavonoides, ácidos fenólicos, terpenos, tocoferóis, fosfolípidios, ácidos orgânicos polifuncionais, carotenoides, ácido ascórbico, carvacrol, timol, eugenol, alicina (KHANEGHAH, HASHEMI, LIMBO, 2018; ROBY et al., 2013). Outros exemplos de antioxidantes e antimicrobianos naturais que podem ser usados na produção de embalagens ativas são óleos essenciais de canela (*Cinnamomum Zeylanicum L.*), orégano (*Origanum vulgare L.*), cravo-da-índia (*Syzygium aromaticum L.*), alecrim (*Rosmarinus officinalis L.*), gengibre (*Zingiber officinale Rosc.*), hortelã (*Mentha spicata L.*) e casca de romã (*Punica granatum L.*) (GÓMEZ-ESTACA et al., 2014).

A partir desse contexto, a presente pesquisa busca a valorização de coprodutos agroindustriais do processamento do suco de maçã e própolis, com fonte potencial bioativo (polifenóis) para ser incorporados na matriz polimérica dos filmes biodegradáveis, objetivando aumentar a vida útil de produtos alimentícios com segurança alimentar e estimulando a reutilização e valorização dos coprodutos, como novos ingredientes ativos. Desta forma, serão realizadas análise físico-química dos coprodutos da própolis e da maçã, o teor fenólico, antioxidante, antimicrobiano e as propriedades mecânicas dos filmes biodegradáveis desenvolvidos com os coprodutos.

2 OBJETIVOS

2.1. OBJETIVO GERAL

Esta pesquisa tem como objetivo produzir filmes biodegradáveis ativos por extrusão-sopro em balão a partir de blendas de PBAT (poli (succinato co-adipato de butileno), amido e glicerol adicionados de coprodutos da produção de suco de maçã e do extrato de própolis. É objetivo também desta pesquisa, caracterizar os coprodutos, avaliar as propriedades físicas dos filmes, bem como sua atividade antioxidante e antibacteriana.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Realizar análises físico-químicas dos coprodutos: umidade, cinzas, proteína bruta, fibras brutas, glicídios redutores em glicose e lipídios;
- Avaliar o efeito da incorporação dos coprodutos de suco de maçã e própolis na matriz biodegradável de amido de mandioca quanto às características de propriedades de barreira, bem como suas propriedades mecânicas – resistência máxima a tração, porcentagem de alongação e Módulo de Young;
- Avaliar o teor de compostos fenólicos totais e dos extratos dos coprodutos de maçã e própolis e seus respectivos filmes biodegradáveis.
- Determinar e as propriedades antioxidantes pelos métodos da redução do ferro – FRAP (Ferric Reducing Antioxidant Power), sequestro dos radicais DPPH (2,2-difenil-1-picrilhidrazina) e ABTS (2,2-azinobis-(3-etil-benzotiazolina-6-ácido sulfônico));
- Avaliar a atividade antibacteriana dos coprodutos e filmes, por meio de determinação da Concentração Inibitória Mínima (CIM) e da Concentração Bactericida Mínima (CBM) frente aos microrganismos *Staphylococcus Aureus* ATCC 25923, *Salmonella* thyphimurium ATCC 14028 e *Escherichia coli* ATCC 25922.

- Extrair os compostos voláteis dos coprodutos e seus respectivos filmes pelo método de microextração em fase sólida (HS-SPME) e identificar por meio de cromatografia gasosa com espectrometria de massas (GC-MS).

3 REFERENCIAL TEÓRICO

3.1 EMBALAGENS

Historicamente, a embalagem representou uma importante ferramenta para o desenvolvimento do comércio e para o crescimento das cidades. Esse material é essencial para a proteção dos produtos durante a sua etapa de distribuição, armazenamento, comercialização, manuseio e consumo. Em certos casos, cabe ainda à embalagem estender o prazo de vida do alimento, evitando o seu desperdício (VITALE, 2018).

A maioria das embalagens para alimentos apresenta em sua composição polímeros sintéticos a base de petróleo, denominado plástico (ABIPLAST, 2016). Apesar de possuírem excelentes propriedades funcionais, sua principal desvantagem é a não biodegradabilidade podendo levar mais de 100 anos para se decompor. Além disso, sua produção geralmente emite gases poluentes ao meio ambiente e é dependente do petróleo, um recurso natural do planeta não renovável (LANDIM et al., 2016).

O Brasil produz mais de 78,3 milhões de toneladas de resíduos sólidos por ano, e 13,5% do total, o equivalente a 10,5 milhões de toneladas, são de plásticos (FIEPA, 2018). Do total de plásticos rígidos e flexíveis produzidos, apenas 17,5% é reciclado, o equivalente a 600 mil toneladas por ano (ABIPLAST, 2016), sendo que a maior limitação para a reciclagem é a diversidade das resinas, o que pode criar um problema na hora do reaproveitamento industrial (MALI, GROSSMANN, YAMASHITA, 2010).

Porém, de acordo com dados do Plano Nacional de Resíduos Sólidos (PNRS), apesar de 30% de todo o lixo produzido no Brasil ter potencial de reciclagem, apenas 3% de fato é reaproveitado. Esses números revelam que há um grande desperdício tanto do ponto de vista ambiental quanto do econômico e social, uma vez que a reciclagem é uma fonte de renda para milhares de famílias.

Além disso, as embalagens de alimentos são utilizadas como estratégias de marketing e vendas, portanto, podem ser decisivas como vantagem competitiva na indústria de alimentos. Portanto, há um constante desafio com relação a atender

as exigências dos consumidores, fornecendo embalagens modernas e práticas que preservem os alimentos e sejam viáveis ambiental e economicamente. Embora as embalagens tradicionais tenham contribuído grandemente com os primeiros desenvolvimentos do sistema de distribuição de alimentos, elas não são suficientes para atender as novas exigências dos consumidores que requerem alimentos mais próximos ao natural, com menos conservantes e mais segurança alimentar (SOARES et al., 2009).

3.1.1 Embalagens Biodegradáveis

No contexto descrito no item 3.1, a mudança nos hábitos dos consumidores com relação ao armazenamento dos produtos, bem como a crescente preocupação dos indivíduos com o meio ambiente, são fatores que impulsionaram as pesquisas que visam à criação de embalagens mais sustentáveis e inteligentes. Assim, é crescente o interesse pela produção de embalagens biodegradáveis a partir de polímeros que se decompõem com facilidade no meio ambiente e que não deixem resíduos após o descarte. (MORAES et al., 2007; SOUZA, 2012).

Segundo a *American Standard for Testing and Methods (ASTM-D-883)*, polímeros biodegradáveis são aqueles que apresentam quebra de ligações químicas em suas cadeias poliméricas por meio de agentes biológicos, acarretando sua fragmentação ou desintegração.

A biodegradação é um processo natural e complexo no qual os compostos orgânicos, por meio de mecanismos bioquímicos, são convertidos em compostos simples, e então, redistribuídos no meio ambiente, através do ciclo elementar do carbono, nitrogênio e enxofre. De acordo com Landim et al. (2016), a biodegradação de um polímero é o processo pelo qual os microrganismos e suas enzimas consomem este polímero como fonte de nutrientes, em condições normais de umidade, temperatura e pressão.

Segundo a proposta de Avérous e Boquillon (2004), os polímeros biodegradáveis são divididos em duas grandes famílias: os agropolímeros e os poliésteres biodegradáveis. Os agropolímeros biodegradáveis estão presentes na natureza e são obtidos a partir do fracionamento da biomassa, sendo representados, principalmente, pelos polissacarídeos e pelas proteínas. Já os

poliésteres biodegradáveis dividem-se em três grupos, de acordo com o processo de obtenção. Trata-se dos produzidos por micro-organismos (fermentação); produzidos por via biotecnológica, e por último aqueles provenientes da indústria petroquímica.

No grupo dos polímeros produzidos por microrganismos estão os polímeros produzidos por via fermentativa, sem que seja necessário outro processo de transformação. Nesse grupo, estão incluídos os poli (hidroxi-alcanoatos) (PHA), como o homopolímero poli(β -hidroxibutirato) (PHB) e diferentes copoliésteres, tais como poli (hidroxibutirato-co-valerato) (PHBV). Esses são materiais rígidos e quebradiços, de acordo com Avérous e Boquillon (2004).

Já o grupo de produtos biotecnológicos é formado pelos polímeros que envolvem a produção biotecnológica/fermentativa do monômero, entretanto, exigem um processo de síntese ou polimerização convencional. O ácido polilático (PLA) é comercialmente produzido por fermentação de carboidratos por *Lactobacillus sp.*, e os monômeros produzidos são policondensados por quebra e polimerização dos anéis (AVÉROUS, 2004; ZHAO et al., 2005).

Por fim, os poliésteres provenientes da indústria petroquímica, que são biodegradáveis devido à presença, em sua estrutura, da ligação éster. São naturalmente alifáticos, ao contrário dos poliésteres não biodegradáveis, que são aromáticos (KHARE; DESHMUKH, 2006).

No organograma representado na Figura 1, a seguir, é possível observar os grupos de origem dos polímeros biodegradáveis, juntamente com seus derivados, de forma sucinta.

Com o objetivo de aliar a biodegradabilidade dos poliésteres alifáticos às boas propriedades de uso dos poliésteres aromáticos, surgiram os copoliésteres alifáticos-aromáticos (MULLER et al., 1998), uma vez que foi demonstrado que copoliésteres sintéticos contendo constituintes aromáticos também são degradados por microrganismos (WITT et al., 2001).

A partir de 1998, um copoliéster alifático-aromático começou a ser comercializado pela empresa alemã BASF com o nome comercial de Ecoflex®: o poli butileno de adipato co-tereftalato, ou PBAT, como será tratado neste texto. Trata-se de um polímero biodegradável que apresenta propriedades mecânicas similares os filmes de polietileno, porém com maior permeabilidade ao vapor de

água; sendo obtido por síntese a partir de derivados do petróleo (BRANDELERO, GROSSMANN, YAMASHITA, 2012).

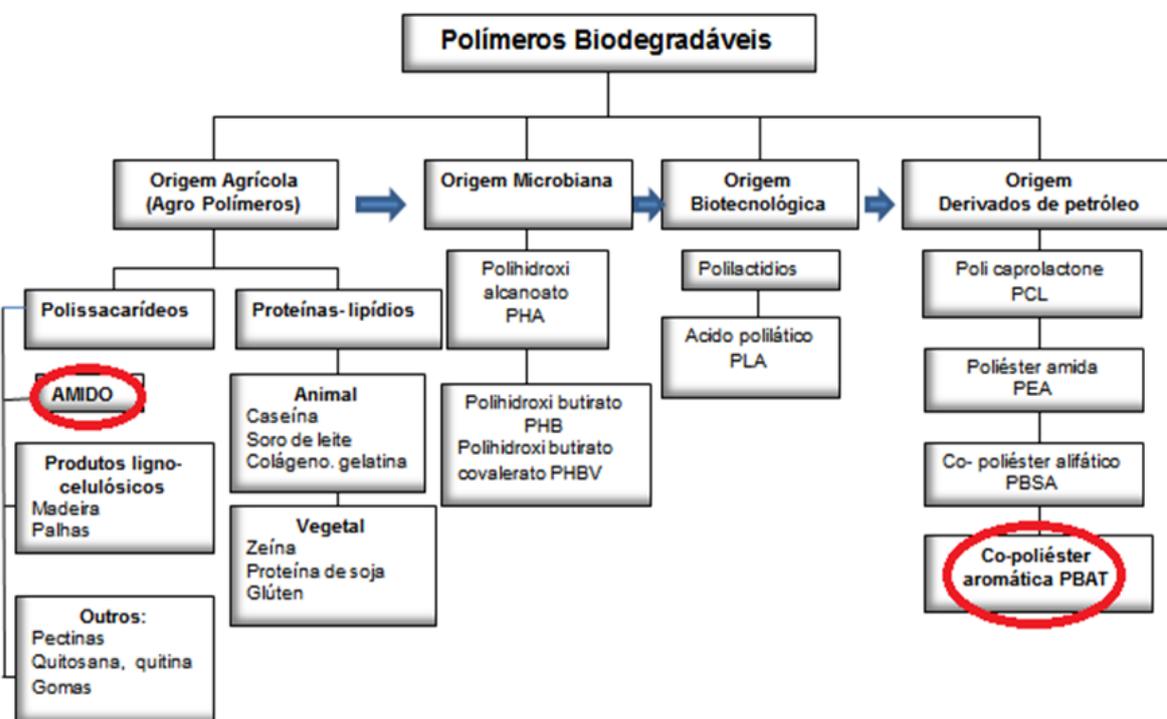


Figura 01 – Representação das fontes de polímeros biodegradáveis com adaptações. Fonte: (AVEROUS, BOQUILLON, 2004).

O PBAT (Ecoflex®), grifado na Figura 01, é um copolímero obtido pela combinação de 50 mol% de 1,4 butanodiol; 27,8 mol% de ácido adípico; 22 mol% de ácido tereftálico e pequenas quantidades de diácidos e dióis (MULLER et al., 1998; WITT et al., 2001). O PBAT é usado como plástico flexível projetado para confecção de filmes por extrusão, pois apresenta temperatura de fusão entre 110-115°C (AVÉROUS, FRINGANT, 2001; GU et al., 2008). A composição química do Ecoflex® pode ser verificada na Figura 2 que segue.

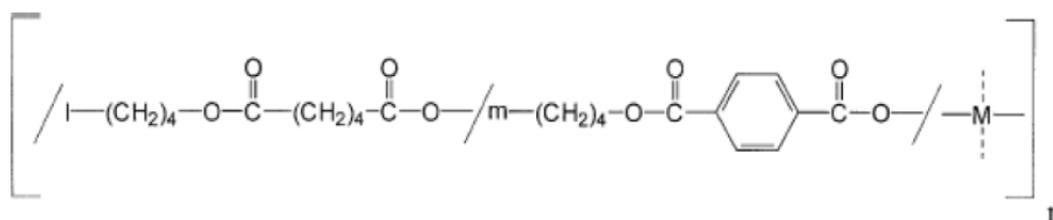


Figura 02: Estrutura química do Ecoflex® (M=componentes modulares, por exemplo, monômeros com ramificações ou efeitos de extensão de cadeia). Fonte:(BASF, 2019).

O PBAT é considerado um copoliéster biodegradável pelas agências Europeias Standard DiNEM 13432, American Certification Sytem of Biodegradable Produits Institute e pela certificadora japonesa GreenPla Standard, pois durante a sua decomposição, comporta-se como um composto orgânico normal, levando cerca de 180 dias para total biodegradação (BASF, 2019).

Os polímeros biodegradáveis industriais como o PLA e o PBAT possuem maior custo se comparados com os polímeros convencionais, porém uma alternativa para redução do custo é realizar blendas de polímeros com derivados de celulose, pectinas, amidos e outros polissacarídeos (FARIAS, 2012). O amido, também destacado na Figura 01, é um dos biopolímeros mais promissores e versáteis para produção de filmes biodegradáveis, pois em todo o mundo é oferecido em grande disponibilidade, além de possuir baixo custo de produção (DOMINGUES et. al., 2018).

Vários pesquisadores estudaram as blendas de amido com diferentes polímeros como poli (ácido láctico) (PLA); poli (adipato co-tereftalato de butileno) (PBAT); poli (succinato co-adipato de butileno) (PBSA); polihidroxicanoatos (PHA), como o polihidroxitirato-cohidroxivalerato (PHB-HV); polihidroxitirato (PHB); policaprolactona (PCL) e poli (vinil álcool) (PVA) (SAKANAKA, 2007; CAMPOS, MARCONATO, FRANCHETTI, 2010; LEMOS, BOCKORNY, SANTANA, 2014).

Logo, é possível obter filmes com boa processabilidade a partir de blendas de amido e PBAT com a mesma tecnologia utilizada na produção de filmes de polietileno de baixa densidade (extrusão-sopro em balão) (SCAPIM, 2009; BILCK, 2010). Na agricultura é possível observar alguns exemplos da utilização das embalagens biodegradáveis produzidas com amido de mandioca e PBAT como na cobertura do solo na produção de morangos (*mulch film*), na produção de sacos para mudas e no ensaque de goiabas (BILCK et al., 2010, 2011, 2014). Além dessas embalagens, bandejas biodegradáveis com amido de mandioca e polímero biodegradável PLA revestidas com cera de abelhas foram produzidas pela técnica de extrusão plana e tiveram propriedades mecânicas e de barreira para embalar alimentos durante a armazenagem (REIS et al., 2018).

3.1.2 Embalagens Ativas

As embalagens conhecidas como ativas são aquelas que exercem algum outro papel na preservação de alimentos que não o de promover uma barreira inerte a influências externas. Segundo Nerin et al. (2006), as embalagens ativas podem ser classificadas em sistemas emissores, que adicionam compostos ativos aos alimentos, como: dióxido de carbono, água, antimicrobianos, antioxidantes, aromas, conservantes e absorvedores de substâncias indesejadas (oxigênio, radicais livres, água, etileno, dióxido de carbono, e outros componentes específicos).

3.1.2.1 Embalagens ativas antimicrobianas

Devido ao interesse dos consumidores por produtos livres de aditivos sintéticos, pesquisadores e indústria têm se dedicado a estudar o desenvolvimento de embalagens ativas com aditivos antioxidantes e antimicrobianas por meio de ativos naturais, trazendo vantagens adicionais para os produtos comercializados nesse tipo de embalagem (SOUZA, MACHADO, DRUZIAN, 2013).

As embalagens ativas se caracterizam por alterarem as condições do ambiente ao redor do alimento e prolongar sua vida útil, mantendo as propriedades sensoriais, nutricionais e de segurança do produto (FANG, 2017).

Segundo Braga e Peres (2010), várias embalagens ativas foram desenvolvidas, entre elas, aquelas com absorvedores de oxigênio para produtos de panificação, chás e queijos; absorvedores e liberadores de etileno para frutas e hortaliças; absorvedores de umidade para pães e hortaliças e liberadores de antimicrobianos e antioxidantes para conservação de frutas secas e produtos de panificação. Entretanto, a maior diversidade de trabalhos para embalagens ativas tem utilizado conservantes sintéticos como permanganato de potássio, carvão ativado, zeólitas, sorbato de potássio entre outros.

Quanto as embalagens antimicrobianas, essas são caracterizadas por apresentar substâncias ativas incorporadas ou imobilizadas no material da embalagem que serão liberadas gradualmente nos filmes de embalagens para a

superfície do alimento inibindo ou retardando o crescimento de microrganismos deterioradores ou patógenos (SOARES, 2009; FANG et al., 2017).

A qualidade antimicrobiana conferida ao filme é promovida pela atividade específica do composto e pela sua cinética de liberação que é governada por ligações com a matriz, condições de temperatura e umidade (MATEO et al., 2017). Quando o antimicrobiano é liberado da embalagem ao longo do tempo, a cinética de crescimento e a atividade antimicrobiana na superfície do produto podem ser equilibradas e, dessa forma, o avanço da atividade antimicrobiana, pode ser estendido garantindo a segurança e a distribuição do alimento (SOARES, 2009).

Os agentes antimicrobianos mais estudados são os ácidos orgânicos e seus sais (propiónico, benzoico, sórbico, os bactericidas (nizina), as enzimas (lisoenzima, glicose, oxidase), os polissacarídeos (quitosana) e os extratos vegetais naturais (óleo essencial de orégano, pimenta, alecrim). Todos esses agentes podem ser adicionados na matriz polimérica por fusão ou solubilização (OLIVEIRA et al., 2017).

Os óleos essenciais que apresentam como constituintes o carvacrol, eugenol e timol são utilizados como agentes antimicrobianos naturais em embalagens (KHANEGHAH, HASHEMI, LIMBO, 2018). Esses óleos essenciais possuem compostos fenólicos, terpenos, alcaoides entre outros responsáveis por sua atividade antimicrobiana e antioxidante. O grupo hidroxila desses compostos interage com a membrana celular dos microrganismos, causando desordem nos constituintes celulares, e, conseqüentemente, a morte celular (OLIVEIRA et al., 2017).

Estudos demonstram a eficácia do filme biodegradável ativo incorporado com 2% de óleo essencial de orégano e 3% de extrato de resíduo de abóbora, pois essa composição foi capaz de controlar a multiplicação de microrganismos mesófilos em carne moída bovina (CAETANO et al., 2017).

Óleo essencial de orégano na concentração de 0,5%, 1% e 1,5% foi incorporado a matriz polimérica de filme biodegradável a base de proteína do soro do leite, tendo ótimo desempenho em halos de inibição para o microorganismo *Penicillium commune* (OLIVEIRA et al., 2017).

3.1.2.2 Embalagens ativas antioxidantes

A oxidação lipídica constitui um dos mecanismos mais frequentes de deterioração e redução da vida útil dos alimentos, além de alterar o sabor, processo conhecido como rancificação, e a qualidade nutritiva por meio da perda de vitaminas e ácidos graxos essenciais dos alimentos (DOMINGUES et al., 2018). Daí a importância da criação de embalagens que retardem a ação oxidante dos alimentos.

A tecnologia de embalagens ativas antioxidantes consiste na incorporação de substâncias antioxidantes em filmes plásticos ou biodegradáveis, papéis ou sachês que serão liberadas para proteger os alimentos da degradação oxidativa (SOARES et al., 2009).

Os antioxidantes sintéticos ou naturais são adicionados à matriz polimérica das embalagens, porém, prefere-se a adição de extratos vegetais, como óleos e essências em substituição aos aditivos sintéticos (DOMINGUES et al., 2018), pois, estudos comprovam que em determinadas concentrações o uso dos antioxidantes sintéticos pode causar efeitos danosos à saúde (COIMBRA, DEL RÉ; SHAHIDI, AMBIGAIPALAN, 2015). É nesse contexto que se torna imprescindível a busca por antioxidantes naturais (MERCADANTE et al., 2010; WANG, CAMP, EHLENFELDT, 2012).

Dessa forma, diferentes antioxidantes naturais vêm sendo estudados, como sugere Dantas et al. (2015), incorporados de polpas de frutas tropicais (manga, acerola, seriguela) em filmes biodegradáveis ativos. Esses demonstraram ação antioxidante no azeite de dendê embalado por 40 dias de armazenamento, pois o produto com a embalagem ativa apresentou menor percentual no índice de peróxido em relação ao produto embalado com filme controle, sem o antioxidante natural.

De acordo com os estudos de Assis et al. (2017), os filmes biodegradáveis incorporados com nanocápsulas de licopeno proporcionaram maior proteção à oxidação do óleo de girassol armazenado sob condições de oxidação acelerada, demonstrando ter excelente potencial de aplicação como antioxidante em embalagem para evitar a oxidação de alimentos com alto teor de gordura. Outro exemplo são os filmes incorporados com óleo de orégano que estabilizaram a oxidação lipídica em carne bovina durante sete dias de armazenamento (OLIVEIRA et al., 2017).

Mais recentemente, para azeite extravirgem foi desenvolvido um filme biodegradável ativo baseado na mistura de gelatina e amido de milho ativado com polpa de guabiroba, fruta que possui ação antioxidante graças aos compostos fenólicos e ácido ascórbico (MALHERBI et al., 2019).

Souza et al. (2015), verificaram que filmes de amido de mandioca produzidos pela técnica de *casting* incorporados de extrato de própolis nas concentrações 0,5, 0,75 e 1% em relação a solução filmogênica também demonstraram ter atividade antioxidante e ação antimicrobiana, apresentando halos de inibição frente *Staphylococcus aureus* (8mm, 7,5mm e 9mm) e *Escherichia coli* (7mm, 9,5mm e 10mm). O extrato de própolis também foi incorporado ao filme ativo de quitosana e mostrou potencial antimicrobiano e antioxidante sendo um material de ampla aplicação na indústria de alimentos (SIRIPATRAWAN, VITCHYAKITTI, 2016).

De acordo com Domingues et al. (2018), coprodutos de agroindústrias também estão sendo utilizados como fonte de antioxidantes naturais, sendo uma forma de reaproveitar e valorizar esses materiais que, na sua grande maioria, são descartados como resíduo agroindustrial, poluindo o meio ambiente. Stoll et al. (2015), reportam em sua pesquisa, a utilização de antocianinas extraídas do bagaço de uva e utilizadas como agente antioxidante em filme biodegradável ativo.

Luchese, (2018) aplicou coproduto do processamento de suco de myrtilus nas concentrações de 4, 8 e 12% para produzir filmes biodegradáveis com amido e sorbitol pela técnica de casting. Embalagens comestíveis de metil celulose com extrato de casca de maçã verde também apresentaram bons resultados nos revestimentos comestíveis ativos em alimentos devido a presença dos compostos fenólicos da casca da maçã. (MOTTA, QUEIROZ, BERTOLA, 2018).

3.1.2.3 Antioxidantes Sintéticos Comerciais

De acordo com a FDA (*Food and Drug Administration*) antioxidantes são compostos adicionados, em pequenas quantidades, a alimentos para retardar sua deterioração por rancidez e descoloração causada pela oxidação de óleos e gorduras. Devem ser eficientes em baixa concentração, possuir afinidade com a

matriz do alimento e aceitação sensorial, ser atóxico e não interferir nas propriedades físicas dos alimentos.

Um bom antioxidante deve apresentar em sua composição substituintes doadores de elétrons ou de hidrogênio ao radical, em função do seu potencial redutor, ter boa capacidade de deslocamento do radical formado em sua estrutura, ter também capacidade de quelar metais de transição e acesso ao local de ação (SUCUPIRA et al., 2012). No grupo dos antioxidantes naturais podem ser incluídos os tocoferóis, vitamina C, carotenoides e compostos fenólicos. Vários desses compostos possuem similaridade quanto a sua estrutura molecular básica, contando com ao menos 1 anel aromático com um grupo hidroxila ligado (SUCUPIRA et al., 2012).

Os antioxidantes sintéticos são os mais utilizados na indústria de alimentos; como exemplos, pode-se citar: BHA (butil hidroxianisol), BHT (butil hidroxitolueno), GP (galato de propila) e TBHQ (terc-butil hidroquinona). O emprego desses compostos, entretanto, tem sido alvo de questionamentos, quanto à sua inocuidade, motivando a busca de antioxidantes naturais (FOOD INGREDIENTS BRASIL, 2009).

De acordo com alguns autores como Antunes e Araújo, (2000); Bissacotti, Angst, Saccol, (2015); Silva e Jorge, (2011), os antioxidantes sintéticos podem estar relacionados com alterações de saúde, como prejuízo da atividade de enzimas hepáticas, surgimento de edemas hepáticos, provocando inclusive carcinogênese. Esses relatos fundamentam a busca por componentes antioxidantes naturais derivados de plantas, em vista da sua segurança alimentar. Tanto plantas como resíduos agrícolas, são vistos como fontes potenciais de recuperação de fitoquímicos, que podem ser utilizados tanto pela indústria alimentícia quanto pela farmacêutica e cosmética (CASTRO-LOPÉZ et al., 2017).

O BHA (Butil-hidroxi-anisol) é um antioxidante efetivo frente à oxidação de gorduras de origem animal, mas possui eficiência limitada em óleos insaturados de vegetais ou sementes, baixa estabilidade a altas temperaturas e pouco controle da oxidação de ácidos graxos de cadeia curta, além de agir como sequestrante de radicais peróxidos (TAKEMOTO, FILHO, GODOY, 2009).

Apesar dos comprovados benefícios, o uso de antioxidantes sintéticos em alimentos é limitado, estando proibida a adição de TBHQ em alimentos no Canadá e na Comunidade Econômica Européia, além de a *Food and Agriculture*

Organization (FAO) e a *World Health Organization* (WHO), constantemente alterarem a ingestão diária aceitável (IDA) dessas substâncias nos alimentos (FOOD INGREDIENTES BRASIL, 2009).

No Brasil, o uso desses antioxidantes em alimentos é regulamentado pela Resolução nº 04, de 24 de novembro de 1988, que lista os limites máximos permitidos para a utilização de antioxidantes sintéticos em diversas classes de alimentos (BRASIL, 1988; HUBER et al., 2012).

3.2 COPRODUTOS AGROINDUSTRIAIS

Nos últimos anos, as abordagens sustentáveis tornaram-se um desafio para diferentes indústrias, destacando a importância de minimizar o impacto ambiental dos resíduos. Geralmente, durante processos de fabricação, toneladas de coprodutos são criados e descartados acarretando problemas ambientais (DE FRANCISCO et al., 2018).

A crescente preocupação do consumidor na manutenção de um estilo de vida saudável tem levado ao aumento do consumo de produtos de origem vegetal. Esses podem ser processados na forma de polpas, sucos, saladas ou minimamente processados entre outros, gerando grande quantidade de coproduto agroindustrial. De acordo com a FAO (Food and Agriculture Organization) essa porcentagem pode atingir aproximadamente um terço da parte comestível dos alimentos produzidos no mundo, sendo constituídos basicamente de sementes cascas e folhas (FERREIRA et al., 2015). Assim é de interesse econômico, social e científico a valorização de coprodutos alimentares (DE FRANCISCO et al., 2018).

O Brasil, por ser um país de grande atividade agrícola produz coprodutos agroindustriais que geram impactos ambientais e, com isso, a busca de alternativas para a utilização da matéria orgânica gerada cresce em vários centros de pesquisa. Produtores e indústrias enfrentam o problema do descarte da biomassa residual que, embora seja biodegradável, necessita de um tempo mínimo para ser mineralizada, constituindo-se, desse modo, numa fonte de poluentes ambientais. Esses coprodutos agroindustriais contêm várias substâncias biologicamente ativas e ricas em compostos polifenólicos que são desperdiçados (HUBER et al., 2012).

Estes coprodutos são muito pouco valorizados, sendo uma pequena porcentagem destinada ao desenvolvimento de fertilizantes ou rações animais,

tornando-se imperativa a realização de esforços por parte do setor agroindustrial na valorização do seu coproduto (FERREIRA et al., 2015).

3.2.1 Coproduto da produção do suco de maçã

A cultura da maçã é uma atividade econômica de grande importância mundialmente, sendo a China o maior produtor de maçã no mundo, seguido pelos Estados Unidos e pela Polônia. O Brasil está no décimo primeiro lugar (11º) no ranking mundial de produção de maçã (1.254.191 ton. em 2017), sendo Santa Catarina e Rio Grande do Sul, os estados responsáveis por 97% da produção brasileira de maçã; as principais cultivares são Gala e Fuji. De fato, só o estado de Santa Catarina produziu, em 2017, 644.564 toneladas de maçã. Holanda, Portugal, Reino Unido, Bangladesh e Irlanda são os maiores compradores da fruta fresca, enquanto os Estados Unidos e o Japão são os principais compradores do suco de maçã brasileiro (EPAGRI 2017; FAO 2017; IBGE 2017).

No Brasil, aproximadamente 15% da produção nacional de maçã que seria descarte é transformada em suco, sendo que a maior parte destina-se à exportação (STORCK et al., 2015). A quantidade de bagaço produzida está diretamente relacionada com a tecnologia empregada na extração do suco de maçã que pode representar de 20-40% do peso das maçãs processadas (STURZA, 1995). Esse coproduto, na maioria das vezes, é inutilizado, causando danos ao meio ambiente.

O coproduto gerado pela produção do suco de maçã constitui-se em casca, sementes, cálice, hastes e polpa. E os compostos ativos da fruta *in natura* permanecem na biomassa fresca, mesmo após o processo da produção do suco (LOMMEN et al., 2000).

Soares et al. (2008), estudaram os coprodutos do processamento da maçã e obtiveram em base seca 522,74 mg de GAE.100 g⁻¹ de compostos fenólicos totais; 24,56 µmol/g de trolox (ABTS); 39,15 µmol/g (DPPH); demonstrando que o coproduto da maçã gala possui atividade antioxidante expressiva, podendo, portanto, ser aproveitado como fonte de antioxidantes naturais. Nesse sentido, Lohani e Meleharayil, (2016), sugerem a utilização do coproduto de maçã para aumentar a estabilidade dos alimentos e prevenir sua oxidação lipídica por ser uma fonte rica em compostos antioxidantes.

Alongi, Melchior, Anese (2019), utilizaram o coproduto da maçã, que é rico em fibra dietética, para formular biscoitos substituindo 10 e 20% da farinha de trigo. Essa substituição reduziu significativamente o índice glicêmico dos biscoitos.

Outra interessante aplicação do coproduto da maçã é o apresentado por Manrich et al. (2018), que produziu filmes de pectina com nanocompositos de cutina, presentes no referido coproduto. Haghghi e Rezaei (2013), desenvolveram um estudo com base no coproduto de maçã para obtenção de vários ingredientes, focando no desenvolvimento de uma sobremesa gelatinosa, dirigida a consumidores com dieta restrita, tais como diabéticos e obesos.

No processo de produção dos sucos concentrados, grande parte do resíduo gerado é fortemente associado com a pectina, porém ainda existem muitos compostos como açúcares e outros bioativos. Temos grandes proporções de cascas, associadas também à camada cerosa, que é responsável pela retenção de grande parte dos compostos relacionados ao sabor e ao aroma dos frutos e que, conseqüentemente, não é explorado, e acaba sendo aplicado no processo produtivo de rações para animais de grande porte por apresentarem alto teor de fibras e baixo valor agregado (JANZANETTI, FRANCO E WOSIACK, 2003).

3.2.2 Coproduto da extração da própolis comercial

A própolis é originada de substâncias gomosas, balsâmicas e resinosas, colhidas pelas abelhas de brotos, flores e resina das árvores, nas quais elas depositam secreções salivares, cera e pólen (HEIMBACH et al., 2016). A própolis possui colorações que variam do verde ao marrom, com odor característico e propriedades adesivas por conta de sua forte interação com óleos e proteínas da pele. Essa substância é utilizada pelas abelhas para manutenção da temperatura interna, reparo dos favos de mel, embalsamamento insetos mortos e proteção da colmeia contra a invasão de microrganismos (AGUIAR et al., 2018).

Há séculos, a própolis tem sido usada empiricamente como remédio tradicional na medicina popular, sendo conhecida por seus benefícios potenciais para a saúde humana e por apresentar diversas atividades biológicas, tais como: citotóxica, imunomodulatória, antiviral, antioxidante, antitumoral, antimicrobiana e anti-inflamatória (AGUIAR et al., 2018; BANKOVA, 2014; SOUZA et al., 2015; RISTIVOJEVIC et al., 2018). Suas propriedades terapêuticas são normalmente

atribuídas aos seus extratos etanólicos, que podem ser utilizados como forma de dosagem eventual ou incorporada em alimentos, bebidas, medicamentos ou cosméticos (TOLEDO et al., 2015).

Devido a tantas atribuições benéficas, o mercado consumidor da própolis, nos últimos anos, está aumentando significativamente; espera-se que até 2021 esse mercado cresça a uma taxa de 3,5%, aumentando a produção de 2300 toneladas em 2015 para 2900 toneladas em 2021 (DE FRANCISCO et al., 2018).

A maior parte da própolis é consumida na forma de extrato etanólico elaborado a partir da própolis bruta. No entanto, 90% do material utilizado nesse processo é transformado em um subproduto, sendo na sua grande maioria descartado no meio ambiente de maneira desorientada (HEIMBACH et al., 2016). Durante o processo de produção do extrato da própolis, o solvente carrega quantidade menor de substâncias e uma parte maior fica dissolvida no que constitui a biomassa residual que normalmente é descartada. Contudo, essa biomassa possui em sua composição diversas substâncias como cera, resinas e gomas que podem ser importantes no desenvolvimento de micro-compostos nanoestruturados (TOLEDO et al., 2015).

Heimbach et al. (2016) concluíram em estudo que o coproduto da extração hidroalcolica da própolis verde e marrom pode ser usado na alimentação de ruminantes como aditivo, devido a sua ação antimicrobiana, acarretando melhorias no desempenho dos animais. Já Santos et al. (2013), avaliaram a adição residual da própolis vermelha numa ração comercial para alevinos de tilapia do Nilo, porém, o estudo não apresentou efeito positivo sobre o desempenho produtivo da tilápia.

Em outro estudo relacionado a aplicação do resíduo da própolis, De Francisco et al. (2018), encontraram correlações lineares positivas entre o extrato da própolis e seu subproduto nas quantidades de fenólicos totais, flavonoides totais, atividade contra espécies reativas de oxigênio (ROS) e espécies reativas de nitrogênio (RNS) e atividade antioxidante. Reis et al. (2017), testou o extrato do coproduto da própolis microencapsulado em hambúrgueres obtendo resultado positivo contra oxidação lipídica.

Toledo et al. (2015), desenvolveu e caracterizou filmes usando o coproduto descartado do preparo de extratos da própolis em formulações com gelatina e etilcelulose.

4 MATERIAL E MÉTODOS

4.1 COPRODUTOS DA MAÇÃ E DA PRÓPOLIS

O coproduto da indústria de suco de maçã foi gentilmente fornecido pela agroindústria Fischer S/A, situada na Rodovia SC 355, Km 50, s/n, Distrito Industrial – Rio das Pedras em Videira, Santa Catarina. Esse coproduto é o resultado da prensagem da fruta e é composto por cascas, polpas e sementes.

O grupo Fischer S/A é uma unidade processadora de suco de maçã de médio porte com capacidade para receber, pré-resfriar e armazenar até 3.000 toneladas de maçã por dia. Com essa produção de suco, o total de coproduto pode chegar a 20-40% do peso das maçãs processadas. Com base nessa estimativa, o volume de resíduo do processamento da maçã, na região do vale do rio do Peixe, pode facilmente atingir a quantidade de 1200 toneladas/dia, cujo destino final tem sido um grande problema para a empresa.

Aproximadamente cinco quilos de coproduto de maçã das variedades Gala e Fuji da safra de 2018 da região de Fraiburgo, Santa Catarina (Figura 03 a) (latitude 27° 01'34"S, longitude 50° 50'39"W) foram coletados e transportados até o laboratório de Bromatologia da UTFPR, campus Pato Branco. O coproduto da maçã apresentou teor de umidade de 69,44% para base úmida (Figura 03 a). Desta forma, o mesmo foi seco em estufa com circulação de ar a 40°C por aproximadamente 36 horas e revolvido manualmente a cada 5 horas para uma completa homogeneização. Após a secagem o coproduto foi moído em moinho de facas (modelo TT-FM.1000) e sua granulometria padronizada por um processo de tamisação em peneiras de 60 *mesh* (0,25mm) (Figura 03 b).

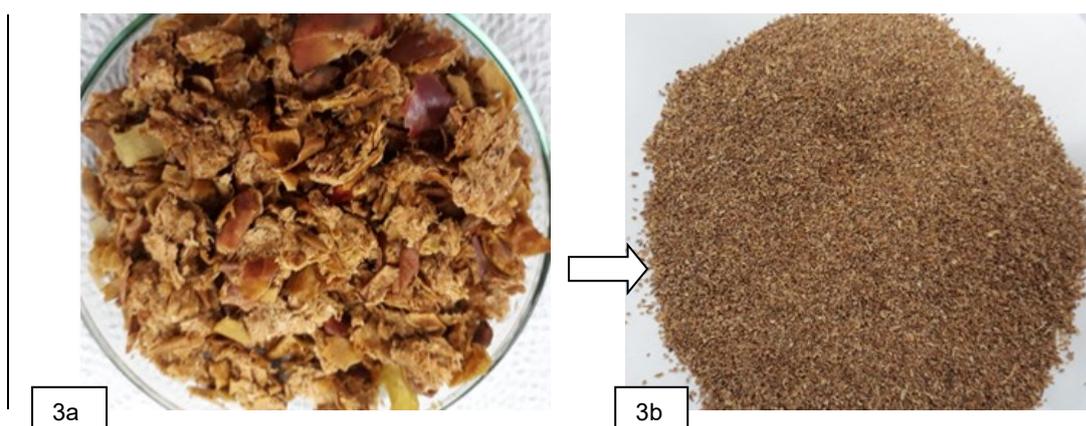


Figura 3: 3a: Coproduto da extração de suco de maçã antes da padronização. 3b: Coproduto da extração de suco de maçã após secagem, moagem e padronização da granulometria.

O coproduto da extração industrial da própolis utilizado na pesquisa foi gentilmente cedido pela empresa Breyer naturais e orgânicos, situada em União da Vitória/Paraná-Rodovia 447, KM 0,6. A agroindústria familiar Breyer e Cia Ltda, teve suas atividades iniciadas em 1980 e foi uma das pioneiras a lançar no mercado brasileiro um produto a base de própolis conhecido como “Propolina”. Atualmente é uma empresa exportadora de mel e extratos de própolis.

A própolis foi coletada por abelhas *Apis mellifera* durante a primavera de 2017 em União da Vitória, Paraná, Brasil (latitude 26° 11'48.8 "S" e longitude 97 51° 06'48,4 "W"). Durante o preparo desses produtos à base de própolis forma-se uma borra que sedimenta nos tanques de preparo desses produtos à base de própolis. A extração comercial da própolis gera grandes quantidades de resíduos sólidos (80% a 90% do material inicial), os quais são descartados. Desta forma, a borra formada durante esse processo é o coproduto utilizado nesse estudo.

Dois quilos do coproduto da própolis desidratada foram moídos e sua granulometria padronizada em peneiras de 60 mesh (0,25 mm). O padrão e textura final da própolis utilizada na composição dos filmes ativos pode ser verificada na figura a seguir (Figura 04).



Figura 4: Coproduto da própolis após padronização.

Ambos os coprodutos (CM e CP) foram armazenados em congelador a -18°C em sacos plásticos lacrados e recobertos com papel alumínio para a proteção de luz até a produção dos filmes e realização das demais análises.

A elaboração dos filmes contendo os coprodutos e os seus testes físicos de controle de qualidade foram realizados nos laboratórios da Universidade Estadual de Londrina, em Londrina, Paraná. Já as análises das propriedades físico-químicas, atividade antioxidante e antimicrobiana dos coprodutos e dos filmes foram realizadas nos laboratórios da Universidade Tecnológica Federal de Pato Branco-PR. As análises de compostos voláteis por extração em fase sólida, identificação e quantificação por cromatografia gasosa acoplada em espectrômetro de massas foi realizada nos laboratórios da University College Dublin em Dublin na Irlanda. A Figura 05, ilustra as atividades realizadas no presente estudo.

Fluxograma das atividades prática desenvolvido nesta pesquisa.

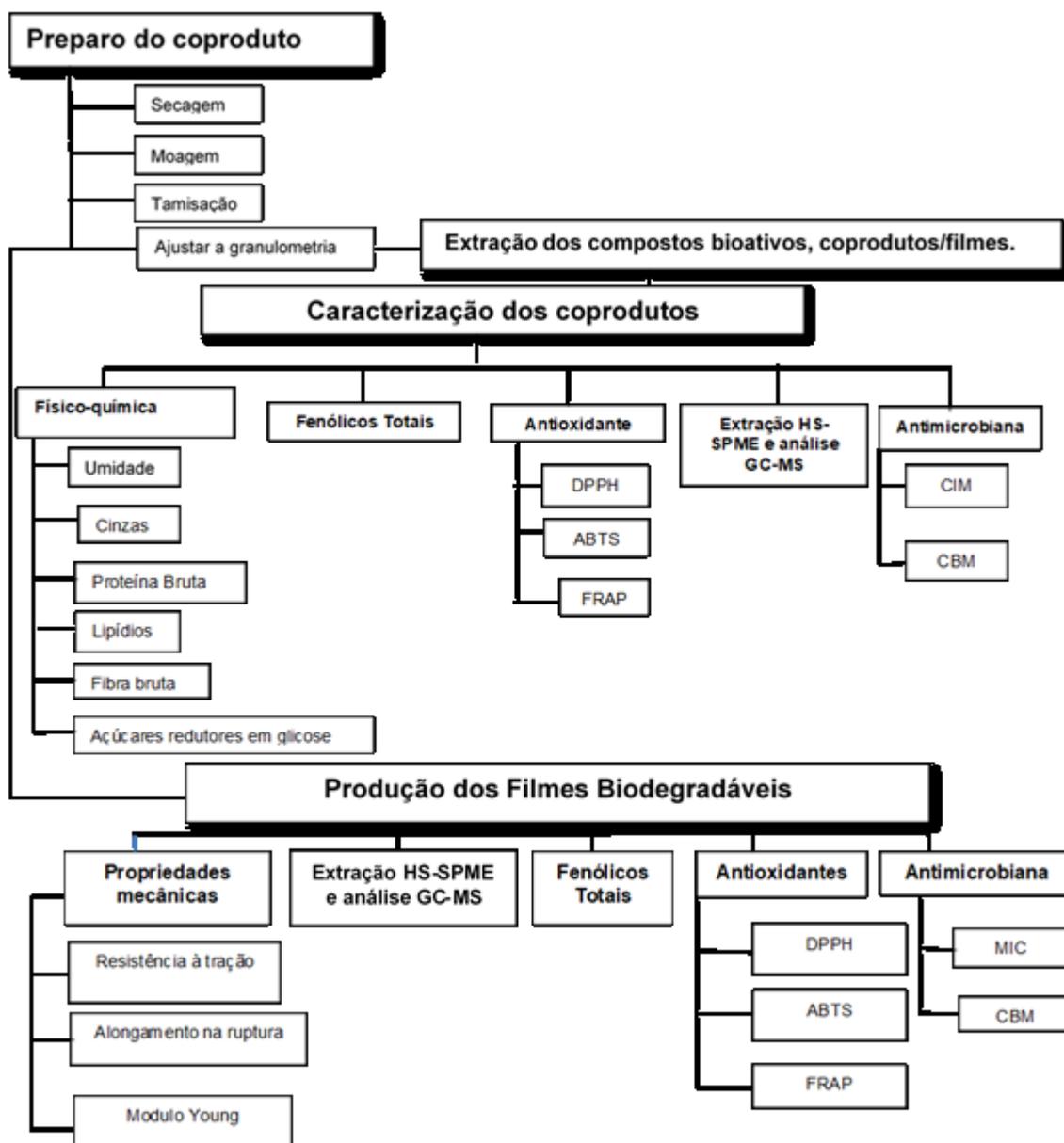


Figura 5: Fluxograma das atividades desenvolvidas com os coprodutos/filmes.

(**ABTS:** 2,2-azino-bis-(3-etil-benzotiazolina-6-ácido sulfônico) **CBM:** Concentração bactericida mínima, **DPPH:** 1,1-difenil-2-picrilhidrazil, α -difenil- β -picrilhidrazil, **FRAP:** Poder Antioxidante de Redução do Ferro, **CIM:** Concentração inibitória mínima **GC-MS:** cromatografia gasosa com espectrometria de massa).

4.2 CARACTERIZAÇÃO DOS COPRODUTOS

As análises físico-químicas dos coprodutos para a determinação de umidade, cinzas, lipídios totais, proteína, fibra bruta e teor de açúcares redutores em glicose foram realizadas a partir de metodologias reconhecidas e preconizadas pelo Instituto Adolfo Lutz (2008).

4.3 ELABORAÇÃO DOS FILMES

Os filmes ativos biodegradáveis foram elaborados a partir da mistura de amido de mandioca (Indemil, Paranavai, Brasil), PBAT poli (butileno de adipato co-tereftalato), comercialmente conhecido como Ecoflex® F Blend C1200 (BASF, Alemanha) e glicerol (Dinâmica, São Paulo) como plastificante. A essa mistura foram adicionados separadamente os coprodutos de própolis e da extração industrial de suco de maçã. Também foram desenvolvidos filmes controle contendo antioxidante sintético comercial, como o BHA (controle positivo para ação antioxidante), e uma formulação sem a adição de antioxidantes (controle negativo para ação antioxidante).

A Tabela 01 apresenta as concentrações de cada formulação. As formulações de cada filme biodegradável elaborado com os coprodutos foram determinadas em função de estudos prévios do grupo de trabalho do professor Fábio Yamashita da Universidade Estadual de Londrina (UEL) como visto em Bilck *et al.* (2015) e Olivato *et al.* (2013).

Para determinar as concentrações dos coprodutos nos filmes biodegradáveis foi observado as propriedades mecânicas dos filmes, estas não devem diferenciar-se consideravelmente das propriedades mecânicas da formulação do filme controle, desta forma foi observado que concentrações superiores destes coprodutos na formulação do filme biodegradável prejudicaria a funcionalidade mecânica do filme. Também foi levada em consideração a ação antioxidante determinada previamente em cada coproduto.

Para o filme com BHA 1% esta concentração foi determinada segundo estudo prévio na literatura como Jamshidiam *et al.* (2012), além de observar as

propriedades mecânicas para esta concentração e a quantidade permitida desse aditivo segundo a Resolução nº 04, de 24 de novembro de 1988.

Tabela 01: Formulações dos filmes biodegradáveis.

Formulação	Amido (g/100 g)	Glicerol (g/100 g)	PBAT (g/100 g)	Antioxidante (g/100 g)
Filme Controle	51	19	30	0
Filme 4% CP	47	19	30	4
Filme 4% CM	47	19	30	4
Filme 8% CM	43	19	30	8
Filme BHA 1%	50	19	30	1

Filme Controle sem antioxidante ;Filme 4% CP: Filme com 4% de Coproduto de própolis; Filme 4% CM: Filme com 4% de coproduto de maçã; Filme 8% CM: Filme com 8% de coproduto de maçã; Filme BHA 1%= Filme com BHA 1%.

As etapas para produção dos filmes biodegradáveis ativos estão descritas nas Figuras 07, 08 e 09. Os materiais foram pesados separadamente e homogeneizados manualmente em um recipiente de plástico, seguindo as etapas de 1 a 4 da Figura 06.



Figura 06: Mistura da matéria prima para produção dos filmes.

Após a homogeneização, a mistura foi processada em uma extrusora mono rosca de especificações BGM-EL-25, D = 25 mm, L = 28D com perfil de temperatura de 90-120-120-120°C e velocidade de 35 rpm, utilizando uma matriz circular com seis saídas de 2 mm de diâmetro para produção dos pellets, processo ilustrado na Figura 07.

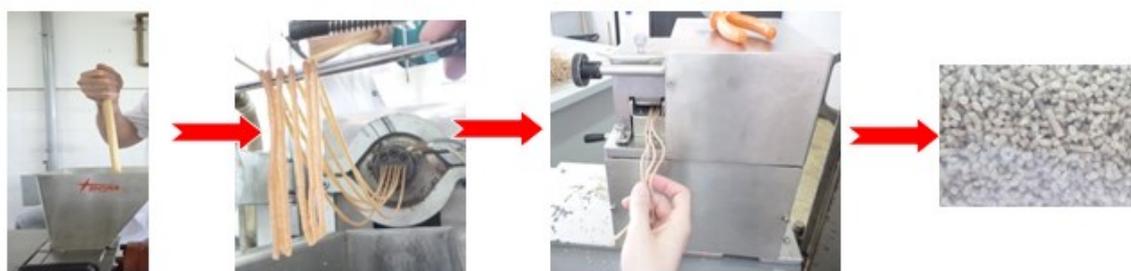


Figura 07: Processo de peletização das misturas de PBAT, amido de mandioca, glicerol e antioxidantes.

Após a produção dos pellets, os mesmos foram novamente processados em extrusora mono-rosca (BGM-EL25, D = 25 mm, L = 28D) usando perfil de temperatura de 90-120-120-125-125°C e velocidade da rosca de 35 rpm para produção dos filmes por extrusão-sopro (Figura 09).

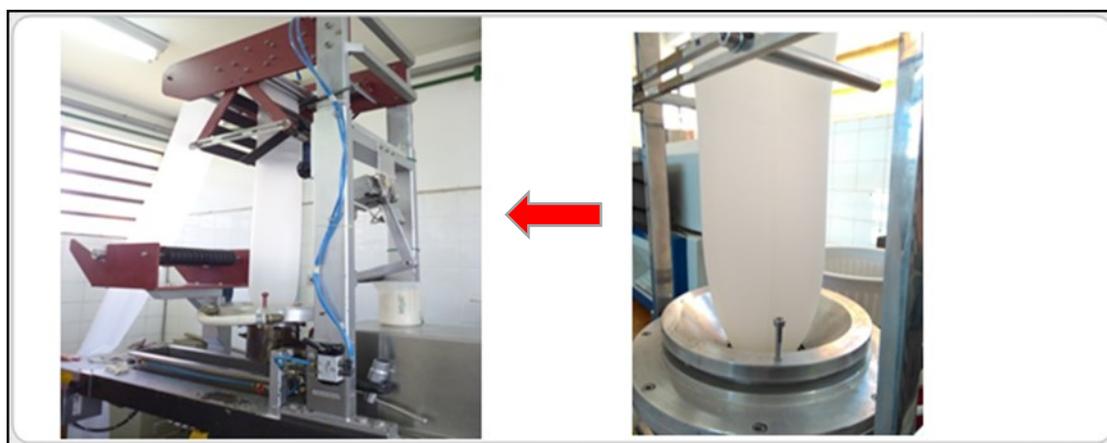


Figura 08. Segundo processo de extrusão para a formação de filmes soprados.

A Figura 10 mostra o filme controle, o filme produzido com o coproduto de maçã em duas concentrações, o filme contendo o coproduto de própolis e o filme contendo o antioxidante sintético.

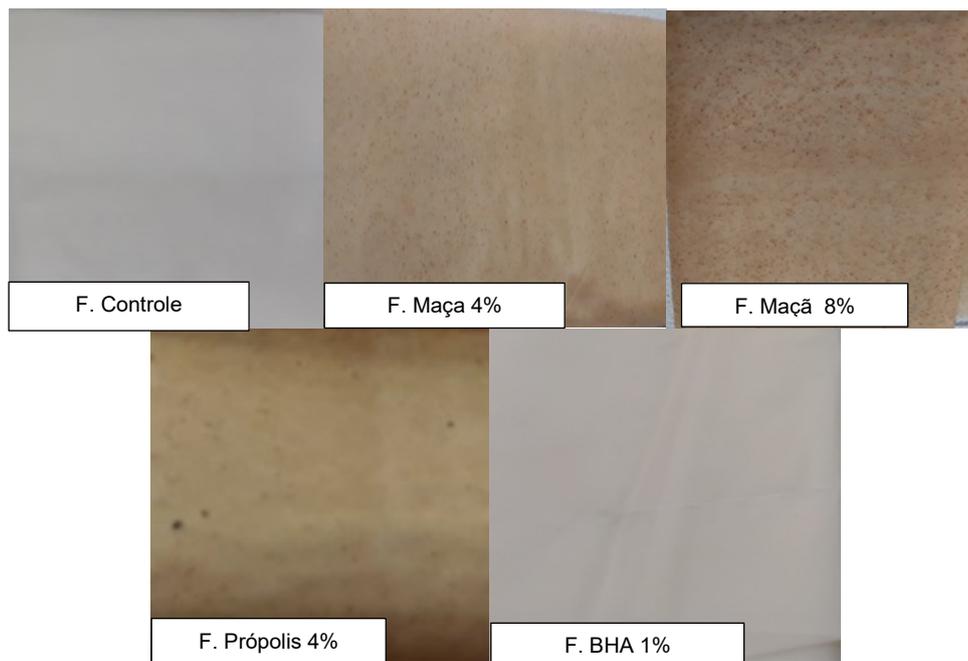


Figura 09. Filme Biodegradável com coprodutos, antioxidante sintético e filme controle (sem antioxidante).

4.4 EXTRAÇÃO DOS COMPOSTOS BIOATIVOS

Os compostos bioativos dos coprodutos da própolis (CP), maçã (CM) e filmes contendo esses coprodutos foram extraídos com 5g de amostra e 20 mL de etanol 80% (v/v) em banho-maria a 70°C durante 1 hora a cada 20min as amostraram eram retiradas do banho para fazer agitação em vortex por 3 segundos e colocadas novamente no banho- maria. (REIS et al., 2017)

Após o período de extração, as amostras foram filtradas em papel filtro qualitativo e o filtrado recolhido em tubos de vidro com tampa e armazenado em freezer para a realização das análises. As amostras já preparadas para as análises são ilustradas na Figura 10.

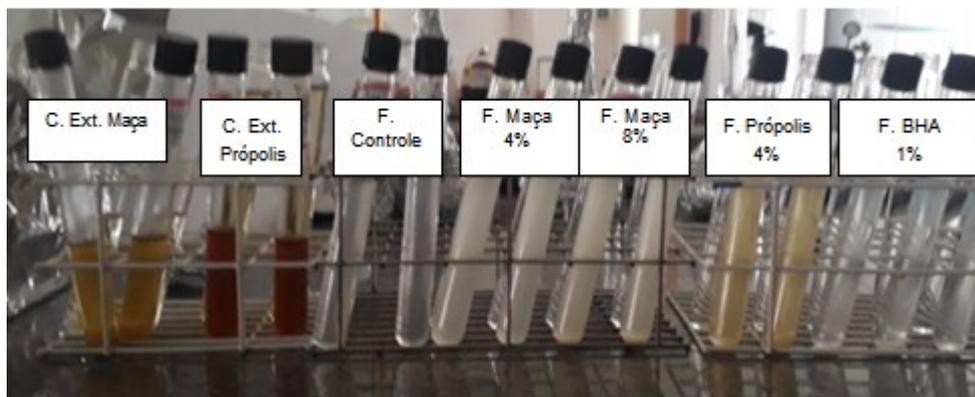


Figura 10. Extratos das amostras de coprodutos e dos filmes contendo os coprodutos.

C.Ext.Maça: Extrato do coproduto da maçã; C.Ext.Própolis: Extrato de coproduto da própolis; F.Controle: Extrato do filme controle sem antioxidante; F.maça 4%: Extrato do filme com 4% de coproduto de maçã; F. maçã 8%: Extrato do filme com 8% do coproduto da maçã; F.própolis 4%: Extrato do filme com 4% de coproduto da própolis; F.BHA 1%: Extrato do filme com BHA 1%.

4.5 DETERMINAÇÃO DE COMPOSTOS FENÓLICOS TOTAIS (FT)

O teor de compostos fenólicos totais foi determinado por meio do método Folin-Ciocalteu (SINGLETON, 1999). Uma alíquota de 0,5 mL dos extratos foi transferida para um tubo com rosca contendo 2,5 mL do reagente Folin-Ciocalteu diluído 1:10 em água. Após 5 minutos de repouso, foram adicionados 2 mL de carbonato de sódio 4% (m/v) e os tubos foram mantidos em repouso por mais 2 horas ao abrigo da luz até a leitura em espectrofotômetro a 740 nm. O ácido gálico foi utilizado para a construção de uma curva padrão nas concentrações de 100 , 75 , 50 , 25 , 10, 5 e 2,5 ppm. Os resultados foram expressos em mg equivalente em ácido gálico por grama da amostra (EAG/g).

4.6 ATIVIDADE ANTIOXIDANTE

A atividade antioxidante foi determinada por três métodos: sequestro do radical 2,2-difenil-1-picril-hidrazil (DPPH); sequestro do radical 2,2-azino-bis-(3-etil-benzotiazolona-6-ácido sulfônico) (ABTS) e poder antioxidante redutor do ferro (FRAP).

4.6.1 Sequestro do radical 2,2-difenil-1-picril-hidrazil (DPPH)

A atividade antioxidante determinada pela captura do radical livre DPPH foi expressa em capacidade antioxidante equivalente ao Trolox ($\mu\text{mol TEAC/g}$). Segundo Alothman, Bhat e Karim (2009), 0,5 mL do extrato foi adicionado a um tubo de ensaio contendo 3,0 mL de etanol PA e 0,3 mL de DPPH 0,5mM. A mistura foi mantida ao abrigo da luz durante 30 minutos e as absorvâncias lidas em espectrofotômetro no comprimento de onda de 517 nm. A curva padrão de Trolox foi estabelecida nas concentrações de 0,0075, 0,0125, 0,025, 0,05, 0,0625 μmol de Trolox. As análises foram realizadas em triplicata.

4.6.2 Sequestro do radical 2,2-azino-bis-(3-etil-benzotiazolina-6-ácido sulfônico) (ABTS)

A atividade antioxidante determinada pela captura do radical livre ABTS (2,2-azino-bis-(3-etil-benzotiazolina-6-ácido sulfônico)) foi descrita por Floegel *et al.*, (2011). O radical foi gerado pela reação do $\text{ABTS}^{+\cdot}$ (7 μmol) com persulfato de potássio 140 mM e mantido por 16 horas ao abrigo da luz em temperatura ambiente. A solução foi diluída em etanol até atingir o valor de absorvância igual a 0,7, lida em espectrofotômetro a 734 nm. A solução de ABTS foi adicionada ao extrato e sua absorvância verificada após 6 minutos de repouso.

Por fim, a atividade antioxidante da amostra foi calculada em relação ao antioxidante sintético Trolox (6-hidroxi-2,5,7,8-tetrametilcromo-2-ácido carboxílico) na concentração de 200 μM utilizando volumes de 7,5 , 5 , 2,5 , 0,5 e 0,25 ml. Os resultados foram expressos em capacidade antioxidante equivalente ao Trolox ($\mu\text{mol TEAC/g}$). Os ensaios também foram realizados em triplicata.

4.7.3 Poder antioxidante redutor do ferro (FRAP)

Na determinação da atividade antioxidante pelo método de redução do ferro, foi utilizada a metodologia descrita por Rufino *et al.* (2006). Em um tubo de ensaio, foi adicionado 0,1 mL dos extratos dos coprodutos, 0,3 mL de água destilada e 3 mL do reagente FRAP. A mistura foi mantida em banho-maria a 37°C

por 30 minutos e sua leitura realizada em espectrofotômetro no comprimento de onda de 595 nm. Uma curva padrão de sulfato ferroso nas concentrações de 200, 500, 1000, 1500, 2000 μM foi realizada e os resultados foram expressos em $\mu\text{mol Fe}^{2+}/\text{mg}$. A análise foi realizada em triplicata.

4.8 CARACTERIZAÇÃO DOS FILMES

As propriedades mecânicas dos filmes foram determinadas de acordo com o método da American Society for Testing and Material - ASTM D-882-91 (1996), utilizando Texturômetro *Stable Micro Systems* (modelo TATX2i, Inglaterra).

Os filmes foram cortados milimetricamente (50 mm x 20 mm) e condicionados em umidade relativa de 53% (solução de nitrato de magnésio saturada) a 25°C durante 48 horas. Foram utilizadas 15 amostras para cada formulação, cortadas no sentido longitudinal dos filmes. As amostras foram ajustadas às garras pneumáticas do equipamento, a uma distância de 30 mm e tracionadas com velocidade de 0,8 mm/s. Nesta etapa, a resistência máxima à tração (MPa), porcentagem de alongação (%) e Módulo de Young foram calculados.

4.9 DETERMINAÇÃO DOS COMPOSTOS VOLÁTEIS POR MICROEXTRAÇÃO EM FASE POR CROMATOGRAFIA GASOSA ACOPLADO A ESPECTRO DE MASSAS HS-SPME E GC-MS

Os compostos voláteis presentes nos coprodutos e nos filmes biodegradáveis contendo os coprodutos foram extraídos por microextração em fase sólida para posterior separação, identificação e quantificação por cromatografia gasosa acoplado a um espectrômetro de massas (HS-SPME-GC/MS: acrônimo das iniciais em língua inglesa de Head Space-Solid Phase Micro Extration-Gas Chromatography/Mass Spectrometry). As condições de extração foram previamente descritas em Pellati, Prencipe, Benvenuti (2013) em estudo para a caracterização de compostos voláteis em própolis da Itália pelo método HS-SPME-GC-MS.

Dois gramas de cada amostra foram pesados separadamente em vials de 5 mL e selados com um septo de PTFE/silicone (Supelco). As amostras permaneceram em banho-maria à 75°C por 30 minutos para que fosse estabelecido o tempo de equilíbrio entre as fases. Após esse período o suporte manual do SPME foi inserido e a fibra exposta ao espaço vazio do vial durante 25 minutos para a adsorção dos compostos voláteis. Após a coleta, a fibra SPME foi removida do vial e inserida no cromatógrafo a gás, onde os voláteis coletados foram dessorvidos por 5 minutos a temperatura de 250°C.

A separação e a quantificação dos compostos voláteis foram realizadas com um GC Varian CP-3800 acoplado a um espectrômetro de massas de captura de íons Varian Saturn 2000 (Varian Chromatography Systems, de Walnut Creek, CA, EUA). A coluna utilizada para análise foi uma Agilent ZB-5MS (30 m de comprimento, 0,25 mm interno de diâmetro, espessura de filme de 0,25 µm) (Agilent Technologies, Palo Alto, CA, EUA).

O gás Hélio foi usado como gás de arraste com uma vazão constante de 1,0 mL/min. A temperatura do forno GC foi programada da seguinte maneira: 40°C por 5 minutos, aumentando para 230°C a 4°C/min e mantendo por 5 minutos, com um tempo total de aquisição de 80 minutos. A ionização foi realizada no modo impacto de elétrons (EI) a 70 eV de potencial de ionização a 10 microscans/s, varrendo a faixa de massa 33-230 m/z. A linha de transferência GC/MS foi aquecida a 280°C.

Os compostos voláteis foram identificados comparando os espectros de massa obtidos experimentalmente com os espectros disponíveis nas bibliotecas do National Institute of Standards and Technology, Environmental Protection Agency and National Institutes of Health (Versão 2.0 g, 2011). Além disso, os padrões de *n*-alcanos (C7-C30) foram previamente injetados sob a mesma condição neste instrumento por Gkarane et al. (2019). O LQ (limite de quantificação) foi definido como uma relação sinal / ruído de aproximadamente menos de 10 (Taverniers, De Loose e Van Bockstaele, 2004). A composição percentual dos componentes voláteis foi calculada a partir das áreas de pico do GC usando o método de normalização. As análises foram realizadas em triplicata em três lotes separados de amostra.

4.10 ATIVIDADE ANTIMICROBIANA

A atividade antimicrobiana foi utilizada para testar o potencial de inibição bactericida dos extratos dos coprodutos da própolis, da maçã e dos seus respectivos filmes. A técnica utilizada foi a de microdiluição em caldo, cuja vantagem é o baixo custo devido à pouca quantidade de meio de cultura e boa reprodutibilidade. Os microrganismos testados foram *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Salmonella thyphimurium* ATCC 14028 e *Escherichia coli* ATCC 25922. A metodologia utilizada foi descrita por CLSI. Norma M7-A6 .

4.10.1 Determinação da concentração Inibitória Mínima (CIM)

As CIM dos extratos de filmes/coprodutos de suco da maçã e extrato da própolis foi determinado pelo método de diluição em microplacas de 96 poços.

A concentração dos extratos dos coprodutos avaliadas nesse estudo foram 12,5; 6,25; 3,12; 1,56; 0,76 e 0,38 mg/mL de extrato. Os microrganismos foram reativados a partir de células liofilizadas em caldo infusão de cérebro e coração (BHI) por 24 horas a temperatura de 37°C. As cepas foram repicadas em placas de Petry contendo ágar BHI e incubadas durante 24 horas a 37 °C. O inóculo foi preparado com uma alçada de bactéria e 5 mL de uma solução de NaCl 0,89% esterilizado. A mistura foi homogeneizada em Vórtex e ajustada em espectrofotômetro para a absorbância de 0,135 a 660 nm, o que corresponde a $1-2 \times 10^8$ UFC/mL na escala de Mc Farland de 0,5. Posteriormente, 50 µL da suspensão bacteriana foi adicionado a 50 mL de caldo BHI para obter a concentração de $1-2 \times 10^5$ UFC/mL.

Na microplaca, foi adicionado 190 µL de caldo BHI inoculado e 10 µL dos extratos em cada diluição. As microplacas foram incubadas por 24 horas a 37 °C. Para o controle da análise, foram adicionados ao caldo BHI inoculado, o antibiótico clorafenicol 0,12% como controle positivo e como controle negativo etanol 80% (v/v). Como revelador foi utilizado o corante resazurina (0,01%).

As análises foram realizadas em triplicatas. Posteriormente foi realizado a identificação da menor concentração onde houve inibição do crescimento microbiano (CIM), através da adição de 30 µl do revelador resazurina, o qual age

como indicador da multiplicação celular e/ou viabilidade. Após 30 minutos de incubação, amostras com a cor azul representam a ausência de multiplicação e/ou viabilidade celular e a rosa multiplicação e ou/presença de viabilidade.

4.10.2 Concentração bactericida mínima (CBM)

A Concentração bactericida Mínima (CBM) foi determinada levando-se em conta a menor concentração dos extratos em estudo, capaz de inibir o crescimento microbiano, caracterizado pela ausência de crescimento deste em caldo BHI, após 24 horas em estufa a 37°C. Quando fosse possível a observação do crescimento ou mesmo de uma colônia, considerou-se que houve apenas inibição e não morte da bactéria caracterizando o efeito do extrato como bacteriostático.

4.11 ANÁLISES ESTATÍSTICAS

Os experimentos para os coprodutos foram conduzidos utilizando-se 2 tratamentos com 6 repetições. Os filmes biodegradáveis tiveram delineamento determinado de 5 tratamentos e 6 repetições. Os dados foram expressos com média \pm desvio padrão. Inicialmente para análise dos resultados dos coprodutos da própolis e da maçã, após verificação da normalidade e homosticidade dos dados, os mesmos foram submetidos ao Teste F (Teste de Fisher), denotando um nível de significância de $p < 0,05$.

Para os filmes biodegradáveis a análise dos resultados de cada variável também foi submetida aos testes de normalidade e homosticidade. Atendidas tais pressuposições para os tratamentos dos filmes biodegradáveis, estes foram submetidos à análise de variância (ANOVA), sendo as medias de cada tratamento comparado pelo teste Tukey, tomando um valor de $p < 0,05$, para denotar significância entre os tratamentos.

O programa computacional utilizado para analisar os dados dos tratamentos dos coprodutos e filmes biodegradáveis foi o SAS.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 COMPOSIÇÃO QUÍMICA DOS COPRODUTOS

Os valores da composição química dos coprodutos do processamento de suco de maçã e de extrato de própolis em base seca estão representados na tabela 02. Nessa tabela os resultados dos teores de cinzas, lipídios, proteínas, açúcares e fibras foram expressos em porcentagem com base na matéria seca.

Tabela 02: Composição química dos coprodutos de maçã e própolis.

Parâmetros Analisados	Coproducto de maçã	Coproducto de própolis
	Resultados em % (Médias ± desvio padrão)	
Umidade	7,23 ± 0,24	7,07 ± 0,07
Cinzas	5,29 ± 2,28	3,77 ± 0,08
Lipídios	5,47 ± 0,01	33,9 ± 0,00
Proteína bruta	5,55 ± 0,18	12,62 ± 1,23
Açúcares redutores em glicose	19,09 ± 1,17	14,11 ± 0,09
Fibra bruta	52,92 ± 2,17	5,12 ± 2,07

*valores em base seca.

O valor de umidade para o coproduto de maçã foi de 7,23%, Coelho, Wosiack (2010) também registra em sua pesquisa 7,10% de umidade para o coproduto proveniente da maçã Fuji da safra de 2006. Além disso, Chand et al., (2014) reportaram valores de 2 a 4% de umidade encontrada em bagaço de maçã.

O teor de cinzas encontrado nesse estudo foi de 5,29%, sendo próximo do resultado estabelecidas por Storck et al., (2016) (4,38 a 5,79% de cinzas). Coelho e Wosiacki (2010) reportam resultados para cinza em sua pesquisa de 1,43% para bagaço de maçã da variedade Fuji. A baixa quantidade de minerais em bagaço de maçã ocorre devido ao processamento adequado das frutas, acarretando lixiviação dos minerais para o suco, conferindo qualidade ao produto (NOGUEIRA et al., 2007).

O teor médio de lipídios do coproduto de suco de maçã foi de 5,47% (Tabela 2) e foi superior ao encontrado pelos autores Storck et al., (2016) e Fertoni et al. (2006), os quais relataram respectivamente valores de 3,02% e 3,20% de lipídeos em farinhas de resíduos do processamento de maçã.

O teor de proteína bruta coproduto de maçã encontrado nesse estudo (5,55%) foi relativamente alto quando comparado aos teores de proteínas apresentados por Druzian e Pagliarini (2007), cujo bagaço proveniente da maçã Fuji apresentou 1,79% de proteínas. Outros autores como Storck et al. (2016), e Coelho e Wosiacki (2010) encontraram teores médios de proteína em bagaço de maçã de 3,10 e 3,35%, respectivamente para variedade Fuji.

Os valores obtidos neste trabalho aproximam-se do resultado descrito por Fertoni et al., (2006), que obtiveram valores de proteína de 4,40 % em bagaço de maçã comerciais da variedade Joaquina. Essas variações podem ser atribuídas a diferentes fatores, entre eles a variedade da fruta, composição do solo e métodos de extração, que pode interferir na composição química dos diversos bagaços de maçã. Além disso, Storck et al. (2016), aponta a diferença de granulometria em seu estudo como justificativa para valores muito distanciados da literatura e demonstra que quanto menor a granulometria do bagaço a ser analisado maior é a quantidade de proteína encontrada.

O teor de açúcares redutores do coproduto de maçã apresentou um valor médio de 19,09%, sendo também um valor superior ao encontrado por Elvas (2011) e Dhillon et al. (2012), que apresentaram teores de 13,35% e 15%, respectivamente. Os valores de açúcares encontrados para o bagaço de maçã são muito variados, uma vez que esses podem estar relacionados com as variedades de maçãs presentes no coproduto.

Segundo a autora Elvas (2016), um dos fatores que pode influenciar o teor de açúcares presentes no bagaço é o seu processo tecnológico, ou seja, o método de extração do suco, sendo a prensagem e a lavagem os procedimentos que mais podem alterar o seu conteúdo. Um bagaço que sofreu uma lavagem mais longa possui um teor de açúcares menor do que um bagaço em que a lavagem foi mais curta. Essa duração de prensagem e lavagem por vezes depende da quantidade de maçãs que a indústria recebe.

Quanto à fibra bruta, o valor encontrado para o bagaço da maçã, nesta pesquisa, foi de 52,92% (Tabela 2). Sendo correlato ao resultado reportado por

Geus et al., (2014) de 52,33% para coproduto da variedade fugi. Aproximando-se do resultado encontrado por Friebel et al. (2017) e Coelho e Wosiacki (2010), que é de 57% e 46,3% respectivamente de fibra alimentar para o bagaço proveniente da variedade fugi.

O subproduto gerado pela agroindústria de suco de maçã pode ser considerado extremamente rico em fibras, pois, de acordo com a ANVISA (BRASIL, 2012), esse apresenta um teor muito superior a 6%. Portanto, a adição das farinhas do subproduto da produção de suco em produtos alimentícios pode agregar propriedades funcionais interessantes para a saúde, enriquecendo o valor nutricional de tais produtos (STORCK et al., 2016).

Assim, é possível observar que as características de qualidade físico-química do bagaço de maçã são muito dependentes das operações de beneficiamento e dos métodos de análise empregados, além das diferenças varietais.

Com relação aos valores obtidos para composição química do subproduto da própolis, nesta pesquisa, foram observados algumas diferenças significativas para alguns parâmetros quando comparados com a literatura (Tabela 02). Pelo fato da amostra do subproduto da própolis fornecida pela indústria Breyer já estar desidratada, estar, portanto, na forma sólida, como pode ser visualizado na figura 04, e não na forma gomosa, pastosa, pois nesse caso haveria alto teor de umidade, como é descrito na literatura.

Desta forma o teor de umidade encontrado na presente pesquisa de 7,07% se diferencia significativamente dos valores encontrados por De Francisco et al. (2018), que é de 32,44% para o coproduto e 6,7% para a própolis *in natura*; sendo esse o mesmo valor obtido por Santos, Francisco e Bruschi, (2015) subproduto 32,45% e 6,87 para a própolis *in natura*.

. O resultado encontrado para cinzas na amostra foi de 3,77% (Tabela 2), aproximando-se de relatos anteriores de pesquisadores, como Santos, Francisco e Bruschi, (2015), que obtiveram teor de cinzas de 2,44%. De Francisco et al., (2018) registrou 2,5%. Já Cunha et al. (2004), analisaram amostras cujos resultados variaram de 3,8% a 4,25%, obtendo diferenças para diferentes regiões do Brasil.

A própolis, para ter padrão de qualidade para comercialização, segundo a legislação brasileira, deve apresentar teor de cinzas máximo de 5% (BRASIL,

2001); a amostra analisada, mesmo sendo um coproduto, mantem um valor permitido de cinzas para a comercialização.

O teor de lipídios da propolis bem como do coproduto pode ser muito variável de acordo com o período do ano em que o material é coletado, pois as abelhas podem incorporar mais cera na própolis durante o inverno, quando a selagem deve ser maior, ou quando as resinas são mais escassas ou difíceis de coletar. Assim, há uma grande variabilidade entre os resultados demonstrados pela literatura. Entretanto, o valor encontrado nesse estudo foi de 33,9% de lipídeos (Tabela 2) e difere do teor encontrado por De Francsico et al. (2018), que foi de 61,25%. Além disso, Santos, Francisco e Bruschi, (2015) encontraram valores de 61,16% de lipídeos em coprodutos de propolis. No entanto, o valor encontrado nesta pesquisa é muito semelhante ao resultado obtido por Kunrath et al. (2017), que foi de 34,7%.

Os teores de fibra e de proteína bruta determinados na presente pesquisa permaneceram em 5,12% para a fibra e 12,63% para a proteína bruta. Os relatos na literatura sobre essas frações são escassos, sendo reportadas apenas por Santos et al. (2003), cuja quantificação de fibra bruta, em sua pesquisa, ficou em 14,41%, valor que considerou elevado para o coproduto da própolis.

5.2 FENÓLICOS TOTAIS E ANTIOXIDANTES PARA OS COPRODUTOS DE PRÓPOLIS E MAÇÃ

Na Tabela 03, é possível observar os resultados de Fenólicos Totais (FT) e atividade antioxidante pelos métodos de DPPH, ABTS e FRAP, para as amostras de coproduto de própolis e coproduto de maçã.

Tabela 03: Composição química das amostras de coproduto da própolis e maçã para FT e antioxidantes, DPPH, FRAP E ABTS.

Coprodutos	FT (mg EAG/g)	DPPH ($\mu\text{mol Trolox/g}$)	FRAP ($\mu\text{mol Fe}^{2+}/\text{g}$)	ABTS ($\mu\text{mol TEAC/g}$)
CP	90,15 \pm 8,21**	28,50 \pm 0,08**	97,64 \pm 1,50**	226,58 \pm 10,89**
CM	10,47 \pm 0,71	4,24 \pm 0,12	8,61 \pm 0,55	16,85 \pm 4,41

CP: Coproduto de propolis; CM: Coproduto de maçã; Médias \pm desvio padrão; EAG: Equivalente de ácido gálico; TEAC: Capacidade antioxidante equivalente ao trolox; ** Houve diferença estatística pelo teste F a 5% de significância.

Como pode ser observado na tabela 03, denota-se diferença estatística entre os dois tratamentos CP e CM a 5% de significância, para fenólicos totais e para os resultados de antioxidantes (DPPH, FRAP e ABTS). Observa-se que o CP apresenta melhor desempenho para FT e antioxidantes quando comparado ao CM.

Fato que pode ajudar a explicar a grande diferença entre as atividades antioxidantes dos coprodutos pode ser relacionado com alguns compostos voláteis detectados, apresentados na tabela 06 e 07, principalmente a classe dos terpenos, Ramalho e Jorge (2006), relacionam a atividade antioxidante também a compostos derivados dos terpenos, Assim esta relação pode explicar os resultados mais expressivos para o CP em relação ao CM, pois para o CP um maior número de terpenos foi identificado, sendo 35 compostos para esta classe, e para o CM foi detectados apenas 5 compostos provenientes dos terpenos .

A literatura é um tanto escassa para pesquisas referente ao coproduto da própolis desta forma alguns resultados desta pesquisa para o CP foi comparado a relatos referenciando o produto da própolis quando possível.

O teor de fenólicos totais do coproduto da própolis foi de 90,15 mg EAG/g (Tabela 03) , demonstra uma correlação com estudos elencados na literatura. De Francisco, et al. (2018) elaboraram um estudo comparativo entre o extrato de própolis e o extrato do coproduto da própolis, em que determinaram respectivamente valores 100,7 e 97,83 mg EAG/g, relatando que não há diferença estatística a 5% entre o produto e seu coproduto. Salgueiro e Castro, (2016), relataram a média de 82,95 mg EAG/g para fenólicos totais no produto da própolis, em amostras de diferentes regiões e épocas do ano.

Segundo a legislação brasileira vigente, os extratos etanólicos da própolis devem conter, no mínimo, 0,25% de flavonoides e 0,50% de fenólicos (BRASIL, 2001). No presente estudo, o conteúdo médio de compostos fenólicos foi atingido, mesmo sendo um coproduto.

Para esta pesquisa, a atividade antioxidante para o coproduto da própolis foi avaliada através dos métodos DPPH, FRAP e ABTS. Capacidade antioxidante é um termo amplamente usado para caracterizar materiais, que podem neutralizar os radicais livres, essa atividade está associada a presença de compostos que são essenciais para proteger o sistema biológico contra a oxidação prejudicial (De FRANCISCO et al., 2018).

O valor determinado para o sequestro do radical livre sintético DPPH correspondeu a 28,50 $\mu\text{mol/g}$ para o coproduto da própolis. Autores Reis et al. (2017) reporta resultado 2,31 $\mu\text{mol/g}$ para o coproduto da própolis microencapsulado, Já Al-Ani et al. (2018), cujo resultado foi de 26,45 $\mu\text{g/mL}$ para própolis da Irlanda, e 27,72 $\mu\text{g/mL}$ para própolis da República Tcheca.

A atividade redutora do ferro (FRAP) foi determinada atribuindo-se a capacidade da amostra em reduzir o Fe^{+3} para um complexo de cor azul Fe^{+2} e neste estudo foi encontrado valor de 97,64 $\mu\text{mol Fe}^{+2}/\text{g}$ para o coproduto de propolis, o qual diferiu dos estudos de De Francisco et al. (2018), os quais descreveram valores para FRAP de 1273,25 $\mu\text{mol de Fe}^{+2}/\text{g}$ para o coproduto da própolis. Deferenciando também dos estudos de Reis et al. (2017) com resultado de 3,39 $\mu\text{mol Fe}^{+2}/\text{g}$ para o coproduto da própolis microencapsulado.

Como especificado na Tabela 03, a atividade antioxidante do coproduto da própolis apresentado pelo sequestro do radical ABTS para esta pesquisa tras o resultado de 226,58 $\mu\text{mol TEAC/g}$. Diferenciando do resultado proposto por Reis et al. (2017), de 71,84 $\mu\text{mol TEAC/g}$. Em amostra de tintura de própolis coletada no estado de São Paulo Salgueiro e Castro, (2016) relataram valores de 246,83 mmol TEAC/g . De Francisco et al. (2018), relata que o composto cromóforo ABTS possui alta solubilidade em água e compostos lipossolúveis. Muitos compostos fenólicos presente na própolis brasileira com atividade antioxidante sofre interações com sistemas hidrofílicos e lipofílicos (TEIXEIRA et al., 2010)

De fato, a natureza química das substâncias fenólicas e, talvez, a presença de outros derivados como canferol e canferide podem participar na determinação dessa atividade antioxidante (SALGUEIRO, CASTRO, 2016). Segundo vários autores a própolis e coproduto da própolis pode ter forte correlação com o teor eo perfil dos compostos fenólicos demonstrando ser um substrato com alto valor agregado, podendo ser utilizado na indústria farmacêutica ou em alimentos (BITTENCOURT et al., 2015; DE FRANCISCO et al., 2018).

De Francisco et al. (2018) explicam que a grande variabilidade nos compostos ativos da própolis e em seu subproduto, pode estar relacionada a flora vigente e a grande diversidade de plantas com origens botânicas diferentes, em que as abelhas fazem suas coletas, alterando a composição química da própolis. Essa conclusão é reafirmada por Lacerda (2012), que verificaram a variação da atividade antioxidante de amostras da própolis, pelo método do ABTS, em três

estações do ano e demonstraram que o conteúdo antioxidante obtido na primavera foi o mais expressivo (19,82 mg Trolox/g), pois nessa época do ano há maior diversidade de plantas e, conseqüentemente, de flores.

Quanto ao coproduto do suco de maçã, o teor de compostos fenólicos totais e atividade antioxidante foram menores que os encontrados no coproduto de propolis. O teor de compostos fenólicos totais do coproduto de maçã foi de 10,47 mg EAG/g de coproduto (Tabela 03) e foi semelhante aos valores encontrados por Ferrentino et al. (2018), (10,11 mg EAG/g) em extrato aquoso de bagaço de maçã. No entanto, Storck et al. (2016), determinaram o teor dos compostos fenólicos em farinha do resíduo da produção de maçã e encontraram valores de 329 mg EAG/g de resíduo. Já Soares et al. (2008), relataram quantidades elevadas para o conteúdo fenólico (134,45 a 522,74 mg GAE/g em base seca), e que estes foram dependentes do tipo de solvente extrator.

Os compostos fenólicos são os compostos responsáveis pelo sabor amargo da maçã e compreendem os ácidos clorogênicos e seus ésteres, entre muitos outros componentes, demonstrando também sua importância e influência nas características sensoriais, cor, formação de aromas e capacidade antioxidante (WOSIACKI, PHOLMAN, NOGUEIRA, 2004).

Renard et al. (2011), investigaram a composição fenólica da maçã e do seu suco e relataram que, independente das condições do método de produção do suco, a maioria dos compostos fenólicos são retidos no bagaço durante a produção do suco, especialmente as proantocianidinas.

Com relação a atividade antioxidante, o coproduto de maçã apresentou valores de 4,24 μmol trolox/g pelo método do sequestro do radical livre DPPH. Esses valores estão em consonância com Ferrentino et al. (2018), os quais detectaram valores de 4,26 mg trolox/g em bagaços extraídos a uma pressão de 30 MPA e a temperatura de 45°C. No entanto, Soares et al. (2008), relataram um maior índice para a atividade antioxidante pelo método de DPPH de 39,15 μmol trolox/g em base seca.

O coproduto de maçã apresentou valores de 16,85 μmol TEAC/g de coproduto pelo método de sequestro do ABTS; este valor se diferenciou quando comparado com o estudo de Soares et al. (2008), que aponta resultado de 25,46 μmol TEAC/g em base seca. Ferrandin (2014) relata atividade antioxidante de 28,16 μmol TEAC/g em extratos aquosos de bagaço de maçã.

Para a atividade antioxidante avaliada pelo método de redução do ferro (FRAP), a presente pesquisa reporta o resultado de 8,61 $\mu\text{mol Fe}^{2+}/\text{g}$ de coproduto de maçã, porém, sobre este método, foi encontrado na literatura apenas o relato de Ferrandin (2014), que detectou 14,54 $\mu\text{mol Fe}^{2+}/\text{g}$ de bagaço de maçã.

Murata et al. (1995) e Zardo et al. (2008) explicam que a principal causa de perdas de compostos fenólicos e antioxidantes da maçã *in natura* durante seu processamento ocorre devido a oxidação enzimática durante a trituração e a prensagem da fruta, além da temperatura e do oxigênio dissolvido no suco.

Nesta pesquisa, o conteúdo fenólico e a capacidade antioxidante para o coproduto da maçã apresentaram conteúdos inferiores aos da literatura, tal feito pode ser atribuído à demanda de produção do suco de maçã. Para maior demanda de consumo de suco, a fruta permanece na prensa por 30 minutos com uma adição de água, e para menor demanda esse tempo aumenta para aproximadamente 1 hora e 30 minutos, podendo levar até três adições de água, para uma maior extração dos compostos bioativos e dos açúcares do bagaço da maçã.

5.3 DETERMINAÇÃO DE COMPOSTOS FENÓLICOS TOTAIS E ANTIOXIDANTES NOS FILMES BIODEGRADÁVEIS ATIVOS

O teor de compostos fenólicos totais dos filmes biodegradáveis mostrou diferença significativa ($p < 0,05$) em todas as amostras (tabela 04), quando comparadas ao filme controle sem antioxidante (Controle negativo para o teor fenólico e a ação antioxidante) e quando comparadas ao filme BHA 1% (Controle positivo para o teor fenólico e ação antioxidante). Observa-se que o teor de compostos fenólicos totais do filme 4% de CP (4,99mg EAG/g), foi superior ao resultado das amostras dos filmes com 4% CM (0,83 mg EAG/g) e filme 8% CM (1,09 mg EAG/g), respectivamente.

Santana et al. (2012), avaliaram o teor de fenólicos totais em embalagens biodegradáveis contendo quitosana, glicerol e 0,25% de urucum que foram desenvolvidas pela técnica de casting relatando o valor de FT de 67,70 mg EAG/g. Já Machado et al. (2012), avaliaram FT em filmes biodegradáveis com amido de

mandioca nanocelulose e extrato de erva mate a 20%, obtendo valor 102,70 mg EAG/g.

Outro estudo que analisou filmes biodegradáveis foi o de Dantas et al. (2015), nesse caso incorporados com 10% de polpa de manga, acerola e seriguela, relatando um valor de FT 110,14 mg EAG/g. Souza et al. (2015), explicam que conforme aumentaram a concentração de extrato de própolis (0,5; 0,75; 1%) em filmes biodegradáveis com amido de mandioca (técnica casting) observaram um aumento na concentração de FT de 326 a 701mg EAG/g.

Tabela 04: Caracterização para as formulações dos Filmes Biodegradáveis ativos para FT, e antioxidantes como: DPPH, FRAP e ABTS.

FILMES	FT (mg EAG/g)	DPPH ($\mu\text{mol Trolox/g}$)	FRAP ($\mu\text{mol Fe}^{2+}/\text{g}$)	ABTS ($\mu\text{mol TEAC/g}$)
Filme controle	0,74 \pm 0,05 ^e	0,09 \pm 0,04 ^d	0,44 \pm 0,03 ^e	0,09 \pm 0,02 ^d
Filme 4% CP	4,99 \pm 0,47 ^b	3,38 \pm 0,14 ^b	5,19 \pm 0,43 ^b	6,28 \pm 1,40 ^b
Filme 4% CM	0,83 \pm 0,05 ^d	0,25 \pm 0,06 ^c	0,74 \pm 0,03 ^d	2,48 \pm 0,35 ^c
Filme 8% CM	1,09 \pm 0,06 ^c	0,29 \pm 0,08 ^c	1,04 \pm 0,05 ^c	3,14 \pm 0,70 ^c
Filme BHA 1%	12,95 \pm 1,03 ^a	5,75 \pm 0,03 ^a	25,34 \pm 1,10 ^a	38,17 \pm 0,84 ^a

,Filme 4% CP: Filme com 4% de coproduto de própolis; Filme 4% CM: Filme com 4% de coproduto de maçã; Filme 8% CM: Filme com 8% de coproduto de maçã; Filme BHA 1%: Filme com BHA 1%; Médias \pm desvio padrão; TEAC: Capacidade antioxidante equivalente ao Trolox; EAG: Equivalente de ácido gálico: ^{a,b,c,d,e}, médias seguidas de letras iguais na mesma coluna não diferem estatisticamente entre si, pelo teste de Tukey ($p < 0,05$).

A literatura aponta variações no conteúdo de fenólicos totais em filmes biodegradáveis, apresentando valores muito distintos dos valores encontrados nesta pesquisa. Isso se deve ao fato dos compostos bioativos serem provenientes de coprodutos, estes já passaram por processos de produção industriais em que a maior extração de compostos bioativos já ocorreu para o produto. Assim o conteúdo fenólico pode variar de acordo com o composto bioativo e com a proporção a ser adicionada na formulação dos filmes,

Outro fator importante que se deve levar em consideração é o processo tecnológico usado para a confecção dos filmes biodegradáveis que leva ativo. Para produção de filmes biodegradáveis ativos pela técnica de *casting*, para a etapa do

processamento de formação da solução filmogênica a temperatura atingida é de no máximo 70°C desta forma a degradação de bioativos é menor.

Já para a técnica de processamento por extrusão-sopro, sendo esta tecnologia usada para as formulações de filmes biodegradáveis para esta pesquisa a formulação passa por dois processos de extrusão, na primeira extrusão a temperatura atingida é de 90 a 120°C e no segundo processo de extrusão a temperatura necessária para formar o filme é de 90 a 125°C. Desta forma há uma maior degradação dos compostos fenólicos e outros bioativos, reduzindo significativamente também a atividade antioxidante.

No entanto é importante destacar que a técnica por extrusão-sopro é uma tecnologia industrial, sendo a mesma usada pela indústria para produzir plásticos com polímeros de baixa densidade.

Para a capacidade antioxidante dos filmes contendo os coprodutos da própolis e da maçã analisados por meio DPPH, ABTS e FRAP todas as formulações com coprodutos foram diferentes estatisticamente ($p < 0,05$) quando comparadas com o filme controle (filme sem ação antioxidante), desta forma as formulações de filmes com 4% de CP e 4 e 8% de CM demonstraram ação antioxidante, porém estes resultados da ação antioxidante não foram tão expressivos quando comparados ao filme controle positivo para antioxidante (filme BHA 1%).

Esta diferença para a ação antioxidante das amostras de filmes com coprodutos em relação à amostra com filme BHA 1% deve-se ao fato do BHA estar na sua forma pura e concentrada, Ramalho e Jorge (2006) também ressaltam que antioxidantes sintéticos tem maior estabilidade para as condições de processamento e armazenamento.

Nota-se, também, que o filme contendo 4% CP e o Filme BHA 1% mostraram desempenho antioxidante maior para a captura dos radicais sintéticos DPPH e ABTS e poder de redução de Fe^{+3} para Fe^{+2} (FRAP), (Tabela 04), quando comparado estatisticamente com o filme contendo coproduto de maçã 4% e 8%.

Não houve diferença estatística entre as amostras de Filme 4% CM e Filme 8% CM, uma vez que demonstraram o mesmo desempenho antioxidante para o sequestro do radical DPPH e ABTS. Por outro lado, demonstraram diferença estatística entre as duas amostras para o poder de redução do ferro (FRAP), a amostra de Filme 4% CM (0,74 $\mu\text{mol/g}$) mostrou menor desempenho quando comparada estatisticamente com a amostra de Filme 8% CM (1,04 $\mu\text{mol/g}$).

O Filme BHA 1% apresentou maior teor de compostos fenólicos totais e atividade antioxidante (Tabela 4), isso se deve ao fato, que esse foi acrescentado na matriz polimérica do filme biodegradável na sua forma pura e concentrada, o que não aconteceu para as formulações com os coprodutos, Ramalho e Jorge (2006) também ressaltam que antioxidantes sintéticos tem maior estabilidade para as condições de processamento e armazenameto.

No entanto, nos últimos anos, pesquisas têm demonstrado que a ingestão diária de antioxidantes sintéticos, especialmente para as crianças gera risco a saúde como desenvolvimento de alergias, câncer, anemia e distúrbios no sistema digestório (ANTUNES, ARAUJO, 2000; BISSACOTTI, ANGST, SACCOL, 2015; SILVA, JORGE, 2011). Dessa forma, tem se intensificado a busca nas pesquisas por novas fontes de antioxidantes naturais.

Para os filmes com antioxidantes naturais, o filme biodegradável contendo coproduto de própolis mostrou melhor ação antioxidante (Tabela 4). Colabora com esse resultado, o estudo de Souza et al. (2015), que relataram ação antioxidante em filmes biodegradáveis com extrato de própolis nas concentrações de 0,5 a 1% com valores de 400 a 1300 $\mu\text{mol/g}$ pelo método de DPPH respectivamente.

Campos et al. (2018), desenvolveram filmes biodegradáveis com amido, PBAT, glicerol, ácido cítrico e extrato de curminina nas concentrações de 0,5 e 0,75%, os quais encontraram atividade antioxidante de 1605,25 e 2290,69 $\mu\text{mol/g}$ pelo método de DPPH e 2815,77 e 5287,58 $\mu\text{mol/g}$ pelo sequestro do radical ABTS. Freitas (2015), analisando a atividade antioxidante de filmes biodegradáveis de zeína, glicerol (casting) e extrato etanólico de casca de pinhão, encontraram valores de 3,88 $\mu\text{mol/g}$, 33,33 $\mu\text{mol/g}$ e 15,96 $\mu\text{mol/g}$ pelos métodos DPPH, ABTS e FRAP respectivamente.

Machado et al. (2012), incorporaram extrato de erva-mate na concentração de 20% aos filmes de amido de mandioca como fonte de compostos ativos, demonstrando ao longo de 40 dias de armazenamento, menor aumento no índice de peróxido na embalagem de azeite de dendê, quando comparado ao filme controle, sem o extrato de erva mate.

Assis et al. (2017), também reportam maior estabilidade oxidativa para o óleo de girassol quando armazenado com filme biodegradável de mandioca e licopeno nanoencapsulado na concentração de 5%. Nessa mesma linha, Reis et al. (2015), relataram melhor estabilidade lipídica para o óleo de palma quando

armazenado em filme biodegradável ativo com extrato de erva-mate e polpa de manga. No entanto, Malherbi et al. (2019), não encontrou ação efetiva para o filme com polpa de guabiroba a 10% para a estabilização lipídica do azeite extravirgem.

5.4 PROPRIEDADES MECÂNICAS DOS FILMES ATIVOS BIODEGRADÁVEIS

As propriedades mecânicas analisadas nas diferentes formulações de filmes biodegradáveis encontram-se descritos na Tabela 5. Os ensaios determinados pelas propriedades mecânicas determinam a resistência (resistência a tração), flexibilidade (alongamento na ruptura) e rigidez (módulo de Young) dos filmes biodegradáveis (CANEVAROLO, 2006).

Os materiais usados nas formulações devem ser resistentes à ruptura e à abrasão, porém devem ser flexíveis, a fim de proteger e reforçar a estrutura dos alimentos. Além disso, os filmes devem se adaptar às possíveis deformações sem ocorrer o rompimento, sendo necessário ter compatibilidade entre os polímeros e os aditivos (SOBRAL, 2000; MALI, GROSSMANN, YASMASHITA, 2010).

Tabela 05. Propriedades mecânicas dos filmes ativos biodegradáveis

Filmes	Resistência à tração (MPa)	Alongamento na ruptura (%)	Módulo de Young (MPa)
Filme Controle	2,54 ± 0,13 ^a	383,66 ± 31,33 ^a	10,38 ± 0,43 ^a
Filme 4% CP	2,21 ± 0,16 ^a	332,17 ± 49,71 ^a	11,96 ± 0,44 ^a
Filme 4% CM	2,49 ± 0,20 ^a	225,72 ± 23,59 ^a	12,04 ± 0,99 ^a
Filme 8% CM	2,10 ± 0,20 ^a	189,41 ± 38,74 ^b	12,76 ± 1,8 ^a
Filme BHA 1%	1,98 ± 0,12 ^a	165,36 ± 15,02 ^b	13,01 ± 2,34 ^a

CP= coproduto de própolis, CM= coproduto de maçã. Filme 4% CP= Filme com 4% de coproduto de própolis; Filme 4% CM= Filme com 4% coproduto de maçã; filme 8% CM= Filme com 8% de coproduto de maçã; Médias ± desvio padrão; ^{a, b}, Médias com letras iguais na mesma coluna não diferem entre si pelo teste de Tukey (p<0,05).

De acordo com os resultados obtidos para as propriedades mecânicas dos filmes biodegradáveis, a resistência à tração dos filmes com os diferentes coprodutos em diferentes concentrações permaneceram com valores de 2,49 a

1,98 Mpa e não houve diferenças estatística ($p < 0,05$), quando comparadas entre si ou com o filme controle (2,54 Mpa) (Tabela 5).

Valores próximos foram reportados por Rojas-Grau et al. (2007), os quais encontraram resistência á tração de 2,9 MPa em filmes contendo purê de maçã, alginato e glicerol. Já Farias et al. (2012), registraram 3,97 MPa em filme biodegradável com polpa de acerola, afirmando em sua pesquisa que ao reduzirem a concentração da polpa de acerola, houve uma elevação na resistência do filme. Outro estudo relacionado é o de Zanela et al. (2018), os quais estudaram a adição de resíduo de fibra de aveia como reforço em filmes biodegradáveis em várias concentrações (2,5 a 10%). Neste estudo, os autores encontraram valores de 4,7 a 5,5 Mpa e concluiu que a fibra do resíduo de aveia não melhorou o desempenho a resistência do filme biodegradável.

A propriedade de alongamento demonstrou diferença significativa na análise estatística entre as amostras e o filme controle. O Filme 8% CM e o filme BHA 1% também foram diferentes estatisticamente das demais formulações (Tabela 05).

A quantidade de fibra presente no coproduto da maçã (52,92%) pode ter influenciado o desempenho do filme, conforme descrevem os estudos de Zanela et al. (2018); Souza, Silva, Druziam, (2012), os quais explicam que há uma correlação entre a quantidade incorporada de polpa de fruta, e o comprimento da fibra e a adesão da mesma na matriz polimérica do filme.

As fibras e os açúcares disponíveis também podem promover um aumento da cristalinidade ou semi-cristalinidade e, conseqüentemente, uma mobilidade restrita na matriz polimérica, diminuindo o alongamento do filme. Para Jamshidian et al. (2012), tal efeito observado no Filme BHA 1%, deve-se ao fato do antioxidante BHA aumentar a cristalização da matriz polimérica permitindo uma menor flexibilidade do filme.

No entanto, nas análises realizadas no presente estudo, o Filme 4% CP não demonstrou alterações no alongamento do filme (332,17%) quando comparado ao controle (383,66%) ($p < 0,05$). Segundo Zanela et al. (2018), a quantidade de lipídios no coproduto de própolis (33,9%) exerce influência na matriz polimérica, atuando como agente plastificante. Complementando essa informação, Yang e Paulson, (2000) explicam que os lipídios são incapazes de formar uma matriz coesa e contínua na matriz polimérica. Ainda sobre a matriz polimérica, Bilck et al.

(2014), relataram em sua pesquisa o valor de 537% de alongamento para filme com amido de mandioca, PBAT e glicerol.

O módulo de Young para o filme controle resultou em 10,38 Mpa, não apresentando valores significativamente diferentes ($p < 0,05$) entre os tratamentos, no entanto observa-se que os Filme 4% CM e Filme 8% CM (12,04, 12,76 Mpa demonstraram um leve aumento na rigidez, quando comparados ao Filme 4% CP (11,96 MPa).

Zanella et al. (2018), explicam que formulações com maiores quantidades de fibras produzem filmes biodegradáveis mais rígidos. Pastor et al. (2010), analisaram filmes a base de hidroxipropilmetilcelulose adicionado de extrato de própolis com diferentes concentrações (0 a 1,5%) e observaram a diminuição nos parâmetros do módulo Young e maior resistência a tração. Os autores atribuem tal efeito a possíveis descontinuidades estruturais provocadas pela adição do extrato da própolis. Por outro lado, Bodini et al. (2013), verificaram redução da resistência a tração, alongamento e módulo young para filmes de gelatina adicionados de extrato de própolis com o aumento da concentração de 5 para a 200 g.

No entanto, Machado et al. (2012), em sua pesquisa de filmes biodegradáveis adicionados de 20% de extrato aquoso de erva mate, não identificaram alterações nas propriedades mecânicas do filme quando comparadas ao filme controle, demonstrando diferença significativa para formulações em que ocorreram alterações de amido e agente plastificante.

O alongamento na ruptura ou a flexibilidade dos filmes biodegradáveis é fortemente influenciado pelo agente plastificante, esse possui a capacidade de reduzir as interações entre as cadeias poliméricas, aumentando o espaço entre as cadeias e promovendo maior mobilidade molecular (MALI, GROSSMANN, YASMASHITA, 2010).

Apesar da escassez de resultados que utilizam o coproduto de própolis e maçã como componente bioativo, a literatura reporta diversos estudos envolvendo a adição de outros compostos antimicrobianos e antioxidantes, sobretudo óleos essenciais e polpas de frutas em filmes à base de macromoléculas naturais, cujos efeitos nas propriedades mecânicas variam em função da macromolécula utilizada, do tipo e concentração do aditivo, e das interações entre matriz polimérica e o agente antimicrobiano e antioxidante.

5.5 COMPOSTOS VOLÁTEIS POR HS-SPME E GC-MS

A técnica de extração de voláteis por HS-SPME tem sido amplamente aplicada para determinar os compostos voláteis de plantas medicinais (TAHERPOUR et al., 2017; RIU-AUMATELL et al., 2011), de alimentos (CAPORASO, et al., 2018; HO et al., 2006) e de produtos farmacêuticos (RUFATTO, et al., 2018; HASHEMI, ZOHRABI, SHAMSIPUR, 2018). Para Hames-Kocabas et al. (2013), a técnica é rápida, fácil e sem efeitos térmicos. Além disso, por ser altamente sensível, minimiza os procedimentos de preparação, reduzindo tempo e custo das análises.

Contudo, até o momento, nenhum outro estudo foi relatado aos constituintes voláteis de um subproduto da própolis e/ou da maçã. Desta forma, a comparação dos resultados dessas análises com outros autores é limitado, podendo ser feita apenas àqueles onde a propolis e/ou a fruta *in-natura* foram utilizados e não ao seus coprodutos.

5.5.1 Componentes voláteis de coproduto da própolis e filme biodegradável adicionado do coproduto de própolis

Nesse estudo foram identificados um total de 118 compostos voláteis (Tabela 06). Dos 118 compostos identificados, 99 estavam presentes no CP, 89 no Filme 4% CP, e 18 compostos no filme de controle. No apêndice estão apresentados os cromatogramas de compostos voláteis típico da extração em fase sólida do Coproduto da própolis (CP), (Apêndice - A) filme com 4% de coproduto da própolis (filme 4% CP) (Apêndice - B) e filme controle (Apêndice - F), analisados por GC/MS.

O gráfico 01 representa o número de compostos indentificados no CP, Filme 4% de CP e Filme Controle. A classe dos terpenos esteve em maior quantidade de compostos Identificados no CP, para o Filme 4% CP, os compostos identificados em maior número foi a classe dos ésteres, e no Filme Controle o composto identificado em maior quantidade foi a classe dos aldeídos. A grande maioria dos

compostos voláteis encontrados no CP e no Filme 4% CP foi ésteres, terpenos e aldeídos.

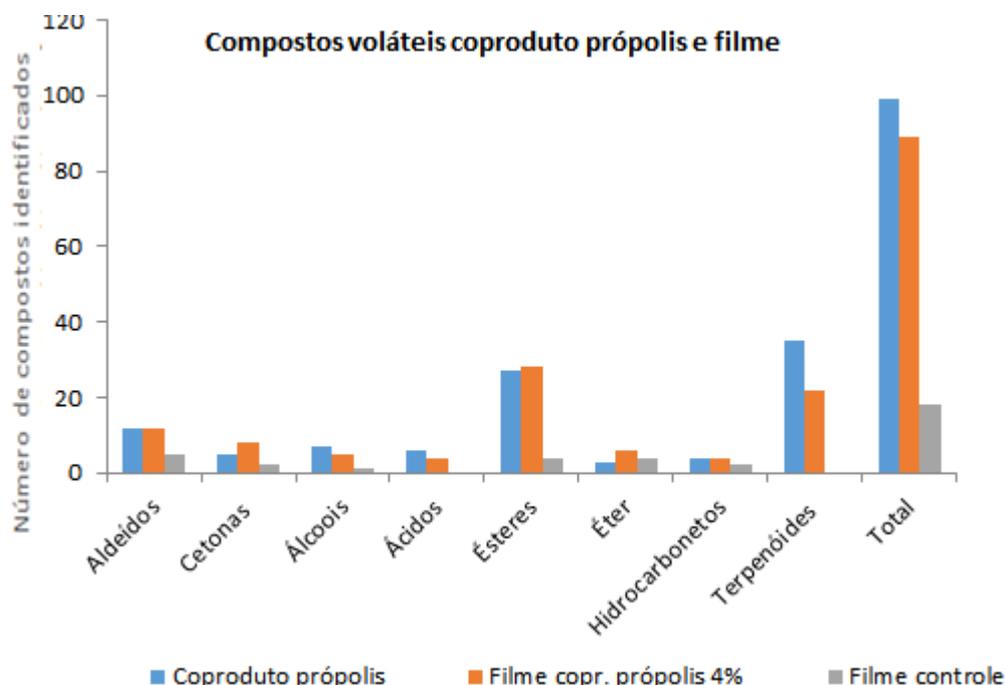


Gráfico 01: Compostos voláteis identificados no coproduto da própolis e seu respectivo filme biodegradável e filme controle.

Trinta e um ésteres foram identificados neste estudo, fazendo deles a classe de compostos mais abundante. Mais especificamente, 27 ésteres foram encontrados no CP, 28 ésteres no Filme 4% CP e apenas 4 ésteres no Filme Controle. Os principais compostos detectados nessa classe incluem: ácido dodecanóico éster etílico, ácido benzóico éster etílico e o ácido benzenopropanóico éster etílico. Já para o filme controle foram detectados apenas 4 ésteres: ácido acético éster etílico, ácido 1,2 benzenodicarboxílico éster dietílico, ácido hexanóico éster 2-feniletílico e o ácido hexanodioico éster 1,4 butanodiol. Esse último está presente em maior quantidade, no entanto, não estava presente no coproduto da própolis (Tabela 6).

O ácido benzenopropanóico éster etílico foi encontrado em quantidades elevadas no CP e no Filme 4% CP, representando respectivamente 25,13% e 32,93% do valor relativo na área total de cada amostra. Esse éster também foi abundante nos extratos etanólicos, diclorometano e hexano da própolis verde e marrom (BITTENCOURT et al. 2015).

Bittencourt-Santillán et al. (2014) realizaram uma revisão de diversos produtos naturais, incluindo a própolis, com efeitos hepatoprotetores atribuídos à presença de fitoquímicos e demonstram a atividade biológica dos ésteres aromáticos da própolis, como o ácido benzóico éster etílico (benzoato de etila). Esse composto foi encontrado em grandes quantidades no CP e Filme 4% CP, representando respectivamente 12.52 % e 13.65 % do valor relativo da área total.

O diglicerol não foi encontrado no CP. Trata-se de um humectante que consiste em duas moléculas de glicerol unidas por uma ligação éter e, de acordo com Sutter et al. (2015), o diglicerol pode ser formado durante a desidratação do glicerol. Nesse estudo, o glicerol foi usado como matéria-prima na preparação do filme plástico e, portanto, esta é a provável origem do diglicerol. Embora o glicerol estivesse ausente no CP no presente estudo, ele foi encontrado por NGENG et al., (2016) em dois extratos (metanol e acetona) de própolis colhidos de Nkambe, região noroeste dos Camarões.

Tabela 06: Componentes voláteis do Coproduto do extrato da Própolis (cp), Filme com 4% do Coproduto da Própolis (Filme 4% CP) e Filme Controle.

Tempo	Componentes	Índice de retenção	CP	Filme 4% CP	Filme Controle	Compostos Identificados por outros autores
Aldeídos						
2,56	Metilglioxal	970	-	<LQ	0.16±0.00	NPR
3.37	2-Butenal	621	0.42±0.03	0.13±0.00	-	KAMATOU et al., 2019
4.18	Pentanal	666	-	<LQ	0.21±0.00	JERKOVIĆ et al., 2016; KAMATOU et al., 2019
5.88	3- metil 2-Butenal	748	0.24± 0.00	0.45±0.07	-	CHENG et al., 2013; PELLATI, PRENCIPE, BENVENUTI, 2013; KAMATOU et al., 2019
6.49	Hexanal	770	<LQ	0.72±0.27	1.05±0.00	Madrigal et al., 2014 ; PELLATI, PRENCIPE, BENVENUTI, 2013; JERKOVIĆ., 2016
7.28	Furfural	795	<LQ	<LQ	-	CHENG et al.,2013; KAMATOU et al; 2019; TOMASZEWSKI et al.,2018
9.04	2,4-Hexadienal	877	0.26±0.00	-	-	NPR
9.90	Heptanal	900	-	0.26±0.17	0.42±0.01	JERKOVIC et al.,2016; KOMATOU., 2019;
12.79	Benzaldeído	957	2.04±0.03	1.59±0.09	-	YANG et al.,2015;MADRIGAL et al., 2014; CHENG et al.,2013; PELLATI, PRENCIPE,BENVENUTI, 2013; JERKOVIC' et al; MELLIU,STRATIS,CHINO,2007.

Tabela 06: Componentes voláteis do Coproduto do extrato da Própolis (cp), Filme com 4% do Coproduto da Própolis (Filme 4% CP) e Filme Controle.

(continua)

16.56	Octanal	981	<LQ	0.55±0.07	1.56±0.08	CHENG et al.,2015; PELLATI, PRENCIPE, BENVENUTI, 2013; JERKOVIC,MARIJANIVIC, KUS, TUBEROSO 2016; NUNES et al 2009; KAMATOU et al 2019
19.99	Nonanal	1101	<LQ	1.25±0.04	-	PELLATI, PRENCIPE, BENVENUTI, 2013; JERKOVIC,MARIJANIVIC, KUS, TUBEROSO 2016; NUNES et al 2009; KAMATOU et al 2019
20.78	α-Campholenal (α-canfolenal)	1111	<LQ	<LQ	-	PELLATI, PRENCIPE, BENVENUTI, 2013;MELLIQU, ETRATIS,CHINOU 2007; ; KAMATOU et al., 2019
25.11	Decanal	1204	0.67±0.01	0.51±0.11	-	PELLATI, PRENCIPE, BENVENUTI, 2013; JERKOVIC,MARIJANIVIC, KUS, TUBEROSO 2016; NUNES et al., 2009.
27.33	Benzaldíoe, 4-metoxi- (Anisaldeído)	1213	<LQ	-	-	YANG et al., 2015; NUNES et al., 2009; TOMAZEWSKI et al., 2019.
34.12	Vanillina	1394	0.76±0.10	-	-	MADRIGAL et al., 2014, CHENG et al., 2013, PELLATI, PRENCIPE, BENVENUTI 2013; JERKOVIC, MARIJANOVIC, TUBEROSO 2016; RISTIVOJEVIC et al., 2018; TOMASZEWSKI et al., 2019.

Tabela 06: Componentes voláteis do Coproduto do extrato da Própolis (cp), Filme com 4% do Coproduto da Própolis (Filme 4% CP) e Filme Controle.

(continua)

Cetonas						
3.20	4-hidroxibutan-2-one	753	-	<LQ	-	NPR
6.21	Ciclopentanone	757	-	1.36±0.10	1.88±0.04	NPR
9.42	1,3,5,7-Ciclooctatetraene ([8]Annulene)	880	<LQ	<LQ	-	NPR
12.21	2,4(10)-Thujadieno (2,4 (10)-Tujadieno)	947	0.17±0.00	0.66±0.19	-	NPR
13.67	6-Metilhept-5-en-2-one	959	0.21±0.03	1.14±0.02	-	JERKOVIC, MARIJANOVIC, TUBEROSO 2016.
17.74	Acetofenona	1050	1.24±0.18	1.08±0.07	-	SOLTANIET et al., 2007; MADRIGAL et al 2014; CHEG et al., 2013; NUNES, GUERREIRO 2012.
36.42	5,9-Undecadien-2-one, 6,10-dimetil-	1427	-	0.50±0.12	1.67±0.06	NPR
47.48	Etanona, 1-[2,3-dihidro-2,3-dihidroxi-2-(1-metiletetil)-5-benzofuranil]-	1950	0.50±0.12	0.21±0.06	-	NPR
Álcoois/Fenólicos						
4.70	Pentanol	809	<LQ	<LQ	-	ABD EL HADY, HEGAZI, 2002
15.90	6-Metil-6-hepten-4-in-3-ol	963	<LQ	-	-	NPR
16.14	1,4-Diclorobenzene	991	-	<LQ	1.41±0.10	NPR
16.30	Álcool benzílico	1005	0.45±0.00	<LQ	-	YANG et al., 2015; CHENG et al., 2013; PELLATI, PRENCIPE, BENVENUTI 2013; JERKOVIC et al., 2016; WALKER, KRANE 1987.
17.59	Benzenometanol, α-metil-, (R)-	1055	<LQ	<LQ	-	NPR

Tabela 06: Componentes voláteis do Coproduto do extrato da Própolis (cp), Filme com 4% do Coproduto da Própolis (Filme 4% CP) e Filme Controle.

(continua)

20.23	Álcool feniletílico	1083	0.38±0.01	0.23±0.01	-	MADRIGAL et al., 2014; CHENG et al., 2013; PELLATI, PRENCIPE, BENVENUTI, 2013; JERKOVIC et al., 2018; TOMASZEWSKI et al., 2019.
21.48	Cis-p-menth-2-en-1-ol	1130	<LQ	-	-	NPR
26.19	3-Fenilpropanol	1233	0.30±0.01	-	-	BANKOVA, CASTRO, MARCUCCI, 2000.
Ácidos						
4.24	Ácido tioacético	660	<LQ	<LQ	-	NPR
9.81	Ácido butanoico, 3-metil	824	<LQ	-	-	PELLATI, PRENCIPE, BENVENUTI, 2013, TOMASZEWSKI et al., 2019.
10.09	Ácido 2-butenoico, 3-metil	990	<LQ	-	-	NPR
25.28	Ácido benzoico	1167	0.54±0.07	<LQ	-	AL-GHAMDI et al., 2017; MADRIGAL et al., 2014; PELLARI, PRENCIPE, BENVENUTI, 2013; JERKOVIC, et al 2018; ALENCAR et al., 2007;
33.16	Ácido decanoico	1545	0.11±0.00	<LQ	-	PELLARI, PRENCIPE, BENVENUTI, 2013; ABD EL HADY, HEGAZI 2002;
41.18	Ácido dodecanoico	1555	1.30±0.17	<LQ	-	PELLARI, PRENCIPE, BENVENUTI, 2013; ABD EL HADY, HEGAZI 2002;
Éster						
3.18	Ácido acético, éster etílico	587	-	0.11±0.01	0.26±0.01	NPR

Tabela 06: Componentes voláteis do Coproduto do extrato da Própolis (cp), Filme com 4% do Coproduto da Própolis (Filme 4% CP) e Filme Controle.

(continua)

4.38	Ácido propanoico, éster etílico	680	<LQ	<LQ	-	NPR
5.34	Ácido butanoico, éster etílico	786	<LQ	<LQ	-	NPR
7.66	Ácido 2-butanoico, éster etílico (Z)	812	0.12±0.00	0.31±0.04	-	NPR
7.97	Ácido butanoico, éster 3-metílico	824	<LQ	<LQ	-	NPR
9.83	Ácido pentanoico, éster etílico	881	<LQ	<LQ	-	NPR
11.60	Ácido butanóico, 3-hidroxi, éster etílico	946	0.18±0.01	0.33±0.04	-	NPR
14.33	Ácido hexanoico, éster etílico	978	0.16±0.00	1.25±0.28	-	NPR
19.20	Ácido benzoico, éster metílico	1072	0.08±0.00	-	-	SOLTANI et al., 2017
19.28	Ácido heptanoico, éster etílico	1082	<LQ	0.31±0.09	-	NPR
19.86	Ácido butanoico, éster etílico metílico	1093	<LQ	<LQ	-	NPR
23.18	Ácido benzoico, éster etílico	1142	12.52±2.02	13.65±0.32	-	MADRIGAL et al., 2014; CHENG et al., 2013
23.56	Ácido butanodioico, éster dietílico	1144	2.16±0.44	5.13±0.11	-	ALENCAR et al., 2007
26.53	Ácido benzenoacético, éster etílico	1210	0.13±0.03	0.36±0.06	-	NPR
27.84	Ácido benzóico, 2-hidroxi, éster etílico	1238	<LQ	<LQ	-	NPR
28.07	Ácido benzenopropanóico, éster metílico	1263	1.32±0.08	0.65±0.09	-	BITTENCOURT et al., 2015; NUNES, GUERREIRO, 2012.
28.13	Acetato de bornil	1269	0.38±0.04	0.23±0.01	-	JERKOVIC et al., 2016; MELLIU, STRATIS, CHINO, 2017; KAMATOU et al., 2018.
29.08	Ácido não- anidrico, éster metílico	1285	0.27±0.06	0.33±0.00	-	JERKOVIC et al., 2016
31.70	Ácido benzenopropanoico, éster etílico	1320	25.13±1.59	32.93±4.42	-	BITTENCOURT et al., 2015; TOMASZEWSKI et al., 2019
34.77	Ácido decanóico, éster etílico	1374.5	3.21±0.28	2.21±0.33	-	NPR
36.23	Ácido benzóico 4 metoxi, etil éster	1426	0.66±0.08	<LQ	-	NPR
37.15	Ácido 2-propenóico 3-fenil- éster etílico	1430	4.01±0.02	4.41±0.53	-	WALTER, KRANE, 1987; TOMASZEWSKI et al., 2019.
38.42	Ácido dodecanóico, éster etílico	1573	4.58±0.40	1.37±0.44	-	NPR

Tabela 06: Componentes voláteis do Coproduto do extrato da Própolis (cp), Filme com 4% do Coproduto da Própolis (Filme 4% CP) e Filme Controle.

(continua)

40.10	Ácido 1,2 benzenodicarboxílico, éster dietílico	1578	-	<LQ	0.52±0.00	NPR
42.63	Ácido hexanóico éster 2-feniletílico	1611	-	<LQ	0.10±0.00	NPR
43.21	Ácido tridecanóico 12-metil, éster metílico	1678	<LQ	-	-	NPR
44.92	Benzoato de benzila	1745	0.12±0.02	0.09±0.01	-	MADRIGAL et al., 2014; PELLATI, PRENCIPE, BENVENUTI, 2013; JERKOVIC et al., 2016; MELLIU, STRATIS, CHINO, 2007.
45.76	Ácido hexanodióico, éster 1,4 butanodiol	1890	-	11.90±1.99	77.86±1.35	NPR
52.56	Ácido hexadecanóico, ester etílico	1967	<LQ	-	-	SOTANI et al., 2017; BETTENCOURT et al., 2015; ABD EL HADY, HEGAZI, 2002.
53.89	Éster etílico do ácido linoleico	2158	0.45±0.06	<LQ	-	NPR
55.78	Ácido oleíco, éster etílico	2165	<LQ	<LQ	-	SOTANI et al., 2017; BETTENCOURT et al., 2015

Éter

2.44	2-Propanol, 1-metoxi	673	-	<LQ	0.21±0.02	NPR
3.29	Metano oxibis dicloro	987	-	0.43±0.13	0.15±0.00	NPR
4.68	Anidrido acético (éter acetil)	706	-	<LQ	0.18±0.00	NPR
10.35	Etanol, 2- butoxi	895.3	-	<LQ	-	NPR
18.75	Fenol, 2-metoxi (Guaiacol)	1055	<LQ	-	-	RUFATTO et al., 2018; TOMASZEWSKI et al., 2019; ALENCAR et al., 2007.
23.44	Verbenil, éter I etílico	1184	0.11±0.00	0.49±0.07	-	NPR
33.43	Éter metil (2-hidroxi-3-etoxi-benzil)	1478	<LQ	-	-	NPR
33.78	Diglicerol	1504	-	<LQ	11.41±0.09	NPR

Hidrocarbonetos

5.62	Ciclobuteno, 2-propenilideno	735	<LQ	0.27±0.06	-	NPR
------	------------------------------	-----	-----	-----------	---	-----

Tabela 06: Componentes voláteis do Coproduto do extrato da Própolis (cp), Filme com 4% do Coproduto da Própolis (Filme 4% CP) e Filme Controle.

(continua)

5.72	Tolueno	747	-	-	0.89±0.01	NPR
8.49	Feniletano	854	-	<LQ	0.10±0.00	YANG et al., 2015
19.72	3-Octilo, 7-metil- (7-Metil-3-octilo)	869	0.07±0.00	-	-	NPR
36.84	Aromadendreno	1447	-	0.33±0.02	-	NUNES, GUERREIRO, 2012; WALTER, KRANE, 2005.
37.05	Alloaromadendreno	1474	0.78±0.13	1.06±0.01	-	JERKOVIC et al., 2016; MELLIU, STRATIS, CHINO, 2007.
43.28	Antraceno	1754	16.31±1.47	-	-	NPR
Terpenos						
15.30	Eucaliptol (1,8-Cineole)	1021.5	0.27±0.00	<LQ	-	MADRIGAL et al., 2014; CHENG et al., 2012; JERKOVIC et al., 2016; MELLIU, STRATIS, CHINO, 2007; NUNES, GUERREIRO, 2012; TOMASZEWSKI et al 2019.
15.58	<i>o</i> -Cymene (orto-Cymene)	1038.3	0.11±0.00	1.06±0.03	-	CHENG et al., 2013
18.93	<i>p</i> -Cymenene	1075.5	<LQ	-	-	MELLIU, STRATIS, CHINO, 2007
19.39	β -Linalol	1081.5	<LQ	-	-	PELLATI, PRENCIPE, BENVENUTI, 2013; JERKOVIC et al., 2016; NUNES et al., 2009.
21.48	<i>trans</i> -Pinocarveol	1143	0.54±0.04	0.81±0.04	-	MELLIU, STRATIS, CHINO, 2007
22.46	Cis-Verbenol	1148	<LQ	<LQ	-	PELLATI, PRENCIPE, BENVENUTI, 2013; MELLIU, STRATIS, CHINO, 2007

Tabela 06: Componentes voláteis do Coproduto do extrato da Própolis (cp), Filme com 4% do Coproduto da Própolis (Filme 4% CP) e Filme Controle.

						(Continua)
23.63	Terpinen-4-ol	1161.	0.53±0.08	1.16±0.10	-	PELLATI, PRENCIPE, BENVENUTI, 2013; JERKOVIC et al., 2016
23.94	p-Cymen-8-ol	1165	0.14±0.08	-	-	PELLATI, PRENCIPE, BENVENUTI, 2013; MELLIOU, STRATIS, CHINO, 2007
24.44	2-Pinemo-10-ol (Mirtenol)	1182	3.03±0.12	1.46±0.09	-	PELLATI, PRENCIPE, BENVENUTI, 2013
25.54	trans-Carveol	1207	0.57±0.07	0.19±0.01	-	MELLIOU, STRATIS, CHINO, 2007
25.94	Verbenona	1212	1.07±0.03	0.77±0.05	-	PELLATI, PRENCIPE, BENVENUTI, 2013; JERKOVIC et al., 2016
33.04	α-Copaeno	1221	0.20±0.03	1.47±0.07	-	MADRIGAL et al., 2014; CHENG et al., 2013; PELLATI, PRENCIPE, BENVENUTI, 2013; JERKOVIC et al 2016; WALKER, KRANE, 1987.
33.38	β-Cubebene (β-Cuvebene)	1382	0.25±0.01	<LQ	-	MELLIOU, STRATIS, CHINO, 2007
33.41	β-Bourbonene	1397	0.47±0.03	0.71±0.01	-	PELLATI, PRENCIPE, BENVENUTI, 2013; JERKOVIC et al 2016 MELLIOU, STRATIS, CHINO, 2007; WALKER, KRANE, 1987.;
35.38	Cariofileno	1422	0.63±0.12	0.81±0.00	-	BITTENCOURT et al., 2015; PELLATI, PRENCIPE, BENVENUTI, 2013; JERKOVIC et al 2016 MELLIOU, STRATIS, CHINO, 2007
36.54	Humulene (α-Cariofilleno)	1455	0.79±0.13	<LQ	-	MELLIOU, STRATIS, CHINO, 2007

Tabela 06: Componentes voláteis do Coproduto do extrato da Própolis (cp), Filme com 4% do Coproduto da Própolis (Filme 4% CP) e Filme Controle.

							(Continua)
37.61	α -Curcumene	1470	0.14±0.00	-	-	-	CHENG et al., 2013; PELLATI, PRENCIPE, BENVENUTI, 2013; JERKOVIC et al., 2016; MELLIU, STRATIS, CHINO, 2007.
38.01	γ -Gurjuneno	1473	0.61±0.07	-	-	-	NPR
37.63	β -Guaiene	1476	<LQ	-	-	-	CHENG et al., 2013
37.40	γ -Muurole	1482	1.05±0.12	0.67±0.02	-	-	BITTENCOURT et al., 2015; PELLATI, PRENCIPE, BENVENUTI, 2013; NUMES, GUERREIRO 2012.
38.40	α -Muurole	1492	0.69±0.09	0.71±0.05	-	-	PELLATI, PRENCIPE, BENVENUTI, 2013; JERKOVIC et al 2016; MELLIU, STRATIS, CHINO, 2007.
39.20	β -Cadineno	1499	2.02±0.13	-	-	-	NPR
39.28	γ -Cadineno	1506	0.51±0.05	0.54±0.04	-	-	PELLATI, PRENCIPE, BENVENUTI, 2013; JERKOVIC et al 2016; MELLIU, STRATIS, CHINO, 2007.
39.39	Calamenene	1509	0.11±0.00	0.33±0.06	-	-	CHENG et al., 2013; PELLATI, PRENCIPE, BENVENUTI, 2013; JERKOVIC et al 2016; WALKER, KRANE, 1987.
39.48	δ -Cadineno	1525	0.57±0.05	1.21±0.10	-	-	BITTENCOURT et al., 2015; CHENG et al., 2013; PELLATI, PRENCIPE, BENVENUTI, 2013; JERKOVIC et al., 2016 ; NUMES, GUERREIRO, 2012;
40.59	α -Farneseno	1497.5	<LQ	-	-	-	CHENGET et al., 2013; NUNES et al 2009.

Tabela 06: Componentes voláteis do Coproduto do extrato da Própolis (cp), Filme com 4% do Coproduto da Própolis (Filme 4% CP) e Filme Controle.

(Continua)

41.17	α -Calacorene	1534	0.14±0.03	-	-	PELLATI, PRENCIPE, BENVENUTI, 2013; JERKOVIC et al., 2016; MELLIOU, STRATIS, CHINO, 2007.
41.30	Nerolidol	1551	<LQ	-	-	BITENCOURT et al., 2015; WALTER, BRANE, 1987,
41.81	Spatulenol	1566	1.49±0.10	0.71±0.12	-	BITENCOURT et al., 2015; BANKOVA, CASTRO, MARCICCI, 2000; MELLIOU, STRATIS, CHINO, 2007; NUNES, GUERREIRO, 2012.
42.10	Globulol	1594	0.23±0.03	-	-	MELLIOU, STRATIS, CHINO, 2007;
44.38	t-Cadinol	1632	0.02±0.01	<LQ	-	PELLATI, PRENCIPE, BENVENUTTI, 2013; JERKOVIC et al., 2016;
44.78	Cubenol	1641	0.49±0.05	-	-	PELLATI, PRENCIPE, BENVENUTTI, 2013
44.94	Óxido de cariofileno	1575	0.51±0.05	-	-	BITENCOURT et al., 2015; PELLATI, PRENCIPE, BENVENUTI, 2013; JERKOVIC et al., 2016; MELLIOU, STRATIS, CHINO, 2007.
45.95	α -Bisabolol	1674	0.35±0.05	<LQ	-	YANG et al., 2015; PELLATI, PRENCIPE, BENVENUTI, 2013; JERKOVIC et al., 2016.
46.32	Guajazuleno	1752	<LQ	<LQ	-	NPR

CP= Coproduto de própolis; Filme 4% CP= Filme com 4% de coproduto da própolis; NPR: nenhum trabalho reportado previamente; <LQ: Menor do que o limite de quantificação.

A classe dos terpenos foi a classe de compostos mais numerosa encontrada neste estudo, com 35 compostos identificados (Tabela 05). No entanto, muitos desses compostos estavam presentes em quantidades muito baixas no Filme 4% CP. A grande maioria desses terpenoides estavam em uma concentração máxima de 1.5% com média menor de 0.8% dos voláteis identificados no Filme 4% CP. Mesmo assim, os terpenos podem ser de significância prática, uma vez que, segundo Rizzolo et al. (2016), muitos desses compostos poderiam interferir no sabor e odor do alimento embalado nesse tipo de filme plástico com própolis.

Os principais representantes dessa classe no CP foram: o 2-pinemo-10-ol (3,03%), seguido por β -cadineno (2,02%), espatulenol (1,49%) e verbenona (1,07%). Enquanto os principais terpenóides no Filme 4% CP foram α -copaeno ($1,47 \pm 0,07$), 2-pinemo-10-ol (1,46%), δ -cadineno (1,21%) e terpinen-4-ol (1,16%) (Tabela 06).

Nenhum terpeno foi encontrado no filme controle (Tabela 06). Segundo Bankova, Castro, Marcicci, (2000), o espatulenol é encontrado apenas na própolis de regiões tropicais.

A composição volátil qualitativa dos terpenos do coproduto da própolis relatada no presente estudo foi semelhante ao perfil da própolis volátil obtido por outros autores como Madrigal-Santillan et al. (2014); Cheng et al. (2016); Pellati, Prencipe, Benvenuti (2013); Bankova, Castro, Marcucci (2000); Walker, Krane (1987). Entretanto, dentre os terpenos γ -gurjuneno (0,61%), β -cadineno (2,02%) e guajazuleno, os dois primeiros, que obtiveram concentração substancial no CP, nunca foram relatados como constituintes da própolis brasileira.

Em relação aos aldeídos, 15 compostos foram identificados, no entanto, esses compostos estavam presentes em um nível baixo nas amostras, representando apenas 4,39%, 5,46% e 3,41% do valor total da área relativa no CP, Filme 4% CP e Filme Controle, respectivamente (Tabela 05). Dentre esses compostos, o benzaldeído foi o que obteve maior expressão, sendo: 2,04% no CP e 1,59 % no Filme 4% CP.

Esses resultados vão ao encontro dos resultados relatados para a própolis nativa por Cheng et al. (2016) e Jerkovic et al. (2016), segundo esses estudiosos, a vanilina foi o segundo maior aldeído encontrado no CP (0,76 %). De acordo com Silici, Kutluca (2005), a presença de vanilina contribui para o odor de baunilha e estudos prévios confirmam que esse aldeído é um composto comum na própolis

bruta (MADRIGAL-SANTILLAN, 2014; CHENG et al, 2016; PELLATI, PRENCIPE, BENVENUTTI, 2013; BANKOVA, CASTRO, MARCICCI 2000; WLAKER, KRANE, 1987).

Dezoito compostos voláteis foram encontrados no filme controle, entretanto apenas dois deles estavam presentes no CP e no Filme 4% CP (hexanal e octanal) (Tabela 6). PELLATI, PRENCIPE E BENVENUTTI, (2013) estudaram nove amostras de própolis bruta coletadas de colméias *Apis mellifera* localizadas em diferentes regiões italianas e encontraram hexanal em duas amostras do norte da Itália. Segundo Cheng et al. (2016), o octanal pode contribuir para o sabor floral e frutado da própolis bruta de 4 diferentes regiões geográficas da China.

Um total de sete hidrocarbonetos estavam presentes nas amostras, representando 17,16% no CP, 1,66% no Filme 4% CP e apenas 0,99% no Filme Controle (Tabela 6). O hidrocarboneto mais abundante no CP foi o antraceno, responsável por cerca de 16,31% da área cromatográfica total (Tabela 6). O antraceno é um hidrocarboneto aromático policíclico e pode ter surgido por conta de contaminação industrial das amostras, conforme relatado por Porrini et al. (2003). De fato, Moret et al. (2010) também relataram a presença de antraceno em seis amostras de própolis brutas e três de própolis no mercado italiano, no entanto, relatos de conteúdo de antraceno na própolis são raros e pesquisas adicionais seriam necessárias para identificar as principais fontes de contaminação na própolis no presente caso.

Os compostos tolueno (0,89%) e feniletano (0,10%) foram detectados no filme de controle. O feniletano também estava presente no Filme 4% CP, mas não pôde ser quantificado pois seu valor é muito baixo (Tabela 6). Yang et al. (2015). relataram maiores quantidades de feniletano (0,29%) na própolis bruta chinesa analisada por pirólise - cromatografia gasosa de massa.

Oito compostos do grupo cetona foram encontrados no presente estudo. A acetofenona foi o composto mais abundante dessa classe, 1,24% CP e 1,08 para o Filme 4% CP, esses resultados estão de acordo com achados prévios de vários autores como Soltani et al. (2017); Madrigal – Santillán (2014); Cheng et al. (2016); Nunes et al. (2009).

Álcoois, ácidos e éteres foram detectados em baixas porcentagens em todas as amostras. Entre os oito álcoois encontrados no presente estudo, sete estavam presentes no CP, cinco no Filme 4% CP e apenas um no Filme Controle (Tabela 6).

Os mais abundantes foram álcool benzílico, álcool feniletílico e 3-fenilpropanol. Os ácidos estavam ausentes na Filme Controle, enquanto o 1,4-diclorobenzeno (1,41%) foi o único fenol presente nessa amostra (Tabela 06)

Oito éteres estavam presentes em pequena quantidade neste estudo (Tabela 6). No entanto, apenas três estavam presentes no CP e entre eles apenas o éter verbenil etílico pôde ser quantificado – 0,11% dos valores relativos da área total de pico – e o fenol 2-metoxi (Guaiacol) que já foi relatado por Rufatto et al. (2018) e Alencar et al. (2007) na própolis vermelha. A maioria dos compostos de éteres foram encontrados no Filme 4% CP e no Filme Controle, notando-se que os éteres encontrados no Filme Controle não estavam presentes no coproduto da própolis.

Segundo Cheng et al. (2016), treze componentes contribuíram mais para o perfil de aroma da própolis chinesa, incluindo ácido acético, ácido propanônico, ácido 2-butenóico, ácido 2-butenóico 2-metil-, 3-buten-1-ol-3-metil-, 2-buten-1-ol-2-metil-, álcool benzílico, álcool feniletílico, estireno, benzaldeído, nonanal, vanilina e guaiol. Entre esses compostos, álcool benzílico, álcool feniletílico, benzaldeído e nonanal estavam presentes no CP e FCP, enquanto a vanilina estava presente apenas no CP.

5.5.2 Componentes voláteis de coproduto de maçã e filmes biodegradáveis adicionado de coproduto da maçã

Sessenta e cinco compostos voláteis pertencentes a diferentes classes químicas foram identificados nesse estudo como mostra a Tabela 07. Esse estudo revelou a presença de 14 aldeídos, 16 ésteres, 8 cetonas, 6 alcoois, 5 terpenoides, 7 hidrocarbonetos, 5 éteres e 1 ácido, sendo representado estes índices e suas distribuições para CM, Filme 4% e 8% CM e Filme Controle no gráfico 02.

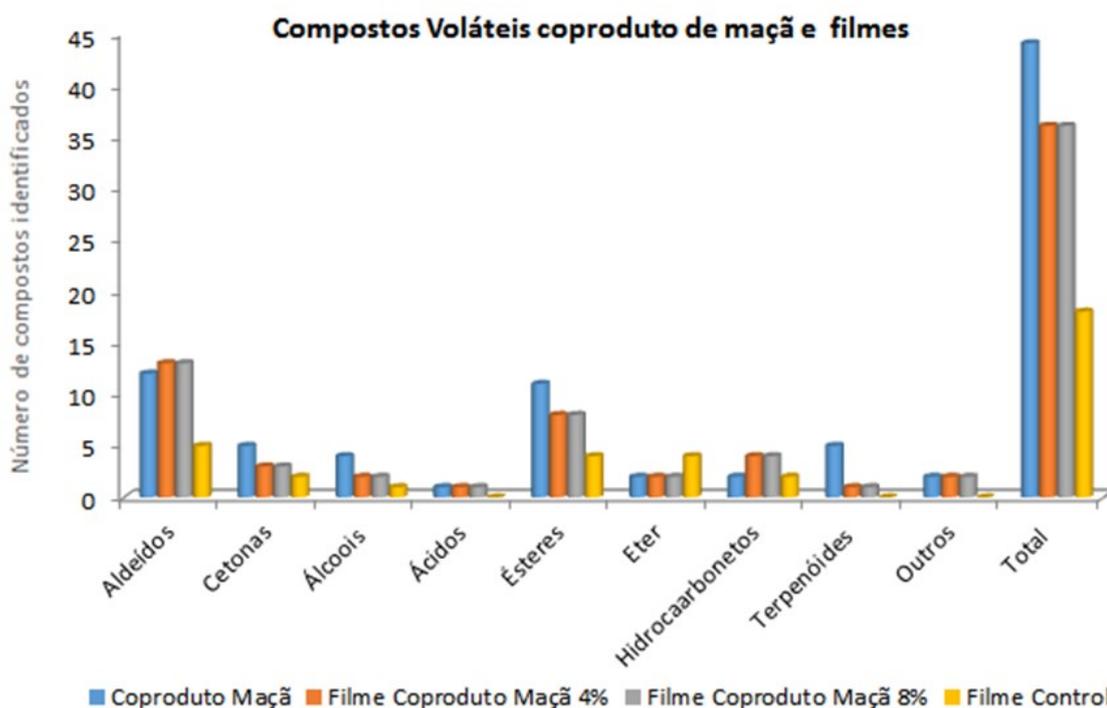


Gráfico 02: Compostos voláteis identificados no coproduto da maçã e seus respectivos filmes biodegradáveis e filme controle

Foram encontrados 3 outros compostos voláteis que não podem ser classificados. Dos compostos voláteis identificados, 43 compostos estavam presentes no CM, 39 compostos estavam presentes em ambos os filmes (Filme 4% CM e Filme 8% CM) e 18 compostos voláteis foram encontrados no Filme Controle, representados nos cromatogramas do Apêndice: CM (Apêndice –C), Filme 4% CM (Apêndice-D), Filme com 8% CM (Apêndice-E), analisados por GC/MS.

Os aldeídos como nonanal, hexanal e benzaldeído foram majoritários nas amostras em estudo (nonanal 5,32% CP, 12,24% Filme 4% CP e 12,10% no Filme 8% CP; hexanal 4,11% CM, 5,69 Filme 4% CP e 6,85 Filme 8%; benzaldeído 2,55% CM, 0,61% Filme 4% CM e 1,10% no Filme 8% CM). Para os autores Simões, Waszczynaskyj, Wosiacki (2009), os aldeídos insaturados são importantes para a intensidade do odor do suco de maçã, sendo que o hexanal e o benzaldeído são compostos desejáveis na contribuição do aroma do suco; ao composto hexanal atribui-se, principalmente, o aroma de fruta não amadurecida (BASTOS et al. 2002). Contribuindo com essa afirmação, Janzantti e Franco (2003) relatam um aumento marcante de hexanal de 2% presente na fruta, para 40% da porcentagem

relativa de retenção no suco de maçã, atribuindo sua formação a reações enzimáticas, quando ocorre a ruptura da estrutura celular.

Mannucci et al. (2017) descrevem que as moléculas voláteis hexanal e 2-hexanal-(E) são responsáveis por odores verdes, detectando, em sua pesquisa, um índice de retenção de 4,25% e 0,59%, sendo observada a presença das duas moléculas no CM e Filme com 4% e 8%, porém em quantidades muito menores.

Tabela 07: Componentes voláteis do Coproduto de maçã (cm), Filme com coproduto de maçã a 4% (Filme 4% cm), Filme com Coproduto de maçã 8%, (Filme 8% cm), Filme controle.

Tempo	Componentes	Índice de retenção	CM	Filme 4% CM	Filme 8% CM	Filme Controle	Compostos também Identificados por outros autores
Aldeídos							
2.56	Metilglioxal	970	-	<LQ	<LQ	0.16±0.00	NPR
4.18	Pentanal	666	0.32±0.07	0.63±0.05	0.80±0.04	0.20±0.00	NPR
6.49	Hexanal	770	4.11±0.46	5.69±0.26	6.85±0.23	1,04±0,00	KIM et al 2018; GONG et al 2019; JAZANTTI, FRANCO, WOSIACKI 2003; STROJNIK et al 2018; DIXON, HEWETT 2000; MANNCCI et al 2017; XIAOTANG et al 2016.
7.54	Furfural	794.5	0.37±0.01	0.52±0.04	0.86±0.01	-	NPR
8.27	2-Hexenal, (E)-	822.4	0.30±0.03	0.14±0.01	0.45±0.02	-	JAZANTTI, FRANCO, LANÇAS 2000; STROJNIK et al 2019; DIXON, HEWETT 2000; MANNCCI et al 2017; SIMÕES WASZCZYNASKY, WOSIACKI 2009.
10.17	Heptanal	880.5	2.32±0.13	1.91±0.04	2.04±0.02	0.41±0.01	NPR
12.64	2-Heptenal, (Z)-	929.5	0.98±0.04	3.19±0.09	4.32±0.05	-	MANNCCI et al 2017
12.89	Benzaldeído	927.85	2.55±0.12	0.61±0.03	1.10±0.03	-	STROJNIK et al 2019; KIM et al 2018.
14.84	Octanal	981.5	0.65±0.03	2.96±0.03	4.16±0.07	1.56±0.08	SIMÕES, WASZCZYNASKY, WOSIACKI 2009; KIM et al 2018; MANNCCI et al 2017.
16.73	Benzenoacetaldeído (feniletanal)	1030	-	0.63±0.00	0.96±0.01	-	KIM et al 2018
17.58	2-Octenal, (E)-	1034	1,05±0.04	2.26±0.02	2.60±0.05	-	GONG et al 2019
20.05	Nonanal	1104.5	5.32±0.14	12,24±0.10	12.10±0.11	-	KIM et al 2018; MANNCCI et al 2017

Tabela 07: Componentes voláteis do Coproduto de maçã (cm), Filme com coproduto de maçã a 4% (Filme 4% cm), Filme com Coproduto de maçã 8%, (Filme 8% cm), Filme controle.

(Continua)

22.75	2-Nonenal, (E)-	1133.3	1.12±0.04	1.04±0.04	1.10±0.03	-	NPR
25.08	Decanal	1183	0.79±0.14	1.22±0.01	1.66±0.02	-	KIM et al 2018, WANG ET et al 2017
Cetonas							
2.55	2-Propanone, 1-hidroxi- (Hidroxipropanone)	653	0.10±0.04	-	-	-	NPR
6.21	Ciclopentanone	757.8	-	4.30±0.04	4.14±0.02	1.88±0.04	NPR
9.69	1,3,5,7-Ciclooctatetraeno ([8]Anuleno)	880	0.84±0.02	-	-	-	NPR
13.57	1-Octen-3-one	956	-	1.25±0.04	1.74±0.03	-	KIM et al 2018
14.05	6-Metilhept-5-en-2-one	959	7.99±0.36	3.51±0.04	3.87±0.07	-	KIM et al 2018; GONG et al., 2019.
19.00	3-Nonanone (Etil hexil cetona)	1069.8	0.80±0.03	-	-	-	NPR
32.46	2(3H)-Furanona, di-hidro-5-pentil- (γ-n-Amilbutirolactone)	1322.5	0.59±0.08	-	-	-	NPR
36.42	5,9-Undecadien-2-one, 6,10-dimetil-	1427.5	-	-	-	1.67±0.06	NPR
Álcoois/Fenóis							
8.80	Hexanol	846.5	3.87±0.52	-	-	-	STROJNIK et al 2019; MANNUCCI et al 2017; DIXON, HEWETT 2000, KIM et al 2018; GONG et al; WANG et al 2019; XIAOTANG et al 2016.
13.57	1-Octen-3-ol	961	-	0.78±0.02	0.80±0.02	-	KIM et al 2018 NPR
14.37	5-Hepten-2-ol, 6-metil- (2-Metil-2-hepten-6-ol) (Metilheptenol)	973.1	3.42±0.15	-	-	-	NPR
16.14	1,4-Diclorobenzeno	991.21	-	0.84±0.01	1.04±0.01	1.41±0.10	NPR

Tabela 07: Componentes voláteis do Coproduto de maçã (cm), Filme com coproduto de maçã a 4% (Filme 4% cm), Filme com Coproduto de maçã 8%, (Filme 8% cm), Filme controle.

(Continua)

18.42	Fenol, 4-metil- (p-cresol)	1055.4	0.57±0.07	-	-	-	NPR
20.48	Álcool feniletílico	1083.05	5.24±0.34	-	-	-	GONG et al., 2019
Ácido							
3.57	Ácido tioacético	660	0.46±0.02	0.75±0.06	0.80±0.01	-	NPR
Éster							
3.17	Ácido acético, éster etílico	586.5	-	0.55±0.02	0.21±0.00	0.26±0.01	MANNUCCI et al 2017; DIXON, HEWETT 2000
14.61	Ácido hexanoico, éster etílico	978	2.25 ±0.13	-	-	-	DIXON, HEWETT 2000; GONG et al 2019; JANZANNTTI, FRANCO, LANÇAS 2000; MANNUCCI et al 2017; XIAOTANG et al 2016.
24.33	Ácido hexanóico, éster etílico (hexanoato butílico)	1170.5	0.88±0.04	-	-	-	KIM ET AL 2018; JANZANNTTI, FRANCO, LANÇAS 2000; MANNUCCI et al 2017.
24.57	Ácido octanóico, éster etílico (octanoato de etíla)	1174	0.83±0.09	0.23±0.00	0.35±0.01	-	KIM et al 2018;WANG et al 2019
26.46	Ácido butanóico, éster 2-metil-, hexílico	1227.5	3.36±0.12	0.75±0.03	1.07±0.01	-	MANNUCCI ET AL 2017; KIM et al 2018; GONG et al 2019, WANG et al 2019; JANZANNTTI, FRANCO, LANÇAS 2000
27.44	Ácido acético, éster , 2-feniletílico (ácido acético éster fenílico)	1223.9	0.83±0.11	-	-	-	NRP
31.87	Ácido benzenopropanóico, éster etílico	1320	5.51±0.37	1.45±0.02	3.14±0.15	-	NRP
33.60	Ácido hexanoico, ester hexílico	1374	3.68±0.13	0.63±0.04	1.02±0.01	-	NRP
34.01	Ácido decanóico, éster etil	1378	0.78±0.09	-	-	-	NRP
37.33	Ácido 2-propanóico,3-fenil-, éster etílico	1426	2,30±0.13	0.32±0.01	0.91±0.02	-	NRP

Tabela 07: Componentes voláteis do Coproduto de maçã (cm), Filme com coproduto de maçã a 4% (Filme 4% cm), Filme com Coproduto de maçã 8%, (Filme 8% cm), Filme controle.

(Continua)

40.10	Ácido 1,2-Benzenodicarboxílico, éster dietílico	1578.9	-	-	-	0.52±0.00	NRP
42.06	Ácido octanóico, éster hexílico(Hexill caprilato de hexilo), (octanoato de hexilo)	1571	0.47±0.09	0.84±0.02	1.00±0.02	-	NRP
42.51	Ácido dodecanoico, éster etílico	1573.5	1.92±0.17	-	-	-	NRP
42.49	1,6 Dioxaciclorodecano 7,12-diona (éster tetrametílico cíclico do ácido adípico)	1890	-	27.85±0.26	39.40±0.67	-	NRP
42.63	Ácido hexanóico, éster 2-feniletílico	1611	-	-	-	0.10±0.00	
45.76	Ácido hexanodióico,éster 1,4-butanodiol	1890				77.86±1.35	NRP
Éter							
2.36	2-Propanol, 1-metoxi-	673.2	0.09±0.00	-	-	0,20±0,02	NRP
3.29	Metano oxibis dicloro	987	-	-	-	0.10±0.00	NRP
4.68	Anidrido acético (éter acetil)	706	-	<LQ	<LQ	0.15±0.00	NRP
10.35	Etanol, 2-butoxi-	895.3	-	0.26±0.00	0.29±0.00		NRP
21.76	Diglicerol	1504	-	3.48±0.15	3.92±0.14	11,40±0.09	NRP
Hidrocarbonetos							
5.47	Ciclobuteno, 2-propenilideo	735	-	1.19±0.02	0.99±0.02	-	NRP

Tabela 07: Componentes voláteis do Coproduto de maçã (cm), Filme com coproduto de maçã a 4% (Filme 4% cm), Filme com Coproduto de maçã 8%, (Filme 8% cm), Filme controle.

(Continua)

5.72	Tolueno	747	-	-	-	0.88±0.01	NPR
6.15	Heptano, 3-metileno-(1-Hexene, 2-etil-)	767	0.78±0.07	1.86±0.12	0.45±0.03	-	NRP
8.36	Etilbenzeno	854	-	0.03±0.00	1.02±0.00	-	KIM et al 2018
8.49	Feniletano	854	-	<LQ	<LQ-	0.10±0.00	NPR
29.94	1-Deceno, 4-metil-	1041	-	0.61±0.01	0.08±0.00	-	NRP
43.59	alfa-Patchoulene	1460	1.18±0.07	-	-	-	NRP
Terpenos							
GONG et al 2019							
18.23	2-Furanmetanol, 5-eteniltetrahydro- $\alpha,\alpha,5$ -trimetil-, cis- (cis-oxido cislinalol) (óxido linalol)	1076.5	1.37±0.11	-	-		
37.59	cis- β -Farneseno	1449	0.38±0.04	-	-		NRP
37.87	α -Curcumene	1470	1.20±0.08	-	-		NRP
38.21	1,3,6,10-Dodecatetraene, 3,7,11-trimetil-, (Z,E)- (cis,trans- α -Farneseno)	1481.5	1.65±0.06	-	-		NRP
39.00	α -Farneseno	1497.5	25.72±0.38	3.69±0.06	5.75±0.09		KIM et al 2018; GONG et al 2019; MANNUCCI et al 2017; XIAOTANG et al 2016; JANZANTTI, FRANCO, 2003.
Outros							
						0.08±0.00	NPR
2.64	Sulfeto de carbono (Metila de dissulfeto)	525.5	0.44±0.04	0.03±0.00			

Tabela 07: Componentes voláteis do Coproduto de maçã (cm), Filme com coproduto de maçã a 4% (Filme 4% cm), Filme com Coproduto de maçã 8%, (Filme 8% cm), Filme controle.

(Continua)

2.71	Tioureia (β - Tiopseudourea), (dioamida de ácido tiocarbonico)	531	0.21±0.01	-	-	NPR
3.27	Metano, tricloro- (Clorofórmio)	601	-	0.29±0.02	0.10±0.00	NPR

CM= Coproduto de maçã; Filme 4% de CM= Filme com 4% de coproduto da maçã; Filme 8% de CM= Filme com 8% de coproduto de maçã <LQ=menor do que o limite de quantificação; NPR= nenhum trabalho reportado previamente.

Com relação à classe das cetonas, nesta pesquisa, foram identificados 5 compostos no CM, 3 cetonas em ambos os filmes (Filme 4% CM e Filme 8% CM) e 2 compostos cetônicos no Filme Controle. O composto ciclopentanone não foi detectado no CM, porém estava presente no Filme Controle e no Filme 4% CM e 8% CM. Já o composto 6-metilhept-5-en-2-one foi detectado nas três amostras em alta concentração, representando 7,99% da área relativa total no CM e 3,51% e 3,84% no Filme 4% CM e 8%, respectivamente. Os autores Kim et al. (2018) e Gong et al., (2019) reportaram um índice de retenção de 10,35% para a maçã da variedade Fuji *in-natura*. O composto 5,9-undecadieno-2-one,6,10-dimetil foi quantificado apenas no FC, representando 1,67% da área de pico respectivamente. Os demais compostos cetônicos identificados nesta pesquisa são exclusivos do coproduto da maçã e como não foram encontrados relatos desses compostos na fruta *in-natura* na literatura, tais leituras e determinações são inéditas.

Os álcoois e fenóis no CM remetem a 4 compostos, totalizando 13,1% da área relativa. O composto álcool feniletílico teve a maior porcentagem da área total do cromatograma, 5,24%. Nos filmes com coproduto de maçã foram identificados apenas 2 compostos: o álcool 1 octen-3-ol e o fenol-1,4-diclorobenzeno, esse último foi encontrado também no Filme Controle, porém os dois compostos não foram identificados na amostra do CM.

O álcool hexanol representou uma área de 3,87% da área total relativa do CM, no entanto não foi detectado nos filmes contendo CM e no Filme controle. Esse composto foi reportado por vários autores na literatura para a fruta da maçã *in-natura*, conforme descreve a Tabela 07, na coluna “relato prévio de outros autores”. Outro relevante estudo relacionado ao índice de retenção de hexanol foi o de Mannucci et al. (2017), que pesquisaram o perfil do aroma da maçã com revestimento comestível de gelatina no decorrer do armazenamento, detectaram o índice de 8,81% para o tempo 0, resultando em um decréscimo pós 21 dias de armazenamento de aproximadamente 50% para o hexanol.

Além dos aldeídos, o grupo dos ésteres também é responsável pelo aroma da fruta em questão, sendo considerado o mais importante na atribuição dessa característica. Assim, na presente pesquisa, foram identificados 11 ésteres no CM,

totalizando 22,81% da área relativa de pico (tabela 07) já para o Filme 4% CM e Filme 8% CM foram detectados 8 compostos e 4 ésteres para o Filme Controle.

O composto 1,6 dioxaciclododecano-7,12-diona (éster tetrametílico ciclo do ácido adípico) não estava presente no CM e no Filme Controle, porém foi o composto majoritário entre todas as classes de compostos detectados tanto para o Filme 4% CM, (27,85%) quanto para Filme 8% CM (39,40%). Provavelmente, a formação desse composto só ocorre a partir da interação entre os ingredientes do filme biodegradável com o subproduto da maçã, a literatura também não mostrou relatos desse composto em maçãs e suco de maçã. O composto ácido hexanodióico, ester 1,4-butanodiol foi o composto majoritaria encontrado no filme controle com um pico de retenção de 77,86%.

Para os demais ésteres presentes no Filme 4% CM, totalizaram um valor total da área do pico de 4,77%; já os detectados no Filme 8% CM, resultaram em 7,7% da área total relativa. Esses valores são relativamente baixos, pois os ésteres podem ter sofrido degradação no processo de formação do filme biodegradável, tendo em vista que o filme atinge 120 e 125°C em seu processamento. Devido à delicadeza e à complexidade da mistura que forma os aromas, esses compostos, quando submetidos a processos tecnológicos, industriais ou diferentes condições de temperatura, umidade e luz, podem provocar alterações como oxidação dos componentes e reações térmicas levando à ocorrência de transformações (MARQUES, PASTORE, 1999).

Na literatura, Simões, Waszczynaskyj e Wosiacki, (2009) descrevem em sua pesquisa, que o aroma fundamental da maçã se deve a três ésteres e a aldeídos: o acetato de etila, o acetato de isoamil, o hexanoato de etila e o acetaldeído. Apesar de serem considerados importantes para o aroma das maçãs, não foram detectados no coproduto da maçã; uma explicação para tal fato é que a indústria onde foi coletado o bagaço da maçã para a pesquisa, extrai todo o aroma para ser comercializado separadamente do suco, sendo de interesse que esses compostos sejam extraídos ao máximo ou por completo do coproduto.

É importante destacar que não foram identificadas moléculas como o acetaldeído e o etanol no CM e nos filmes contendo CM. Estas moléculas, segundo Mannucci et al., (2017), propiciam um aroma desagradável (picante), assim as possibilidades de aplicação tendem a ser maior para esse coproduto e seu respectivo filme.

Janzantti, Franco e Wosiacki (2003) caracterizaram a maçã Fuji com elevada quantidade de ésteres, compreendendo aproximadamente 68% da área relativa, identificaram os compostos acetato de 2-metil butila, acetato de butila e acetato de hexila, como sendo majoritários na classe dos ésteres, porém esses três compostos não foram identificados para o presente estudo no CM e seus respectivos filmes.

Nesta pesquisa o composto éster com maior porcentagem da área total detectado para CM foi o ácido benzenopropanóico éster etílico com 5,51% da área total do cromatograma (Tabela7).

Para a classe dos ácidos, apenas o ácido tioacético foi identificado no CM e nos filmes (Filme 4% CM e Filme 8% CM), porém, não foi encontrado no Filme Controle. A literatura também não relata a detecção desse ácido na maçã *in-natura*. No entanto, Fertoni et al. (2006) em sua pesquisa relatam valores de acidez titulável para o bagaço da maçã em torno de 1% para a base úmida e 1,14% para base seca. Sendo, portanto, facilmente percebido olfativamente o aroma acidificado no bagaço da maçã após o processamento do suco.

Com relação a classe dos éteres, o 2-propanol 1-metoxi foi encontrado apenas no CM (0,09%) e no Filme controle (0,20%), e o etanol, 2-butoxi estava presente em ambos os filmes (Filme 4% CM e Filme 8% CM), mas também em baixas proporções. A molécula de dicligerol foi majoritária entre os filmes e como já descrita anteriormente, é usada como ingrediente plastificante no filme biodegradável sendo responsável por 11,40% da área total do cromatograma no Filme Controle (Tabela 7).

Para os hidrocarbonetos, foram detectados apenas 2 compostos no CM, sendo o composto heptano, 3-metileno (1 hexeno, 2-etil representando 0,78%) e a molécula alfa-Patchoulene (1,18%). Já nos filmes foi identificada a presença de 4 hidrocarbonetos, como pode ser observado na tabela 07. Nenhum desses hidrocarbonetos foi detectado no Filme controle.

Kim et al. (2018) relatam a presença da molécula de etilbenzeno na maçã *in-natura*, porém esse composto não foi detectado na amostra do CM, apenas nos filmes contendo CM.

Cinco terpenos foram identificados no CM, que representam 30,32% do valor relativo da área total. Dentre esses compostos, destaca-se o composto α -Farneseno por ser responsável por 25,72% do valor relativo da área de pico do

CM, chegando a ser superior a área total dos aldeídos, cuja classe esta representada pelo maior número de compostos identificados. O α -Farneseno foi o único composto da classe dos terpenos presente no CM e também em ambos os filmes Filme 4% CM (3,69%) e no Filme 8% CM (5,75%). Porém, o α -Farneseno não foi encontrado no Filme Controle. Janzantti e Franco (2003) detectaram índice de 20,9% da área de retenção de α -Farneseno para a fruta *in-natura* e Gong et al. (2019). Relataram índice de retenção de 25,89% para maçãs da variedade Fuji.

O composto α -Farneseno é comumente encontrado na cera que envolve a casca da maçã e sua biossíntese aumenta durante o amadurecimento da fruta ou estocagem refrigerada, relacionando-se com o aumento da produção de etileno, (JU, CURRY, 2000). Esse fato pode explicar o valor elevado de retenção do α -Farneseno, pois o coproduto para esta pesquisa provém de maçãs estocadas em câmara fria.

Janzantti, Franco e Wosiacki (2003) estudaram o efeito do processamento na composição de voláteis de suco clarificado de maçã Fuji e verificaram que os compostos voláteis identificados compreenderam aproximadamente 97% da área relativa. Durante o processamento, não ocorreu a formação de novos compostos voláteis e as mudanças observadas foram quantitativas, pois o uso do calor no processamento provocou a perda de compostos voláteis em grande extensão.

5.6 ATIVIDADE ANTIMICROBIANA

5.6.1 Concentração Inibitória mínima (CIM) e Concentração bactericida mínima (CBM).

Com o intuito de determinar as propriedades antimicrobianas dos coprodutos e filmes biodegradáveis produzidos, foram conduzidas análises laboratoriais frente a os microrganismos *Staphylococcus Aureus* ATCC 25933 (cocos, gram-positivo), *Salmonella* thyphimurium ATCC 14028 (bastonete gram-negativo) e *Escherichia coli*, ATCC 25922 (bacilo gram-negativo).

As concentrações dos extratos das amostras testadas nesta técnica foram de 12,5; 6,25; 3,12; 1,56; 0,76 e 0,38 mg/mL para os coprodutos testados (CP e

CM) e seus respectivos filmes (Filme 4% CP e Filme 4% CM e Filme 8% CM). A análise foi realizada em triplicata e os resultados encontram-se dispostos na Tabela 08 e nos apêndices (*Staphylococcus Aureus* ATCC 25933/Apêndice-G; *Salmonella thyphimurium* ATCC 14028 /Apêndice-H; *Escherichia coli*, ATCC 25922/Apêndice – I) são apresentadas as imagens dos resultados obtidos nesta análise.

Tabela 08: MIC das amostras que apresentaram atividade, frente aos microrganismos testados.

Microrganismo	MIC mg/mL	Respectivas amostras
<i>Staphylococcus aureus</i>		
ATCC 25923	12,5 e 6,25	CP
<i>Salmonella thyphimurium</i>		
ATCC 14028	Todas negativas	Todos negativas
<i>Escherichia coli</i>		
ATCC 25922	Todas negativas	Todas negativas

MIC: Concentração inibitória mínima; CP: Coproduto da própolis.

O teste de CIM realizado frente à cepa de *Staphylococcus aureus*, demonstrou atividade antibacteriana para o CP nas concentrações de 12,5 e 6,25 mg/mL. No entanto, para o CM e Filme 4% CM e Filme 8%CM e Filme 4% CP não foi observado atividade antibacteriana contra o *Staphylococcus Aureus* ATCC 25923.

Para os microrganismos gram-negativos *Salmonella* Thyphimurium ATCC 14028 e *Escherichia Coli* ATCC 25922, não foi observado ação de inibição mínima para o CP e CM e seus respectivos filmes (Filme 4% CP, Filme 4% CM e Filme 8% CM) e Filme Controle, portanto não demonstraram resultados antibacterianos.

Com relação a determinação da concentração bactericida mínima (CBM) contra o microrganismo Gram-positivo *Staphylococcus Aureus* nas concentrações 12,5 mg/mL (Apêndice-J) e 6,25 mg/mL (Apêndice-L) não houve resultado positivo, indicando dessa forma efeito bacteriostático para o extrato do CP, quando ocorre só a inibição do microrganismo.

De acordo com Siripatrawan, Vitchayakitti, Sanguandeeikul (2013), o extrato de própolis é mais efetivo contra bactérias gram-positivas do que contra as gram-negativas, Lu et al., (2005); Marcucci et al., (2001) também relataram que a própolis possui atividade antibacteriana maior contra bactérias gram-positivas ,

limitando-se esta ação contra as bactérias gram-negativas . As bactérias gram-negativas possuem uma parede celular quimicamente mais complexa e um teor lipídico maior, o que explica essa maior resistência (VARGAS et al., 2004).

Bilal et al. (2017), explica em sua pesquisa que os compostos fenólicos também agem como agentes antimicrobianos por meio da ligação de quelante de metal e adesão e complexação de parede celular. Ghimire, Yu e Chung, (2017), enfatizam o poder dos compostos fenólicos contra bactérias gram-positivas e gram-negativas por conta da capacidade de inativar a adesão microbiana, diminuindo a produção de ATP e promovendo a degradação da parede celular das bactérias.

Esse relato pode explicar o fato de o coproduto da própolis possuir ação antimicrobiana, e o coproduto da maçã e os respectivos filmes não possuírem essa função, pois apresentaram menor potencial de fenólicos, quando comparados ao coproduto da própolis.

É possível também relacionar a ação antimicrobiana ao composto ácido benzoico, o mesmo foi detectado nos compostos voláteis do coproduto da própolis (tabela 06), provavelmente age na membrana ou parede celular do microrganismo, causando danos funcionais e estruturais (SCAZZOCCHIO et al., 2005).

Heimbach et al. (2016), que analisou o efeito inibidor do resíduo de própolis para as bactérias *Staphylococcus A.*, *Escherichia Coli*, *Salmonella* e *Klebsiell*, obteve efeito inibitório para as concentrações hidroalcolicas do resíduo de 0,5g e 0,25g. Com relação à outras bactérias, Francisco et al. (2018), reporta atividade antifúngica para o coproduto da própolis, semelhante ao extrato da própolis para cepas de *Cândida Albicans*.

Bodini et al. (2013) constataram que baixas concentrações de extrato etanólico de própolis em filmes de gelatina (5g EEP/100 g gelatina) não apresentaram atividade antimicrobiana contra *Staphylococcus. Aureus*, no entanto, concentrações elevadas (40 a 200g EEP/100g gelatina) apresentaram atividade inibitória. Souza et al. (2015) relatam que filmes elaborados com extrato de própolis (0,5; 0,75 e 1%) com amido de mandioca (técnica *casting*) apresentaram halos de inibição frente a *Staphylococcus Aureus* e *Escherichia Coli*.

Pastor et al. (2010) estudaram a atividade antifúngica de filmes ativos a base de hidroxipropilmetilcelulose (HPMC) contendo extrato etanólico da própolis contra *Penicillium italicum* e *Aspergillus niger*. Como resposta, os autores verificaram que os filmes apresentaram efetividade na ação antifúngica contra os

fungos estudados, sendo mais intensa contra *Penicillium sp.*, demonstrando que as propriedades das substâncias ativas naturais da própolis foram preservadas.

Para o coproduto de maçã, a literatura não contém estudos que investigam a ação antibacteriana, assim como não há relatos de confecção de filmes biodegradáveis com coproduto de maçã que reporte ação antibacteriana.

6. CONCLUSÃO

Retomando os objetivos estabelecidos ao início da pesquisa, é possível afirmar que, para a caracterização físico-química o coproduto da própolis demonstrou percentual elevado de proteína e lipídios. Já o coproduto da maçã destaca-se por ser uma excelente fonte de fibra.

O coproduto da própolis e maçã demonstraram ser boa fonte de composto bioativo, pois são coprodutos com excelentes potencialidades tecnológicas para o desenvolvimento de possíveis novos produtos ou mesmo para agregar valor aos produtos que já existem. Porém o CP demonstrou maior conteúdo para fenólicos totais e maior atividade antioxidante em relação ao CM.

Além disso, os dois coprodutos apresentaram potencial para aplicação em filmes biodegradáveis como fonte de bioativos (antioxidante). No entanto, a partir dos resultados obtidos nas análises, é possível concluir que o Filme 4% CP teve maior potencial de fenólicos totais e antioxidantes.

Com relação às propriedades mecânicas dos filmes biodegradáveis produzidos, esses apresentaram boas características de resistência, flexibilidade e rigidez para as concentrações de coproduto testados quando comparados ao filme controle.

Na avaliação de compostos voláteis nos coprodutos de própolis, maçã e seus respectivos filmes biodegradáveis, essa pesquisa foi pioneira, pois não há, na literatura, referência explícita para esse tipo de análise. O que se encontra são resultados de pesquisas para a maçã *in-natura*, suco de maçã e para a própolis, os relatos referem-se a sua forma bruta ou a seu extrato e não aos seus coprodutos.

Entre os compostos voláteis do coproduto da própolis e seu respectivo filme, destaca-se a classe dos ésteres, terpenos e aldeídos, sendo o composto majoritário para CP e Filme 4% de CP o ácido benzenopropanóico ester etílico.

Os compostos majoritariamente detectados no coproduto da maçã e seus respectivos filmes foram os ésteres, aldeídos e terpenos. Destacando o terpeno α -Farneseno, detectado em quantidade considerável no coproduto da maçã.

No entanto, são necessárias investigações mais profundas para tais compostos, pois algumas pesquisas demonstram que plantas, muitas vezes, acionam determinados compostos voláteis como mecanismo de defesa. Nesse

sentido, principalmente o coproduto da própolis merece mais atenção científica para possíveis aplicações tecnológicas que envolvem seus compostos voláteis, pois esse material configurou-se como mais promissor quanto às suas propriedades químicas e microbiológicas e pelo fato de ser usado pelas abelhas para proteger suas colmeias.

Quanto às análises microbiológicas foi observado que apenas o coproduto da própolis apresentou ação antimicrobiana e contra o *Staphylococcus Aureus*. O coproduto de maçã e os filmes testados não apresentaram ação antimicrobiana nas concentrações testadas.

Com a presente pesquisa, demonstrou que os coprodutos testados, principalmente o da própolis, apresentam potencial antioxidante mesmo na incorporação de filmes biodegradáveis, sugere-se a continuidade da pesquisa em um próximo trabalho, contemplando a aplicação desse tipo de filme, a fim de verificar se ocorre retardo na oxidação lipídica do alimento embalado com o filme biodegradável.

7 REFERÊNCIAS

ABD EL H, F. K.; HEGAZI, A. G. Z. Egyptian propolis: 2. Chemical Composition, Antiviral and antimicrobial activities of East Nile Delta propolis. **Zeitschrift für Naturforschung**, v.57, p. 386–394, 2002.

AGUIAR, G. R.; LEMOS, T. L. G.; DORNELAS, C. A.; DA SILVA, A. M.; DE ALMEIDA, M. C. S.; FERREIRA, D. A.; MONTE, F. J. Q.; BRAZ-FILHO, R.; DE OLIVEIRA, I. R.; DO NASCIMENTO, P. G. G. Estudo Químico e Avaliação Biológica da Própolis Vermelha de Alagoas. **Revista Virtual de Química**, v. 10, n.1, 2018.

AL-ANI, I., ZIMMERMANN, S., REICHLING, J., WINK, M. Antimicrobial Activities of ALENCAR, S. M.; OLDONI, T. L. C.; CASTRO M. L.; CABRAL, I. S. R.; COSTA-NETO, C. M.; CURY, J. A.; ROSALEN, P. L.; IKEGAKI, M. Chemical composition and biological activity of a new type of Brazilian propolis: **Red propolis. J. Ethnopharmacol**, v. 113, p. 278–283, 2007.

AL-GHAMDI, A. A.; BAYAQOUB, N. I. M.; RUSHDI, A. I.; ALATTAL, Y.; SIMONEIT, B. R. T.; EL-MUBARAK, A. H.; AL-MUTLAQ K. F. Chemical compositions and characteristics of organic compounds in propolis from Yemen. **Saudi J. Biol. Sci.**, v.24, p.1094–1103, 2017.

ALONGI, M.; MELCHIOR, S.; ANESE, M.; Reducing the glycemic index of short-grain biscuits using. **LWT – Food Science and Technology**, v. 100, p.300-305, 2019.

ALOTHMAN, M.; BHAT, R.; KARIM, A. A.; Antioxidant capacity and phenolic content of selected tropical fruits from Malaysia, extracted with different solvents. **Food Chemistry**, v. 115, n. 3, p. 785-788, 2009.

ANTUNES, L. M. G.; ARAÚJO, M. C. P. Mutagenicidade e antimutagenicidade dos principais corantes para alimentos. **Revista de Nutrição**, v. 13, n.2, p.81-88, maio/ago., 2000.

ASSIS, R. Q.; LOPES S. M. COSTA T..M. H; FLÔRES S. H; RIOS A. O; . Active biodegradable cassava starch films incorporated lycopene nanocapsules. **Industrial Crops & Products**, v.109, p. 818-827, 2017.

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DA INDÚSTRIA DO PLÁSTICO – ABIPLAST.
Disponível

em:<http://file.abiplast.org.br/file/download/2017/Perfil_2016_Abiplast_web.pdf.
Acesso em: 03 fev. 2018.

AVÉROUS, L. Biodegradable Multiphase Systems Based on Plasticized Starch: a review. **Journal of Macromolecular Science**, New York, v. 44, n.3, p.231-274, 2004.

_____ ; BOQUILLON, N. Biocomposites based on plasticized starch: thermal and mechanical behaviours. **Carbohydrate Polymers**, Barking, v.56, p.111-122, 2004.

_____ ; FRINGANT, C. Association between plasticized starch and polyesters: processing and performances of injected biodegradable systems. **Polymer Engineering and Science**, Stanford, v.41, n.5, p.727-734, 2001.

BANKOVA, V. S.; CASTRO, S. L.; MARCUCCI, M. C. Propolis: recent advances in chemistry and plant origin. **Apidologie**, v.31, p.3-15. 2000.

BANKOVA, V.; Chemical composition of Propolis Extract ACF® and activity against herpes simplex virus. **Elsevier – Phytomedicine**. p.1432-1438. 2014.

BASF.; **Ficha de produtos: Ecoflex**. Disponível em: www.plasticsportal.eu/ecoflex.
Acesso: 06/02/2019.

BASTOS, D. H. M.; FRANCO, M. R. B.; DA SILVA, M. A. A. P.; JANZANTTI, N. S.; MARQUES, M. O. M. Composição de voláteis e perfil de aroma e sabor de méis de eucalipto e laranja. **Ciência e Tecnologia Alimentos**, Campinas, v.22, n.2, p.122-129, maio-ago. 2002.

BICK, A. P.; ROBERTO S. R. GROSSMANN M. V. E.; YAMASHITA F. Efficacy of some biodegradable films as pre-harvest covering material for guava. **Scientia Horticulturae**. p. 341–343. 2011.

BILAL, M. RASHEED T.; IQBAL H. M. N. HU H.; WANG W.; ZHARIG X.; Macromolecular agents with antimicrobial potentialities: A drive to combat antimicrobial resistance. **International Journal of Biological Macromolecules**, v.103, p.554-574, 2017.

BILCK, A. P., MÜLLER, C. M. O., OLIVATO, J. B., MALI, S., GROSSMANN, M. V. E.; YAMASHITA, F. Using glycerol produced from biodiesel as a plasticiser in extruded biodegradable films. *Polímeros*, v.25, p.331 – 335. 2015.

BILCK, A. P.; OLIVATO J.B.; YASMASHITA F.; SOUZA J. R. P. S.; Biodegradable bags for the production of plant seedlings. **Technical-Scientific Session- Polímeros**, v. 24, n.5, p.547-553, 2014.

BILCK, A. P.; GROSSMANN, M. V. E.; YAMASHITA, F.; Biodegradable mulch films for strawberry production. **Polymer Testing**, v.29, p.471-476, 2010.

BISSACOTTI A. P., ANGST C. A., SACCOL A. L. F. Implicações dos aditivos químicos na saúde do consumidor. **Disciplinarum Scientia**, v.16, n.1, p.43-59, 2015.

BITTENCOURT, M. L. F.; RIBEIRO, P. R.; FRANCO, R. L. P.; HILHORST, H. W. M.; DE CASTRO, R. D.; FERNANDEZ, L. G. Metabolite profiling, antioxidant and antibacterial activities of Brazilian propolis: Use of correlation and multivariate analyses to identify potential bioactive compounds. **Food Res. Int.**, v.76, p.449–457, 2015.

BODINI, R. B. SOBRAL P.J.A. FAVARO C.S.T CARVALHO R.A. Properties of gelatin-based films with added ethanol-propolis extract. **Food science and technology**, v.51, n.1, p.104-110, 2013.

BRANDELERO R. P.; GOSSMANN M. V.; YAMASHITA F. Hidrofilicidade de Filmes de Amido/Poli (Butileno Adipato Co-Tereftalato) (PBAT) Adicionados de Tween 80 e Óleo de Soja. **Polímeros**. p.1-6. 2012.

BRASIL.; **Resolução CNS/MS nº 04, de 24 de novembro de 1988**. Aprova o "Regulamento técnico que aprova o uso de Aditivos Alimentares, estabelecendo suas Funções e seus Limites Máximos para a Categoria de Alimentos 19 - Sobremesas". Disponível em: <<http://www.anvisa.gov.br/alimentos/legis/especifica/aditivos.htm>>. Acesso em 27/12/2018.

_____ Instrução Normativa No. 19 de Janeiro de 2001. Disponível em: <http://www.apacame.org.br/mensagemdoce/60/normas.htm>. Acesso dia 22/05/2019.

_____, INSTRUÇÃO NORMATIVA Nº 3, DE 19 DE JANEIRO DE 2001. Aprova os Regulamentos Técnicos de Identidade e Qualidade de Apitoxina, Cera de Abelha, Geléia Real, Geléia Real Liofilizada, Pólen Apícola, Própolis e Extrato de Própolis, conforme consta dos Anexos desta Instrução Normativa. **Diário Oficial da União**, Brasília, DF, 23/01/2001, Seção1, p. 18. Disponível em: <http://www.apacame.org.br/mensagemdoce/60/normas.htm>. Acesso dia 22/05/2019.

_____. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução, RDC nº 54, de 12 de novembro de 2012. Dispõe sobre o Regulamento Técnico sobre Informação Nutricional Complementar. **Diário Oficial da República Federativa do Brasil**, Brasília, DF, 12 nov. 2012.

BRITO, G. F.; AGRAWAL, P.; ARAUJO, E.M.; MÉLO, T.J.A. Biopolímeros, Polímeros Biodegradáveis e Polímeros Verdes. **Revista Eletrônica de Materiais e Processos**, v.6.2,127-139, 2011.

CAETANO, K, S.; HESSEL C.T.; TONDO E.C.; FLORES S.H.; OLIVEIRA F.C. Application of active cassava starch films incorporated with oregano essential oil and pumpkin residue extract on ground beef. **International Journal of Food Microbiology**, v. 254, p 36-46. 2017

CALLEGARIN, F.; Gallo J-A.Q.; DEBEAUFORT, F.; VOILLEY A. Lipids and Biopackaging. **Journal of American Oil Chemistry Society**, v. 74, n. 10, p. 1183-1192. 1997.

CAMPOS, A.; MARCONATO, J. C.; FRANCHETTI, S. M. M. Biodegradação de Filmes de PP/PCL em Solo e Solo com Chorume. Departamento de Bioquímica e Microbiologia, UNESP **Polímeros**. 2010.

CAMPOS S. S., OLIVEIRA A. MOREIRA T. F. M. M., SILVA T.B., FERNANDES I, P., BAREIRO M. F., LEIMANN F.V. Solubilidade em água, cor, atividade antioxidante e propriedades térmicas de filmes ativos de TPS/PBAT adicionados de curcumina. In: VIII SIMPÓSIO DE TECNOLOGIA E ENGENHARIA DE ALIMENTOS. Campo Mourão. Anais. 2018.

CANEVAROLO JR., S. V. **Ciência dos Polímeros: um texto básico para tecnólogos e engenheiros**. 2º edição. São Paulo: Artliber Editora, 2006.

CAPORASO, N.; WHITWORTH, M. B.; CUI, C.; FISK, I. D. Variability of single bean coffee volatile compounds of Arabica and robusta roasted coffees analysed by SPME-GC-MS. **Food Res. Int.** v. 108, p. 628–640. 2018.

CASTRO-LÓPEZ, C.; JANETH, M.; V. S. M. D.; GONZÁLEZ-HERNÁNDEZ, M. D.; ROJAS, R.; ASCACIO-VALDÉS, J. A.; AGUILAR, N. C. Impact of extraction techniques on antioxidant capacities and phytochemical composition of polyphenol-rich extracts. **Food Chemistry**, v. 237, n.15, p.1139-1148. 2017.

CHAND, P.; SHIL A K.; SHARMA M. PAKADE Y. B. Improved adsorption of cadmium ions from aqueous solution using chemically modified apple pomace: Mechanism, kinetics, and thermodynamics. **International Biodeterioration & Biodegradation**, v. 90, p. 8–16, 2014.

CHENG, H.; QIN, Z. H.; GUO, X. F.; HU, X. S.; WU, J. H. Geographical origin identification of propolis using GC–MS and electronic nose combined with principal component analysis. **Food Res. Int.**, v.51, p. 813–822. 2013.

CLSI. **Norma M7-A6**. Metodologia dos Testes de Sensibilidade a Agentes Antimicrobianos por Diluição para Bactéria de Crescimento Aeróbico: Norma Aprovada – Sexta Edição, v. 23. 2005.

COELHO, L. M.; WOSIACKI, G. Avaliação sensorial de produtos panificados com adição de farinha de bagaço de maçã. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 30, n. 3, p. 582-588. 2010.

COIMBRA, M. C.; DEL RÉ, P. V.; JORGE, N. Influência do extrato de alho na estabilidade oxidativa do óleo de soja refinado. **Revista Ceres**, v. 56, n. 5, p. 547–550, 2009.

CUNHA, I. B., S.; SAWAYA A. C. H. F.; CAETANO F. M. C.; SHIMIZU M. T.; MARCUCCI M. C.; DREZZA F.T.; POVIA G. S.; CARVALHO P. O. . Factors that influence the yield and composition of Brazilian propolis extracts. **J. Braz. Chem.Soc.**, v. 15, n.6 p. 964- 970, 2004.

DANTAS E. A.; COSTA S. S.; CRUZ L. S.; BRAMONT W. B.; COSTA A. S. PADILHA F. F.; DRUZIAN J. I.; MACHADO B. A. S. Caracterização e avaliação das propriedades antioxidantes de filmes biodegradáveis incorporados com polpas de frutas tropicais. **Ciência Rural**, v.45, n.1, p.142-148. 2015.

DE FRANCISCO, L PINTO D.; ROSSETO H.; TOLEDO L.; SANTOS R.; TOLALDINI V.; SVIDZINSKI T.; BRUSCHI M.; SARNENTO B.; OLEIVEIRA M. B. P. P RODRIGUES F. Evaluation of radical scavenging activity, intestinal cell viability

and antifungal activity of Brazilian propolis by- **Elsevier - Food Research International**. p. 537–547. 2018.

DHILLON, G.S.; KAUR, S.; BRAR, S. K.; Verma, M. Potential of apple pomace as a solid substrate for fungal cellulase and hemicellulase bioproduction through solid state fermentation. **Industrial Crops and Products**, v.38, p. 6-13. 2012.

DILBLAN, S; KAYA S. Potassium sorbate diffusion in multilayer polymer films: Effects of water activity and pH. **Journal of Food Processing**, v.42. p 1-7, 2018.

DIXON J., HEWETT E. W., Exposure to hypoxia conditions alters volatile concentrations of apple cultivars **Journal of the Science of Food and Agriculture**. v.81 p. 22-29. 2000.

DOMINGUES R.; FRANCISCO J. B.; GÓMZ B.; PUTNIK P.; KOVACEVIC D. B.; PATEIRO M.; SANTOS E. M.; LORENZO J. M.; . Active packaging films with natural antioxidants to be used in meat industry: A review. **Food research International**, v.113, p. 93-101, 2018.

DRUZIAN, J. I.; PAGLIARINI, A. P. Produção de goma xantana por fermentação do resíduo de suco de maçã .**Ciência e Tecnologia em Alimentos**, v. 27 n.1 p. 26-31. 2007.

ELVAS, A., B., C., Utilização de bagaço de maçã como ingrediente alimentar em iogurte com potencial efeito benéfico para a saúde. Dissertação P. 89 (mestre em qualidade e tecnologia de alimentar). Escola superior Agraria de Viseu. 2016. EPAGRI/CEPA. **Síntese Anual da Agricultura de Santa Catarina 2016-2017**. 1976-Florianópolis. v. 1. 2017.

FANG. Z.; ZHAO Y.; WARNER R.; JOHNSON S. Active and intelligent packaging in meat industry. **Trends in Food Science & Technology**, v. 61 p. 60-71, 2017.

FAO – Base de Dados Estatísticos. Disponível em: <[http:// www.fao.org](http://www.fao.org)>. Acesso em: 28 maio. 2019.

FARIAS, M., FAKHOURI, F. M. CARVALHO, C. W. P. ASCHERI, R. L. J. Caracterização físico-química de filmes comestíveis de amido adicionado de acerola (*Malpighia emarginata* D.C.). **Quim. Nova**, v. 35, n. 3, p. 546-552, 2012.

FERRANDIN, G. **Avaliação do potencial antioxidante de produção do fermentado alcoólico a partir do bagaço de maçã**. 2014. 45f. Trabalho de conclusão do curso (Graduação). Curso em Bacharelado e licenciaturas em Química. Universidade tecnológica Federal do Parana.(UTFPR). 2014.

FERREIRA, S.; FERNANDES P.; CARDOSO S. M.; WESSEL D. F. et al. Subprodutos Agroindustrial. **Boletim de Biotecnologia**. Portugal. 2015. Disponível em https://www.spbt.pt/downloads/bulletins/Boletim_2-6.pdf. Acesso em 27/12/2018.

FERRENTINO G., MOROZOVA K., MOSILO O. K. RAMEZANI M. Biorecovery of antioxidants from apple pomace by supercritical fluid extraction. **Journal of cleaner production**, v. 186, p. 253-261, 2018.

FERTONANI H. C. R.; SCABIO A.; SCHEMIN M. H. C; CARNEIRO E. B. B. C.; NOGUEIRA A.; WOSIACKI G. Influência da concentração de ácidos no processo de extração e na qualidade de pectina de bagaço de maçã. **Ciências Agrárias**, Londrina, v. 27, n. 4, p. 599-612, 2006.

FIEPA. Seminário internacional debateu a questão dos resíduos sólidos em Belém. Disponível em: <https://www.fiepa.org.br/post/seminario-internacional-debateu-a-questao-dos-residuos-solidos-em-belem>. Acesso em 20/03/2019.

FLOEGEL, A. KIM D-O.; CHUNG S-J.; KOO S.I.; CHUN O.K.; Comparison of ABTS/DPPH assays to measure antioxidant capacity in popular antioxidant-rich US foods. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 24, n. 7, p. 1043–1048, 2011.

FOOD INGREDIENTES BRASIL, Dossiê Antioxidantes, www.revista-fi.com. n 6, 2009. Disponível em: <http://www.revista-fi.com/materias/83.pdf>. Acesso 07/02/2019.

FREITAS T. B. **Produção e caracterização de filmes de zeína adicionados de casca e extrato da casca de pinhão**. 2015. 38f. Trabalho de Conclusão de curso (Graduação). Universidade Tecnológica Federal do Paraná departamento acadêmico de Alimentos, Câmpus Campo Mourão, Paraná. 2015.

FRIEBEL, S.; CALIARI, V.; GEREMIAS R.; BRASIL, M.; Caracterização físico química dos resíduos sólidos da indústria de suco de maçã. XXIII SEMINÁRIO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA. SIEPE. 2017.

GEUS, L. M. M.; GOLTZ, G.; KANUNFRE, C. C.; NOGUEIRA, A.; WOSIACKI, G.;
Caracterização nutricional de amostras de bagaço de maçã industrial e laboratorial.
Scientia Rural. 2014.

GHIMIRE, B. K.; YU, C. Y.; CHUNG, I. M. Assessment of the phenolic profile,
antimicrobial activity and oxidative stability of transgenic *Perilla frutescens*
L. overexpressing tocopherol methyltransferase (γ -tmt) gene. **Plant Physiology and
Biochemistry**, v. 118, p. 77–87, 2017.

GÓMEZ-ESTACA, J. DICASTILHO C. L.; MUÑOZ P.H.; CATALÁ R.; GAVARA R.;
**Advances in antioxidant active food packaging. Trends in Food Science &
Technology**. v. 35, p.42-51, 2014.

GONG D.; BIA Y.; JIANGA H.; XUEA S., WANGB Z. ; LIB Y.; ZONGB Y , PRUSKY
D.; A. Comparison of postharvest physiology, quality and volatile compounds of
'Fuji' and 'Delicious' apples inoculated with *Penicillium Expansum*. **Postharvest
Biology and Technology**, v. 150 p.95-104. 2019.

GU S. Y.; ZHANG K.; REN, J.; ZHAN H. Melt rheology of polylactide/poly(butylene
adipate co-terephthalate) blends. **Carbohydrate Polymer**, Barking, v. 74, n. 1, p.
79-85, 2008.

HAGHIGHI, M.; REZAEI, k.; Designing in all-apple-pomace-based functional
dessert formulation. **British Food Journal**, v.115, n.3, p.409-424. 2013.

HAMES-KOCABAS, E. E.; DEMIRCI, B.; UZEL, A.; DEMIRCI, F. Volatile
composition of Anatolian propolis by headspace-solid-phase microextraction (HS-
SPME), antimicrobial activity against food contaminants and antioxidant activity. **J.
Med. Plants Res**, v. 7, p. 2140-2149, 2013.

HASHEMI, B.; ZOHRABI, P.; SHAMSIPUR, M. Recent developments and
applications of different sorbents for SPE and SPME from biological samples.
Talanta, v. 187, p. 337–347. 2018.

HEIMBACH, N, S. ÍTAVO F.B.C.C.; LEAL C.R.B.; ÍTAVO L. C.V.; SILVA G.C.P.;
REZEND L.C.; GOMES F.F.M.;. Resíduo da extração de própolis como inibidor
bacteriano in vitro **Rev. Bras. Saúde Prod. Anim**, v.17, n.1, p.65-72, 2016.

HO, C. W.; WAN AIDA, W. M.; MASKAT, M. Y.; OSMAN, H. Optimization of
headspace solid phase microextraction (HS-SPME) for gas chromatography mass

spectrometry (GC-MS) analysis of aroma compound in palm sugar (*Arenga pinnata*). **J. Food Compos. Anal.**, v. 19, p. 822–830. 2006.

HUBER, K.; QUEIROZ J. H.; MOREIRA A. V. B.; RIBEIRO S. M. R. Caracterização química do resíduo agroindustrial da manga ubá (*Mangifera indica* L.): uma perspectiva para a obtenção de antioxidantes naturais. **Revista Brasileira de Tecnologia Agroindustrial**, v. 06, n. 01, p. 640-654, 2012.

IBGE. Produção Industrial Anual - PIA. Disponível em: <<http://www.ibge.gov.br>>. Acesso em: 28 maio. 2019.

INSTITUTO ADOLFO LUTZ. Métodos físico-químicos para análise de alimentos.. p. 1020. 2008. Disponível: http://www.ial.sp.gov.br/resources/editorinplace/ial/2016_3_19/analisedealimentosia_l_2008.pdf. Acesso em 12/02/2019.

JAMSHIDIAN, M.; TEHRANY, E. A.; CLEYMAND, F.; LECONTE, S.; FALHER, T.; DESOBRY, S. Effects of synthetic phenolic antioxidants on physical, structural, mechanical and barrier properties of poly lactic acid film. **Carbohydrate Polymers**, v. 87, p. 1763–1773, 2012.

JANZANTTI N. S., FRANCO M. R. B., LANÇAS F., M., Identificação de compostos volatéis de maçã (*Malus domestica*) cultivar Fuji, por cromatografia gasosa-espectrometria de massas. **Ciências Tecnologia de Alimentos Campinas**. V. 20 n. 2. 2000.

_____, N. S.; FRANCO, M. R.; WOSIACKI, G. Efeito do processamento na composição de voláteis de suco clarificado de maçã Fuji. **Ciência e Tecnologia Alimentos**, Campinas, v. 23, n. 3, p. 523-528, set./dez. 2003.

JERKOVIĆ, I.; MARIJANOVIĆ, Z.; KUŠ, P. M.; TUBEROSO, C. I. G. Comprehensive study of Mediterranean (Croatian) propolis peculiarity: headspace, volatiles, anti-varroa-treatment residue, phenolics, and antioxidant properties. **Chem. Biodivers**. v. 13, p. 210 – 218. 2016.

JU, Z.; CURRY, E.A. Evidence that a-farnesene biosynthesis during fruit ripening is mediated by ethylene regulated gene expression in apples. **Postharvest Biology and Technology**, v.19, n.1, p.9-16, 2000.

KAMATOU, G.; SANDASI, M.; TANKEU, S.; VUUREN, S. V.; VILJOEN, A. Headspace analysis and characterisation of South African propolis volatile

compounds using GCxGC–ToF–MS. ver. **Bra. Farmacognosia**, v.29, p-351-357 2019.

KHANEGHAH, A. M.; SHEMI, S. M. B.; LIMBO, S.; Antimicrobial agents and packaging systems in antimicrobial active food packaging: An overview of approaches and interactions. **Food and Bioproducts processing**, v. 111, p. 1-19, 2018.

KHARE, A. DESHMUKH, S. Studies toward producing eco-friendly plastics. **Journal of Plastic Film & Sheeting**, London, v. 22, p. 193- 210, 2006.

KIM S. M., LEE S. M., SEO J., KIM Y., Changes in volatile compounds emitted by fungal pathogen spoilage of apples during decay. **Postharvest Biology and Technology**, v. 146, p. 51-59. 2018.

KUNRATH, C., A., Aplicação e avaliação de própolis, o antioxidante natural, em salame tipo Italiano. **Braz. J. Food Technol**, v.20, 2017.

LACERDA, Risia C. C. **Avaliação da composição química e atividade antioxidante da própolis de Apis Mellifera visando à preservação ambiental do ecossistema envolvido**. 2012. 109 f. Dissertação (Mestrado em ciências e tecnologia de alimentos) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Piracicaba, 2012.

LANDIM. A. P. M.; BERNARDO O. C.; MARTINS I. B. A.; FRANCISCO M. R.; SANTOS M. B.; MELO N. R.; Sustainability concerning food packaging in Brazil. **Polímeros**, n.26 ,p. 82-92, 2016.

LEMONS, A. L.; BOCKORNY, G. A.; SANTANA, R. M.; Estudo da biodegradabilidade de blendas contendo PCL, PLA e PHB. **21º CBECIMAT - CONGRESSO BRASILEIRO DE ENGENHARIA E CIÊNCIA DOS MATERIAIS**. Cuiabá, MT. 2014.

LICCIARDELLO, F., WITTENAUER, J., SAENGERLAUB, S., REINELT, M., STRAMM, C. Rapid assessment of the effectiveness of antioxidant active packaging— Study with grape pomace and olive leaf extracts. **Food Packaging and Shelf Life**, v. 6, p. 16, 2015.

LOHANI U. C.; MUTHUKUMARAPPAN K.; MELEHARAYIL M. G. H Application of hydrodynamic cavitation to improve antioxidant activity in sorghum flour and apple pomace. **Food and Bioproducts Processing**. v.100, p-335-343, 2016.

LOMMEN, A.; GODEJOHAN M.; VENEMA D. P. P.; HOLLMAN P. C. H.; SPRAUL M. Application of directly coupled HPLC-NMR-MS to the identification and confirmation of quercetin glycosides and phloretin glycosides in apple peel. **Analytical Chemistry**, v. 72, p. 1793-1797, 2000.

LU, L.; CHEN Y.; CHOU C. Antibacterial activity of propolis against *Staphylococcus aureus*. **Int J Food Microbiol** n.102. p. 213-220. 2005.

LUCHESE, C.L. **Desenvolvimento de embalagens biodegradáveis a partir de amido contendo subprodutos provenientes do processamento de alimentos**. F, 226. Tese (Doutorado em engenharia Química). Universidade Federal do Rio Grande do Sul. 2018.

MACHADO, B. A. S.; NUNES I. L.; PEREIRA F. V.; DRUZIAN J. I. Desenvolvimento e avaliação da eficácia de filmes biodegradáveis de amido de mandioca com nanocelulose como reforço e com extrato de erva-mate como aditivo antioxidante. **Ciência Rural**, v.42, n.11, p. 2085-2091, 2012.

MADRIGAL-SANTILLÁN, E.; MADRIGAL-BUJAJIDAR, E.; ÁLVAREZ-GONZÁLEZ I.; SUMAYA-MARTÍNEZ M. T.; GUTIÉRREZ-SALINAS J.; BAUTISTA, M.; MORALES-GONZÁLEZ, A.; GONZÁLEZ-RUBIO, M. G. L. Y.; AGUILAR-FAISAL, J. L.; MORALES-GONZÁLEZ, J. A. Review of natural products with hepatoprotective effects. **World J. Gastroenterol**, v.20, p.14787-14804. 2014.

MALHERBIA N. M., SCHMITZA A. C., GRANDOA R. C., BILCKB A. P., YAMASHITAB, F., TORMENA L., FARAYDE MATTA FAKHOURIC F. M., JOSÉ IGNACIO VELASCOD J. I., LARISSA C. B., Corn starch and gelatin-based films added with guabiroba pulp for application in food packaging. **Food packaging and shelf life**, v.19, p.140-146. 2019.

_____.; SCHMITZ A. C.; GRANDO R.C.; BILCK A. P.; YAMASHITA F.; TORMEN L.; FOKHOURI F. M.; VELASCES J.I.; BETAN L.C. Corn starch and gelatin-based films added with guabiroba pulp for application in food packaging **.Elsevier- Food Packaging and Shelf Life**. p. 140-146, 2019.

MALI, S. GROSSMANN, M., V, E.; YAMASHITA. F.; Starch films: production, properties and. Potencial of utilization semina. **Ciências Agrárias**, Londrina, v.31, n.1, p.137-156, 2010.

MANNUCCI A., SERRA A., REMORINI D., CASTAGNA A., MELE M., SCARTAZZA A., RANIERI A., Aroma profile of Fuji apples treated with gelatin edible coating during their storage. **LWT - Food Science and Technology**, v 85, p. 28-36, 2017.

MANRICH, A; MARTINS S. H. B.; SILVA V. M.; OTONI C. G.; MATOSO L. H. C.; MARTINS M. A.. Produção de nanocomposito de cutina extraída de resíduo de maçã e nanocristais de celulose. 10º JORNADA CINETIFICA - EMBRAPA. **Anais**. São Carlos – 14 e 15 de junho de 2018. Disponível em:<https://www.alice.cnptia.embrapa.br/alice/bitstream/doc/1096434/1/Producaode nanocompositodecutinaextraidaderesiduodemacaenanocristaisdecelulose.pdf>. Acesso 29/12/2018.

MARCUCCI, M. C.; FERRERES, F.; GARCÍA-VIGUERA C.; BANKOVA V.S.; DE CASTRO S. L.; DANTAS A .P.; VALENTE P. H. M.; PAULINO, N. Phenolic compounds from Brazilian propolis with pharmacological activities. **J Ethnopharmacol** v.74, p.105-112. 2011.

MARQUES, D. B.; PASTORE, G. M. Produção de aromas naturais por microrganismos. **Boletim da SBCTA**, Campinas, v. 33, n. 1, p. 80-85, 1999.

MATE E. M.; GÓMES J. V.; DOMINGUES I.; ADELANTADO J. V. G.; GAVARA R.; JIMÉNEZ M. Impact of bioactive packaging systems based on EVOH films and Materials and Its Application in Active Biodegradable Films. **Food Bioprocess Technol.** p. 10. 2015.

MELLIU, E.; STRATIS, E.; CHINO, I. Volatile constituents of propolis from various regions of Greece - Antimicrobial activity. **Food Chem**, v. 103, p. 375–380, 2007.

MERCADANTE, A. Z.; CAPITANI C. D.; DECKER E. A.; CASTRO I. A.; Effect of natural pigments on the oxidative stability of sausages stored under refrigeration. **Meat Science**, v. 84, n. 4, p. 718–726, 2010.

MIHAI C. M., MARGHITAS L. A., DEZMIREAN D. S., BARNEITIU L. Correlation between Polyphenolic Profile and Antioxidant Activity of Propolis from Transylvania. **Scientific Papers: Animal Science and Biotechnologies**, v.44, n.2, p.100-103, 2011.

MORAES A. R F.; GOUVEIA, L. E. R.; SOARES, N. F. F.; SANTOS, M. I. S; GONÇALVES, M. P. J. C. Desenvolvimento e avaliação de filme antimicrobiano na conservação de manteiga. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 27, n.1, p. 33-36, 2007.

MORET, S.; PURCARO, G.; CONTE, L. S. Polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) levels in propolis and propolis-based dietary supplements from the Italian market. **Food Chem**, v. 122, p. 333–338, 2010

MOTTA, E.; QUIROZ, M. J.; T. BERTOLA, N. Active edible films of methylcellulose with extracts of green apple (Granny Smith) skin. *International Journal of Biological Macromolecules*. 2018.

MULLER, R. J.; WITT, U.; RANTZE, E.; DECKWER, W. D. Architecture of biodegradable copolyesters containing aromatic constituents. **Polymer Degradation and Stability**, Essex, v.59, p.203-208, 1998.

MURATA, M.; TSURUTANI, I. M.; TOMITA, M. HOMMA, S.; KANEKO, K. Relationship between apple ripening and browning: changes in polyphenol content and polyphenol oxidase. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 43, n. 5, p. 1115-1121, 1995.

NERIN, C.; TOVAR, L.; DJENANE, D.; CAMO, J.; SALAFRANCA, J.; BELTRÁN, J.A.; RONCALÉS, P.; Stabilization of beef meat by a new active packaging containing natural antioxidants. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Washington, v. 54, p. 7840- 7846. 2006.

NGENGE, T. A.; CAROL, D. M. E.; EMMANUEL, T.; VERNYUY, T. P.; JOSEPH, M. T.; POPOVA, M.; BANKOVA, V. Chemical constituents and anti-ulcer activity of propolis from the North-West Region of Cameroon. **Res. J. Phytochemistry**, v. 10, p. 45-57. 2016.

NOGUEIRA, A; TEIXEIRA, S. H.; DEMIATE, I. M.; WOSIACKI, G. Influencia do processamento no teor de minerais em sucos de maçãs. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v.27, n.2, p.259-264, 2007.

NUNES, C. A.; GUERREIRO, M. C. Characterization of Brazilian green propolis throughout the seasons by headspace GC/MS and ESI-MS. **J. Sci. Food Agric**, v 92, p.433–438. 2012.

NUNES, L. C. C.; GALINDO, A. B.; DE DEUS, A. S. O.; RUFINO, D.A., RANDAU, K. P.; XAVIER, H. S.; CITÓ, A. M. G. L.; NETO, P. J. R. Seasonal variability of red propolis constituents and brine shrimp bioassay. **Braz. J. Pharmacog**, v. 19, p. 524-529, 2009.

OLIVATO, J. B., GROSSMANN, M. V. E., BILCK, A.P., YAMASHITA, F., & OLIVEIRA, L. M. Starch/polyester films: simultaneous optimisation of the properties for the production of biodegradable plastic bags. **Polímeros**, v.23, p.32-36. 2013.

OLIVEIRA, S. P. L. F.; BERTAN L.C; RENSIS, C.M.V.B; BILCK, A. P.; VIANNA, P.C.B. Whey protein-based films incorporated with oregano essential oil. **Polímeros**, v.27 n. 2, p.158-164, 2017.

OTTONI, BRENO L. **A relação da comunicação e as embalagens biodegradáveis: um paradigma para a destinação final**. 2016. 98f. Dissertação de Mestrado, Departamento de engenharia de produção programa de Pós-Graduação em Engenharia de produção. Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”. 2016.

PASTOR, C., CHÁFER M., GONZÁLEZ L. S., CHIRALT. A. Physical and antifungal properties of hydroxypropylmethylcellulose based films containing propolis as affected by moisture content. **Carbohydrate Polymers**, Barking, v.82, n.4, p.1174-1183, 2010.

PELLATI, F.; PRENCIPE, F. P.; BENVENUTI, S. Headspace solid-phase microextraction-gas chromatography–mass spectrometry characterization of propolis volatile compounds. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, v.84, p. 103– 111. 2013.

PEREIRA, E. P. R.; FARIAS , J.; A. F, UELINTON, M. P. Optimizing the use of potassium sorbate and sodium metabisulphite for the chemical and microbial stability of carbonated coconut water. **Braz. J. Food Technol**, v. 16, n.2, 2013.

PORRINI, C.; SABATINI, A. G.; GIROTTI, S.; GHINI, G.; MADRZYCHY, P.; GRILLENZONI, F.; BORTOLOTTI, L.; GATTAVECCHIA, E., CELLI, G. Honey bees and bee products as monitors of the environmental contaminants. **Apiacta**, v. 38, p.63–70. 2003.

RAMALHO, V. C.; JORGE, N.; Antioxidantes utilizados em óleos, gorduras e alimentos gordurosos. **Quim. Nova**, v. 29, n.4, p.755-760, 2006.

REIS, L, C ,B.; SOUZA C.O.; SILVA J.B.A.; MARTINS A. C. NUNES I.L.; DRUZIAN J.I. Active biocomposites of cassava starch: The effect of yerba mate extract and mango pulp as antioxidant additives on the properties and the stability of a packaged product. **Food and Bioproducts Processing**, v. 94, p.382-391, 2015.

REIS, M. O.; OLIVATO J. B.; BILCK A. P.; ZANELLA J.; GROSSMANN M. V. E.; YASMASHITA F.; Biodegradable trays of thermoplastic starch/poly (lactic acid) coated with beeswax. **Elsevier Industrial Crops & Products**, v.112, p.481-487. 2018.

REIS, A. S.; DIEDRICL, C.; MOURA, C.; PEREIRA, D.; ALMEIDA. J.F.; SILVA, L. D.; OVIEDO, M. S. V. P.; TAVARES, R. A. W.; CARPES. S. T.; Physico-chemical characteristics of microencapsulated própolis co-product extract and its effect on storage stability of burger meat during storage at 15°C. **LWT - Food Science and Technology** . v.76 p. 306-313. 2017.

RENARD, C. M. G. C.; QUERE J. M. L.; BAUDUIN R.; SYMONEAUX R.; BAURVELLEC C. L.; BARON A.; Modulating polyphenolic composition and organoleptic properties of apple juices by manipulating the pressing conditions. **Food Chemistry**, v. 124, p.117-125, 2011.

RISTIVOJEVIĆ, P.; DIMKIĆ, I.; GUZELMERIC, E.; TRIFKOVIĆ, J.; KNEŽEVIĆ, M.; BERIĆ, T.; YESILADA, E.; MILOJKOVIĆ-OPSENICA, D.; STANKOVIĆ, S. Profiling of Turkish propolis subtypes: Comparative evaluation of their phytochemical compositions, antioxidant and antimicrobial activities. **LWT - Food Sci. Technol**, v.95, p. 367–379. 2018.

RIU-AUMATELL, M.; VARGAS, L.; VICHI, S.; GUADAYOL, J. M.; LOPEZ-TAMAMES, E.; BUXADERAS, S. Characterisation of volatile composition of white salsify (*Tragopogon porrifolius* L.) by headspace solid-phase microextraction (HS-SPME) and simultaneous distillation–extraction (SDE) coupled to GC–MS. **Food Chem**, v.129, p. 557–564, 2011.

RIZZOLO, A.; BIANCHI, G.; POVOLO, M.; MIGLIORI, C. A.; CONTARINI, G.; PELIZZOLA, V.; CATTANEO, T. M. P. Volatile compound composition and antioxidant activity of cooked ham slices packed in propolis-based active packaging. **Food Packaging Shelf**, v.8, p. 41–49, 2016.

ROBY M, H, H.; SARHAN M.A.; SELIN K. A-H.; KHALEL I.; Evaluation of antioxidant activity, total phenols and phenolic compounds in thyme (*Thymus vulgaris* L.), sage (*Salvia officinalis* L.), and marjoram (*Origanum majorana* L.) extracts. **Industrial Crops and Products**, v.43. p.827-831, 2013.

ROJAS-GRAU, M. A.; AVENA-BUSTILLOS, R.J.; OLSEN, C.; FRIEDMAN, M., HENIKA P.R.; MARTIN-BELLOSO, O.; PAN, Z.L; MCHUCH T.H.; Effects of plant essential oil compounds on mechanical barrier and antimicrobial properties of alginate-apple puree edible films. **Journal of Food Engineering**, v.81,p.634-641,2007.

RUFATTO, L. C.; LUCHTENBERG, P.; GARCIA, C.; THOMASSIGNY, C.; BOUTTIER, S.; HENRIQUES, J. A. P.; ROESCH-ELY, M.; DUMAS, F.; MOURA, S. Brazilian red propolis: Chemical composition and antibacterial activity determined using bioguided fractionation. **Microbiol. Res**, v. 214, p. 74–82, 2018.

RUFINO, M. S. M.; ALVES R. E.; BRITO E.S.; MOAIS S. M.; SAMPAIO C, G.; JIMENEZ J. P.; CALIXTO F. D. S. Metodologia Científica: Determinação da Atividade Antioxidante Total em Frutas pelo método de redução do Ferro (FRAP). **Comunicado técnico 125- Embrapa**. Fortaleza, 2006. Disponível em < <https://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/CNPAT-2010/11964/1/cot-125.pdf> >. Acesso em 04/01/2019.

SAITO M. F., RIGONI D.C.; CANTERIZ M. H. G.; PETKOWICZ, C. L. O. NOGUEIRA, A.; WOSIACKI, G.; Chemical and instrumental characterization of pectin from dried pomace of eleven apple cultivars. **Acta Scientiarum Agronomy**, v. 33, p. 383-389, 2011.

SAKANAKA, L.S. **Confecção de filmes biodegradáveis por extrusão de blendas de amido termoplástico e polibutileno succinato co-adipato (PBSA)**. 2007. 109 f. Tese (Doutorado em Ciência de Alimentos) – Departamento de Ciência e Tecnologia de Alimentos da Universidade Estadual de Londrina, Londrina, 2007.

SALGUEIRO F. B., CASTRO R. N. Comparação entre a composição química e a capacidade antioxidante de diferentes extratos de própolis verde. **Quim. Nova**.v. 39. P. 1192-1199. 2016.

SANTANA M. C. C. B.; MACHADO B. A. S.; SILVA T. N.; NUNES I. L.; PEREIRA F.V., DRUZIAN J. I., Incorporação de urucum como aditivo antioxidante em embalagens biodegradáveis a base de quitosana. **Ciências Rural**. 2012.

SANTOS, A. V.; TEIXEIRA, S. A.; RODRIGUES, P. B.; FREITAS, R. T. T.; GUIMARÃES A. M.; GIACOMETTI R. A. Valor nutritivo do resíduo de própolis para frango de corte. **Ciência e Agrotecnologia**, v.27 n. 5. 2003.

SANTOS, E. L. SILVA F.C.B.; PONTES C.E.; LIRA R.C.; CAVALCANTI M. C. A.; Resíduo do processamento do extrato de própolis vermelha em ração comercial para alevinos de Tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*). **Comunicata Scientiae**, v. 4, n.2, p.179-185, 2013.

SANTOS, R., S., FRANCISCO, L., M., B., BRUSCHI, M., L. Avaliação da qualidade da própolis, do subproduto da extração da própolis e dos seus extratos. XXXIV ENCONTRO ANUAL DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA. IV ENCONTRO ANUAL DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA JÚNIOR. 2015.

SCAPIM, M. R. S. **Produção, caracterização, aplicação e biodegradabilidade de filmes de blendas de amido e poli(butileno adipato co-tereftalato) produzidos por extrusão**. 2009. 139 f. Tese (Doutorado em Ciência de Alimentos) – Centro de Ciências Agrárias, Universidade Estadual de Londrina, Londrina, 2009.

SCAZZOCCHIO F.; D'AURIA F.D.; ALESSANDRINI D.; PANTANELLA F.; Multifactorial aspects of antimicrobial activity of propolis. **Microbiol Res.** v. 4 p. 327-333. 2005.

SHAHIDI, F.; AMBIGAIPALAN, P.; Phenolics and polyphenolics in foods, beverages and spices: Antioxidant activity and health effects - A review. **Journal of Functional Foods**, v. 18, p. 820–897, 2015.

SILICI, S.; KUTLUCA S. Chemical composition and antibacterial activity of propolis collected by three different races of honeybees in the same region. **J. Ethnopharmacol**, v. 99, p. 69–73, 2005.

SILVA, A. C; JORGE N. Cogumelos: compostos bioativos e propriedades antioxidantes. **Unopar Cient. Ciêne Biol. Saúde**, v.13 p. 375-84. 2011.

SILVA, R. F.; ASCHIERI, J. L. R. Extrusão de quirera de arroz para uso como ingrediente alimentar. **Brazilian Journal of Food Technology**, Campinas, v. 12, n. 3, p.190-199, 2009.

SIMÕES D. R. S.; WASZCSYNSKY N. J; WOSIACKI G. Aromas em maçã, suco e sidra. **Revisão. B. CEPPA**, v. 27. n.1, p. 153-172. 2009.

SINGLETON, V. L., ORTHOFER, R., & LAMUELA-RAVENTOS, R. M.; Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of folin-ciocalteu reagent. **Methods in enzymology**, v. 299, p. 152–178, 1999.

SIRIPATRAWAN, U.; VITCHAYAKITTI, W.; SANGUANDEEKUL, R. Antioxidant and antimicrobial: Improving functional properties of chitosan films as active food packaging by incorporating with propolis. **Elsevier –Food Hydrocolloides**, .p.695-702. 2016.

SOARES, K. M. P. I.; SOUZA, J. L. M. S.; GOES V. A.; AROUCHA E M. M.; BEZERRA N. M.; SILVA J. B. A. Efeito do enchimento a quente, ausência de “espaço de cabeça” e utilização de sorbato de potássio na estabilidade do doce de leite. **PUBVET**, Londrina, v. 4, n. 4. 2010.

SOARES M.; WETER L.; GONZAGA L.; LIMA A.; FILHO-MANCINI J.; FETT R. Avaliação da atividade antioxidante e identificação dos ácidos fenólicos presentes no bagaço de maçã cv. Gala. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v 28, n 3, p. 727-732. 2008.

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

SOBRAL, P. J. A. Influência da espessura de biofilmes feitos à base de proteínas miofibrilares sobre suas propriedades funcionais. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 35, n. 6, p. 1-14, 2000.

SOLTANI, E-K.; CEREZUELA, R.; CHAREF, N.; MEZAACHE-AICHOOR, S.; ESTEBAN, M. A.; ZERROUG, M. M. Algerian propolis extracts: Chemical composition, bactericidal activity and in vitro effects on gilthead seabream innate. **Fish & Shellfish Immunology**, v. 62, p.57-67. 2017.

SOUZA C. O.; MACHADO, B. A. S.; DRUZIAN, J. I.; Filme biodegradável antioxidante a base de amido e/ou fécula contendo frutas e/ou derivados, coprodutos e subprodutos. **Cadernos de Prospecção**, vol.6, n.1, p.20-26. 2013.

_____ ; SILVA L. T; DRUZIAN, J. I; Estudo comparativo da caracterização de filmes biodegradáveis de amido de mandioca contendo polpas de manga e de acerola. **Quim. Nova**, v. 35, n. 2, p. 262-267, 2012.

SOUZA, G. M.; **Desenvolvimento de Filmes Biodegradáveis Ativos e Aplicação na Conservação de Massa Alimentícia Fresca**. F, 89. Dissertação (Mestre em Ciências e Tecnologia de Alimentos). Universidade Federal de Goiás. 2012.

SOUZA S.T, SILVIA M. V., LEIMANN F.V SHARAI M. A. Propriedades antioxidantes e antimicrobianas de filmes de amido contendo extrato de própolis. XI CONGRESSO BRASILEIRO DE ENGENHARIA QUÍMICA EM INICIAÇÃO CIENTÍFICA. Unicamp. São Paulo. Anais. 2015.

Standard Test Methods for Water Vapor Transmission of Materials. **American Society for Testing and Materials. ASTM E96-00, 2000.**

STOLL L.; COSTA T. M. H.; JABLONSKI A.; FLORES S. S.; RIOS A. O. Microencapsulation of anthocyanins with different Wall materials and Its application in Active biodegradable fil. **Food Bioprocess Technol.** v. 9, p.172-181, 2016.

STORCK, C. R.; BASSO C.; FAVARIM F.R.; RODRIGUES A.C.; Qualidade microbiológica e composição de farinhas de resíduos da produção de suco de frutas em diferentes granulometrias. **Brazilian Journal of Food Technology**, v.18, n.4, p.277-284, Campinas, 2015.

STROJNIK L., STOPAR M., ZLATIČ E, KOKALJ D., GRIL, M. N. ŽENKO B., ŽNIDARŠIČ M., BOHANEK M., BOSHKOVSKA B. M., LUŠTREK M., GRADIŠEK A., POTOČNIK D., NIVES OGRINC N., Authentication of key aroma compounds in apple using stable isotope approach. **Food Chemistry**. V.277 p-766-773, 2019.

STURZA, R. C. M. C. **Aproveitamento biotecnológico dos resíduos provenientes da extração do suco de maçã por fermentação no estado sólido.** 1995. 81 f. Dissertação (Mestrado em Tecnologia Química). Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 1995.

SUCUPIRA, N. R.; SILVA, A. B.; PEREIRAA, G.; COSTA, J. N. Métodos Para Determinação da Atividade Antioxidante de Frutos Methods for Measuring Antioxidant Activity of Fruits. **Unopar Cient Ciênc Biol Saúde**, v. 14, n. 4, p. 263-269, 2012.

SUTTER, M.; DA SILVA, E.; DUGUET, N.; RAOUL, Y.; MÉTAY, E.; LEMAIRE, M. Glycerol ether synthesis: A bench test for green chemistry concepts and technologie. **Chem. Rev.** v.115, p. 8609-8651. 2015.

TAHERPOUR, A. A.; KHODAEI, M. M.; AMEEN, B. A. H.; GHAITOULI, M.; MAHDIZADEH, N.; AMJADIAN, H. R.; LARIJANI, K. Chemical composition analysis of the essential oil of Solanum nigrum L. by HS/SPME method and calculation of the biochemical coefficients of the compounds. **Arabian Journal of Chemistry**, v 10, p.2372–S2375. 2017.

TAKEMOTO, E.; FILHO, J. T.; GODOY, T. H.; Validação de metodologia para a determinação simultânea dos antioxidantes sintéticos em óleos vegetais, margarinas e gorduras hidrogenadas por clae/uv. **Quim. Nova**, v. 32, n. 5, p. 1189-1194, 2009.

TEIXEIRA E.W; MESSAGE D.;NEGRI G.;SALATINO A.;STRINGHETA P.C.; Seasonal variation chemical composition and antioxidant activity of Brazilian própolis samples. **E CAM**. n.7, v.3, p. 307-315. 2010.

TEST METHOD FOR TENSILE PROPERTIES OF THIN PLASTIC SHEETING-**American Society for Testing and Materials**. ASTM D 882: 2002.

TOLEDO, Lucas A. S. Pharmaceutical films made from the waste material from the preparation of propolis extracts: development and characterization. **Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 51, n. 4, p. 159-164. 2015.

TOMASZEWSKI, M.; DEIN, M.; NOVY, A.; HARTMAN, T. G.; STEINHAUS, M.; LUCKETT, C. R.; JR. MUNAFO, J. P. Quantitation and seasonal variation of key odorants in propolis. **J. Agric. Food Chem**, v. 67, p. 1495–1503. 2019.

VARGAS A.C.; LOGUERCIO A. P.; WITT N. M.; DA COSTA M, M.; SÁ E SILVA M.; VIANA L.R.; Atividade antimicrobiana “in vitro” de extrato alcoólico de própolis. **Ciência Rural**. V. 34, p. 159-163. 2004.

VITALE, G., MOSNA, D., BOTTANI, E., MONTANARI, G.; VIGNALI, G. Sustainable Production and Consumption. **International Journal of logistical research and applications**, v.14, p.105-121. 2018.

WANG, SHIOW Y.; CAMP, MARY J.; EHLENFELDT, MARK K.; Antioxidant capacity and -glucosidase inhibitory activity in peel and flesh of blueberry (*Vaccinium* spp.) cultivars. **Food Chemistry**, v. 132, n. 4, p. 1759–1768, 2012.

WITT, U.; EINIG, T.; YAMAMOTO, M.; KLEEBERG, I.; DECKWER, W.D.; MÜLLER, R.J. Biodegradation of aliphatic-aromatic copolyesters: evaluation of the final biodegradability and ecotoxicological impact of degradation intermediates. **Chemosphere**, v.44, p.289-299, 2001.

WOSIACKI, G.; PHOLMAN, B. C.; NOGUEIRA, A. Características de qualidade de maçãs. Avaliação físico-química e sensorial de 15 variedades. **Revista da SBCTA**, v. 24, n. 3, 2004.

XIAOTANG Y., JUN S., B, LINA D., FORNEY C., LESLIE C., P., SHERRY F., WISMER P., ZHAOQI Z. Ethylene and 1-MCP regulate major volatile biosynthetic pathways in apple fruit. **Food Chemistry**, n.194, p. 325–336, 2016.

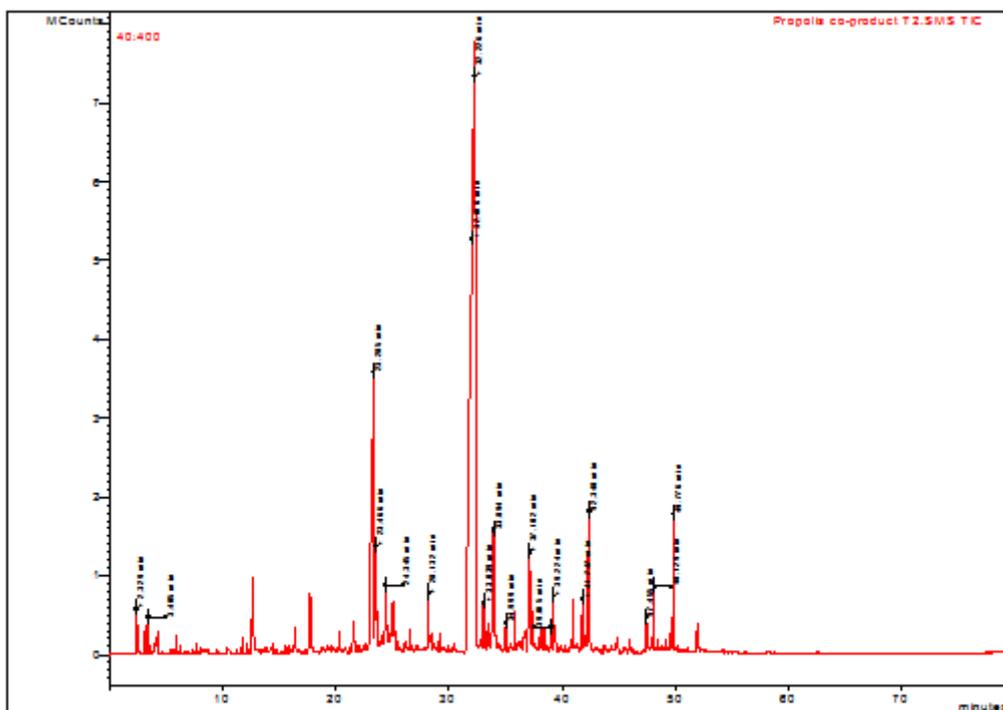
YANG, H.; HUANG, Z.; HUANG, Y.; DONG, W.; PAN, Z.; WANG, L.
Characterization of Chinese crude propolis by pyrolysis–gas chromatography/mass spectrometry. **J Anal. Appl. Pyrolysis**, v.113, p.158–164. 2015.

YING W.; ZIRONG W.; YAHONG YUAN.; ZHENPENG G.; KANGQUAN G.; TIANLI Y.; Application of gas phase surface discharge plasma with a spray reactor for *Zygosaccharomyces rouxii* LB inactivation in apple juice. **Innovative Food Science and Emerging Technologies**, v. 52, p. 450-456. 2019.

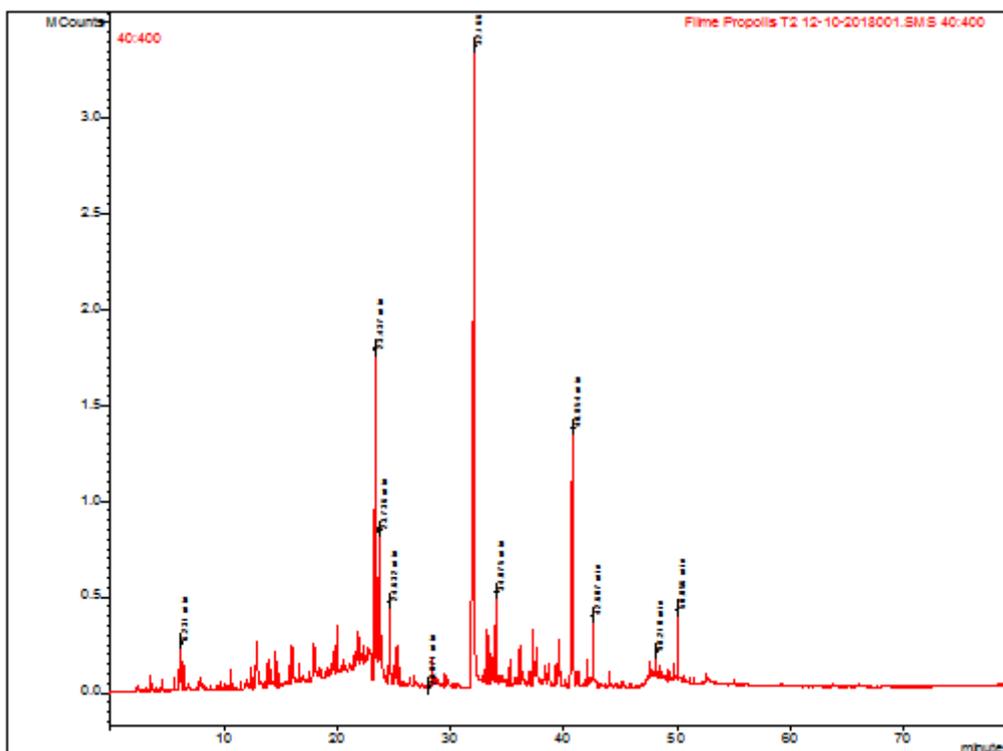
ZARDO D. M.; ALBERTI A.; DANTAS A. P. C; GUYOT S.; WOSIACKI G.; ALESSANDRO NOGUEIRA A. Efeito do processamento no teor de compostos fenólicos e na atividade antioxidante em fermentados de maçã. **Ciências Agrárias**, Londrina, v. 29, n. 4, p. 829-838. 2008.

APÊNDICES

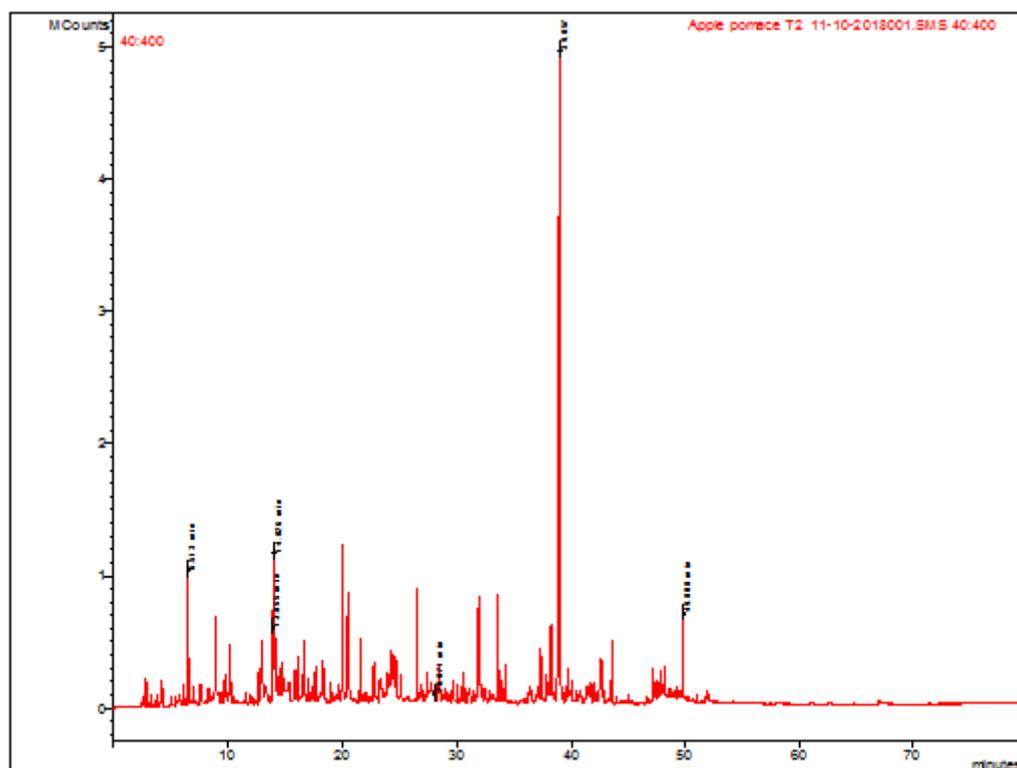
Apêndice A – Cromatograma de compostos voláteis da extração em fase sólida do coproduto da própolis.



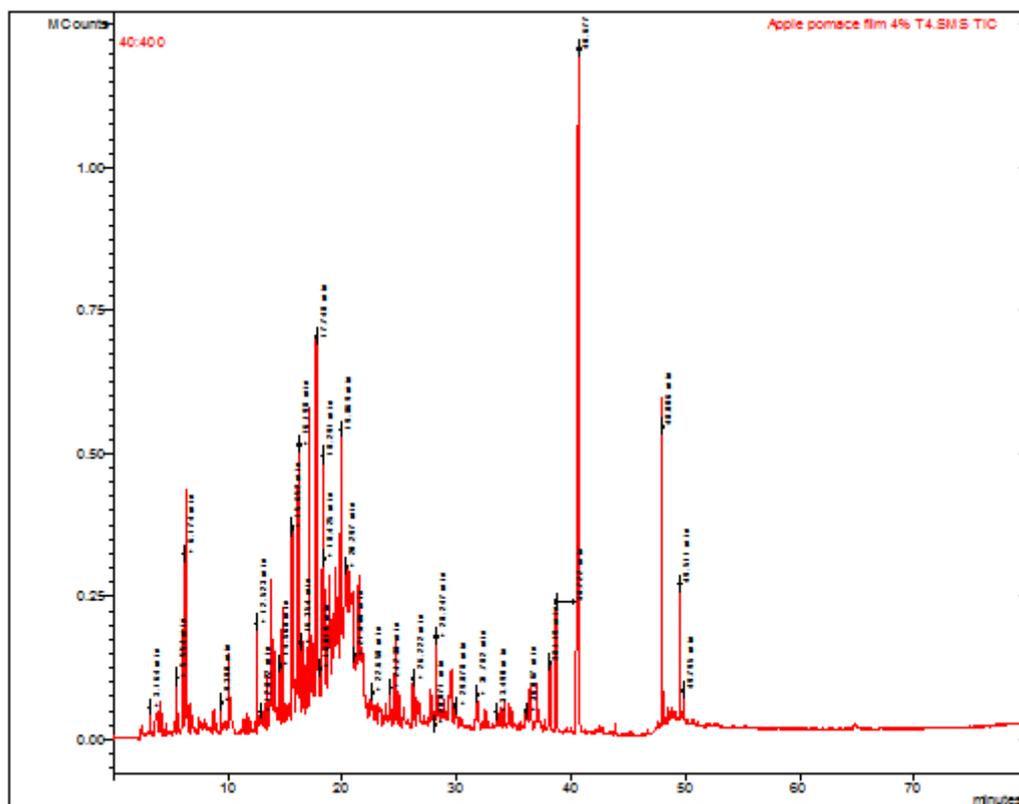
Apêndice B – Cromatograma de compostos voláteis da extração em fase sólida do filme com 4% de coproduto da própolis.



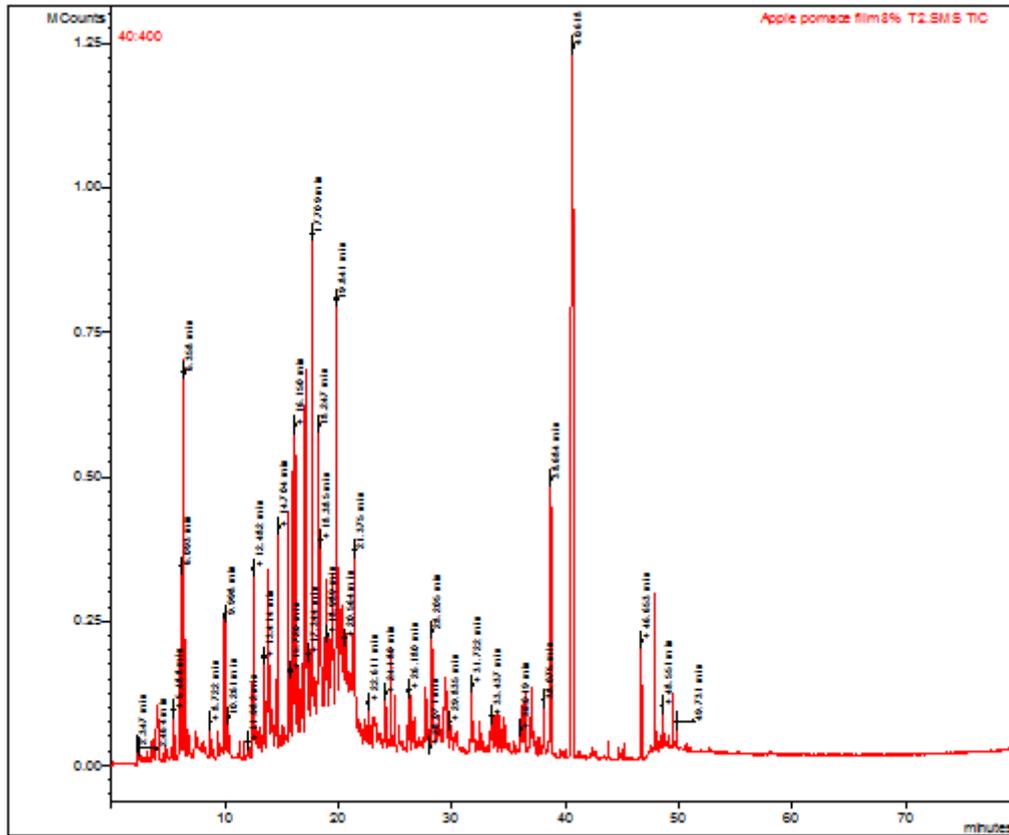
Apêndice C – Cromatograma de compostos voláteis da extração em fase sólida do coproduto da maçã.



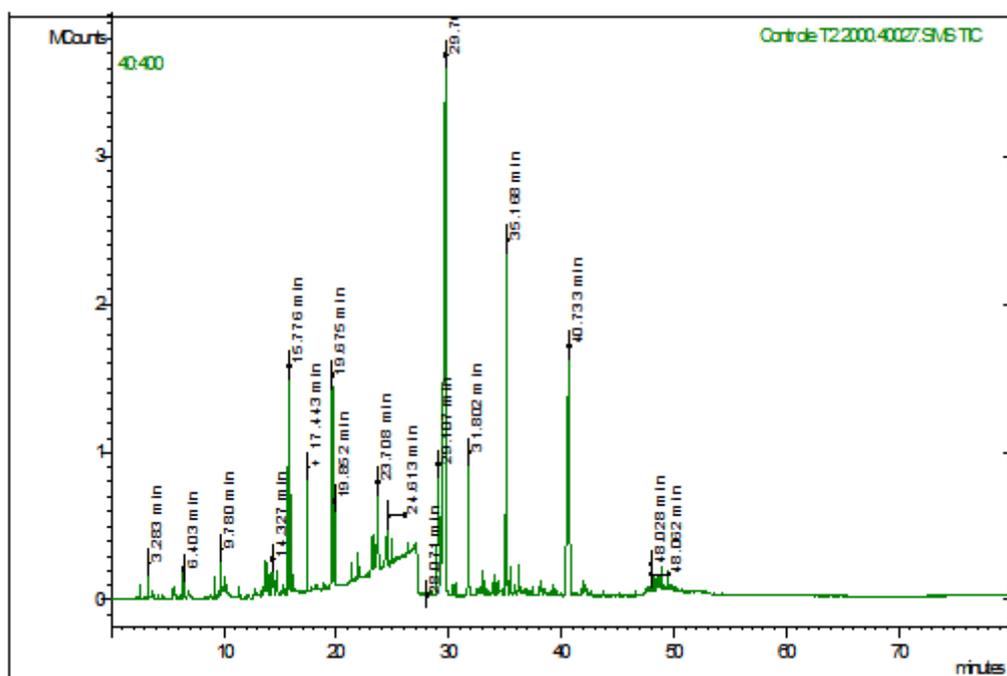
Apêndice D – Cromatograma de compostos voláteis da extração em fase sólida do filme com 4% do coproduto da maçã.



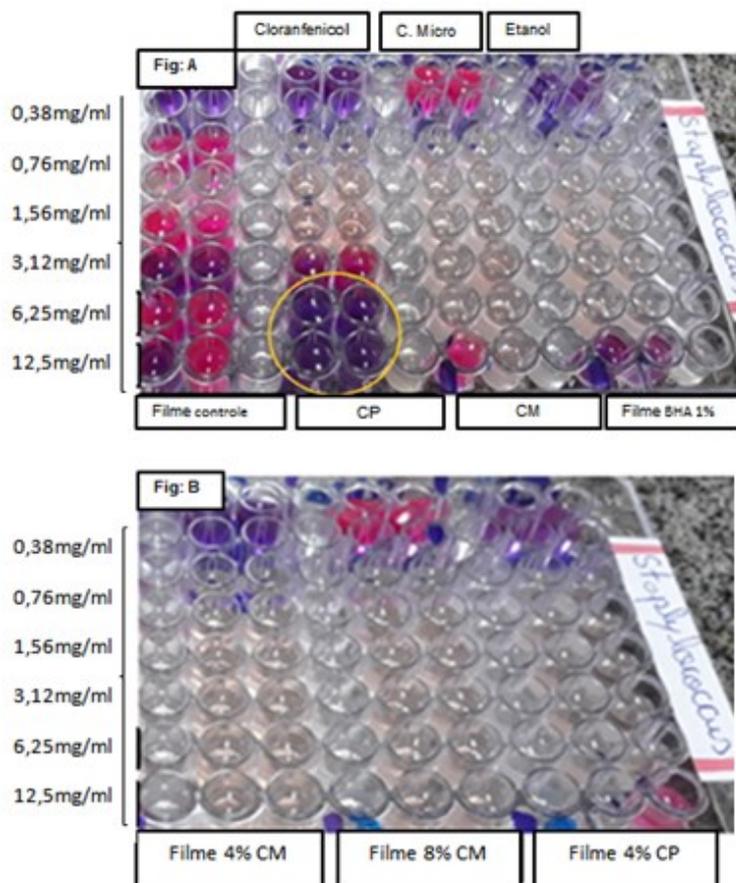
Apêndice E – Cromatograma de compostos voláteis da extração em fase sólida do filme com 8% do coproduto da maçã.



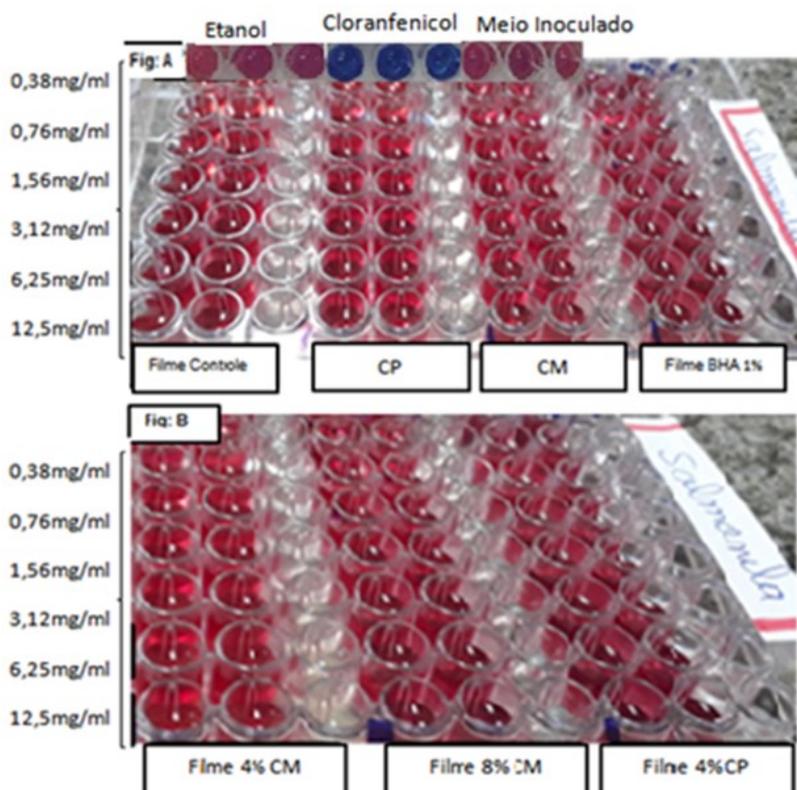
Apêndice F- Cromatograma de compostos voláteis da extração em fase sólida do filme controle.



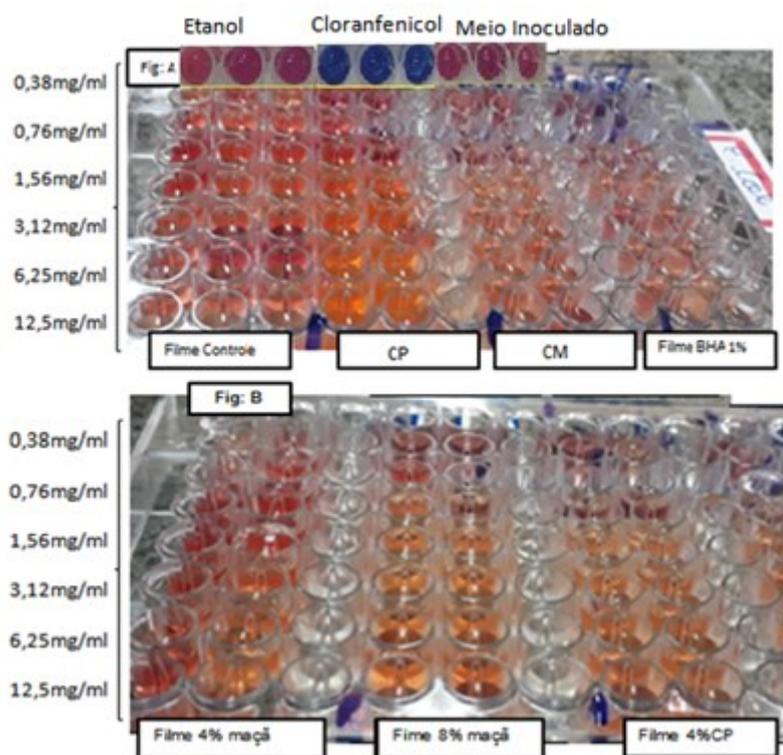
Apêndice G - Determinação da concentração inibitória mínima (CIM) em microplacas de 96 poços para o microrganismo *Staphylococcus Aureos*. **Figura A:** Filme Controle, CP: Coproduto da própolis, CM: Coproduto da maçã, Filme BHA 1%: Filme com BHA 1%; C.Micro: Caldo inoculado com microrganismo. **Figura B:** Filme 4% CM: Filme com 4% coproduto maçã; Filme 8%CM: Filme com 8% de coproduto de maçã; Filme 4% CP: Filme com 4% de coproduto de própolis;



Apêndice H - Determinação da concentração inibitória mínima (CIM) em microplacas de 96 poços para *Salmonella* Thyphimurium. **Figura A:** Filme Controle, CP:Coproduto da própolis; CM: Coproduto da maçã; Filme BHA 1%; **Figura B:** Filme 4% CM: Filme com 4% de coproduto de maçã; Filme 8% CM: Filme com 8% coproduto de maçã; Filme 4% de CP: Filme com 4% de coproduto de própolis.



Apêndice I - Determinação da concentração inibitória mínima (CIM) em microplacas de 96 poços para *Escherichia Coli*. **Figura A:** Filme Controle, CP:Coproduto da própolis, CM: Coproduto da maçã, Filme BHA 1%: Filme com BHA 1%. **Figura B:** Filme 4% CM: Filme com 4% de coproduto de maçã; Filme 8% CM: Filme com 8% coproduto de maçã; Filme 4% CP: Filme com 4% de coproduto de própolis.



Apêndice J – Determinação da concentração bactericida mínima (CBM) contra o microrganismo *Stapylococcus Aureus* na concentração 12,5 mg/mL.



Concentração CP 12,5 mg/ml
Stapylococcus Aureus

Apêndice L – Determinação da concentração bactericida mínima (CBM) contra o microrganismo *Stapylococcus Aureus* na concentração 6,25 mg/mL.



Concentração CP 6,25 mg/ml
Stapylococcus Aureus