

UNIVERSIDADE TECNOLÓGICA FEDERAL DO PARANÁ
DEPARTAMENTO ACADÊMICO DE ALIMENTOS
CURSO SUPERIOR DE ENGENHARIA DE ALIMENTOS
CÂMPUS CAMPO MOURÃO – PARANÁ

DAIANE ANDRADE TAVARES CARDOSO

**DESENVOLVIMENTO E CARACTERIZAÇÃO DE FILMES DE AMIDO
DE MANDIOCA CONTENDO EXTRATO DE ÁGUA DE COZIMENTO
DE PINHÃO**

TRABALHO DE CONCLUSÃO DE CURSO

CAMPO MOURÃO

2017

DAIANE ANDRADE TAVARES CARDOSO

**DESENVOLVIMENTO E CARACTERIZAÇÃO DE FILMES DE AMIDO
DE MANDIOCA CONTENDO EXTRATO DE ÁGUA DE COZIMENTO
DE PINHÃO**

Trabalho de Conclusão de Curso de Graduação, apresentado à disciplina de Trabalho de Conclusão de Curso II, do Curso Superior de Engenharia de Alimentos do Departamento Acadêmico de Alimentos – DALIM – da Universidade Tecnológica Federal do Paraná – UTFPR, Campus Campo Mourão, como requisito parcial para obtenção do título de Engenheiro de Alimentos.

Orientadora: Prof^ª. Dr^ª. Fernanda Vitória Leimann

CAMPO MOURÃO

2017



TERMO DE APROVAÇÃO

DESENVOLVIMENTO E CARACTERIZAÇÃO DE FILMES DE AMIDO DE
MANDIOCA CONTENDO EXTRATO DE ÁGUA DE COZIMENTO DE PINHÃO

POR

DAIANE ANDRADE TAVARES CARDOSO

Trabalho de Conclusão de Curso (TCC) apresentado em 26/05/2017, às 16:00 horas, como requisito parcial para obtenção do título de Bacharel em Engenheiro de Alimentos. O candidato foi arguido pela Banca Examinadora composta pelos professores abaixo assinados. Após deliberação, a Banca Examinadora considerou o trabalho APROVADO.

Profª. Drª. Fernanda Vitória Leimann

Prof. Dr. Alexandre Santa Barbara Azevedo
Membro da banca

Profª. Drª. Angela Maria Gozzo
Membro da banca

Nota: O documento original e assinado pela Banca Examinadora encontra-se na Coordenação do Curso de Engenharia de Alimentos da UTFPR Campus Campo Mourão.

AGRADECIMENTOS

Primeiramente sou grata a Deus pelo dom da vida, pela fé, coragem e amparo para que eu chegasse a este feito, vencendo todas as dificuldades e colocando as pessoas certas em meu caminho.

Agradeço aos meus pais, José Antônio e Marília de Cassia, meus maiores exemplos de vida. Obrigada por sempre me incentivarem, por terem acreditado no meu potencial, sem vocês nada disso seria possível. À toda minha família que mesmo de longe sempre me apoiaram e torceram pelo meu sucesso.

À minha orientadora profa. Dra. Fernanda Vitória Leimann, por compartilhar todo seu conhecimento, sempre de forma amável e compreensiva. Obrigada por me orientar em todos os momentos, pela paciência e por ter contribuído sempre para que essa vitória fosse alcançada.

Ao Marcos Vieira, pela sua colaboração essencial, por toda paciência e por ter disponibilizado grande parcela do seu tempo me ajudando. Aos participantes da banca pela participação, contribuições e sugestões.

Agradeço aos meus amigos queridos, que fazem parte da minha vida mesmo antes da faculdade, vivenciando momentos de vitórias e derrotas, mas sempre ao meu lado, vou leva-los comigo para toda vida. Aos amigos que entraram na minha vida por conta da graduação e que com certeza fizeram essa experiência ser menos dolorosa e foram minha família em Campo Mourão, a vocês toda minha gratidão.

Por fim, à todas as pessoas que direta ou indiretamente contribuíram para que eu conseguisse chegar até aqui, acredito que nada é por acaso.

Muito obrigada a todos!

ARDOSO, D. A. T. **Desenvolvimento e Caracterização de Filmes de Amido de Mandioca Contendo Extrato de Água de Cozimento de Pinhão**. 32 f. Trabalho de conclusão de curso – Engenharia de Alimentos, Universidade Tecnológica Federal Do Paraná (UTFPR). Campo Mourão, 2017.

RESUMO

A busca por novas técnicas de produção de materiais que substituam os plásticos como forma de embalagem de alimentos tem feito crescer a aplicação de polímeros biodegradáveis para formação de filmes e coberturas para alimentos. Neste contexto, 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. O presente trabalho teve como objetivo a produção de películas biodegradáveis de amido de mandioca com incorporação de extrato seco da água de cozimento de pinhão. Foi possível avaliar a capacidade antioxidante (DPPH, FRAP e Fenólicos Totais) dos filmes e caracterizar o extrato seco quanto à ação antioxidante, a microestrutura dos filmes por microscópio eletrônico de varredura (MEV), a propriedade térmica dos filmes por Calorimetria Diferencial de Varredura (DSC), a hidrofiliabilidade e a opacidade dos filmes. Os resultados demonstraram que com o aumento de 15 para 30% de extrato nos filmes houve um aumento proporcional na atividade antioxidante para todas as análises. Para os resultados do DSC, notou-se que houve uma redução da temperatura do pico máximo em função da presença do extrato, evidenciando que o extrato atuou como plastificante. Em relação aos resultados do MEV, houve um aumento na rugosidade da superfície dos filmes com a adição de extrato e, na fratura dos filmes pode-se notar a formação nítida de uma estrutura mais compacta conforme a quantidade de extrato adicionado aumentou. A adição do extrato não modificou as características de hidrofiliabilidade dos filmes mas proporcionou um aumento significativo nos valores de opacidade, não havendo diferença entre as duas formulações contendo o extrato (15 e 30%).

Palavras-chave: Filme biodegradável, amido de mandioca, *Araucaria angustifolia*; atividade antioxidante.

CARDOSO, D. A. T. **Development and Cassava Starch Film Characterization Containing Pinion Cooking Water Extract**. 32 f. Trabalho de conclusão de curso – Engenharia de Alimentos, Universidade Tecnológica Federal Do Paraná (UTFPR). Campo Mourão, 2017.

ABSTRACT

The search for new techniques of materials production that replaces plastic as food packaging has led to an increased application of biodegradable polymers as films and coatings. In this context, starch has emerged as the most abundant and low-cost option, and can also be chemically, physically or genetically modified, originating resistant and biodegradable films. This present work had as objective the production of biodegradable films of cassava starch with the incorporation of dry extract of pine cooking water. It was possible to evaluate the antioxidant capacity (DPPH, FRAP and Total Phenolic) of the films, and characterize the dry extract as the antioxidant action, the microstructure of the films by scanning electron microscope (SEM), the thermic property of the films by Differential Scanning Calorimetry (DSC), and also the hydrophilicity and the opacity of the films. The results showed that with the increase of 15 to 30% of the extract in the films, there was a proportional increase in the antioxidant activity, in all of the analysis. On the DSC results, it was noted a reduction of the maximum peak temperature due to the presence of the extract, evidencing that the extract acted as plasticizer. In relation to the SEM results, there was an increase in the film surface roughness with the addition of the extract, and in the film fracture, the formation of a compact structure was clearly noticed, as the amount of added extract was increased. The addition of the extract did not modified the characteristics of hydrophilicity of the films but provided a significant increase in the opacity values, there being no difference between the two formulations containing the extract (15 and 30%).

Key words: Biodegradable film, cassava starch, *Araucaria angustifolia*; Antioxidant activity.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Estrutura química da amilose (a) e amilopectina (b)	12
Figura 2 - Representação da análise de ângulo de contato (gota séssil)	20
Figura 3 - Atividade antioxidante do extrato de cozimento do pinhão após a liofilização	23
Figura 4 - Imagens de MEV das superfícies dos filmes: a) amido controle, b) 15E, c) 30E. Magnificação de 300x	24
Figura 5 - Imagens de MEV das fraturas dos filmes: a) amido controle, b) 15E, c) 30E. Magnificação de 2.000x	24
Figura 6 - Termogramas de DSC das amostras de filmes (controle (AFC), com 15% (15E) e 30% (30E) de extrato) e extrato seco obtido da água de cozimento do pinhão	25

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Formulações dos filmes de amido de mandioca incorporados com extrato seco da água de cozimento do pinhão	19
Tabela 2 - Ângulo de contato com água, opacidade e atividade antioxidante (DPPH, FRAP, Fenólicos Totais) dos filmes de amido contendo extrato de cozimento de pinhão	27

LISTA DE SIGLAS

- AFC Filme Controle sem adição de extrato seco
- 15E Filme adicionado 15% de extrato seco com
relação à massa de amido
- 30E Filme adicionado 30% de extrato seco com
relação à massa de amido

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	10
2. OBJETIVOS	11
2.1. Objetivo Geral	11
2.1. Objetivos Específicos	11
3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	12
3.1. Filmes de Amido Obtidos por Film Casting	12
3.2. Embalagens Ativas	14
3.3. Pinhão	15
4. MATERIAIS E MÉTODOS	17
4.1. Matéria Prima	17
4.2. Obtenção do Extrato Seco da Água de Cozimento	17
4.3. Caracterização do Extrato do Cozimento do Pinhão	17
4.3.1. Conteúdo Total de Fenólicos.....	17
4.3.2. Capacidade antioxidante através do ensaio de DPPH	18
4.3.3. Método FRAP	18
4.4. Produção dos filmes	19
4.5. Caracterização dos Filmes	20
4.5.1. Caracterização da Microestrutura	20
4.5.2. Propriedades térmicas dos filmes	20
4.5.3. Hidrofilicidade dos filmes	20
4.5.4. Opacidade	20
4.6. Atividade Antioxidante	21
4.6.1. Extração dos compostos antioxidantes dos filmes	21
4.6.2. Conteúdo total de fenólicos	21
4.6.3. Capacidade antioxidante através do ensaio de DPPH	21
4.6.4. Método FRAP	22

5. RESULTADOS E DISCUSSÕES	23
5.1. Caracterização do extrato de cozimento do pinhão	23
5.2. Caracterização dos Filmes produzidos	23
6. CONCLUSÕES	29
7. REFERÊNCIAS	30

1. INTRODUÇÃO

Filmes poliméricos podem ser produzidos com materiais biodegradáveis como proteínas, polissacarídeos, lipídios e derivados. Um dos biopolímeros mais utilizados neste sentido é o amido, devido ao seu baixo custo e sua alta disponibilidade, além de apresentar muitas possibilidades de modificação química, física ou genética e por originar filmes e revestimentos resistentes (SILVA, 2009).

Embalagens, ou filmes, contendo compostos ativos, além de atuarem como barreiras a agentes externos e de interagirem com o alimento na sua conservação mantêm a qualidade microbiológica e sensorial dos alimentos. Nestes podem ser adicionadas substâncias antioxidantes com o intuito de impedir ou reduzir as reações em cadeia geradas pelos radicais livres formados durante o processo de oxidação (SANTOS, 2014; SANTANA, 2012). O uso de antioxidantes naturais, particularmente polifenóis extraídos de plantas e óleos essenciais, é uma tendência atual na pesquisa de embalagens para alimentos.

Uma importante fonte de antioxidantes é o pinhão, semente da *Araucaria angustifolia*, única espécie do gênero araucária encontrada no Brasil e pertencente à família das araucariáceas (DAROLT; HELM 2012). Possui compostos fenólicos que são metabólitos secundários e apresentam atividade antioxidante. O pinhão é consumido após seu cozimento em água, que após este processo apresenta coloração escura indicando a presença de compostos extraídos das sementes. Segundo Cordenunsi et al. (2004), a quercetina presente nas cascas do pinhão migra para a semente durante o cozimento, mas não para a água de cozimento, já a catequina migra tanto para a água de cozedura quanto para o endosperma. Ainda de acordo com os autores, quando *in natura*, grande quantidade dos compostos fenólicos do pinhão se encontram em sua casca (4198,75 mg/g), e com o cozimento da mesma, tais compostos migram para a água de cozimento (1215,82 mg/g) ou são incorporados ao endosperma cozido. Dessa forma o extrato aquoso do cozimento do pinhão apresenta grande potencial de utilização como fonte de antioxidantes para aplicação em filmes de amido ativo.

2. OBJETIVOS

2.1. Objetivo Geral

O objetivo geral deste trabalho foi a produção e caracterização de filmes ativos de amido de mandioca, contendo extrato do cozimento de pinhão.

2.2. Objetivos Específicos

- Obtenção do extrato do cozimento do pinhão, secagem por liofilização e caracterização da atividade antioxidante do mesmo pelos métodos de DPPH, FRAP e Fenólicos Totais;
- Produção de filmes de amido de mandioca contendo extrato seco da água de cozimento do pinhão (15 e 30% com relação à massa de amido) pelo método de *film casting*;
- Caracterização da opacidade dos filmes por Espectrofotometria UV-Vis;
- Caracterização da atividade antioxidante dos filmes produzidos pelos métodos de DPPH, FRAP e Fenólicos Totais;
- Caracterização da microestrutura do filme por Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV);
- Caracterização térmica dos filmes por Calorimetria Diferencial de Varredura (*Differential Scanning Calorimetry*, DSC);
- Caracterização da hidrofiliabilidade dos filmes pela avaliação do ângulo de contato dos mesmos com água (goniometria).

3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1. Filmes de amido obtidos por *film casting*

Observa-se um crescente interesse em nível mundial em relação ao uso de polímeros biodegradáveis, principalmente quando se considera o desenvolvimento de produtos que provoquem menor impacto ambiental (ROSA et al., 2001). Dentre os polissacarídeos mais utilizados na fabricação de filmes estão derivados de amido e celulose, alginato, pectina, quitosana e algumas gomas (KROCHTA, 2002; LAROTONDA, 2002; THARANATHAN, 2003).

O amido pode ser obtido a partir de diversas fontes como mandioca, milho, batata, ervilha, arroz, etc. apresentando diferentes proporções entre seus componentes em função da sua origem. O amido de mandioca é um polissacarídeo natural, constituído por cerca de 18% de cadeias lineares (amilose), e cerca de 82% de cadeias ramificadas (amilopectina), obtido a partir de raízes de mandioca (SILVA, 2009). A amilose (Figura 1a) é um polímero linear com unidades de D-glicose ligadas por ligações α -(1 \rightarrow 4). A amilopectina (Figura 1b) é um polímero altamente ramificado, com unidades de D-glicose ligadas através de ligações α -(1 \rightarrow 4) e as ramificações em α -(1 \rightarrow 6) (ELLIS et al., 1998).

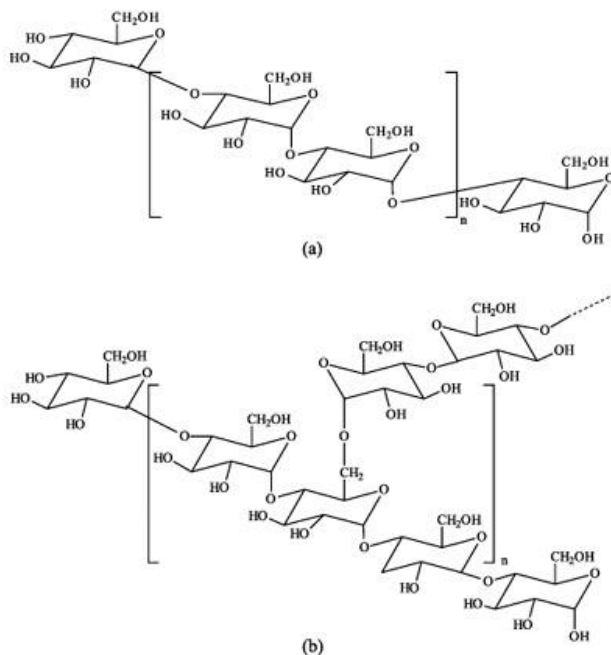


Figura 1. Estrutura molecular da amilose (a) e amilopectina (b)

Fonte: Corradini (2005).

A técnica de *film casting* é utilizada amplamente em escala laboratorial para produção de filmes de diferentes biopolímeros. O estágio inicial para produção dos filmes é sempre a gelatinização do amido, ou dispersão caso este seja um amido do tipo pré-gelatinizado, que ocorre em excesso de água (> 90%) sob aquecimento, sendo que posteriormente a esta etapa, a secagem da solução é realizada após vertê-la em recipiente adequado (formas de Teflon®, placas de petri, etc.) para formação do filme (JIMÉNEZ et al., 2012).

De acordo com JIMÉNEZ et al. (2012) a gelatinização do amido pode ser entendida como um processo de três estágios em que ocorrem diferentes eventos estruturais:

1. A absorção de água pelos grânulos de amido promove um aumento na mobilidade das cadeias poliméricas nas regiões amorfas;
2. Os polímeros de amido nas regiões amorfas rearranjam-se frequentemente formando novas interações intermoleculares;
3. Com o aquecimento crescente, as cadeias poliméricas tornam-se mais móveis e perdem tanto as suas interações intermoleculares quanto a estrutura granular global.

Os filmes confeccionados exclusivamente por amido não se adequam com facilidade aos métodos convencionais de processamento utilizados na produção de embalagens, pois são pouco flexíveis e, por consequência, quebradiços. A fim de sanar tal dificuldade se faz necessária a aplicação de aditivos às matrizes poliméricas, como plastificantes, que melhoram as propriedades mecânicas dos filmes pela diminuição de sua rigidez. Para a escolha dos plastificantes, deve ser levado em conta sua compatibilidade com o biopolímero (DAUDT et al., 2004).

No caso dos filmes de amido são mais utilizados os polióis, como o glicerol e o sorbitol, materiais que aumentam a flexibilidade dos filmes através da interação com as cadeias de amido que elevam os níveis de mobilidade molecular. O glicerol devido à sua compatibilidade e interação com as cadeias de amido, leva a um aumento da mobilidade molecular e, conseqüentemente da 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).

De acordo com Paes et al. (2008), não há um padrão quanto ao método de preparação de filmes de amido para que seja obtido um filme com as características funcionais e físico-químicas necessárias. Assim, pode concluir-se que a preparação de películas de amido é um processo que depende de vários fatores, tais como o tipo de amido e plastificante, e deve ser otimizado para se obter filmes com propriedades adequadas.

Alves et al. (2007) produziram filmes de amido de mandioca pelo método de *film casting* com o objetivo de investigar o efeito do glicerol (plastificante) e do teor de 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. Rocha et al. (2014) realizou um estudo onde filmes de amido de mandioca produzidos por *film casting* foram avaliados quanto a adição de extrato proteico de soja (EPS), glicerol e o pH do meio também foi avaliado. A adição de EPS resultou em um aumento da solubilidade dos filmes, em diferença de cor (amarelecimento) e na redução da deformação na ruptura. A combinação de baixos teores de proteína e de glicerol em pH alcalino reduziu a permeabilidade ao vapor de água. Como resultado da otimização, considerando-se os fatores desejáveis: baixa permeabilidade ao vapor de água, baixa solubilidade e boa resistência mecânica, as melhores condições de processo que atenderiam a estas características foram 15,2% de extrato proteico de soja, 29,2% de glicerol em pH 6,1.

3.2. Embalagens ativas

Embalagens ativas são aquelas que, além de atuarem como uma barreira a agentes externos, podem corrigir deficiências presentes na embalagem passiva, apresentando atividade antimicrobiana e/ou antioxidante por exemplo. Elas podem ser definidas como embalagens em que elementos adicionais foram deliberadamente incluídos no material da embalagem, para melhorar seu desempenho (ROBERTSON, 2006). Essas tecnologias envolvem materiais que apresentam o potencial para garantir a qualidade e segurança dos alimentos, prolongar a vida de prateleira, reduzir o impacto ambiental e aumentar a atratividade do produto embalado para os consumidores (FANG et al., 2017).

Nas embalagens que apresentam atividade antioxidante, o agente ativo antioxidante é incorporado dentro da matriz polimérica da embalagem ou somente na superfície do recipiente em que o produto permanece em contato, exercendo a sua ação através da absorção de compostos que estejam presentes no *head space* da embalagem ao redor do produto, ou liberando compostos antioxidantes para o alimento na superfície em que mantêm contato (FANG et al., 2017). A introdução de compostos ativos naturais aos materiais de embalagem proporciona vantagens em comparação com a adição direta destes aos alimentos, já que a quantidade de substância adicionada na embalagem tende a ser menor do que se fosse adicionado ao alimento, além da eliminação de possíveis processos adicionais no processamento do alimento (LAGARÓN; LÓPEZ-RUBIO; FABRA, 2016).

Diferentes estudos foram realizados com a adição de antioxidantes naturais a filmes de amido, como por exemplo, Tran et al. (2017), que adicionaram pó de beterraba vermelha em filmes de amido. Os autores verificaram que o composto betanina foi liberado dos filmes e demonstrou atividade antioxidante altamente eficiente contra o radical 2,2-difenil-1-picrilhidrazil (\bullet DPPH radical) e o radical catiônico 2,2'-azinobis (ácido 3-etilbenzotiazolino-6-sulfônico) (ABTS \bullet^+). Além disso, a incorporação do pó de beterraba levou a um aumento do módulo de Young do material sem comprometer a sua capacidade de alongamento.

Em outro estudo, Jaramillo et al. (2016), adicionaram diferentes concentrações de extrato de erva mate (0, 5 e 20% em peso) em formulação de filmes de amido por *film casting*. Os autores observaram um efeito plastificante em função da adição do extrato. Talón et al. (2016) produziram filmes de amido incorporados um extrato de tomilho rico em polifenóis. A adição do extrato forneceu aos filmes atividade antioxidante notável. Os filmes ficaram mais escuros, mais avermelhados e menos transparente quando o extrato foi incorporado.

3.3. Pinhão

O pinhão, semente da árvore *Araucaria angustifolia* que pertence à família das araucácias, é consumido no Sul e Sudeste do Brasil; é principalmente cozido em água, mas também usado como uma farinha crua para pratos regionais ou assados. Possui uma longa história de uso como alimento na região sudeste do Brasil, como

farinhas em pratos regionais ou panificação, especialmente durante o inverno (CORDENUNSI et al., 2004). É formado por um envoltório (casca), endosperma amiláceo e embrião. Possui um alto valor nutricional e de reservas energéticas, é fonte de amido e de fibras alimentares e possui baixo teor de gordura, além de ser uma boa fonte de compostos bioativos (PIGOZZI; CONTO; VEECK, 2015).

O pinhão possui quantidades consideráveis de compostos fenólicos, sendo que, estes estão em maior número na sua casca e migram para a semente ao passar pelo processo de cocção (CORDENUNSI et al., 2004). O principal grupo de compostos fenólicos presentes no revestimento do pinhão são os taninos condensados e hidrolisáveis de alto peso molecular, compostos estes que possuem maior atividade antioxidante que os compostos fenólicos simples (KOEHNLEIN et al., 2012; THYS; CUNHA, 2015)

Segundo Giazzon et al. (2009), na água resultante do cozimento do pinhão há polifenóis totais que apresentam importante atividade antioxidante, sugerindo uma possível utilização para este resíduo. Assim, torna-se interessante obter materiais biopoliméricos à base de amido de mandioca adicionados de água de cozimento de pinhão, visando o reaproveitamento deste resíduo, bem como a obtenção de filmes ativos para embalagens de alimentos com propriedades melhoradas.

4. MATERIAIS E MÉTODOS

4.1. Matéria Prima

Os pinhões foram obtidos em mercado local (Campo Mourão, PR) em julho de 2016. O plastificante glicerol (glicerina P.A., Nuclear) e o biopolímero amido de mandioca (Indemil) foram utilizados para produzir os filmes. Para as análises de atividade antioxidante foram utilizados os seguintes reagentes: reagente de Folin-Ciocalteu (Sigma-Aldrich), carbonato de sódio (Vetec) e padrão de ácido gálico (Sigma-Aldrich) foram utilizados para determinar a concentração total de composto fenólico dos filmes. O radical DPPH (2,2-difenil- picrilhidrazil, Sigma-Aldrich) e FRAP [tampão acetato 0,3 M pH 3,6; TPTZ (2,3,5-cloreto trifeniltetrazolium, Sigma-Aldrich) 10 mM foram utilizados para determinar a capacidade antioxidante.

4.2. Obtenção do extrato seco da água de cozimento

Os pinhões foram inicialmente lavados em água corrente e então cozidos em panela comum (convencional) durante 2 horas (proporção de 526 g para 1 L de água). A água de cozimento foi colocada em um recipiente fechado e armazenada em um ultrafreezer (-90°C), depois foi liofilizada (Liotop L101, Liobrás) obtendo o extrato seco da água de cozimento do pinhão (rendimento: 7,0 g de extrato seco).

4.3. Caracterização do extrato seco do cozimento do pinhão

4.3.1. Conteúdo total de fenólicos

Para determinação do teor de fenólicos totais, foi realizada uma diluição do extrato seco da água de cozimento liofilizada de 0,5% (0,05 g extrato seco para 10 mL de solução aquosa). Adicionou-se 30µL do extrato diluído, 2.370µL de água destilada, 150µL do reagente Folin-Ciocateu e após 2 minutos, adicionou-se 450µL de carbonato de sódio 15%. Após a adição do reagente foi utilizado o vórtex por 10 segundos, para completa homogeneização. Os tubos foram armazenados no escuro, por 2 horas. Seguiu-se a leitura em espectrofotômetro com comprimento de onda de 765 nm. O experimento foi realizado em triplicata. Os resultados foram obtidos a partir de uma curva padrão de ácido gálico (entre 30 e 1500 mg/L), e ao

final foram expressos em $\text{mg}_{\text{equivalente de ácido gálico}}/\text{g}_{\text{extrato seco}}$ ($\text{mg}_{\text{EAG}}/\text{g}_{\text{ES}}$) (SINGLETON; ROSSI, 1965).

4.3.2. Capacidade antioxidante através do ensaio de DPPH

A capacidade antioxidante foi avaliada através do ensaio de DPPH de acordo com (Brand-Williams et al., 1995). Adicionou-se 3.900 μL de solução metanólica de DPPH a 60 $\mu\text{mol/L}$; 100 μL de extrato diluído 25 vezes para a solução de extrato seco a 0,5%. Após a adição do reagente foi utilizado o vórtex por 10 segundos, para completa homogeneização. Um controle negativo foi preparado com a substituição do mesmo volume do extrato diluído com etanol. Além disso, uma amostra em branco da diluição do extrato foi preparada substituindo o mesmo volume de solução de DPPH por metanol. Após 30 minutos no escuro e à temperatura ambiente, os valores de absorvância foram determinados à 518 nm em um Espectrofotômetro UV-VIS (USB650 UV, Ocean Optics). A quantificação foi realizada usando uma curva de calibração de Trolox (10 a 60 $\mu\text{mol/L}$) e expressa em $\mu\text{mol}/\text{L}_{\text{Trolox equivalente}}/\text{g}_{\text{extrato seco}}$ ($\mu\text{mol}_{\text{TE}}/\text{g}_{\text{ES}}$). Os resultados das três frações de cada diluição do extrato seco foram combinados ao final para um único valor.

4.3.3. Método FRAP

O método foi executado conforme Benzie e Strain (1996). Primeiramente, foi adicionado 100 μL de extrato diluído: 6,67 vezes para as soluções de extrato seco a 0,5%, em seguida adicionou-se 300 μL de água destilada a 37°C e, por fim, 3000 μL de complexo férrico TPTZ (TPTZ 10 mM em HCl 40 mM, cloreto férrico 20 mL, tampão acetato 300 mM pH 3,6, na proporção de 1:1:10, respectivamente) a 37°C. Em seguida, os tubos foram homogeneizados em vórtex por 10 segundos, para completa homogeneização e mantidos em banho maria a 37°C durante 30 minutos no escuro. A leitura foi realizada em espectrofotômetro, em 593 nm. O reagente FRAP foi utilizado como branco para a calibração do equipamento. Os valores obtidos foram comparados com as leituras encontradas com a curva padrão de Trolox (50 a 1000 $\mu\text{mol/L}$). O valor final foi expresso em $\mu\text{mol}_{\text{equivalente de trolox}}/\text{g}_{\text{extrato seco}}$, e o experimento foi realizado em triplicata.

4.4. Produção dos filmes

Produziram-se 3 formulações de filme à base de amido de mandioca, como mostrado na Tabela 1: controle (AFC) (sem adição do extrato seco da água de cozimento do pinhão); adicionado 15% de extrato seco (15E) e adicionado 30% de extrato seco (30E) com relação à massa de amido. Os filmes de amido de mandioca foram produzidos segundo a metodologia de Erdohan et al. (2013), com modificações. Todos os tratamentos foram realizados em duplicata.

Tabela 1 - Formulações dos filmes de amido de mandioca incorporados com extrato seco da água de cozimento do pinhão.

Material	AFC	15E	30E
H ₂ O (mL)	242,5	242,5	242,5
Amido de mandioca (g)	6,2500	6,2500	6,2500
Glicerol (g)	1,2500	1,2500	1,2500
Extrato (g)	0,0000	0,9375	1,8750

Para a formulação com 30 % de extrato seco (30E), 6,25 g de amido foi gelatinizado com 242,5 mL de água destilada em uma placa de aquecimento com agitação à 100°C por aproximadamente 20 min, utilizou-se uma placa de petri por cima do béquer evitando a evaporação. Depois de gelatinizado, foi adicionado 1,25 g de glicerol e, por fim, foi adicionado o extrato seco (1,875 g). No caso do filme contendo 15% de extrato seco (15E), foi realizado o mesmo procedimento que o anterior, mas com adição de 0,9375 g do extrato (15%). Para a formulação controle (AFC, sem adição do extrato seco da água de cozimento do pinhão) a diferença é que apenas não foi adicionado extrato no fim do processo. Verteu-se cada filme em forma de teflon (21cm x 14cm) para secagem em estufa de convecção forçada a 40°C durante 24 horas.

4.5. Caracterização dos filmes

4.5.1 Caracterização da Microestrutura

As análises de microestrutura dos filmes foram realizadas em microscópio eletrônico de varredura (MEV Hitachi 3000) localizado na UTFPR Campus Pato Branco. Foram avaliadas a superfície e a fratura das amostras.

4.5.2 Propriedades térmicas dos filmes

As propriedades térmicas dos filmes foram avaliadas por Calorimetria Diferencial de Varredura (*Differential Scanning Calorimetry*, DSC Perkin Elmer, modelo DSC 4000). Cerca de 5 mg das amostras pré-condicionadas em dessecador foram analisadas em cadinhos de alumínio, sendo a varredura realizada entre 10 e 200°C a uma taxa de aquecimento de 20°C/min sob fluxo de nitrogênio gasoso (20 mL/min) (SILVA, 2009).

4.5.3 Hidrofilicidade dos filmes

A hidrofilicidade dos filmes foi avaliada com medidas de ângulo de contato (gota séssil) foram realizadas utilizando-se água deionizada em goniômetro Ramé-Hart, localizado na Universidade do estado de Santa Catarina (UDESC, Joinville, SC). O ângulo de contato θ é definido como o ângulo entre a reta tangente à gota no ponto de contato com a amostra e a reta tangente à superfície da amostra no mesmo ponto (Figura 2).

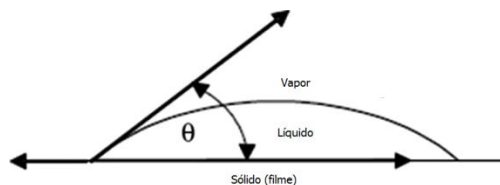


Figura 2. Representação da análise de ângulo de contato (gota séssil).

4.5.4 Opacidade

A opacidade aparente dos filmes foi determinada segundo Park e Zhao (2004), em espectrofotômetro UV-Visível (Ocean Optics USB650UV). Os corpos de

prova foram cortados em retângulos e aderidos à parede interna de uma cubeta de quartzo (10 mm caminho ótico). A espessura dos filmes foi determinada com um micrômetro digital (Pantec). Nessas condições, foi analisada a absorvância a 600 nm. Os resultados foram apresentados como a razão entre a absorvância e a espessura do biofilme (mm) ($Abs_{600nm} \cdot mm^{-1}$).

4.6. Atividade Antioxidante dos filmes

4.6.1. Extração dos compostos antioxidantes dos filmes

Para solubilizar a matriz do filme contendo os compostos fenólicos, pesou-se 1,0 g do filme e adicionou-se 20 mL de água destilada. Em rotor estator (Ultra turrax, T25 IKA), a mistura foi homogeneizada a 4.000 rpm até a total fragmentação do filme durante 15 minutos com temperatura controlada por um banho de água com gelo em um béquer. Os extratos resultantes foram estocados em freezer a $-20^{\circ}C$.

4.6.2. Conteúdo total de fenólicos

Para determinação dos fenólicos totais, adicionou-se a um tubo ensaio de 10mL com micro pipeta, 30 μ L de extrato diluído 2 vezes para os extratos dos filmes, 2370 μ L de água destilada, 150 μ L do reagente Folin-Ciocateu e após 2 minutos, adicionou-se 450 μ L de carbonato de sódio 15%. Após a adição do reagente foi utilizado o vórtex por 10 segundos, para completa homogeneização. Os tubos foram armazenados no escuro, por 2 horas. Seguiu-se a leitura em espectrofotômetro com comprimento de onda de 765 nm. O experimento foi realizado em triplicata. Os resultados foram obtidos a partir de uma curva padrão de ácido gálico (entre 30 e 1500 mg/L), e ao final foram expressos em $mg_{equivalente\ de\ \acute{a}cido\ g\acute{a}lico/g_{filme}}$ ($mg_{EAG/g_{ES}}$) (SINGLETON; ROSSI, 1965).

4.6.3. Capacidade antioxidante através do ensaio de DPPH

A capacidade antioxidante foi avaliada através do ensaio de DPPH de acordo com Brand-Williams et al. (1995). Adicionou-se 3.900 μ L de solução metanólica de DPPH a 60 μ mol/L; 100 μ L de extrato diluído 50 vezes para os extratos dos filmes. Após a adição do reagente foi utilizado o vórtex por 10 segundos, para completa homogeneização. Um controle negativo foi preparado com a substituição do mesmo

volume do extrato diluído com etanol. Além disso, uma amostra em branco da diluição do extrato foi preparada substituindo o mesmo volume de solução de DPPH por metanol. Após 30 minutos no escuro e à temperatura ambiente, os valores de absorbância foram determinados à 518 nm em um Espectrofotômetro UV-VIS (USB650 UV, Ocean Optics). A quantificação foi realizada usando uma curva de calibração de Trolox (10 a 60 $\mu\text{mol/L}$) e expressa em $\mu\text{mol/L}_{\text{Trolox equivalente}}/\text{g}_{\text{filme}}$ ($\mu\text{mol/L}_{\text{TE}}/\text{g}_{\text{ES}}$). Os resultados das três frações de cada diluição do extrato seco foram combinados ao final para um único valor.

4.6.4. Método FRAP

O método foi executado conforme Benzie e Strain (1996). Primeiramente, foi adicionado 100 μL de extrato diluído: 12,5 vezes para os extratos dos filmes, em seguida adicionou-se 300 μL de água destilada a 37°C e, por fim, 3000 μL de complexo férrico TPTZ (TPTZ 10 mM em HCl 40 mM, cloreto férrico 20 mL, tampão acetato 300 mM pH 3,6, na proporção de 1:1:10, respectivamente) a 37°C. Em seguida, os tubos foram homogeneizados em vórtex por 10 segundos, para completa homogeneização e mantidos em banho maria a 37°C durante 30 minutos no escuro. A leitura foi realizada em espectrofotômetro, em 593 nm. O reagente FRAP foi utilizado como branco para a calibração do equipamento. Os valores obtidos foram comparados com as leituras encontradas com a curva padrão de sulfato ferroso (0-2000 μM). O valor final foi expresso em $\mu\text{mol/L}_{\text{equivalente de trolox}}/\text{g}_{\text{extrato seco}}$, sendo que a curva padrão de trolox foi de 50 a 1000 $\mu\text{mol}_{\text{trolox}}/\text{L}$ ($y = 0,0012x + 0,0011$, $R^2 = 0,9971$), e o experimento foi realizado em triplicata.

5. RESULTADOS E DISCUSÕES

5.1. Caracterização do extrato seco de cozimento do pinhão

O extrato do cozimento do pinhão foi obtido e após a etapa de liofilização caracterizado com relação à sua atividade antioxidante (DPPH, FRAP e fenólicos totais) e os resultados estão apresentados na Figura 3.

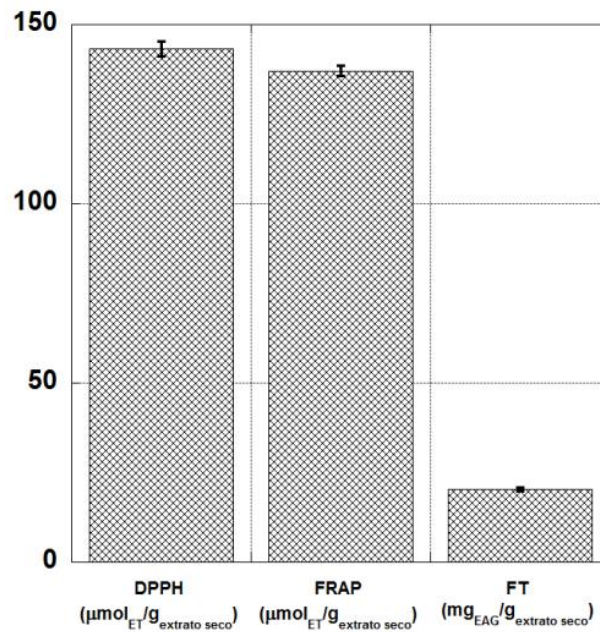


Figura 3. Atividade antioxidante (DPPH, FRAP e fenólicos totais) do extrato de cozimento do pinhão após a liofilização.

Os resultados de atividade antioxidante demonstraram uma ação semelhante frente ao radical DPPH e quanto à capacidade de redução do complexo férrico-tripiridiltriazina (Fe^{3+} -TPZ) para o ferroso (Fe^{2+} -TPZ) em condições ácidas.

5.2. Caracterização dos Filmes produzidos

As imagens de microscopia eletrônica de varredura (MEV) da superfície e da fratura dos filmes encontram-se apresentadas nas Figuras 4 e 5.

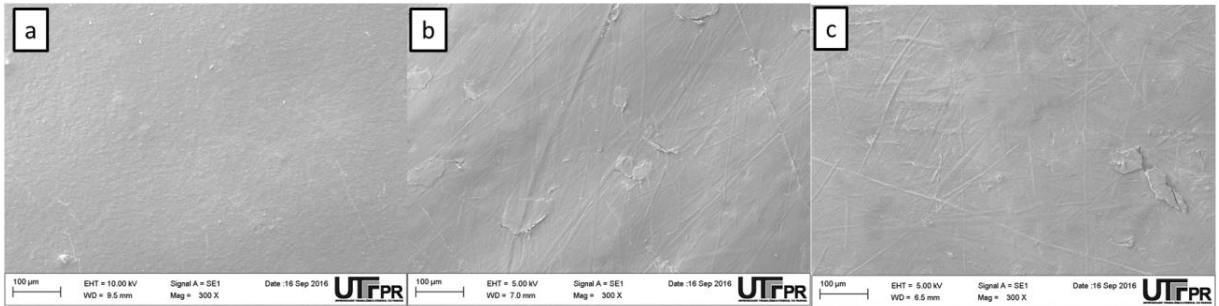


Figura 4 - Imagens de MEV das superfícies dos filmes: a) amido controle, b) 15E, c) 30E. Magnificação de 300x.

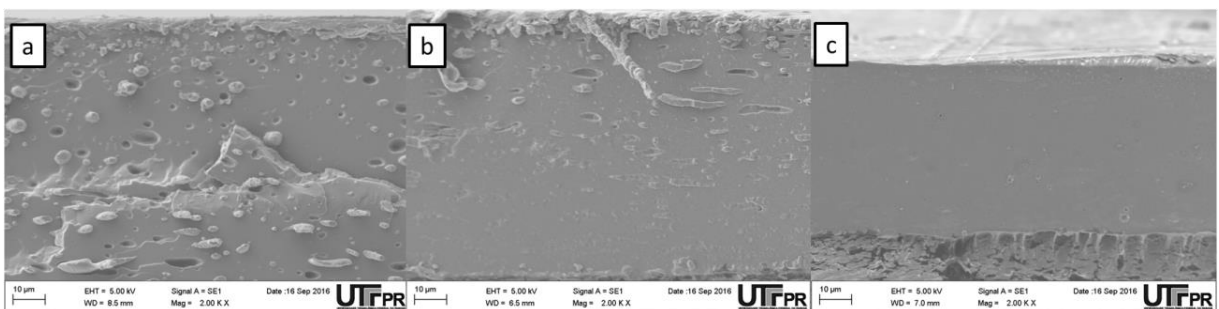


Figura 5 - Imagens de MEV das fraturas dos filmes: a) amido controle, b) 15E, c) 30E. Magnificação de 2.000x.

É possível observar nas imagens de MEV que na superfície dos filmes com a adição de extrato houve um aumento na rugosidade. Além disso, nas fraturas pode-se notar a formação nítida de uma estrutura mais compacta conforme a quantidade de extrato adicionado aumenta.

A caracterização térmica dos filmes está representada na Figura 6 com os termogramas resultantes da análise de DSC.

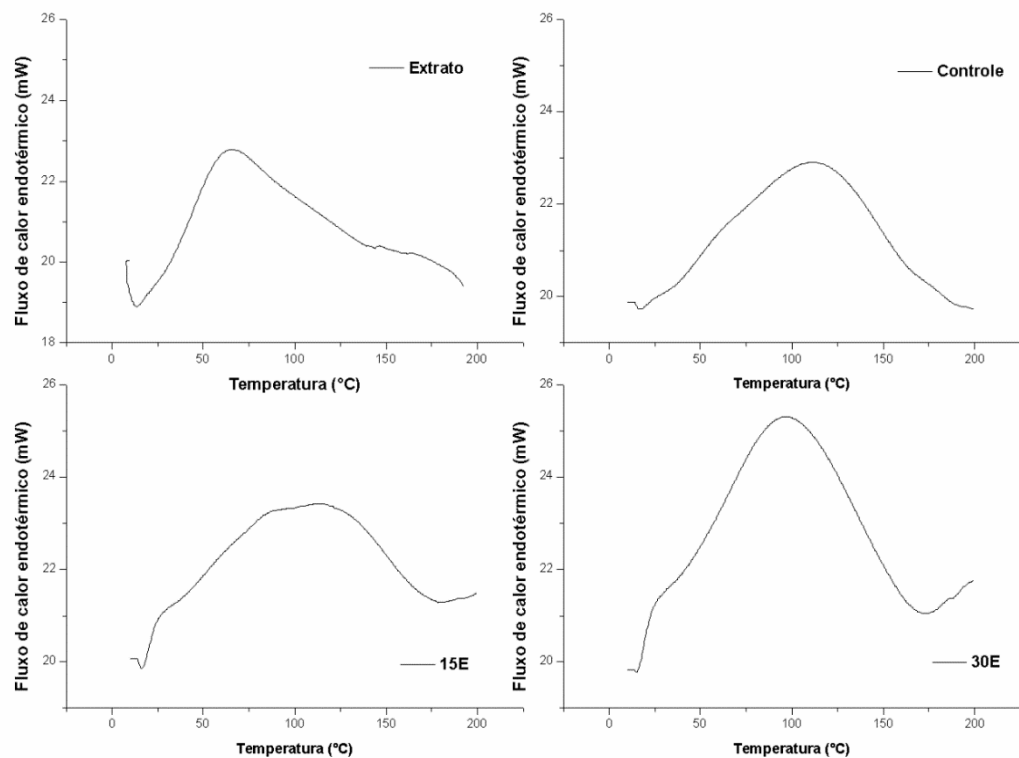


Figura 6. Termogramas de DSC das amostras de filmes (controle, com 15% (15E) e 30% (30E) de extrato) e extrato seco obtido da água de cozimento do pinhão.

Nota-se em todos os termogramas, um pico largo com ponto máximo localizado em 65 °C (extrato), 104°C (filme controle), 102°C (15E) e 91,4 °C (30E). Percebe-se que houve uma redução da temperatura deste pico máximo em função da presença do extrato quando comparado ao filme controle.

Com o aquecimento na gelatinização do amido, as ligações dos polímeros começam a ser desfeitas, iniciando com as estruturas ramificadas da amilopectina que possuem ligações mais fracas. A adição do plastificante funciona como uma espécie de “lubrificante” que fica entre os grânulos de amido para fornecer elasticidade ao filme, e com a secagem as ligações são refeitas com um “recheio”, o plastificante.

Partindo da análise de DSC que tem como objetivo saber qual a temperatura de fusão do filme (temperatura de amolecimento do filme), pode-se perceber com os termogramas que, conforme maior a adição do extrato, a temperatura de ponto máximo diminuiu, demonstrando uma quantidade maior de “lubrificante”, necessitando uma temperatura menor para quebrar essas ligações refeitas.

Comprovando que o extrato atuou como plastificante, permanecendo entre os grânulos também.

De acordo com Jaramillo et al. (2016), este pico endotérmico localizado em aproximadamente 90 °C para filmes de amido tem sido atribuído à fusão dos cristais (T_m , temperatura de fusão cristalina) de amido formados durante a retrogradação. Dessa forma percebe-se que com o aumento da concentração de extrato na formulação, esta temperatura máxima foi reduzida, possivelmente indicando a formação de um filme com característica mais amorfa. De acordo com Mathew e Abraham (2008), filmes contendo antioxidante de baixa polaridade, que possuam uma T_m menor do que a matriz polimérica, como é o caso do extrato de cozimento de pinhão (Figura 6a) tendem a causar uma diminuição na T_m dos filmes, devido aos grupamentos de baixa polaridade que compõe os antioxidantes, que diminuem as interações intermoleculares das cadeias poliméricas.

Em todas as amostras de filmes observa-se que o pico endotérmico está localizado entre 40 e 180°C, mesmo comportamento observado por Jaramillo et al. (2016), para filmes de amido contendo 5 e 20% de extrato de erva mate. Neste sentido Freitas (2015) também observou um comportamento de plastificação de filmes de zeína adicionados com o extrato de cozimento do pinhão.

Na Tabela 2 são apresentados os resultados referentes ao ângulo de contato com a água obtidos para os filmes por goniometria. Os valores obtidos não apresentaram diferença estatisticamente significativa entre si ($p > 0,05$), ou seja, a adição do extrato não modificou as características de hidrofobicidade dos filmes. Jaramillo et al. (2015) observaram que o ângulo de contato de filmes de amido de mandioca contendo extrato de erva mate aumentou quando o extrato foi incorporado, de 55° para 75°. De acordo com Vogler (1998), superfícies "hidrofóbicas" e "hidrofílicas" podem ser definidas com $\theta > 65^\circ$ e $\theta < 65^\circ$, respectivamente, dessa forma o filme controle já apresentava classificação como hidrofóbico e a incorporação do extrato de cozimento do pinhão manteve esta tendência.

Tabela 2 - Ângulo de contato com água, opacidade e atividade antioxidante (DPPH, FRAP, Fenólicos Totais) dos filmes de amido contendo extrato de cozimento de pinhão.

Amostra	Controle	15E	30E
θ_{H_2O} (°)	76,91 ^a ± 0,87	81,78 ^a ± 2,07	76,43 ^a ± 1,18
Opacidade (Abs _{600nm} .mm ⁻¹)	5,60 ^a ± 0,57	11,76 ^b ± 3,33	14,93 ^b ± 4,58
DPPH (μmol_{ET} /g _{filme})	0,00 ^a ± 0,00	100,46 ^b ± 1,99	244,32 ^c ± 8,16
FRAP(μmol_{ET} /g _{filme})	0,00 ^a ± 0,00	117,83 ^b ± 4,59	217,01 ^c ± 0,87
FT(mgEAG /g _{filme})	0,00 ^a ± 0,00	25,56 ^b ± 0,49	41,98 ^c ± 1,22

Nota: Média dos resultados obtidos através das análises descritas ± desvio padrão, onde: AFC (filme controle), 15E (filme adicionado 15% de extrato seco com relação à massa de amido), 30E (filme adicionado 30% de extrato seco com relação à massa de amido). Letras minúsculas diferentes sobrescritas às médias indicam diferença estatística significativa ao nível de 5% pelo teste de Tukey.

Ainda na Tabela 2, encontram-se os resultados referentes à opacidade dos filmes. Nota-se que com a adição do extrato de cozimento do pinhão houve um aumento significativo ($p < 0,05$) nos valores, porém entre as duas formulações contendo o extrato (15 e 30%) não houve diferença ($p > 0,05$). Um aumento da opacidade dos filmes como consequência da adição de extratos antioxidantes também foi relatado em filmes de gelatina de peixe contendo extrato de borragem (GÓMEZ-ESTACA et al., 2009) e filmes de quitosana incorporados com extrato de chá verde (SIRIPATRAWAN; HARTE, 2010).

A atividade antioxidante dos filmes foi avaliada com as análises de DPPH, FRAP e fenólicos totais, sendo os resultados apresentados na Tabela 2. Nota-se que os filmes controle, sem extrato, não apresentaram atividade antioxidante, já as amostras contendo 15 e 30% de extrato de cozimento de pinhão apresentaram valores de atividade antioxidante significativamente diferentes entre si ($p < 0,05$). Com o aumento de 15 para 30% de extrato houve um aumento proporcional na atividade para todas as análises. Freitas (2015) aplicou o extrato de cozimento do pinhão em formulação de filmes de zeína na proporção de 25% de extrato seco e obteve valores de DPPH, FRAP e FT iguais a 3,10 (μmol_{ET} /g_{filme}), 18,60 (μmol_{ET} /g_{filme}), 9,28 (mgEAG /g_{filme}). Os valores encontrados no presente trabalho demonstram que a atividade antioxidante dos filmes foi superior à dos filmes de

zeína mencionados anteriormente. Este fato provavelmente está associado à interação entre os compostos fenólicos presentes no extrato com a zeína, por ligações de hidrogênio através das hidroxilas presentes nos taninos, que são capazes de formar complexos com a zeína (BALANGE; BENJAKUL, 2009; ZHANG et al., 2010), dificultando sua extração no momento da análise da matriz polimérica. No caso dos filmes de amido do presente trabalho, esta interação não ocorreu, permitindo a liberação dos compostos do filme o que levou a uma maior ação antioxidante.

6. CONCLUSÕES

O extrato de pinhão foi obtido e caracterizado com sucesso quanto a sua atividade antioxidante. A produção dos filmes com adição de extrato seco da água de cozimento do pinhão também foi realizada com sucesso. A opacidade dos filmes aumentou de $5,60 \pm 0,57$ para $11,76 \pm 3,33$ com a adição do extrato de cozimento do pinhão em função da coloração do extrato. A capacidade antioxidante dos filmes demonstrou valores maiores que os obtidos por outros trabalhos, indicando o potencial do uso dos filmes como embalagens ativas. Com as imagens de MEV foi possível observar a microestrutura dos filmes e notou-se que na superfície dos filmes com a adição de extrato houve um aumento na rugosidade e, na fratura dos filmes foi possível notar a formação nítida de uma estrutura mais compacta conforme a quantidade de extrato adicionado aumentou. Nas propriedades térmicas dos filmes avaliadas por Calorimetria Diferencial de Varredura (DSC), notou-se que com o aumento da concentração de extrato na formulação, a temperatura relativa à fusão cristalina foi reduzida, possivelmente indicando uma característica mais amorfa e confirmando que o extrato atuou como plastificante. Pode-se perceber que os valores obtidos referentes ao ângulo de contato com a água para os filmes não apresentaram diferença estatisticamente significativa entre si, mostrando que a adição do extrato não modificou as características de hidrofobicidade dos filmes.

7. REFERÊNCIAS

- 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.
- BALANGE, A. K.; BENJAKUL, S. Effect of oxidised tannic acid on the gel properties of mackerel (*Rastrelliger kanagurta*) mince and surimi prepared by different washing processes. **Food Hydrocolloids**, v. 23, p. 1693–1701, 2009.
- BENZIE, I.F.F., STRAIN, J.J. The Ferric Reducing Ability of Plasma (FRAP) as a Measure of “Antioxidant Power”: The FRAP Assay. **Journal Analytical Biochemistry**. V. 239, n. 1, p. 70-76, 1996.
- BRAND-WILLIAMS, W.; CUVELIER, M.E.; BERSET, C. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity, LWT. **Journal Food Science and Technology**, v. 28, n. 1, p. 25-30, 1995.
- CORDENUNSI, B. R.; MENEZES, E. W. DE;; GENOVESE, M. I.; COLLI, C. . ET AL. Chemical Composition and Glycemic Index of Brazilian Pine (*Araucaria angustifolia*) Seeds. **J. Agric. Food Chem.**, v. 52, p. 3412–3416, 2004.
- DAROLT, L. M.; HELM, C. V. Caracterização da composição química e compostos fenólicos do pinhão. , 2012. Colombo, PR, Brasil.
- DAUDT, R. M.; TASENDE, V. F.; CAFRUNI, I.; THYS, R. C. S. Uso de diferentes plastificantes na produção de biofilmes à base de amido de pinhão. . p.1–8, 2004.
- 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.
- FANG, Z. et al. Active and Intelligent Packaging in Meat Industry. **Trends in Food Science & Technology**, v. 61, n. 2, p. 60–71, 2017.
- FREITAS, B. de. **PRODUÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DE FILMES DE ZEÍNA ADICIONADOS DE CASCA E EXTRATO DA CASCA DE PINHÃO**. p. 0–37, 2015.
- GIAZZON, I.; MICHELON, F.; SPADA, P. D. S.; SALVADOR, M. ATIVIDADE ANTIOXIDANTE DE SEMENTES DE *Araucaria angustifolia*. **Instituto de Biotecnologia**, 2009.
- GÓMEZ-ESTACA, J. et al. Incorporation of antioxidant borage extract into edible films based on sole skin gelatin or a commercial fish gelatin. **Journal of Food Engineering**, v. 92, n. 1, p. 78–85, 2009.
- GONTARD, N.; GUILBERT, S.; CUQ, J. L. Water and glycerol as plasticers affect mechanical and water vapor barrier properties of an edible wheat gluten film. **Journal of Food Sci.**, v. 53, n. 1, p. 206–211, 1992.
- JARAMILLO, C. M.; SELIGRA, P. G.; GOYANES, S.; BERNAL, C.; FAMÁ, L. Biofilms based on cassava starch containing extract of yerba mate as antioxidant and plasticizer. **Starch/Staerke**, v. 67, n. 9–10, p. 780–789, 2015.
- JARAMILLO, C. M.; GUTIÉRREZ, T. J.; GOYANES, S.; BERNAL, C.; FAMÁ, L.

Biodegradability and plasticizing effect of yerba mate extract on cassava starch edible films. **Carbohydrate Polymers**, v. 151, p. 150–159, 2016.

JIMÉNEZ, A. et al. Edible and Biodegradable Starch Films: A Review. **Food and Bioprocess Technology**, v. 5, n. 6, p. 2058–2076, 2012.

Koehnlein, E. A. et al. Antioxidant Activities and Phenolic Compounds of Raw and Cooked Brazilian Pinhão (*Araucaria angustifolia*) Seeds. **African Journal of Food Science**, v.6 n.21, p. 512-518, 2012.

KROCHTA, J. M. Proteins as raw materials for films and coatings: definitions, current status and opportunities. In: GENNADIOS, A. **Protein-Based Films and Coatings**. 1. ed. Boca Raton: CRC Press, 2002. 672p.

LAGARÓN, J. M.; LÓPEZ-RUBIO, A.; JOSÉ FABRA, M. Bio-based packaging. **Journal of Applied Polymer Science**, v. 133, n. 2, 2016.

LAROTONDA, F. D. S. **Desenvolvimento de biofilmes a partir da fécula de mandioca**. 2002. 63 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia de Alimentos) – Departamento de Engenharia Química e Engenharia de Alimentos, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2002.

MATHEW, S.; ABRAHAM, T. E. Characterisation of ferulic acid incorporated starch-chitosan blend films. **Food Hydrocolloids**, v. 22, n. 5, p. 826–835, 2008.

PARK, Su-il; ZHAO, Yanyun. Incorporation of a high concentration of mineral or vitamin into chitosan-based films. **Journal of agricultural and food chemistry**, v. 52, n. 7, p. 1933-1939, 2004.

PIGOZZI, L.; CONTO, L. C. DE; VEECK L. P. A. Análise da composição centesimal, da presença de compostos fenólicos e da atividade antioxidante em pinhão, sob diferentes formas de processamento. n. 1, 2015.

ROBERTSON, G. L. Active and intelligent packaging. **Food packaging: Principles and practice**, v. 2, 2006.

ROCHA, G. O. et al. Filmes compostos biodegradáveis a base de amido de mandioca e proteína de soja. **Polímeros**, v. 24, n. 5, p. 587–595, 2014.

ROSA, D. S.; FRANCO, B. L. M.; CALIL, M. R. Biodegradabilidade e propriedades mecânicas de novas misturas poliméricas. **Polímeros: Ciência e Tecnologia**, v. 11, p. 82-88, 2001.

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

SANTOS, A. F. **Produção de filmes ativos a base de amido e zeólita modificada com prata**. 42 p. Trabalho de Conclusão de Curso de Graduação do Curso Superior de Tecnologia de Alimentos. Universidade Tecnológica Federal Do Paraná. Campo Mourão, 2014.

SILVA, L. T. **Eficácia da Atividade Antioxidante e Caracterização de Embalagens Ativas Biodegradáveis Formuladas com Amido de Mandioca e Derivados de Cacau e Café**. Universidade Federal da Bahia, Faculdade de Farmácia, Salvador, 2009.

- SIRIPATRAWAN, U.; HARTE, B. R. Physical properties and antioxidant activity of an active film from chitosan incorporated with green tea extract. **Food Hydrocolloids**, v. 24, n. 8, p. 770–775, 2010.
- 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**, Londrina, v. 28, n. 1, p. 79 – 88, 2007.
- SINGLETON, V. L. . R. J. A. J. Colorunetry of total phenolics with phosphomolybdc-phosphotungstic acid reagents. **Amer. J. Enol.**, v. 16, p. 144–58, 1965.
- TALÓN, E. et al. Antioxidant edible films based on chitosan and starch containing polyphenols from thyme extracts. **Carbohydrate Polymers**, v. 157, p. 1153–1161, 2016.
- THARANATHAN, R. N. Biodegradable films and composite coatings: past, present and future. **Trends in Food Science and Technology**, v. 14, p. 71-78, 2003.
- THYS, R. C. S.; CUNHA, M. Avaliação do Tratamento Térmico da Semente do Pinhão no Teor de Amido Resistente e de Compostos Fenólicos de sua Farinha. Anais. **5º Simpósio de Segurança Alimentar. Alimentação e Saúde**. Bento Gonçalves, 2015.
- TRAN, T. N. et al. Starch-based bio-elastomers functionalized with red beetroot natural antioxidant. **Food Chemistry**, v. 216, p. 324–333, 2017.
- VOGLER, E. A. Structure and reactivity of water at biomaterial surfaces. **Advances in colloid and interface science**, v. 74, p. 69–117, 1998.
- ZHANG, B.; LUO, Y.; WANG, Q. Effect of acid and base treatments on structural, rheological, and antioxidante properties of alfa-zein. **Food Chemistry**, v. 124, p. 210-220, 2011.