

UNIVERSIDADE TECNOLÓGICA FEDERAL DO PARANÁ  
COORDENAÇÃO DE TECNOLOGIA E ENGENHARIA DE ALIMENTOS  
CURSO SUPERIOR DE TECNOLOGIA DE ALIMENTOS  
CAMPUS CAMPO MOURÃO – PARANÁ

GRACE KELLY PEPINELI DE ARAÚJO

**DESENVOLVIMENTO DE FILMES BIODEGRADÁVEIS DE AMIDO  
INCORPORADOS COM EXTRATO DE PRÓPOLIS**

TRABALHO DE CONCLUSÃO DE CURSO

CAMPO MOURÃO  
2014

GRACE KELLY PEPINELI DE ARAÚJO

**DESENVOLVIMENTO DE FILMES BIODEGRADÁVEIS DE AMIDO  
INCORPORADOS COM EXTRATO DE PRÓPOLIS**

Trabalho de Conclusão de Curso de Graduação, apresentado à disciplina de Trabalho de Diplomação, do Curso Superior de Tecnologia de Alimentos da Universidade Tecnológica Federal do Paraná – UTFPR, Campus Campo Mourão, como requisito para a obtenção do título de Tecnólogo.

Orientadora: Profa. Dra. Marianne Ayumi Shirai

CAMPO MOURÃO  
2014



Ministério da Educação  
UNIVERSIDADE TECNOLÓGICA FEDERAL DO PARANÁ  
Campus Campo Mourão  
Coordenação dos cursos de Tecnologia e Engenharia de  
Alimentos  
Tecnologia de Alimentos



## TERMO DE APROVAÇÃO

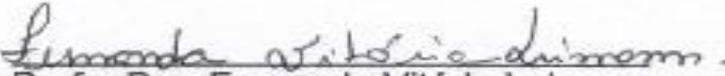
### DESENVOLVIMENTO DE FILMES BIODEGRADÁVEIS DE AMIDO INCORPORADOS COM EXTRATO DE PRÓPOLIS

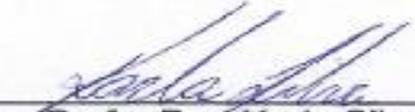
por

GRACE KELLY PEPINELI DE ARAÚJO

Este Trabalho de Conclusão de Curso foi apresentado em 24 de fevereiro de 2014 como requisito parcial para obtenção do título de Tecnólogo de Alimentos. A candidata foi arguida pela Banca Examinadora composta pelos professores abaixo assinados. Após deliberação, a Banca Examinadora considerou o trabalho aprovado.

  
\_\_\_\_\_  
Profa. Dra. Marianne Ayumi Shirai

  
\_\_\_\_\_  
Profa. Dra. Fernanda Vitória Leimann

  
\_\_\_\_\_  
Profa. Dra. Karla Silva

---

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

## **AGRADECIMENTOS**

Grata a Deus pelo dom da vida, pelo seu amor infinito, sem Ele nada sou. Agradeço aos meus pais, Joaquim e Edna, meus maiores exemplos. Obrigada por cada incentivo e orientação, pela preocupação para que estivesse sempre andando pelo caminho correto. Ao meu irmão, Rodolpho, também colegas de classe. Ao meu noivo, Erenilson, por todo amor, carinho, paciência e compreensão que tem me dedicado.

À minha orientadora, prof. Dra. Marianne Ayumi Shirai, que acreditou em mim, que ouviu pacientemente as minhas considerações partilhando comigo as suas ideias, conhecimento e experiências e que sempre me motivou. Quero expressar o meu reconhecimento e admiração pela sua competência profissional e minha gratidão pela sua amizade, por ser uma profissional extremamente qualificada e pela forma humana que conduziu minha orientação.

Aos participantes da banca pela participação, contribuições e sugestões.

## RESUMO

ARAÚJO, Grace K. P. **Desenvolvimento de filmes biodegradáveis de amido incorporados com extrato de própolis**. 2014. 43 p. (Trabalho de Conclusão de Curso de Graduação do Curso Superior de Tecnologia de Alimentos). Universidade Tecnológica Federal do Paraná – UTFPR. Campo Mourão, 2014.

O desenvolvimento de polímeros biodegradáveis visa a redução do impacto ambiental. Dentre eles, o amido tem se destacado por ser o mais abundante e o de menor custo, além de apresentar possibilidades de modificação química, física ou genética e originar filmes resistentes e biodegradáveis. Devido à preocupação constante em se prevenir a deterioração química e, principalmente, microbiológica dos alimentos, o interesse em embalagens ativas tem aumentado, e a incorporação de compostos antimicrobianos em filmes biodegradáveis promoveria um novo meio para a melhoria da segurança e da vida de prateleira de alimentos prontos para o consumo. A própolis é uma substância natural amplamente encontrada com elevado potencial para atuar como aditivo em materiais poliméricos. Assim, o presente trabalho objetivou desenvolver filmes biodegradáveis de amido de mandioca incorporados com extrato etanólico de própolis (EEP) e avaliar as propriedades mecânicas, de barreira ao vapor de água, microestrutural e antimicrobiana. A espessura, a densidade e resistência máxima à tração dos filmes com adição de EEP não apresentaram diferença significativa. Para a alongação máxima na ruptura, apenas o filme com a concentração de 0,75% de EEP apresentou um aumento significativo. Para os valores da Permeabilidade ao Vapor de Água (PVA) as formulações EP 0,5%, EP 0,75% e o controle apresentaram os maiores valores de PVA, quando comparado com EP 1%. Os resultados das imagens de microscopia eletrônica de varredura (MEV) da superfície e da fratura dos filmes revelaram que a adição de EEP não interferiu na estrutura interna da matriz polimérica. Os filmes contendo EEP produzidos neste trabalho não apresentaram atividade antimicrobiana contra *S. aureus* e *Escherichia Coli*.

**Palavras-chave:** embalagem ativa, amido de mandioca, própolis, filme biodegradável.

## ABSTRACT

ARAÚJO, Grace K. P. **Desenvolvimento de filmes biodegradáveis de amido incorporados com extrato de própolis.** 2014. 43 p. (Trabalho de Conclusão de Curso de Graduação do Curso Superior de Tecnologia de Alimentos). Universidade Tecnológica Federal do Paraná – UTFPR. Campo Mourão, 2014.

The development of biodegradable polymers aims the reduction of environmental impact. Among them, the starch has emerged to be the most abundant, with low cost, and presents possibilities for chemical, physical or genetic modification, originating resistant and biodegradable films. Due to the constant concern with preventing chemical and mainly microbiological spoilage of food, the interest in active packaging has increased, and the incorporation of antimicrobial compounds into biodegradable films promote a new way to improve the safety and shelf life of processed foods. Propolis is a natural substance widely found with high potential to act as additive properties for polymeric materials. Thus, the present study aimed to develop biodegradable cassava starch films incorporated with etanolic propolis extract (EEP) and evaluate their mechanical, barrier, microstructural and antimicrobial activity. The thickness, density and tensile strength of the films added of EEP showed no significant difference in relation to control. For elongation at break, only the film with 0.75% of EEP showed a significant increase. The values of water vapor permeability (PVA) of the formulations EP 0.5 %, EP 0.75% and control showed the highest values when compared with EP 1 %. The results of scanning electron microscopy (SEM ) images of the surface and the fracture of the films reveled that the addition of EEP did not interfere in the internal structure of the polymer matrix. The films produced in this work containing EEP did not show antimicrobial activity against *S. aureus* and *Escherichia coli*.

**Keywords :** active packaging, cassava starch, propolis, biodegradable film.

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Estrutura química da amilose (a) e amilopectina (b).....	16
Figura 2 - Curvas de sorção de umidade dos filmes de amido de mandioca incorporados EEP a 53% UR. ....	32
Figura 3 - Imagens de microscopia eletrônica de varredura dos filmes de amido de mandioca incorporados com EEP: (a) controle = imagem da superfície (800x); (b) controle = imagem da fratura (1.600x); (c) EP 0,5%= imagem da superfície (800x); d) EP 0,5% = imagem da fratura (1.600X); (e) EP 0,75% = imagem da superfície (800X); (f) EP 0,75% = imagem da fratura (1.600X); (g) EP 1% = imagem da superfície (800X); (h) EP 1% = imagem da fratura (1.600X). ....	34

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Formulações utilizadas para a produção dos filmes de amido de mandioca incorporados com EEP.....	22
Tabela 2. Espessura e densidade dos filmes de amido de mandioca incorporados com EEP. ....	28
Tabela 3. Propriedades mecânicas dos filmes biodegradáveis de amido de mandioca incorporados com EEP.....	29
Tabela 4. Permeabilidade ao Vapor de Água (PVA) dos filmes de amido de mandioca incorporados com EEP. ....	31
Tabela 5. Parâmetros do modelo de Peleg dos filmes de amido de mandioca incorporados com EEP.....	32

## **LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS**

EEP – Extrato Etanólico de Própolis

HPMC – Hidroxipropilmetilcelulose

IBRE – Instituto Brasileiro de Economia

MEV – Microscopia Eletrônica de Varredura

PVA – Permeabilidade ao Vapor de Água

TPVA – Taxa de Permeabilidade ao Vapor de Água

UR – Umidade Relativa

## SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	12
2. OBJETIVOS.....	14
2.1 OBJETIVO GERAL.....	14
2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	14
3.1 AMIDO.....	15
3.1.1 Amido de Mandioca.....	16
3.2 EXTRATO DE PRÓPOLIS.....	17
3.3 FILMES DE AMIDO.....	18
3.4 EMBALAGENS ATIVAS BIODEGRADÁVEIS.....	19
4. MATERIAL E MÉTODOS.....	21
4.1 MATERIAL.....	21
4.2 PRODUÇÃO DOS FILMES DE AMIDO ADICIONADOS DE EEP.....	21
4.3 CARACTERIZAÇÃO DOS FILMES.....	22
4.3.1 Análise Subjetiva.....	22
4.3.2 Espessura.....	22
4.3.3 Densidade.....	22
4.3.4 Propriedades Mecânicas.....	23
4.3.5 Permeabilidade ao Vapor de Água (PVA).....	25
4.3.6 Cinética de Sorção de Água.....	26
4.3.7 Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV).....	26
4.3.8 Atividade Antimicrobiana.....	27
4.4 ANÁLISE ESTATÍSTICA.....	27
5. RESULTADOS E DISCUSSÕES.....	27
5.1 ANÁLISE SUBJETIVA.....	27
5.2 ESPESSURA E DENSIDADE.....	28
5.3 PROPRIEDADES MECÂNICAS.....	28
5.4 PERMEABILIDADE AO VAPOR DE ÁGUA (PVA).....	30
5.5 CINÉTICA DE SORÇÃO DE ÁGUA.....	32
5.7 ATIVIDADE ANTIMICROBIANA.....	35
6. CONCLUSÃO.....	36

7. SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS.....	37
8. REFERÊNCIAS.....	38

## 1. INTRODUÇÃO

Os filmes plásticos são utilizados em larga escala para embalar alimentos por serem disponíveis em grandes quantidades, a baixo custo e com boas características mecânicas e de barreira. Entretanto, a poluição do meio ambiente devido ao descarte de filmes plásticos de polímeros sintéticos sem nenhum controle é um grande problema mundial, tendo como desvantagem o fato de não serem biodegradáveis, e estarem envolvidos em problemas de gerenciamento de resíduos. (HENRIQUE; CEREDA; SARMENTO, 2008; SOUZA, 2011).

Segundo Franchetti e Marconato (2006), no ano de 2003 a produção de plásticos era superior 100 milhões de toneladas, desse total 20% dos resíduos plásticos produzidos eram desprezados no meio ambiente. Segundo a *Plastics Europe* (2011) a produção mundial em 2010 estava em torno de 265 milhões de toneladas.

Outra questão a se considerar é que as fontes de petróleo não são renováveis fazendo necessária a descoberta de substitutos, como plásticos e filmes biodegradáveis de fonte renovável, o que seria uma ótima alternativa, especialmente para embalagens descartáveis (SCHWACH; SIX; AVÉROUS, 2008; PELISSARI et al., 2013).

A biodegradação é um processo natural e complexo onde compostos orgânicos, pelo intermédio de mecanismos bioquímicos, são convertidos em compostos mineralizados simples e, então, redistribuídos no meio ambiente, através do ciclo elementar, tal como o do carbono, nitrogênio e enxofre. Em síntese, a biodegradação de um polímero é o processo intrínseco pelo qual microrganismos e suas enzimas consomem este polímero como fonte de nutrientes, em condições normais de umidade, temperatura e pressão. Os polímeros melhor adaptados à biodegradação são aqueles hidrolisáveis a  $\text{CO}_2$  e  $\text{H}_2\text{O}$ , ou a  $\text{CH}_4$  e os polímeros sintéticos que possuam estruturas próximas aos naturais (LIMA, 2004; BARDI; ROSA, 2007).

Os filmes biodegradáveis vão de encontro às necessidades atuais, pois estes geralmente são produzidos com materiais biológicos, como polissacarídeos, proteínas, lipídios e derivados. A obtenção dos mesmos, assim como a de coberturas biodegradáveis está baseada na dispersão ou solubilização dos

biopolímeros em um solvente (água, etanol ou ácidos orgânicos) e acréscimo de aditivos (plastificantes ou agentes de liga) obtendo-se uma solução ou dispersão filmogênica. Após o preparo, estas coberturas devem passar por uma operação de secagem para a formação dos filmes (GONTARD; GUILBERT; CUQ, 1992; HENRIQUE; CEREDA; SARMENTO, 2008).

A escolha do material a ser utilizado na formulação dos filmes é muito importante, pois deste dependerão as interações entre os componentes do material, que poderão interferir nas propriedades de barreira e mecânicas dos filmes (BALDWIN; CARRIEDO, 1994). Entre estes, o amido tem se destacado por ser o mais abundante e o de menor custo, além de apresentar possibilidades de modificação química, física ou genética, origina filmes resistentes e biodegradáveis (MALI et al., 2010; TEIXEIRA, 2007).

Devido à preocupação constante em se prevenir a deterioração química e, principalmente, microbiológica dos alimentos, o interesse em embalagens ativas tem aumentado, pois além de preservação do alimento esse tipo de sistema pode apresentar funcionalidade adicional como suporte de substâncias antioxidantes e antimicrobianas. Assim a incorporação de compostos antimicrobianos em filmes biodegradáveis promoveria um novo meio para a melhoria da segurança e da vida de prateleira de alimentos prontos para o consumo (BODINI et al., 2011; CHEN et al., 2010).

Na seleção de compostos bioativos, tais como agentes microbianos, deve ser considerado que estes compostos, para aplicação em filmes ou recobrimentos comestíveis, devem ter grau alimentício e que sejam, preferencialmente, substâncias naturais, principalmente, devido aos efeitos adversos causados por substâncias sintéticas ao ambiente e à saúde dos consumidores. Uma substância natural amplamente encontrada e que apresenta elevado potencial para atuar como aditivo em materiais poliméricos é o extrato de própolis (BODINI et al., 2011).

A própolis é um produto resinoso natural produzido pelas abelhas melíferas a partir de substâncias coletadas em diferentes partes das plantas, como brotos, casca, botões florais e exsudatos resinosos. As abelhas transportam estas substâncias até a colméia e as modificam por meio da adição de cera, pólen e produtos do seu metabolismo (FISCHER et al., 2008).

## 2. OBJETIVOS

### 2.1 OBJETIVO GERAL

Produzir filmes biodegradáveis de amido por *casting* incorporados com diferentes concentrações de extrato etanólico de própolis.

### 2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

Avaliar o efeito da adição de extrato etanólico de própolis sobre:

- Propriedades mecânicas;
- Propriedades de barreira ao vapor de água;
- Microestrutura;
- Atividade antimicrobiana dos filmes de amido de mandioca.

### 3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

#### 3.1 AMIDO

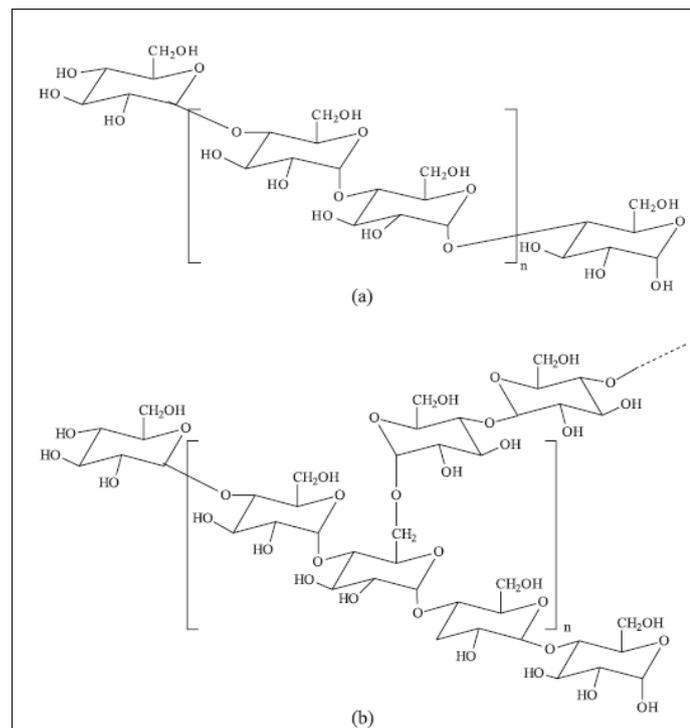
O amido é o polissacarídeo de reserva dos vegetais e está armazenado sob a forma de grânulos, que apresentam um certo grau de organização molecular, o que confere aos mesmos um caráter parcialmente cristalino, ou semicristalino, com graus de cristalinidade que variam de 20 a 45% (YOUNG, 1984).

O amido é formado por dois tipos de polímeros de glicose, a amilose e a amilopectina, com estruturas e funcionalidade diferentes (Figura 1). A amilose é um polímero linear composto por unidades de D-glicose ligadas por ligações  $\alpha$ -(1 $\rightarrow$ 4), com grau de polimerização de 200 a 3000, dependendo da fonte do amido. A amilopectina é um polímero altamente ramificado, com unidades de D-glicose ligadas através de ligações  $\alpha$ -(1 $\rightarrow$ 4) e ramificações em  $\alpha$ -(1 $\rightarrow$ 6) (ELLIS et al., 1998). Variações nas proporções entre estes componentes e em suas estruturas e propriedades podem resultar em grânulos de amido com propriedades físico-químicas e funcionais muito diferentes, que podem afetar as suas aplicações industriais.

A aplicação do amido na produção de filmes se baseia nas propriedades químicas, físicas e funcionais da amilose para formar géis e na sua capacidade para formar filmes. As moléculas de amilose em solução, devido à sua linearidade, tendem a se orientar paralelamente, aproximando-se o suficiente para que se formem ligações de hidrogênio entre hidroxilas de polímeros adjacentes. Como resultado, a afinidade do polímero por água é reduzida, favorecendo a formação de pastas opacas e filmes resistentes (WURZBURG, 1986).

O grânulo de amido pode ser submetido ao processo de formação de gel, que consiste no aquecimento de uma solução de amido-água até uma determinada temperatura, variando de acordo com a fonte botânica do amido. Durante esse fenômeno ocorre a ruptura das estruturas cristalinas do grânulo de amido, o qual absorve água e intumescce irreversivelmente, adquirindo tamanho maior que o original. A amilose encontrada no interior dos grânulos é liberada durante e após a gelatinização, formando uma fase contínua de gel ao redor destes grânulos, resultando em um aumento da viscosidade. Após a gelatinização do amido, quando a temperatura é reduzida à ambiente, ocorre um rearranjo das moléculas por

ligações de hidrogênio, fator que favorece a recristalização, comumente chamada de retrogradação. No processo de retrogradação, há liberação de moléculas de água anteriormente ligadas às cadeias de amilose, esse fenômeno é denominado sinérese (BOBBIO; BOBBIO, 2003; HERMANSSON et al., 1996).



**Figura 1.** Estrutura química da amilose (a) e amilopectina (b).

Fonte: Corradini (2005).

### 3.1.1 Amido de Mandioca

A produção de mandioca (*Manihot esculenta*) encontra-se em ascensão no país, nos últimos anos. Segundo dados do Instituto Brasileiro de Economia (IBRE), o Brasil é o maior produtor de mandioca do continente, com 24 milhões de toneladas. Durante o período de 1998 a 2005, a produção nacional aumentou 35% (IEA, 2007).

Destaca-se o Estado do Paraná, terceiro maior produtor de mandioca do País, que é responsável por 75% da produção nacional deste amido; nos últimos 15 anos a produção de amido de mandioca no Paraná sofreu forte incremento, passando de 180 mil para 430 mil toneladas/ano (ABAM, 2008).

Estima-se que o consumo per capita de mandioca, no país, seja da ordem de 70 kg/ano, equivalente raiz. A farinha destaca-se como seu principal derivado, sendo consumida em todo o Brasil, especialmente pela população de renda mais baixa. O consumo médio de farinha é de aproximadamente 18 kg/habitante/ano (60 kg equivalente raiz) (IEA, 2007).

### 3.2 EXTRATO DE PRÓPOLIS

Por definição, a própolis é uma resina produzida pelas abelhas da espécie *Apis mellifera*. Coletadas de diferentes partes das plantas, como brotos, botões florais e exsudados resinosos, misturada com as secreções produzidas em seu organismo, dando origem a um material de coloração e consistência variada, utilizada para fechar pequenas frestas, embalsamar insetos mortos no interior da colmeia e proteger contra a invasão de insetos e microrganismos (GHISALBERTI et. al., 1979).

A coloração da própolis depende da região, origem da planta e época de extração, podendo variar do marrom escuro passando a uma tonalidade esverdeada até o marrom avermelhado. Apresenta um odor característico que pode variar de uma amostra para outra. O ponto de fusão é variável entre 60 e 70°C, sendo que pode atingir, em alguns casos, até 100°C (MARCUCCI, 1996).

Os principais compostos químicos isolados da própolis até o momento podem ser organizados em alguns grupos principais como: ácidos e ésteres alifáticos, ácidos e ésteres aromáticos, açúcares, álcoois, aldeídos, ácidos graxos, aminoácidos, esteroides, cetonas, charconas e di-hidrocharconas, flavonóides, terpenóides, proteínas, vitaminas B1, B2, B6, C, E, bem como diversos minerais (MENEZES, 2005). Dentre estes grupos de compostos, o grupo dos flavonoides, que são membros de uma classe de compostos naturais tem sido objeto de considerável interesse científico e terapêutico, por atuarem como antioxidantes e apresentarem atividade antimicrobiana e moduladora do sistema imune (HAVSTEEN, 2002; WILLIAMS; SPENCER; RICE-EVANS, 2004).

### 3.3 FILMES DE AMIDO

Filmes confeccionados exclusivamente com amido são pouco flexíveis e quebradiços e se adequam com dificuldade aos processamentos convencionais, tais como a extrusão para a produção de embalagens. Por esses motivos, a introdução de aditivos às matrizes poliméricas torna-se necessária, sendo a questão da rigidez dos filmes resolvida através da adição de plastificantes, que melhoram suas propriedades mecânicas (GONTARD; GUILBERT; CUQ, 1993; SHIMAZU; MALI; GROSSMANN, 2007).

A incorporação do plastificante aos filmes pode modificar as propriedades de adesão, permeabilidade ao vapor de água, ao oxigênio e também as propriedades mecânicas e térmicas. As interações entre os plastificantes e os polímeros podem sofrer interferências de fatores como: tamanho molecular, configuração e número total de grupos hidroxilas dos plastificantes (BATISTA, 2004).

Para a escolha do plastificante a ser adicionado na formulação do filme, deve ser considerada a compatibilidade deste com o polímero e o solvente utilizados, de modo que o mesmo apresente-se totalmente disperso na solução filmógena, evitando a formação de um filme com camadas distintas (FARRO, 2008).

Para os filmes a base de amido, os plastificantes mais empregados são os poliois, como glicerol e sorbitol, porém os efeitos provocados pelo glicerol são mais acentuados que os provocados pelo sorbitol (MALI et al., 2005). O glicerol devido à sua compatibilidade e interação com as cadeias de amido, aumenta a mobilidade molecular e, conseqüentemente a flexibilidade dos filmes de amido. Contudo, um efeito negativo do seu uso é o aumento da hidroflicidade e permeabilidade ao vapor de água, causado por seu caráter hidrofílico (SHIMAZU; MALI; GROSSMANN, 2007).

Vários estudos têm sido feitos para analisar as propriedades de filmes à base de amido (ARVANITOYANNIS et al., 1998; GARCIA; MARTINO; ZARITZKY, 1999, 2000; LOURDIN et al., 1995; MALI; GROSSMANN, 2003; MALI et al., 2002, 2004, 2005).

Alves et al. (2007) produziu filmes de amido de mandioca pelo método de *casting* com o objetivo de investigar o efeito do glicerol e amilose em suas propriedades. Os resultados demonstram que os filmes com maior proporção de amilose apresentaram-se mais fortes e menos permeáveis ao vapor de água.

Dias et al. (2011) realizou um estudo para desenvolver filmes biodegradáveis à base de farinha de arroz e aumentar as suas propriedades por reforçá-las com fibras de celulose. Desta forma, os filmes de farinha de arroz, com e sem fibras foram preparadas utilizando-se glicerol ou sorbitol como agente plastificante. Filmes preparados com fibras e plastificados com sorbitol apresentaram menores permeabilidades ao vapor de água. Além disso, a utilização de fibras de celulose, como agente de reforço é uma alternativa viável para melhorar as propriedades de filmes à base de farinha de arroz, porque eles são biodegradáveis e disponíveis a baixo custo.

Galdeano et al. (2013) investigou o comportamento de filmes e laminados de amido de aveia, produzidos por casting e extrusão, respectivamente, plastificados com glicerol, sorbitol e ureia e armazenados em diferentes condições de umidade relativa. Pela análise geral, os materiais plastificados com glicerol apresentaram maior velocidade e capacidade de sorção de água. No entanto, o sorbitol foi mais efetivo, pois produziu materiais com propriedades mecânicas similares às dos outros plastificantes.

### 3.4 EMBALAGENS ATIVAS BIODEGRADÁVEIS

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

Cunha et al. (2007) produziram filme de base celulósica, pela técnica de casting, incorporado com lactase para redução do teor de lactose presente no leite. Os filmes adicionados de 1 e 1,5 mL da enzima lactase reduziram, respectivamente, 78 e 85% da lactose após 24 horas de contato a 7°C e 92 e 100% após 25 horas de contato a 25°C. Os filmes apresentaram estabilidade quando estocados à temperatura ambiente e de refrigeração. Portanto, o filme desenvolvido apresentou potencialidade para ser usado como revestimento interno de embalagens para acondicionar leite.

Alguns estudos relatam a adição de extrato etanólico de própolis (EEP) na produção de filmes biodegradáveis de diversas fontes, por seu efeito antimicrobiano e antioxidante. Pastor et al. (2010) desenvolveram filmes a base de hidroxipropilmetilcelulose e avaliaram o efeito da adição de EEP sobre as propriedades mecânicas, de barreira ao vapor de água e antifúngica. Os filmes com EEP apresentaram atividade antifúngica, mas tornaram-se opacos e rígidos.

Bodini et al. (2013) produziram filmes a base de gelatina plastificados com sorbitol e adicionados de diferentes concentrações de EEP. Os filmes contendo EEP tornaram-se menos rígidos, com menor permeabilidade ao vapor de água e a atividade antimicrobiana a *Staphylococcus aureus* ocorreu quando incorporado 40 g de EEP / 100 g de gelatina. Outra questão relevante é que os filmes mantiveram a concentração de polifenóis durante 177 dias de armazenamento.

## 4. MATERIAL E MÉTODOS

### 4.1 MATERIAL

O amido de mandioca (Lorenz Alimentos S.A., Indaial, SC, Brasil) utilizado nos experimentos foi adquirido na rede local de supermercados da cidade de Luiziana, PR, Brasil. O plastificante utilizado foi o glicerol comercial da marca Dinâmica (São Paulo, Brasil). O extrato etanólico de própolis foi adquirido na Real Mel Empacotamento e Comércio de Produtos Alimentícios, localizada na cidade de Campo Mourão, PR, Brasil.

### 4.2 PRODUÇÃO DOS FILMES DE AMIDO ADICIONADOS DE EEP

Os filmes estudados neste trabalho foram elaborados pela técnica de *casting* de acordo com Mali et al., (2005). A concentração de amido foi de 3 g de amido / 100 g de solução filmogênica, a de glicerol foi de 20 g / 100 g de amido e foram estudadas três concentrações de extrato alcóolico de própolis (0,5; 0,75; e 1%) em relação à solução filmogênica total.

Inicialmente, todos os componentes foram pesados e misturou-se a água, o glicerol e o amido em um béquer. Essa mistura foi aquecida até 70°C (para garantir a gelatinização do amido de mandioca) sob agitação manual, em uma chapa aquecedora Solab (Piracicaba - SP, Brasil). Em seguida adicionou-se o EEP e continuou-se a agitação até atingir a temperatura de 80°C. Essa solução filmogênica foi então espalhada em forma revestida de teflon (25 cm x 37cm) e seca em estufa com circulação de ar (Nova ética, Vargem Grande Paulista – SP, Brasil) a 40°C/16horas.

**Tabela 1.** Formulações utilizadas para a produção dos filmes de amido de mandioca incorporados com EEP.

<b>Formulação</b>	<b>Água(g)</b>	<b>Glicerol(g)</b>	<b>Amido(g)</b>	<b>Própolis(g)</b>
<b>Controle</b>	289,20	1,8	9	—
<b>EP 0,5%</b>	287,70	1,8	9	1,5
<b>EP 0,75%</b>	286,95	1,8	9	2,25
<b>EP 1%</b>	286,20	1,8	9	3

### 4.3 CARACTERIZAÇÃO DOS FILMES

#### 4.3.1 Análise Subjetiva

Refere-se à aparência do filme avaliada por observações táteis e visuais. O filme deve apresentar uma superfície homogênea e contínua, ou seja, foram excluídos das análises aqueles filmes defeituosos que apresentaram fissuras e bolhas após o processo de secagem, ou aqueles que continham partículas insolúveis.

#### 4.3.2 Espessura

A medida da espessura dos filmes foi feita com micrômetro digital, marca Starrett (São Paulo, Brasil) com resolução de 0,001mm, em 10 posições aleatórias para cada amostra.

#### 4.3.3 Densidade

A densidade foi determinada cortando-se amostras de 2 cm x 2 cm dos filmes. Essas amostras foram desidratadas em dessecador contendo sílica gel por três semanas e depois pesadas (MÜLLER; LAURINDO; YAMASHITA, 2008).

O cálculo da densidade ( $\text{g/cm}^3$ ) foi feito com o auxílio da Equação 1:

$$d = \frac{m}{V} = \frac{m}{A \cdot e} \quad (\text{Equação 1})$$

na qual,  $m$  é a massa da amostra (g),  $A$  é a área da amostra (4 cm<sup>2</sup>) e  $e$  é a espessura (cm) da amostra.

#### 4.3.4 Propriedades Mecânicas

Os ensaios mecânicos foram realizados no Laboratório do Programa de Pós-graduação em Ciência de alimentos da Universidade Estadual de Londrina, Londrina – PR, Brasil.

Os filmes foram cortados nas dimensões de 50 x 20 mm e condicionados em dessecadores contendo solução salina saturada de nitrato de magnésio (53% de umidade relativa de equilíbrio) a 25 °C pelo período de 48 horas, conforme os métodos e normas da *American Society for Testing and Material* (ASTM D-882-00, 2011). Após o condicionamento, os ensaios de tração foram realizados em texturômetro, marca *Stable Micro Systems*, modelo TA XTplus (Inglaterra), com distância inicial das garras de 50 mm e velocidade de tração de 0,8 mm s<sup>-1</sup>. As propriedades determinadas foram resistência máxima a tração (MPa), alongamento na ruptura (%) e módulo de elasticidade ou de Young (MPa). Foram realizadas 10 medidas para cada formulação.

##### 4.3.4.1 Resistência máxima à tração

A resistência máxima à tração ( $R_{máx}$ ) é a relação entre a força máxima ( $F_{máx}$ ) medida e a área ( $A$ ) inicial do corpo de prova, a qual é calculada com os valores de largura ( $L$ ) e espessura ( $e$ ) do corpo de prova, utilizando a Equação (2).

$$R_{máx} = \frac{F_{máx}}{A_{mín}} = \frac{F_{máx}}{L \cdot e_{mín}} \quad (\text{Equação 2})$$

#### 4.3.4.2 Elongação na ruptura

A elongação na ruptura (E) é a relação percentual entre a elongação ( $E_{rup}$ ) do corpo de prova na ruptura e o seu comprimento inicial, que corresponde à distância entre as garras ( $D_{garras}$ ) como mostrado na Equação (3).

$$E = \frac{E_{rup}}{D_{garras}} \cdot 100 \quad (\text{Equação 3})$$

#### 4.3.4.3 Módulo de Young

O módulo de Young (MY) foi determinado a partir da região linear da curva de tensão versus deformação, conhecida como região elástica, de acordo com a Equação 4.

$$MY = \frac{F_x}{(e \cdot L)} \cdot \frac{DG}{A_x} \quad (\text{Equação 4})$$

Onde:

MY = Módulo de Young (MPa)

$F_x$  = Força registrada no ponto x, da região linear (N)

e = Espessura do corpo de prova (m)

L = Largura inicial do corpo de prova (m)

DG = Distância entre as garras (m)

$A_x$  = Alongamento registrado no ponto x (m)

#### 4.3.4.4 Teste de Perfuração

O teste de perfuração foi utilizado para determinar a força (N) e a deformação (mm) das amostras sendo realizado de acordo com Sarantópoulos et al., (2002) com algumas modificações. Os corpos de prova de 20 x 20 mm foram fixados em suporte circular do texturômetro (*Stable Micro Systems*, modelo TA XTplus, Inglaterra) e uma sonda metálica de ponta esférica com diâmetro de 6,35 mm a uma velocidade de 25 mm/min fez a perfuração das amostras.

#### 4.3.5 Permeabilidade ao Vapor de Água (PVA)

As amostras foram caracterizadas pelo método gravimétrico, segundo metodologia ASTM E-96-00 (2000). Cada amostra de filme foi cortada em formato de disco com 60 mm de diâmetro e foram previamente condicionados em dessecador sob umidade relativa (UR) de 53% a 25 °C durante 48 horas. Em seguida, cada amostra foi fixada na cápsula, vedada nas extremidades com graxa de silicone e presos hermeticamente com os anéis para garantir que a migração de umidade ocorresse através do filme. O interior da cápsula foi previamente preenchido com cloreto de cálcio anidro (0% UR) e o sistema foi condicionado em dessecador contendo solução salina de cloreto de sódio (75% UR) a 25°C.

Sucessivas pesagens foram realizadas a cada 2 horas, por um intervalo de tempo de 24 horas. O ganho de massa ( $m$ ) foi plotado em função do tempo ( $t$ ) sendo determinado o coeficiente angular através da equação da reta obtida por regressão linear e a taxa de permeabilidade ao vapor de água (TPVA) calculada através da Equação 5:

$$TPVA = \frac{m}{t} \times \frac{1}{A} \quad (\text{Equação 5})$$

A permeabilidade ao vapor de água foi calculada a partir da Equação 6:

$$PVA = \frac{(TPVA \times e)}{p_s \times (UR_1 - UR_2)} \quad (\text{Equação 6})$$

Onde:

PVA = Permeabilidade ao vapor de água ( $\text{g.dia}^{-1} \cdot \text{m}^{-1} \cdot \text{Pa}^{-1}$ );

$e$  = Espessura média do corpo-de-prova (m);

$P_s$  = Pressão de saturação e vapor a temperatura do ensaio (Pa);

$UR_1$  = Umidade relativa dentro do dessecador (%);

$UR_2$  = Umidade relativa dentro da cápsula (%);

TPVA = Taxa de permeabilidade ao vapor de água ( $\text{g.h}^{-1} \cdot \text{m}^{-2}$ );

$m$  = Ganho de massa de água (g);

$t$  = Tempo (s);

$A$  = Área de permeação do corpo de prova ( $\text{m}^2$ ).

#### 4.3.6 Cinética de Sorção de Água

A cinética de sorção de umidade foi determinada conforme Mali et al. (2005). Os filmes foram cortados em pedaços pequenos de aproximadamente 0,5 x 0,5 cm e foram previamente condicionados em dessecador contendo sílica gel por 10 dias. Em seguida, 0,5 g de cada amostras foram colocados em cadinhos de alumínio e condicionados em dessecador com 53% UR a 25°C. As amostras foram pesadas em sucessivos intervalos de tempo até atingir o equilíbrio e o conteúdo de umidade foi determinado pela secagem em estufa a 105°C. Os dados de sorção de umidade foram ajustados ao modelo de Peleg (Equação 7) com auxílio do software Statistica 7.0. O teste foi conduzido em triplicata.

$$M(t) = m_0 + (t / k_1 + k_2.t) \text{ (Equação 7)}$$

Onde:

$M(t)$  = Umidade após o tempo  $t$ ;

$m_0$  = Conteúdo de umidade inicial;

$k_1$  = Constante de velocidade de Peleg (h / (g água / g sólidos));

$k_2$  = Constante de capacidade de Peleg (g água / g sólidos).

#### 4.3.7 Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)

A análise de microestrutura dos filmes foi realizada no Laboratório de Microscopia Eletrônica da Universidade Estadual de Londrina, Londrina - PR, Brasil, utilizando-se microscópio eletrônico de varredura (FEI Quanto 200). As amostras foram imersas em nitrogênio líquido para, serem fraturadas e em seguidas foram mantidas em dessecador contendo cloreto de cálcio (0% URE) por um período 48 horas para secar. As amostras secas foram cobertas com ouro em um *Sputter Coater* (BAL-TEC SCD 050). Feito este preparo, as amostras foram visualizadas em microscópio eletrônico de varredura para análise da superfície e da área de fratura.

#### 4.3.8 Atividade Antimicrobiana

Para esta análise, inicialmente, a bactéria *Staphylococcus aureus* e *Escherichia Coli* foram reativadas em caldo de soja tríptica, a 35°C, até alcançar ou exceder a turbidez de uma solução padrão de McFarland de 0,5. Placas de ágar Muller-Hinton, previamente preparadas, foram então inoculadas em superfície com 0,1mL de *Staphylococcus aureus* e *Escherichia Coli* ( $10^8$  UFC/mL) e discos de 2 mm de diâmetro dos filmes foram colocados sobre a superfície das placas, sendo as mesmas incubadas a 37°C por 24 horas. Após este período observou se houve a formação de halos de inibição.

#### 4.4 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Para análise estatística dos resultados foi empregado o programa computacional Statistica versão 7.0 (STATSOFT, USA). Foram realizadas análises de variância (ANOVA) e teste de Tukey para comparação das médias, com nível de significância de 5%.

### 5. RESULTADOS E DISCUSSÕES

#### 5.1 ANÁLISE SUBJETIVA

Os filmes de amido de mandioca plastificado com glicerol (controle) apresentaram-se transparentes, homogêneos, com boa manuseabilidade e não contendo bolhas ou rachaduras na superfície.

À medida que foi adicionando-se o extrato etanólico de própolis (EEP) os filmes tornaram-se levemente amarelados, com bolhas pontuais na superfície e com áreas descontínuas.

## 5.2 ESPESSURA E DENSIDADE

Os valores de espessura e densidade dos filmes de amido de mandioca com incorporação de EEP estão apresentados na Tabela 2.

**Tabela 2.** Espessura e densidade dos filmes de amido de mandioca incorporados com EEP.

Formulação	Espessura ( $\mu\text{m}$ )	Densidade ( $\text{g}/\text{cm}^3$ )
<b>Controle</b>	106 $\pm$ 12 <sup>a</sup>	1,39 $\pm$ 0,02 <sup>a</sup>
<b>EP 0,5%</b>	104 $\pm$ 14 <sup>a</sup>	1,29 $\pm$ 0,06 <sup>a</sup>
<b>EP 0,75%</b>	110 $\pm$ 9 <sup>a</sup>	1,30 $\pm$ 0,05 <sup>a</sup>
<b>EP 1%</b>	107 $\pm$ 15 <sup>a</sup>	1,30 $\pm$ 0,02 <sup>a</sup>

<sup>a</sup> As médias na mesma coluna com diferentes letras diferem significativamente ( $p \leq 0,05$ ) pelo teste de Tukey.

A técnica de *casting* utilizada no desenvolvimento dos filmes permitiu um controle satisfatório da espessura dos filmes, constatado pelos valores de espessura apresentados na Tabela 2, que são estatisticamente iguais. Os filmes deste trabalho apresentaram espessura maior quando comparado com a dos filmes de amido de mandioca plastificado com glicerol ou sorbitol (MÜLLER; YAMASHITA; LAURINDO, 2008) e de filmes de amido de banana verde (PELLISSARI et al., 2013).

A densidade dos filmes de amido foram estatisticamente ( $p < 0,05$ ) iguais em todas as formulações, indicando que a adição de EEP não interferiu nesta propriedade. Os valores de densidade neste trabalho foram menores que os valores encontrados por Müller et al. (2008), para filmes de amido de mandioca plastificados com 35 g / 100 g de amido ( $2,46 \text{ g} / \text{cm}^3$ ) e próximos ao reportado por Pelissari et al. (2013) em filmes de amido de banana verde ( $1,34 \text{ g} / \text{cm}^3$ ).

## 5.3 PROPRIEDADES MECÂNICAS

As propriedades mecânicas dos filmes de amido de mandioca com incorporação de EEP, apresentados em termos de resistência a tração (T),

elongação na ruptura (E) e módulo de Young (MY), Força na perfuração (P) e Deslocamento na perfuração (D) encontram-se na Tabela 3.

**Tabela 3.** Propriedades mecânicas dos filmes biodegradáveis de amido de mandioca incorporados com EEP.

Formulação	Teste de tração			Teste de perfuração	
	T (MPa)	MY (MPa)	E (%)	P (N)	D (mm)
<b>Controle</b>	6,7 ± 2,2 <sup>a</sup>	265 ± 72 <sup>a</sup>	18,8 ± 5,5 <sup>b,c</sup>	22,2 ± 4,6 <sup>a</sup>	2,7 ± 0,4 <sup>a</sup>
<b>EP 05%</b>	6,3 ± 1,3 <sup>a</sup>	156 ± 37 <sup>b</sup>	23,3 ± 5,5 <sup>a,b</sup>	18,9 ± 1,9 <sup>a</sup>	3,1 ± 0,8 <sup>a</sup>
<b>EP 0,75%</b>	5,1 ± 2,3 <sup>a</sup>	172 ± 50 <sup>b</sup>	27,4 ± 5,7 <sup>a</sup>	15,5 ± 4,5 <sup>a,b</sup>	2,5 ± 0,2 <sup>a</sup>
<b>EP 1%</b>	5,5 ± 1,6 <sup>a</sup>	145 ± 44 <sup>b</sup>	12,6 ± 2,2 <sup>c</sup>	11,3 ± 3,4 <sup>b</sup>	2,9 ± 0,9 <sup>a</sup>

T = Resistência máxima a tração; MY = Módulo de Young; E = Elongação na ruptura; P = Força na perfuração; D = Deslocamento na perfuração.

<sup>a,b,c</sup> As médias na mesma coluna com diferentes letras diferem significativamente ( $p \leq 0,05$ ) pelo teste de Tukey.

Os resultados indicam que os valores obtidos para a resistência máxima à tração e para o deslocamento na perfuração dos filmes com adição de EEP não apresentaram diferença significativa em relação ao filme controle. Para a elongação máxima na ruptura, apenas o filme com a concentração de 0,75% de EEP apresentou um aumento significativo em relação ao filme controle, possivelmente devido ao seu efeito plastificante.

O módulo de Young é a relação entre a resistência à tração e porcentagem de alongamento e indica a rigidez do filme, ou seja, quanto maior o valor do módulo de Young mais rígido será o filme (OLIVEIRA, 1996). Neste trabalho verificou-se que a adição de EEP promoveu redução significativa de aproximadamente 50% deste parâmetro. Possivelmente, a dispersão de componentes na matriz polimérica pode ter provocado o aparecimento de zonas de descontinuidades, resultando em redução do módulo de Young, conforme relatado por Pastor et al. (2010). Outro fator a se considerar é que o EPP contém ceras que pode ter atuado como plastificante, que aumentou a mobilidade das cadeias de amido deixando os filmes menos rígidos.

Com relação ao teste de perfuração, a incorporação de 1% de EEP reduziu significativamente a força na perfuração (F) para 11,3 N. De forma análoga ao discutido anteriormente, o EEP atuou como plastificante, proporcionando maior flexibilidade ao filme. Valores próximos de F (17,32N) foram encontrados em filmes

de amido de aveia plastificado com glicerol (GALDEANO et al., 2013) e filmes de amido de mandioca com alto teor de amilose (19,6 N) (ALVES et al., 2007). Já os filmes a base de farinha (6,0 N) e amido (8,1 N) de banana verde foram menos resistentes (PELISSARI et al., 2013).

Em relação a dados encontrados na literatura sobre filmes biodegradáveis contendo EEP, pode-se citar o estudo de Pastor et al. (2010), que verificaram que a adição do bioativo em diferentes concentrações (0 a 1,5%) em filmes à base de hidroxipropilmetilcelulose (HPMC) não afetou significativamente a tensão na ruptura e o módulo elástico dos filmes, mas a elongação na ruptura diminuiu significativamente com o aumento da concentração de EEP.

Em filmes de gelatina adicionados de EEP (5 a 200 g de EEP / 100 de gelatina) produzidos por Bodini et al. (2013) observou-se redução na resistência à tração e no módulo elástico com o aumento na concentração de EEP. Os autores atribuem estes resultados ao efeito plastificante do EEP.

Apesar da escassez de resultados que utilizam o EEP como componente bioativo, a literatura reporta diversos estudos envolvendo a adição de outros compostos antimicrobianos, sobretudo óleos essenciais em filmes à base de macromoléculas naturais, cujos efeitos da incorporação destas substâncias nas propriedades mecânicas parecem variar em função da macromolécula utilizada, do tipo e concentração do aditivo, e das interações entre macromolécula e o agente antimicrobiano.

#### 5.4 PERMEABILIDADE AO VAPOR DE ÁGUA (PVA)

Os valores da Permeabilidade ao Vapor de Água (PVA) dos filmes de amido de mandioca com incorporação de EEP estão apresentados na Tabela 4.

**Tabela 4.** Permeabilidade ao Vapor de Água (PVA) dos filmes de amido de mandioca incorporados com EEP.

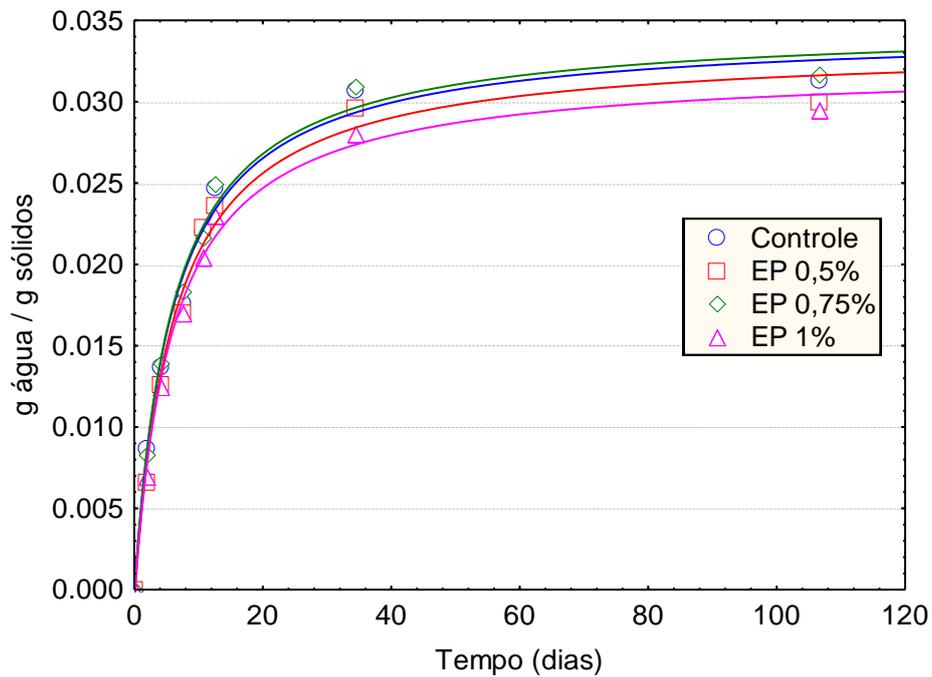
Formulação	PVA x 10 <sup>6</sup> (g.dia <sup>-1</sup> .m <sup>-1</sup> .Pa <sup>-1</sup> )
Controle	7,06 ± 1,15 <sup>b</sup>
EP 0,5%	8,03 ± 0,70 <sup>b</sup>
EP 0,75%	8,77 ± 0,74 <sup>b</sup>
EP 1%	2,95 ± 0,32 <sup>a</sup>

<sup>a,b</sup> As médias na mesma coluna com diferentes letras diferem significativamente ( $p \leq 0,05$ ) pelo teste de Tukey.

A partir dos dados apresentados na Tabela 4, observa-se que as formulações EP 0,5%, EP 0,75% e o controle apresentaram os maiores valores de PVA, quando comparado com EP 1%, sugerindo que altas concentrações de EEP alteram a interação da água com a matriz polimérica, possivelmente devido à redução na higroscopicidade dos filmes proporcionada pelos componentes hidrofóbicos presentes neste.

Pastor et al. (2010) também verificaram que a adição de EEP (0,125 a 1,5%) em filmes de hidroxipropilmetilcelulose promoveram redução na PVA. De maneira similar, Zivanovic, Chi e Draughon (2005) verificaram que filmes de quitosana enriquecidos com óleo de orégano apresentaram redução na PVA, devido à hidrofobicidade do óleo. Ojagh et al. (2007) também verificaram que a adição de óleo essencial de canela (0,4 – 2%) em filmes de quitosana promoveu redução significativa na PVA em todas as concentrações estudadas.

## 5.5 CINÉTICA DE SORÇÃO DE ÁGUA



**Figura 2.** Curvas de sorção de umidade dos filmes de amido de mandioca incorporados EEP a 53% UR.

As curvas de cinética de sorção de umidade dos filmes de amido adicionados de EEP estão apresentadas na Figura 2 e os parâmetros do modelo de Peleg encontram-se na Tabela 5.

**Tabela 5.** Parâmetros do modelo de Peleg dos filmes de amido de mandioca incorporados com EEP.

Formulação	$k_1$ (h / (g água/g sólidos))	$k_2$ (g água/g sólidos)	$R^2$
Controle	170,3	29,0	0,99
EP 0,5%	173,8	29,3	0,99
EP 0,75%	167,7	28,6	0,99
EP 1%	182,5	30,6	0,99

$k_1$  = constante de velocidade de Peleg;  $k_2$  = constante de capacidade de Peleg ;  $R^2$  = coeficiente de determinação

Avaliando as curvas de sorção de umidade (Figura 2), constatou-se que a adsorção de umidade foi mais rápida nas fases iniciais do armazenamento e quantidades menores de água foram adsorvidas com o decorrer do tempo. Comportamento similar foi verificado por Mali et al. (2005) em filmes de amido de mandioca plastificado com glicerol ou sorbitol e por Galdeano et al. (2013) em filmes e laminados de amido de aveia.

O modelo de Peleg se ajustou de forma satisfatória, pois para todos os casos o coeficiente de determinação ( $R^2$ ) foi maior que 0,99. No modelo de Peleg, o parâmetro  $k_1$  está relacionado à transferência de massa, sendo que quanto menor  $k_1$ , maior a velocidade inicial de sorção de umidade.  $k_2$  está relacionado à capacidade de sorção de água e, quanto menor  $k_2$ , maior a capacidade de sorção.

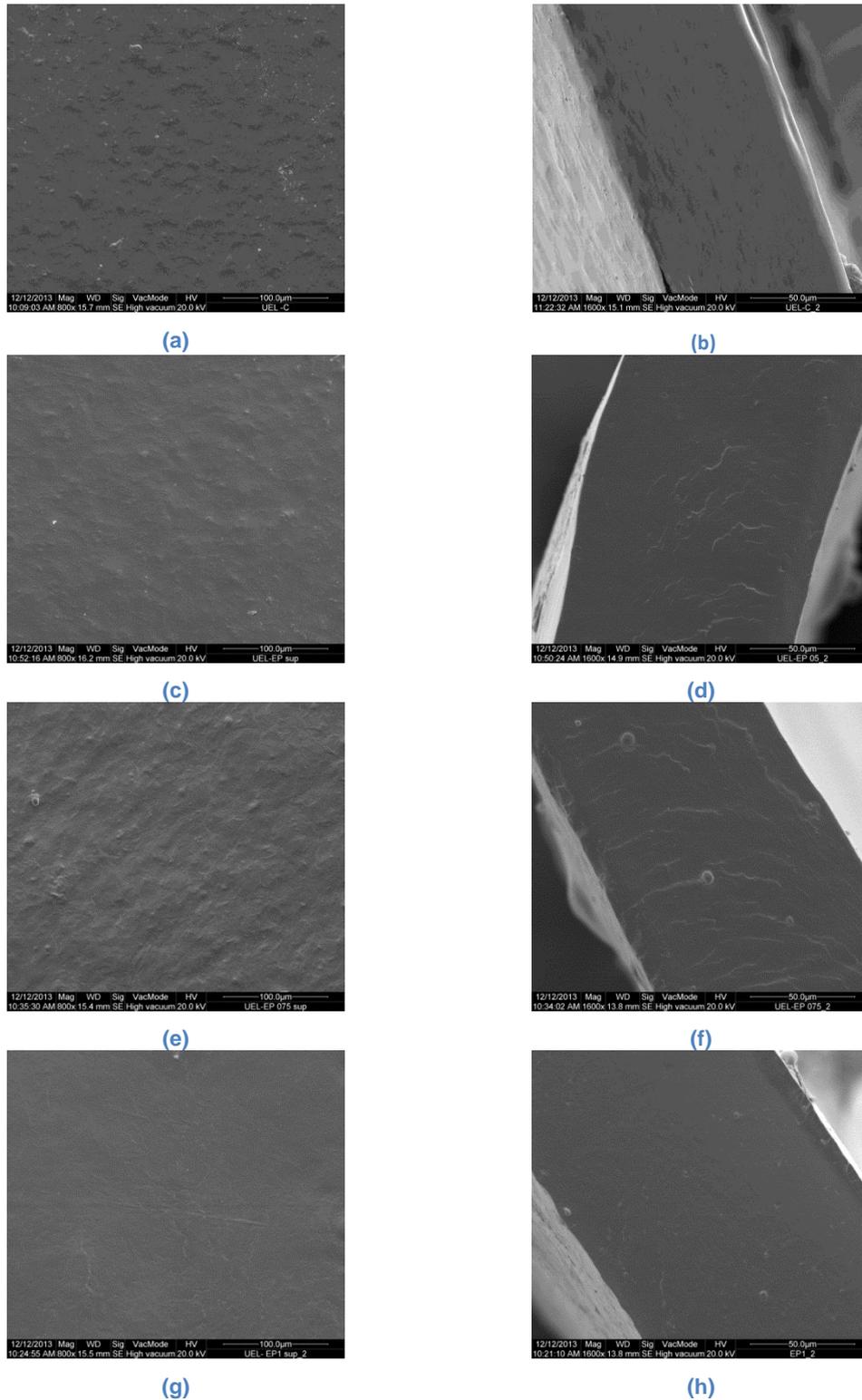
O filme EP 1% apresentou maiores valores de  $k_1$  e  $k_2$  quando comparado com as demais amostras sugerindo uma quantidade menor de água adsorvida e em uma velocidade reduzida. Esses resultados correlacionam com os de PVA discutidos anteriormente, onde maiores concentrações de EEP interferiram nas propriedades de sorção de água, conferindo um caráter levemente hidrofóbico aos filmes.

Os parâmetros do modelo de Peleg estimados neste trabalho foram superiores aos relatados por Mali et al. (2005) e Galdeano et al. (2013). As diferenças podem estar relacionadas com os métodos de produção dos filmes, com a quantidade de plastificante adicionada e pela presença de compostos no EEP que diminuiu a hidrofiliabilidade.

## 5.6. MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE VARREDURA (MEV)

As imagens de microscopia eletrônica de varredura (MEV) da superfície e da fratura dos filmes encontram-se na Figura 3.

Comparando-se as micrografias dos filmes contendo EEP (Figuras 3c, 3d, 3e, 3f, 3g e 3h) com o filme controle (Figuras 3a e 3b) verificou-se que a adição deste não interferiu na estrutura interna da matriz polimérica, pois todos apresentaram uma estrutura compacta, homogênea, sem poros e rachaduras o que segundo Jensen et al. (2009) é um bom indicativo da sua integridade estrutural.



**Figura 3** - Imagens de microscopia eletrônica de varredura dos filmes de amido de mandioca incorporados com EEP: (a) controle = imagem da superfície (800x); (b) controle = imagem da fratura (1.600x); (c) EP 0,5%= imagem da superfície (800x); (d) EP 0,5% = imagem da fratura (1.600X); (e) EP 0,75% = imagem da superfície (800X); (f) EP 0,75% = imagem da fratura (1.600X); (g) EP 1% = imagem da superfície (800X); (h) EP 1% = imagem da fratura (1.600X).

Em relação à superfície dos filmes (Figuras 3a, 3c, 3e e 3g), estas mostraram-se levemente rugosas, possivelmente associadas à formação de caminhos preferenciais, durante a secagem, para a eliminação do ar incorporado durante a agitação intensa no processo de preparo dos filmes. De um modo geral as amostras mostraram uma estrutura homogênea, independente da presença ou não do EEP.

### 5.7 Atividade Antimicrobiana

Os filmes contendo EEP produzidos neste trabalho não apresentaram atividade antimicrobiana contra *S. aureus* e *Escherichia Coli*.

Todavia, estudos comprovam que em filmes contendo concentrações de EEP superiores ao utilizado no presente estudo, apresentam efeito inibitório sobre microorganismos.

Bodini et al. (2013) também constataram que baixas concentrações de EEP em filmes de gelatina (5 g EEP/100 g gelatina) não apresentaram atividade antimicrobiana contra *S. aureus*.

PASTOR *et al.* (2010) estudaram a atividade antifúngica de filmes ativos a base de hidroxipropilmetilcelulose (HPMC) contendo EEP contra *Penicillium italicum* e *Aspergillus niger*. 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.

O aumento na concentração de EEP nos filmes de amido seria uma alternativa para que este viesse a apresentar atividade antimicrobiana e que possuísse potencial para ser aplicado como embalagem ativa. Entretanto, testes preliminares revelaram que concentrações superiores a 1% de EEP não possibilitou a produção de filme pela técnica de *casting*.

## 6. CONCLUSÃO

A espessura e a densidade dos filmes de amido não tiveram diferença significativa, indicando que a adição de EEP não interferiu nos resultados e que, de certa forma, o processo de secagem foi adequado.

Com relação às propriedades mecânicas, a incorporação de EEP reduziu a rigidez dos filmes possivelmente pelo seu efeito plastificante. Para a Permeabilidade ao Vapor de Água (PVA) observou-se que a formulação EP 1% apresentou menor valor de PVA, devido às ceras presentes no EEP que podem ter atribuído um caráter hidrofóbico.

As imagens de microscopia eletrônica de varredura (MEV) da superfície e da fratura dos filmes não mostraram diferença, indicando uma matriz polimérica lisa e homogênea.

Os filmes contendo EEP produzidos neste trabalho não apresentaram atividade antimicrobiana contra *S. aureus* e *Escherichia Coli*. A solução seria o aumento da concentração de EEP na formulação dos filmes, mas isto acarretou em mudanças drásticas nas propriedades funcionais dos filmes, conforme revelado em testes preliminares.

Apesar de se obter bons resultados, alguns desafios são encontrados, como o método de fabricação, chamado casting, pelo qual os filmes secam em placas dentro de estufas. Este é um procedimento demorado. Outro aspecto é o aroma da própolis, que não foi possível amenizá-lo totalmente.

## **7. SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS**

- Empregar a agitação mecânica na produção dos filmes para tentar incorporar maiores concentrações de extrato etanólico de própolis e assim o filme apresentar atividade antimicrobiana.

## 8. REFERÊNCIAS

- ABAM - ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DOS PRODUTORES DE AMIDO E MANDIOCA. *Produção Brasileira de Amido de Mandioca 1990 a 2007*. Disponível em: <[http://www.abam.com.br/prod\\_bra\\_9007.php](http://www.abam.com.br/prod_bra_9007.php)>. Acesso em: 24 nov. 2013.
- ALVES, V. D.; MALI, S.; BELEIA, A.; GROSSMANN, M. V. E. Effect of glycerol and amylose enrichment on cassava starch film properties. **Journal of Food Engineering**, v. 78, p. 941 – 946, 2007.
- ARVANITOYANNIS, I.; BILLIADERIS, C. G.; OGAWA, H.; KAWASAKI, N. Biodegradable films made from low-density polyethylene (LDPE), rice starch and potato starch for food packaging applications: Part 1. **Carbohydrate Polymers**, v. 36, p. 89–104, 1998.
- AVÉROUS, L.; FRIGRANT, C.; MORO, L. Starch-based biodegradable materials suitable for thermoforming packaging. **Starch/Stärke**, v.53, p.368-371, 2001.
- BALDWIN, E. A. Edible coatings for fruits and vegetables, past, present and future. In: KROCHTA, J.M.; BALDWIN, E.A.; NISPEROS-CARRIEDO, M. **Edible Coatings and films to improve food quality**. Lancaster (USA): Technomic Publishing Co., p. 25- 64. 1994. 392p.
- BARDI, M.A.G.; ROSA, D.S. Avaliação da biodegradação em solo simulado de poli (-caprolactona), acetato de celulose e suas blends. **Revista Brasileira de Aplicações de Vácuo**, São Paulo, v.26, n.1, p.43-47, 2007.
- BATISTA, J.A. **Desenvolvimento, caracterização e aplicações de biofilmes a base de pectina, gelatina e ácidos graxos em bananas e sementes de brócolos**. Dissertação de Mestrado, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, São Paulo, 2004.
- BIODIESELBR. Disponível em: <<http://www.biodieselbr.com>>. Acesso em: 25 nov. 2013.
- BOBBIO, F. O.; BOBBIO, P. A. *Introdução à química de alimentos*. 3ª ed. São Paulo: Varela, p. 63-64. 2003. 237p.
- BODINI, R. B. et al. Properties of gelatin-based films with added ethanol-propolis extract. *Food science and technology*, v. 51, n. 1, p. 104-110, 2013.
- CHANDRA, R.; RUSTGI, R. Biodegradable polymers progress. **Polymer Science**, 23, p.1273-1335, 1998.
- CHEN, CHENG-PEI; WANG, BE-JEN; WENG, YIH-MING. Physicochemical and antimicrobial properties of edible aloe/gelatin composite films. **International Journal of Food Science and Technology**, Oxford, v.45, p.1050–1055, 2010.

CHO, S. Y.; RHEE, C. Sorption characteristics of soy protein films and their relation to mechanical properties. *Lebensmittel-Wissenschaft and Technologie*, v. 35, p. 151-157, 2002.

CORRADINI, E.; LOTTI, C.; MEDEIROS, E. S. Estudo Comparativo de Amidos Termoplásticos Derivados do Milho com Diferentes Teores de Amilose. **Polímeros: Ciência e Tecnologia**, v. 15, n. 4, p. 268-273, 2005.

CUNHA, L. R.; SOARES, N. F. F.; ASSIS, F. C. C.; MELO, N. R.; PEREIRA, A. F.; SILVA, C. B. Desenvolvimento e avaliação de embalagem ativa com incorporação de lactase. **Ciênc. Tecnol. Aliment.**, Campinas, v. 27, p. 23-26, 2007.

CUQ, B.; GONTARD, N.; CUQ, J. L.; GUILBERT, S. Functional properties of myofibrillar protein based biopackaging as affected by film thickness. **Journal of Food Science**, 61,3, p.580-584, 1996.

CUQ, B., GONTARD, N.; GUILBERT, S. **Edible films and coatings as active layers. Active Food Packaging**, M. Rooney (Ed.), p. 111-142, 1995.

DIAS, A. B.; MÜLLER, C. M. O.; LAROTONDA, F. D. S.; LAURINDO, J. B. Mechanical and barrier properties of composite films based on rice flour and cellulose fibers. **LWT - Food Science and Technology**, v. 44, p. 535-542, 2011.

ELLIS, R.P.; COCHRANE, M. P.; DALE, M. F. B.; DUFFUS, C. M.; LYNN, A.; MORRISON, I. M.; PRENTICE, R. D. M.; SWANSTON, J. S.; TILLER, S. A. Starch production and industrial use (Review). **Journal of Science Food and Agriculture**, London, v.77, n. 3, p.289-311, 1998.

FALGUERA, V.; QUINTERO, J. P.; JIMENEZ, A.; MUÑOZ, J. A.; IBARZA, A. et al., Edible films and coatings: structures, active functions and trends in their use, **Trends in Food Science & Technology**, 2011, doi:10.1016/j.tifs.2011.02.004.

FARRO, P.C.A. **Desenvolvimento de filmes biodegradáveis a partir de derivados do grão de quinoa (*Chenopodium quinoa Willdenow*) variedade "Real"**. Tese de doutorado, Universidade Estadual de Campinas, 2008.

FISCHER, G.; HÜBNER, S. O.; VARGAS, G. D.; VIDOR, T. Imunomodulação pela Própolis. **Arq. Inst. Biol.**, São Paulo, v.75, n.2, p.247-253, 2008.

FRANCHETTI, S. M. M.; MARCONATO, J. C. Polímeros biodegradáveis: uma solução parcial para diminuir a quantidade dos resíduos plásticos. **Química Nova**, v. 29, n. 4, p. 811-816, 2006.

GALDEANO, M. C.; WILHELM, A. E.; GROSSMANN, M. V. E.; MALI, S. Efeito do processamento e das condições ambientais nas propriedades de materiais biodegradáveis de amido de aveia. **Polímeros**, 2013.

GARCIA, M. A. **Desarrollo de recubrimientos de matriz amilósica para vegetales**. Tese de Doutorado – Departamento de Química, Facultad de Ciências Exactas, Universidad Nacional de La Plata, Argentina, 1999.

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

GHISALBERTI, E.L., 1979. Propólis: a review. **Bee World, Bucks**, v.60, p.59–84, 1979.

GONTARD, N.; GUILBERT, S.; CUQ, J. L. Water and glycerol as plasticizers affect mechanical and water vapor barrier properties of an edible wheat gluten film. **J. of Food Sci.**, Chicago, v. 53, n. 1, p. 206-211, 1992.

GONTARD, N.; GUILBERT, S.; CUQ, J.L. Water and glycerol as plasticizers affect mechanical and water vapor barrier properties of an edible wheat gluten film. **Journal of Food Science**. v. 58, n. 1, p. 206-211, 1993.

GUILBERT, S.; CUQ, B.; GONTARD, N. Recent innovations in edible and/or biodegradable packaging materials. *Food Additives and Contaminants*, 14, p. 741-751, 1997.

HAVSTEEN, B. H. The biochemistry and medical significance of the flavonoids. **Pharmacology and Therapeutics**, Oxford, v.96, n.2-3, p.67-202, 2002.

HENRIQUE, C. M.; CEREDA, M. P.; SARMENTO, S. B. S. Características físicas de filmes biodegradáveis produzidos a partir de amidos modificados de mandioca. **Ciênc. Tecnol. Aliment.**, n.28, v.1, p. 231-240, 2008.

HERMANSSON, A. M.; SVEGMARK, K. Developments in the understanding of starch functionality. **Trends in Food Science & Technology**. v.7, p. 345-353, 1996.

IEA - INSTITUTO DE ECÔNOMIA AGRÍCOLA. *O agronegócio da mandioca na região paulista do Médio Paranapanema* Disponível em: <<http://www.iea.sp.gov.br>>. Acesso em: 23 nov. 2013.

JENSEN, S.; GROSSMANN, M. V.E.; MALI, S. Microestrutura e estabilidade de filmes de amido de mandioca adicionados de emulsificantes com diferentes equilíbrios hidrofílico/lipofílico. **Brazilian Journal of Food Technology**, v. 12, n. 2, p. 97 – 105, 2009.

KOWALCZYK, D.; BARANIAK, B. Effects of plasticizers, pH and heating of film-forming solution on the properties of pea protein isolate films. **Journal of Food Engineering**, v.105, p.295–305, 2011.

KROCHTA, J. M.; DE MULDER-JOHNSTON, C. Edible and biodegradable polymer films: challenges and opportunities. **Food Technology**, v.51, p.61-74, 1997.

LIMA, S. L. T. Reciclagem e biodegradação de plásticos. **Revista Científica do IMAPES**, Sorocaba, v. 2, n. 2, p. 28-34, 2004.

LOURDIN, D.; DELLA VALLE, G.; COLONNA, P. Influence of amylose content on starch films and foams. **Carbohydrate Polymers**, Barking, v. 27, n. 2, p. 261-270, 1995.

MALI, S.; GROSSMANN, M. V. E.; GARCIA, M. A.; MARTINO, M. M.; ZARITZKY, N. E. Microstructural characterization of yam starch films. **Carbohydrate Polymers**, v. 50, p. 379–386, 2002.

MALI, S.; GROSSMANN, M. V. E. Effects of yam starch films on storability and quality of fresh strawberries. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, p. 7005–7011, 2003.

MALI, S.; KARAM, L. B.; RAMOS, L. P.; GROSSMANN, M. V. E. Relationships among the composition and physicochemical properties of starches with the characteristics of their films. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 52 n. 25, p. 7720–7725, 2004.

MALI, S.; GROSSMANN, M. V. E.; GARCÍA, M. A.; MARTINO, M. N.; ZARITZKY, N. E. Barrier, mechanical and optical properties of plasticized yam starch films. **Carbohydrate Polymers**, v.56, p.129-135, 2004.

MALI, S.; SAKANAKA, L.S.; YAMASHITA, F. & GROSSMANN, M.V.E. Water sorption and mechanical properties of cassava starch films and their relation to plasticizing effect. **Carbohydrate Polymers**, v.60, p.283-289, 2005.

MARCUCCI, M. C. Propriedades biológicas e terapêuticas dos constituintes químicos da própolis. **Química nova**. São Paulo, v.5, n.19, p.529-536, 1996.

MACLEOD, G. S., FELL, J. T., COLLETT, J. H. Studies on the physical properties of mixed pectin/ethylcellulose films intended for colonic drug delivery. **International Journal of Pharmaceutics**, v.157, p.53-60, 1997.

MENEZES, H. Própolis: uma revisão dos recentes estudos de suas propriedades farmacológicas. **Revista Arquivos do Instituto Biológico**, São Paulo, v.72, n.3, p.405-411, 2005.

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

OJAGH, S. M. et al. Development and evaluation of a novel biodegradable film made from chitosan and cinnamon essential oil with low affinity toward water. **Food Chemistry**, London, v.122, p.161–166, 2010.

OLIVEIRA, L. M. *Ensaio para avaliação de embalagens plásticas flexíveis*. Campinas: Centro de Tecnologia de Embalagem, CETEA, p. 219, 1996.

PASTOR, C. et al. 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.

PELISSARI, F. M., GROSSMANN, M. V. E., YAMASHITA, F., PINEDA, E. A. G. Antimicrobial, mechanical, and barrier properties of cassava starch-chitosan films incorporated with oregano essential oil. **Journal of Agricultural Food and Chemistry**, v.57, p.7499 – 7504, 2009.

PELISSARI, F. M.; ANDRADE-MAHECHA, M. M.; SOBRAL, P. J. A.; MENEGALLI, F. C. Comparative study on the properties of flour and starch films of plantain banana (*Musa paradisiaca*). **Food Hydrocolloids**, v. 30, p. 681-690, 2013

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

SCHWACH, E.; SIX, J.; AVEROUS, L. Biodegradable blends based on starch and poly(lactic acid): comparison of different strategies and estimate of compatibilization, Springer, **Science Business Media**, LLC, 2008.

SHIMAZU, A. A.; MALI, S.; GROSSMANN, M. V. E. Efeitos plastificante e antiplastificante do glicerol e do sorbitol em filmes biodegradáveis de amido de mandioca, **Semina: Ciências Agrárias**, v.28, n.1, p.79-88, 2007.

SOBRAL, P.J.A.; MONTERREY-QUINTERO, E.S.; HABITANTE, A.M.Q.B. Glass transition of Nile tilapia myofibrillar protein films plasticized by glycerin and water. **Journal of Thermal Analysis and Calorimetry**, v.67, n.2, p.499-504, 2002.

TEIXEIRA, E. M. **Utilização de amido de mandioca na preparação de novos materiais termoplásticos**. Tese de Doutorado em Físico-Química, Instituto de Química de São Carlos, Universidade de São Carlos, São Carlos, 2007.

TOSI, B., DONINI, A., ROMAGNOLI, C.; BRUNI, A. Antimicrobial activity of some commercial extracts of propolis prepared with different solvents. *Phytotherapy research: PTR*, v. 1014, p. 335-336, 1996.

WEBER, F. H.; CHANG, Y. K.; MUNHOZ, M. P. Influência de hidrocolóides na textura de gel de amido de milho. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v.24, n.3, p.403-406, 2004.

WILLIAMS, R. J.; SPENCER, J. P.E.; RICE-EVANS, C. Flavonoids: antioxidants or signalling molecules? **Free Radical Biology and Medicine**, New York, v.36, n.7, p.838-849, 2004.

WURZBURG, O. B. Cross – linking starches. In: Wurzburg, O. B. *Modified tarches: properties and uses*. Boca Raton: CRC Press, p. 41-53, 1986.

YAMASHITA, F.; NAKAGAWA, A.; VEIGA, G. F.; MALI, S.; GROSSMANN, M. V. E. Filmes Biodegradáveis para Aplicação em Frutas e Hortaliças Minimamente Processadas. **Brazilian Journal of Food Technology**, v.8, n.4, p. 335-343, 2005.

YOUNG, H. Fractionation of starch. In: WHISTLER, R. L.; BEMILLER, J. N.; PASCHALL, E. F. (Ed.). **Starch chemistry and technology**. 2.ed. Orlando,USA: Academic Press, p. 249-283, 1984.

ZIVANOVIC, S.; CHI, S.; DRAUGHON, A. F. Antimicrobial activity of chitosan films enriched with essential oils. **Journal of Food Science**, Chicago, v.70, M45-M51, 2005.