

**UNIVERSIDADE TECNOLÓGICA FEDERAL DO PARANÁ**  
**DIRETORIA DE GRADUAÇÃO E EDUCAÇÃO PROFISSIONAL**  
**CURSO SUPERIOR DE TECNOLOGIA EM PROCESSOS**  
**QUÍMICOS**

**EDILAINE CISERSA**

**DESENVOLVIMENTO DE FILME POLIMÉRICO COMESTÍVEL**  
**ASSOCIADO A INGREDIENTE NATURAL COM PROPRIEDADES**  
**ANTIOXIDANTES**

**TRABALHO DE CONCLUSÃO DE CURSO**

**TOLEDO**

**2017**

**EDILAINÉ CISERSA**

**DESENVOLVIMENTO DE FILME POLIMÉRICO COMESTÍVEL  
ASSOCIADO A INGREDIENTE NATURAL COM PROPRIEDADES  
ANTIOXIDANTES.**

Trabalho de conclusão de Curso de Graduação, apresentado ao Curso Superior de Tecnologia em Processos Químicos – COPEQ – da Universidade Tecnológica Federal do Paraná – UTFPR, como requisito parcial para obtenção do título de Tecnólogo em Processos Químicos.

Orientador: Prof. Dr. Ricardo Fiori Zara

**TOLEDO**

**2017**

TERMO DE APROVAÇÃO DO TRABALHO DE CONCLUSÃO DE  
CURSO

**EDILAINE CISERSA**

**DESENVOLVIMENTO DE FILME POLIMÉRICO COMESTÍVEL  
ASSOCIADO A INGREDIENTE NATURAL COM PROPRIEDADES  
ANTIOXIDANTES.**

Trabalho apresentado como forma de avaliação para o Trabalho de Conclusão de Curso do curso de Tecnologia em Processos Químicos da UTFPR, Campus Toledo, e aprovado pela banca examinadora abaixo.

---

Prof. Dr. Ricardo Fiori Zara  
ORIENTADOR – UTFPR/ TOLEDO

---

Prof. Dr. Gilberto Da Cunha Gonçalves  
UTFPR/ TOLEDO

---

Prof. Dra. Solange Maria Cottica  
UTFPR/ TOLEDO

Toledo, 01 de Novembro de 2017.

“O Termo de Aprovação assinado encontra-se na Coordenação do Curso”.

Dedico este trabalho ao meu marido Carlos e ao meu filho Endriw que sempre acreditaram em mim.

## AGRADECIMENTOS

A Deus, por ter me dado forças para chegar até aqui, apesar das dificuldades.

Ao meu Marido Carlos, pelo amor, apoio e incentivo nos momentos difíceis e principalmente por nunca ter me deixado desistir.

Ao meu amado filho Endriw pela compreensão quando eu estive ausente.

Aos meus pais Nelson (*in memoriam*) e Imaculada pela criação, educação e amor que me deram durante todos esses anos de vida.

Ao meu querido orientador Professor Dr. Ricardo F. Zara, pela confiança, conselhos e principalmente pela paciência.

Aos membros da banca examinadora por aceitarem gentilmente o convite.

A todos que direta ou indiretamente contribuíram para meu crescimento acadêmico e pessoal.

## RESUMO

CISERSA, Edilaine. **Desenvolvimento de filme polimérico comestível associado a ingrediente natural com propriedades antioxidantes**, 2017. Trabalho de conclusão de curso – Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Toledo – PR. Orientador: Prof. Dr. Ricardo Fiori Zara.

O desenvolvimento de filme polimérico comestível vem para aumentar a vida útil de alimentos frágeis como as frutas, sendo uma opção às embalagens convencionais. Estes filmes possuem uma boa característica tecnológica, pois funcionam como barreira à troca de gases tais como oxigênio, atuam contra a perda de umidade, controlam a respiração do fruto e evitam contaminações microbiológicas e químicas. Além de proporcionar ao fruto uma aparência de fresco, cor brilhante e sem defeitos. Este trabalho teve como objetivo o desenvolvimento de um polímero feito à base de quitosana, com adição de ácido oleico como material plastificante e com associação de quercetina um antioxidante natural, para aplicação em maçãs. Estudou-se as propriedades físico-químicas e a ação antioxidante das soluções poliméricas, a aparência e a perda de massa das maçãs. Os resultados mostram que polímero a base de quitosana foi eficiente e que a associação de ácido oleico e quercetina aumentaram ainda mais a vida útil das maçãs

**Palavras-chave:** Quitosana, polímero natural, antioxidante.

## ABSTRACT

CISERSA, Edilaine. **Development of edible polymeric film associated with natural ingredient with antioxidant properties**, 2017. Trabalho de conclusão de curso – Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Toledo – PR. Orientador: Prof. Dr. Ricardo Fiori Zara.

The development of edible polymer comes to increase the useful life of fragile foods like fruit, being an option to the conventional packages, since they have a good technological characteristic, as they work as a barrier to the exchange of gases and oxygen, they act against the loss of humidity, control fruit respiration and prevent microbiological and chemical contamination. In addition to giving the fruit a fresh appearance, bright color and without defects. This work aims to present the development of a polymer based on chitosan, with addition of oleic acid as plasticizing material and with the association of quercetin with a natural antioxidant, for application in apples. The physicochemical properties and the antioxidant action of the polymer solutions, the appearance and the loss of mass of the apples were studied. The results show that chitosan-based polymer is efficient and that the association of oleic acid and quercetin has further increased the shelf life of apples.

Keywords: Chitosan, natural polymer, antioxidant

## LISTA DE SIGLAS E SÍMBOLOS

% - Percentual;

$\mu\text{L}$  - microlitro;

g - gramas;

L - litro;

mg - miligrama;

$\text{mg mL}^{-1}$  - miligrama por mililitro;

$\text{g L}^{-1}$  - gramas por litro;

mL - mililitro;

$\text{mol L}^{-1}$  - mol por litro;

M - mol;

$^{\circ}\text{C}$  - Graus Celsius;

cP - centipoise

PM - Perda de massa;

TEAC - Atividade antioxidante equivalente em Trolox

DPPH - 2,2-difenil-1-picrilhidrazila;

IBRAF - Instituto Brasileiro de Frutas

FAO - Food and Agriculture Organization

ANVISA - Agência Nacional de Vigilância Sanitária

IBGE - Instituto brasileiro de geografia e estatística

## ÍNDICE DE ILUSTRAÇÕES

### FIGURAS

Figura 1 Produção de frutas no Brasil.....	15
Figura 2 Estrutura da cadeia produtiva de frutas. ....	16
Figura 3 Representação esquemática da estrutura primária da quitosana, sendo n o grau de polimerização. ....	25
Figura 4 Estrutura química da quercetina. ....	29
Figura 5 - Perda relativa de massa em função do tempo de monitoramento. Amostra controle e com revestimento a 2% de quitosana. ....	39
Figura 6 - Perda relativa de massa em função do tempo de monitoramento. Amostras controle, revestimento a 2% de quitosana e 0,25% de ácido oleico.....	40
Figura 7 - Perda relativa de massa em função do tempo de monitoramento. Amostras sem revestimento e com revestimento a 2% de quitosana e 0,5% de ácido oleico.....	40
Figura 8 - Perda relativa de massa em função do tempo de monitoramento. Amostras sem revestimento e com revestimento a 2% de quitosana e 1,0% de ácido oleico. ....	41
Figura 9 - Comparação do aspecto visual das maçãs. Amostras não revestidas (A e D), revestidas com quitosana (B e E) e revestidas com quitosana associado a ácido oleico 0,5% e quercetina 0,4% (C e F). Primeiro dia de monitoramento e após 30 dias de monitoramento respectivamente. ....	45

## SUMÁRIO

<b>1.</b>	<b>INTRODUÇÃO .....</b>	<b>12</b>
<b>2.</b>	<b>OBJETIVOS .....</b>	<b>14</b>
2.1.	Objetivo Geral .....	14
2.2.	Objetivos Específicos .....	14
<b>3.</b>	<b>REVISÃO BIBLIOGRÁFICA .....</b>	<b>15</b>
3.1.	Frutas no Brasil .....	15
3.1.1.	Maçã .....	17
3.1.2.	Perdas e desperdício .....	18
3.2.	Embalagem .....	21
3.3.	Filme Comestível .....	22
3.3.1.	Tipos de Revestimento .....	23
3.4.	Conservantes .....	25
3.5.	Antioxidantes .....	26
3.5.1.	Quercetina .....	28
<b>4.</b>	<b>MATERIAL E MÉTODOS.....</b>	<b>30</b>
4.1.	Materiais.....	30
4.2.	Métodos .....	30
4.2.1.	Preparo das amostras.....	31
4.2.2.	Preparo dos Filmes .....	31
4.2.3.	Aplicação dos Filmes nas Maçãs .....	32
4.3.	Avaliações Físico-químicas .....	33
4.3.1.	Densidade.....	33

4.3.2.	Viscosidade.....	34
4.3.3.	pH das soluções.....	34
4.3.4.	Análise visual.....	34
4.3.5.	Perda de massa.....	35
4.3.6.	Avaliação da atividade antioxidante do filme.....	35
<b>5.</b>	<b>RESULTADOS E DISCUSSÕES.....</b>	<b>36</b>
5.1.	Propriedades Físico-químicas.....	36
5.1.1.	Avaliação da atividade antioxidante dos filmes.....	37
5.1.2.	Perda de massa.....	39
5.1.3.	Análise visual.....	44
<b>6.</b>	<b>CONCLUSÃO.....</b>	<b>47</b>
	<b>REFERENCIAS.....</b>	<b>48</b>

## 1. INTRODUÇÃO

O Brasil é o terceiro maior produtor mundial de frutas, com uma colheita que excede 40 milhões de toneladas anuais (ANDRADE, 2017).

O setor de fruticultura está entre os principais geradores de renda, emprego e de desenvolvimento rural do agronegócio nacional. Os índices de produtividade e os resultados comerciais obtidos nas últimas safras são fatores que demonstram não apenas a vitalidade como também o potencial desse segmento produtivo (ANUÁRIO BRASILEIRO DE FRUTICULTURA, 2014).

Frutas, verduras e legumes tem um grande valor nutricional, pela combinação de fibras, vitaminas e minerais que possuem e por isso aumenta cada vez mais a demanda pelos consumidores. Porém, por serem altamente perecíveis são apontados como produtos de maiores perdas em toda cadeia produtiva.

De acordo com as estatísticas mundiais, nos países em desenvolvimento as perdas pós-colheita ocorrem com maior intensidade e são superiores a 15% e algumas vezes alcançam 80%. No Brasil as perdas da produção agrícola nas fases pós-colheita, apresentam números assustadores, na ordem de 40% das safras de frutos e hortaliças (EMBRAPA, 2007).

Esses produtos possuem elevada especificidade temporal, ou seja, seu tempo de prateleira é curto, deteriorando-se rapidamente e sua estocagem por longos períodos é tecnicamente inviável, fato que exige rapidez no seu processo de comercialização, desde a produção até o consumidor final.

Uma tecnologia cada vez mais divulgada e avaliada como um procedimento viável para elevar o tempo de vida de frutas e hortaliças, é o emprego de coberturas comestíveis protetoras. Os filmes comestíveis são uma opção às embalagens convencionais, visto que possuem uma boa característica tecnológica, pois funcionam como barreira à troca de gases e oxigênio, têm resistência mecânica,

atuam contra a perda de umidade, controlam a respiração do fruto e evitam contaminações microbiológicas e químicas. Além de proporcionar ao fruto uma aparência de fresco, cor brilhante e sem defeitos (ASSIS; LEONI, 2003).

As coberturas comestíveis são aplicadas ou formadas diretamente sobre a superfície das frutas, configurando membranas delgadas, imperceptíveis a olho nu e com diversas características estruturais, que são dependentes da formulação da solução filmogênica precursora. Como estas coberturas passam a fazer parte do alimento a ser consumido, os materiais empregados em sua formação devem ser atóxicos e seguros para o uso em alimentos (ASSIS; BRITO, 2014).

Para a evolução da indústria alimentícia, o processamento e a consequente necessidade de preservação dos alimentos estão intimamente relacionados com o incremento da procura de compostos com propriedades antioxidantes que aumentem o tempo de estocagem dos alimentos e reduzam as perdas de nutrientes (GALVÃO, et al, 2008).

Portanto, a associação de embalagens comestíveis a ingrediente naturais com funções antioxidantes poderá retardar a deterioração do alimento diminuindo assim o desperdício e aumentando a vida de prateleira de frutas sensíveis.

## **2. OBJETIVOS**

### **2.1. Objetivo Geral**

Desenvolvimento de filme polimérico comestível associado a ingredientes naturais com propriedades antioxidantes, para aplicação em maçãs.

### **2.2. Objetivos Específicos**

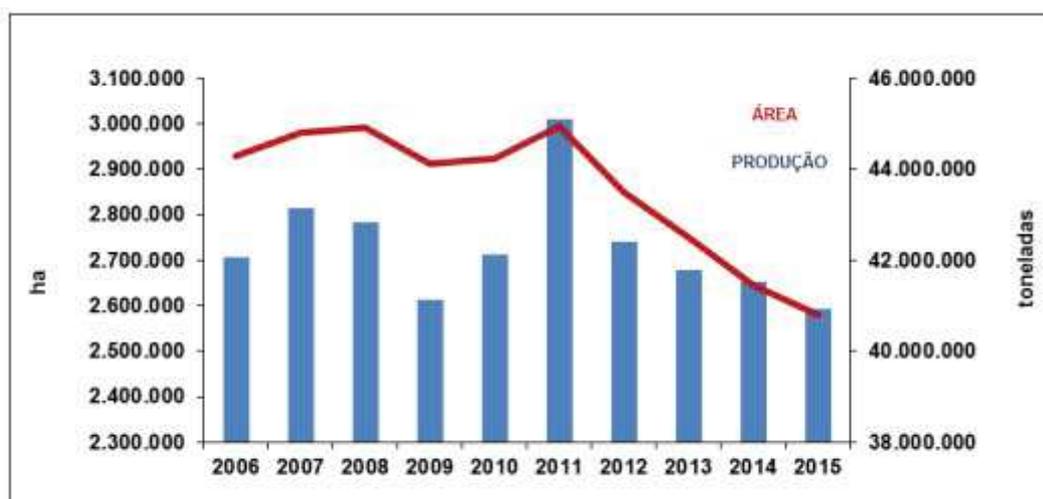
- Desenvolver filme polimérico comestível com polímero natural à base de quitosana;
- Avaliar as propriedades físico-químicas das soluções poliméricas;
- Aplicar os filmes em maçãs;
- Avaliar a melhor concentração de material plastificante para aplicação em frutas;
- Avaliar a melhor concentração do antioxidante quercetina;
- Avaliar o aspecto visual das frutas;
- Avaliar a melhoria do tempo de prateleira das frutas com a aplicação dos filmes poliméricos comestíveis;
- Avaliar a atividade antioxidante para aplicação em conjunto com os filmes;

### 3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

#### 3.1. Frutas no Brasil

No grande mapa do agronegócio global, a importância do Brasil é inquestionável. E nesse terreno da economia, a fruticultura é muito forte. O segmento tem garantido colheita superior a 40 milhões de toneladas de frutas frescas desde 2006, como apresentado na Figura 1. O resultado confere ao País o posto de terceiro maior produtor mundial de frutas (ANDRADE, 2017).

**Figura 1** Produção de frutas no Brasil



Fonte: Andrade, 2017.

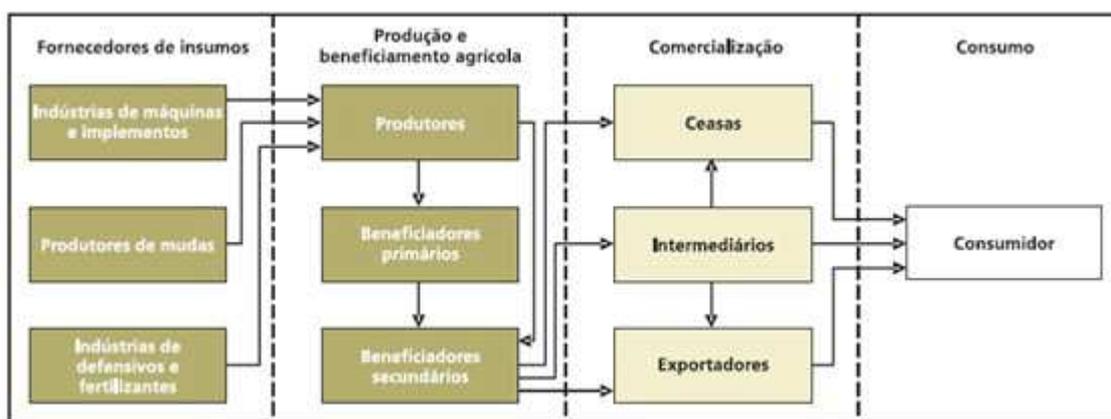
O setor de fruticultura está entre os principais geradores de renda, emprego e de desenvolvimento rural do agronegócio nacional. Os índices de produtividade e os resultados comerciais obtidos nas últimas safras são fatores que demonstram não apenas a vitalidade como também o potencial desse segmento produtivo (ANUÁRIO BRASILEIRO DE FRUTICULTURA, 2014).

A base agrícola da cadeia produtiva das frutas abrange 2,6 milhões de hectares e está presente em todo o território nacional. A atividade congrega cerca de 5,6 milhões de pessoas, o que corresponde a 34% da força de trabalho empregada no meio rural, de acordo com o Instituto Brasileiro de Frutas - IBRAF, (2014).

O setor integra principalmente pequenas e médias propriedades. Nas regiões secas do País, o cultivo de frutas é garantido durante o ano todo com o uso de modernos sistemas de irrigação. A produção adota as boas práticas agrícolas, em conformidade com os principais requisitos de preservação do meio ambiente, de segurança alimentar e de segurança do trabalho (SANTOS et al, 2013).

A Figura 2 apresenta um fluxograma com os macrosssegmentos da cadeia produtiva, os principais agentes e os fluxos de comercialização e consumo comuns nas cadeias de produção de frutas brasileiras.

**Figura 2** Estrutura da cadeia produtiva de frutas.



Fonte: Buainain; Batalha, 2007.

A mudança observada nos hábitos e nas preferências alimentares dos consumidores, o aumento da idade média da população e a busca por uma melhor qualidade de vida são fatores que reforçam a tendência de valorização dos benefícios proporcionados pelas frutas. Essas características e exigências dos consumidores, ao mesmo tempo em que valorizam e reforçam a expansão do mercado, indicam as tendências a serem seguidas e revelam as condições, necessárias para participar do mercado com sucesso. O desempenho da fruticultura brasileira confirma que o Brasil tem potencial para produzir frutas de qualidade,

atendendo aos requisitos mais exigentes dos mercados interno e externos. Ressalte-se que nem o mercado nacional nem o internacional estão plenamente atendidos e ambos devem continuar em crescimento (BUAINAIN; BATALHA, 2007).

Com mais de duas dezenas de espécies de frutas de forte importância econômica e social, algumas delas com projeção regional e outras com amplo mercado nacional e internacional, o Brasil tem investido em tecnologias que ampliaram a produtividade e a qualidade. Hoje, o volume de colheita por área e os aspectos gerais que garantem o apelo junto aos consumidores avançam em níveis muito superiores aos do crescimento da extensão ocupada com pomares. Isso demonstra o acerto do trabalho de pesquisa e a determinação dos produtores de introduzir novos sistemas em suas plantações (ANUÁRIO BRASILEIRO DE FRUTICULTURA, 2014).

### **3.1.1. Maçã**

As maçãs são um fruto único, com uma enorme variedade de aromas, açúcares e ácidos. Possuem polpa com diferentes texturas e suculências. O número de cultivares existente é vasto, mas apenas alguns apresentam interesse comercial. Existem mais de 7.500 espécies, em climas temperados e subtropicais. A macieira é uma pomoideia da família Rosaceae que se adapta a todos os tipos de solos (GONÇALVES, 2007).

Não se sabe ao certo qual a origem da macieira, mas pensa-se ser originário da região sul do Cáucaso e que todos as cultivares de macieiras derivam da macieira indígena ou brava da Europa e da Ásia Ocidental, *Malus Pumila*, nome pelo qual é conhecida, tendo como sinónimos *silvestris* e *comunis*. As melhores maçãs resultaram do cruzamento de várias espécies de *M. Pumila*, algumas delas existentes na Europa há mais de 2000 anos, e introduzidas em muitos países pelos Romanos. A maior parte desses cultivos é, contudo, de origem recente (RODRIGUES, 2010).

A maçã possui um considerável valor nutritivo e um baixo valor calórico. É constituída principalmente por água e açúcares e apresenta um baixo teor de proteína e gordura. A maçã é ainda rica em fibra, minerais e vitaminas, sendo estes três elementos os principais responsáveis pelas vantagens nutricionais deste fruto. A vitamina C é a vitamina que existe em maior quantidade. Contudo, esta vitamina é apenas responsável por uma pequena parte da sua atividade antioxidante. Quase toda a atividade antioxidante da maçã provém de uma combinação de químicos vegetais, tais como flavonoides e polifenóis, geralmente conhecidos como fitoquímicos ou fitonutrientes que se encontram na polpa e na casca da maçã, inibindo a atividade de radicais livres no organismo humano. A maçã contém também vitaminas do complexo B e diversos minerais, sendo uma boa fonte de potássio. O alto teor de potássio contido na polpa da maçã promove a eliminação do sódio excedente, eliminando o excesso de água retida no corpo (BARRANCOS, 2002).

Desde o início da pomicultura no Brasil revela o grande potencial da produção de maçãs. Os fatores responsáveis por esse grande desenvolvimento da cultura da macieira devem-se ao desenvolvimento das tecnologias utilizadas nos cultivos, pela logística implantada, pela definição de cultivares (Gala, 58% e Fuji, 36%) e clones capazes de atender às exigências dos consumidores. Dessa forma, centros de pesquisa e extensão rural, visando ao melhoramento, adaptação, nutrição mineral, manejos fitotécnicos e fitossanitários da cultura, tecnologia de armazenamento pós-colheita, permitiram ao País passar de importador, para exportador da fruta em poucos anos, e hoje o Brasil é considerado autossuficiente. A expectativa é que os cultivos continuem a crescer em taxas de 3,37% ao ano e que cada vez se concentre a produção nos clones de Gala e Fuji (FACHINELLO et al, 2011).

### **3.1.2. Perdas e desperdício**

O consumo de frutas, legumes e verduras é motivado pelo significativo valor nutricional, pela combinação de fibras, vitaminas e minerais que esses alimentos possuem, possibilitando uma vida mais saudável, assim aumenta cada vez mais a

demanda pelos consumidores. Em tal sentido, por serem produtos altamente perecíveis são apontados com as maiores perdas em toda a cadeia produtiva. Esses alimentos possuem elevada especificidade temporal, ou seja, seu tempo de prateleira é curto, deteriorando-se rapidamente e sua estocagem por longos períodos é tecnicamente inviável, fato que exige rapidez no seu processo de comercialização, desde a sua produção até o consumidor final (CECCATO; BASSO, 2011).

De acordo com as estatísticas mundiais, nos países em desenvolvimento as perdas pós-colheita ocorrem com maior intensidade e são superiores a 15% e algumas vezes alcançam 80%. No Brasil as perdas da produção agrícola nas fases pós-colheita, apresentam números assustadores, na ordem de 40% das safras de frutos e hortaliças (EMBRAPA, 2007).

Segundo a FAO (Food and Agriculture Organization) perda é “alguma mudança na viabilidade, comestibilidade, salubridade ou qualidade do alimento que o impeça de ser consumido pelo ser humano”, podendo ser igual ao produto colhido menos o produto consumido.

Sabe-se que as perdas pós-colheita começam na colheita e ocorrem em todos os pontos da comercialização até o consumo, ou seja, durante a embalagem, o transporte, o armazenamento, e em nível de atacado, varejo e consumidor. As perdas podem ser classificadas em bióticas (doenças patogênicas), abióticas (desordens ou distúrbios fisiológicos ou doenças não patogênicas) e físicas (injúrias mecânicas são as principais), sendo geralmente maiores em países menos desenvolvidos. Com relação às perdas nutricionais, ressaltam-se principalmente as perdas de vitaminas, pigmentos e açúcares (CENCI et al, 1997).

Segundo Cenci et al. (1997) muitos são os fatores que contribuem para os desperdícios de alimentos. As principais razões encontram-se na falta de conhecimento técnico, no uso de máquinas inadequadas, na falta de pessoal treinado e habilitado, no uso de práticas inapropriadas de produção e principalmente de técnicas adequadas de manuseio pós-colheita.

Estudo realizado pela Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (Embrapa, 2014) mostra que perdas pós-colheita de frutos e hortaliças são divididas em:

- Campo – 10%
- Manuseio e transporte – 50%
- Centrais de abastecimento e comercialização – 30%
- Supermercados e consumidores – 10%

Esse mesmo estudo realizado pela Embrapa mostrou as principais causas de perdas em produtos hortifrutícolas:

- Manuseio inadequado no campo
- Embalagens impróprias
- Transporte ineficiente
- Comercialização de produtos a granel
- Não utilização da cadeia de frio
- Classificação não padronizada
- Contaminação
- Comércio no atacado ineficaz
- Excesso de “toque” nos produtos por parte dos consumidores
- Acúmulo de produtos nas gôndolas de exposição de varejo
- Deficiência Gerencial e Administrativa nos Centros Atacadistas e Varejistas.

As intervenções de qualidade sobre produtos perecíveis no Brasil tem que ser firmes e urgentes, envolvendo toda a força disponível nas áreas políticas (legislação, incentivos e apoio financeiro) e técnicas (processamento de alimentos, qualidade, projetos, etc), objetivando reduzir os níveis de perdas registrados que são muito elevadas (SOARES, 2007).

### 3.2. Embalagem

A definição mais comum que se dá à embalagem é que se trata de um elemento ou um conjunto de elementos destinados a envolver, conter e proteger produtos durante sua movimentação, transporte, armazenagem, comercialização e consumo (FONSECA, 2009).

A humanidade tem se preocupado em achar métodos de conservar e proteger os alimentos. E pensando nisso, tiveram a ideia de utilizar alguma forma de revestimento que os protegesse contra a deterioração e danos mecânicos. Ao longo dos anos desenvolveram-se materiais cada vez mais duráveis para utilização diária no mercado, e dentre estes estavam os plásticos, com grande variedade de aplicações, devido a suas propriedades, versatilidade de uso e preço (MOTA, 2009).

Como a grande maioria destas embalagens não são recicláveis ou biodegradáveis, a tendência foi delas irem se acumulando em grandes depósitos de lixo ou simplesmente serem despejadas no meio ambiente, ocasionando muita poluição (FONSECA, 2009). Os plásticos sintéticos, por serem macromoléculas poliméricas, têm uma degradação muito lenta, levando em média 150 anos para se degradarem. A consequência direta é que a poluição ambiental está tomando proporções perigosas. Outros fatores observados foram em relação a sua origem não renovável e a grande quantidade de energia térmica utilizada para fazer a sua reciclagem (MOTA, 2009).

As embalagens de alimentos são estratégias importantes que podem ser decisivas como vantagem competitiva na indústria de alimentos. Portanto, há constante desafio visando atender às exigências dos consumidores, fornecendo embalagens modernas, práticas, que preservem os alimentos e sejam viáveis ambiental e economicamente. Embora as embalagens tradicionais tenham contribuído grandemente com os primeiros desenvolvimentos do sistema de distribuição de alimentos, elas não são suficientes para atender às novas exigências dos consumidores por produtos mais próximos ao natural, contendo menos conservantes e que sejam seguros. O interesse de manter ou melhorar a qualidade dos alimentos, e ao mesmo tempo reduzir o desperdício de embalagens, tem

encorajado a exploração de novos materiais de embalagens. Nesse sentido, novas tecnologias de embalagens vêm sendo desenvolvidas em resposta a essa demanda (SOARES et al, 2009).

### **3.3. Filme Comestível**

Filmes comestíveis vêm sendo utilizados na conservação de alimentos em substituição a materiais oriundos exclusivamente de derivados de petróleo e é uma nova tendência mundial. Dessa forma ocorre um considerável aumento da pesquisa sobre o uso de polímeros naturais na elaboração de filmes que funcionem como embalagem. A possibilidade em aumentar a qualidade e a vida de prateleira de frutas e vegetais, reduzindo perdas pós-colheita e a adição de aditivos serviram como grande incentivo para tal propósito (FARIAS et al, 2013).

Os filmes comestíveis são películas de variadas espessuras constituídas por diferentes substâncias naturais e/ou sintéticas que se polimerizam e isolam o alimento, sem riscos à saúde do consumidor, uma vez que não são metabolizados pelo organismo e sua passagem pelo trato gastrointestinal se faz de maneira inócua (MAIA et al, 2000).

O emprego de coberturas comestíveis protetoras é uma tecnologia alternativa cada vez mais divulgada e avaliada como um procedimento viável para elevar o tempo de vida de frutas e hortaliças, processadas ou não. Esses revestimentos têm como objetivo apresentar uma atuação funcional e coadjuvante, contribuindo para a preservação da textura e do valor nutricional, reduzindo as trocas gasosas superficiais e a perda ou ganho excessivo de água. Essas coberturas têm sido indicadas, principalmente, para produtos com alta taxa de respiração (ASSIS et al, 2008).

As coberturas ditas 'comestíveis' são aplicadas ou formadas diretamente sobre a superfície das frutas, configurando membranas delgadas, imperceptíveis a olho nu e com diversas características estruturais, que são dependentes da

formulação da solução filmogênica precursora. Como estas coberturas passam a fazer parte do alimento a ser consumido, os materiais empregados em sua formação devem ser atóxicos e seguros para o uso em alimentos (ASSIS; BRITTO, 2014).

As principais funções dos filmes comestíveis são inibir a migração de umidade, oxigênio, dióxido de carbono, aromas, lipídios e outros solutos; carrear aditivos alimentares e agentes antimicrobianos; melhorar a integridade mecânica e as características de manuseio de alimentos (MAIA et al, 2000).

Os revestimentos comestíveis sobre alimentos devem apresentar certas peculiaridades como ser invisíveis, terem aderência suficiente para não serem facilmente removidos no manuseio e não introduzirem alteração no gosto (ASSIS; LEONI, 2003).

### **3.3.1. Tipos de Revestimento**

As matérias-primas empregadas na formação das coberturas e revestimentos comestíveis podem ter origem animal ou vegetal, ou formarem um composto com a combinação de ambas. Polissacarídeos, ceras (lipídios) e proteínas são as classes de materiais mais empregados, e a escolha depende fundamentalmente das características do produto a ser revestido e do principal objetivo almejado com o revestimento aplicado (ASSIS et al, 2008).

Coberturas hidrofílicas são materiais com estruturas nas quais há a predominância de grupos amino ou hidroxila e carboxila ( $\text{NH}_3$ ,  $\text{OH}$ ,  $\text{COO}^-$ ) caracterizados por ligações covalentes polares. Em função das características desses grupos, a cadeia carbônica apresenta sítios parcialmente carregados positivamente e outros carregados negativamente. Essa característica da estrutura química favorece o acúmulo e o rearranjo de moléculas polares, e principalmente da água, em torno desses sítios. Alguns exemplos destes materiais são os polissacarídeos, como a celulose, a quitina, a goma xantana, a goma guar, a pectina, o amido e os polissacarídeos polieletrólitos, como a carboximetilcelulose, a

quitosana, o alginato, etc. Os materiais hidrofílicos normalmente apresentam boa solubilidade em meio aquoso, favorecendo uma melhor dispersão do soluto e uma formação mais homogênea do filme (ASSIS; BRITTO, 2014).

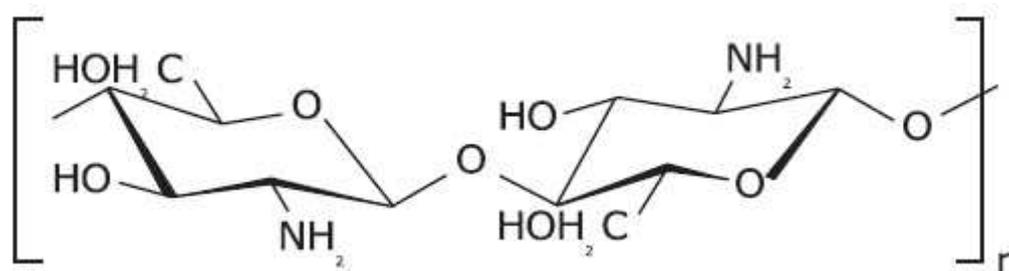
Coberturas hidrofóbicas são materiais caracterizados por moléculas nas quais predominam estruturas cujas ligações tendem a ser eletricamente neutras, ou seja, não configuram regiões polares definidas. Incluem grupos alquilas (CH<sub>3</sub>, CH<sub>2</sub>-CH<sub>3</sub>, etc.) e aromáticos. Na presença de água esses materiais tendem a se aglomerarem e excluir as moléculas polares de sua redondeza. Nesta categoria, encontram-se as proteínas hidrofóbicas (predominância de substituintes apolares), óleos e ácidos graxos, em que predominam substituintes de cadeia alifática, parafinas, álcoois de cadeia longa, etc. Para esta classe de materiais, os solventes adequados devem ser mais apolares, como o álcool, a acetona e o hexano (ASSIS; BRITTO, 2014).

#### **3.3.1.1. Quitosana**

A quitosana é uma forma desacetilada da quitina, um polissacarídeo de alta massa molecular, solúvel em ácidos orgânicos, comestível e segura para os seres humanos. Apresenta efeito fungicida, além de ser um material natural e não tóxico. Oferece um promissor e versátil polímero biodegradável para embalagens de alimentos (SOUZA et al, 2011).

Sua estrutura é formada pela repetição de unidades beta (1-4) 2-amino-2-deoxi-D-glucose (ou D-glucosamina) e apresenta uma cadeia polimérica quimicamente similar à da celulose, conforme expressa na Figura 3 (ASSIS; LEONI, 2003).

**Figura 3** Representação esquemática da estrutura primária da quitosana, sendo n o grau de polimerização.



Fonte: Assis; Leoni, 2003.

Devido a suas características atóxicas e de fácil formação de géis, a quitosana tem sido considerada há décadas como um composto de interesse industrial. Como a quitosana constitui-se de fibras não digeríveis, não apresenta valor calórico, independente da quantidade ingerida, o que é mais um atrativo para a indústria alimentar (ASSIS; LEONI, 2003).

### 3.4. Conservantes

Conservantes são substâncias adicionadas aos produtos de higiene pessoal, cosméticos, perfumes e alimentos com a finalidade primária de preservá-los de danos e/ou deteriorações causados por microorganismos durante sua fabricação e estocagem, bem como proteger o consumidor de contaminação inadvertida durante o uso do produto (ANVISA, 2001).

A portaria nº 540 - SVS/MS de 27 de outubro de 1997 publicada pela ANVISA (Agência Nacional de Vigilância Sanitária) define o termo aditivo alimentar como "qualquer ingrediente adicionado intencionalmente aos alimentos, sem propósito de nutrir, com o objetivo de modificar as características físicas, químicas, biológicas ou sensoriais, durante a fabricação, processamento, preparo, tratamento, embalagem, acondicionamento, armazenagem, transporte ou manipulação de um alimento".

O uso de conservantes deve ser limitado a alimentos específicos, em condições específicas e ao menor nível para alcançar o efeito desejado em concentrações tais que sua ingestão diária não supere os valores de ingestão diária

aceitável (IDA) recomendados. O processo de fabricação de alimentos deve seguir as Boas Práticas de Fabricação (BPFs) que são um conjunto de regras, normas e atitudes aplicadas ao manuseio de alimentos, para assegurar condições necessárias para atendimento do que reza a legislação em vigor (AUN et al, 2011).

Os conservantes sintéticos empregados na conservação de alimentos acabam constantemente sendo prejudiciais para o organismo de quem os ingere, e os consumidores tendem a evitar produtos que apresentem esses conservantes sintéticos em sua composição devido ao seu nível de toxicidade. As características de um bom conservante é que, não traga malefícios para os consumidores, que não apresente toxicidade, que seja eficaz em pequenas doses, que não modifique as qualidades organolépticas dos alimentos e também que apresente uma ação confiável sobre um grande número de micro-organismos, de forma que impeçam a proliferação dos mesmos (RODRIGUES, 2010).

### **3.5. Antioxidantes**

O termo antioxidante significa “que impede a oxidação de outras substâncias químicas”, que ocorre nas reações metabólicas ou por fatores exógenos, como as radiações ionizantes (DOSSIÊ ANTIOXIDANTES, 2009).

A oxidação que ocorre nos produtos alimentares é uma das principais preocupações em Tecnologia de Alimentos. É responsável por odores e sabores desagradáveis nos produtos, com consequente diminuição da segurança e qualidade nutricional, causados pela formação de compostos potencialmente tóxicos. Os antioxidantes apresentam-se como uma alternativa para prevenir a deterioração oxidativa dos alimentos e minimizar os danos oxidativos nos seres vivos (DEL RÉ; JORGE, 2012).

A fim de reduzir ou retardar a oxidação lipídica, frequentemente são adicionados, no produto ou na embalagem, substâncias antioxidantes, que são capazes de remover o oxigênio do meio ou impedir a reação em cadeia produzida pelos radicais livres formados durante o processo de oxidação (SILVA, 2009).

O processo de oxidação lipídica envolve uma variedade de radicais livres, e é causado por influência de temperatura, presença de luz ou oxigênio, além de propriedades físico-químicas do produto em questão. A utilização de antioxidantes sintéticos e naturais nesse processo pode minimizar e obter um controle sob a oxidação lipídica, como já vem sendo indicado por diferentes pesquisas (SILVA et al., 2010).

O mecanismo de ação antioxidante pelo qual um composto exerce sua ação permite classificá-los como primários e secundários. Os compostos de ação antioxidante capazes de inibir ou retardar o processo oxidativo de radicais livres, pela doação de átomos de hidrogênio ou de elétrons de forma que os radicais livres são transformados em substâncias estáveis, são considerados primários, como os compostos fenólicos e tocoferóis. Os antioxidantes classificados como secundários, apresentam sua ação no bloqueio e inativação de peróxidos e hidroperóxidos em espécies não radicalares, como os compostos fenólicos, as vitaminas A, C e E (SILVA et al., 2010).

Comumente são utilizados antioxidantes sintéticos dentre os quais, os mais utilizados são BHA (butil hidroxianisol), BHT (butil hidroxitolueno), GP (galato de propila) e TBHQ (terc-butil hidroquinona). A utilização dos antioxidantes sintéticos tem sido bastante questionada, devido ao aparecimento de diversos estudos que alegam que estes antioxidantes podem promover efeitos tóxicos e carcinogênicos no organismo (SILVA, 2009).

O uso destas substâncias como antioxidantes é restringido em vários países. Pesquisas têm sido desenvolvidas com o intuito de encontrar produtos naturais destinados a esta finalidade, que permitirão a substituição dos sintéticos ou fazer associações entre eles, com a finalidade de diminuir sua quantidade nos alimentos. Condimentos vegetais e seus derivados têm sido usados para evitar a oxidação dos alimentos, bem como para combater os radicais livres (ANDRADE et al, 2012).

Os antioxidantes naturais são moléculas presentes nos alimentos, em pequenas quantidades. Desse modo, são capazes de reduzir a velocidade das reações de oxidação dos compostos lipídicos. Alguns extratos naturais são mais

efetivos até que alguns antioxidantes sintéticos. Em determinadas espécies de plantas são encontrados compostos que apresenta poder antioxidante, o que é atribuído principalmente a compostos fenólicos (THOMAZINI et al, 2011).

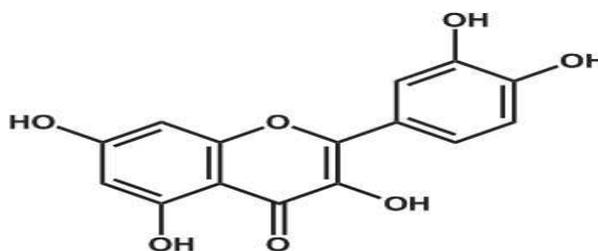
Em geral os compostos fenólicos são multifuncionais como antioxidantes, pois atuam de várias formas: combatendo os radicais livres, quelando metais de transição, interrompendo a reação de propagação dos radicais livres na oxidação lipídica, modificando o potencial redox do meio, reparando a lesão das moléculas atacadas por radicais livres (DEL RÉ; JORGE, 2012).

### 3.5.1. Quercetina

Os flavonoides são antioxidantes efetivos devido à suas propriedades sequestrantes de radicais livres e por quelar íons metálicos, protegendo assim os tecidos dos radicais livres e da peroxidação lipídica. A propriedade antioxidante é direcionada sobre o radical hidroxila (OH) e o ânion superóxido ( $O^{2-}$ ), que são espécies altamente reativas envolvidas na iniciação da peroxidação lipídica. Além destes efeitos importantes, os flavonóides têm propriedades estabilizadoras de membrana, podendo afetar alguns processos do metabolismo intermediário (BEHLING, et al. 2004).

A quercetina é um flavonoide e antioxidante polifenólico natural geralmente encontrado nos alimentos na forma glicosilada, às vezes, como  $\beta$ - glicosidase. Quimicamente a quercetina é uma aglucona da rutina e de outros glicosídeos. Está presente nos vegetais, frutas e sucos. São encontradas altas concentrações de quercetina em maçãs, cebolas, chá e vinho tinto. Sua estrutura está apresentada na Figura 4 (DIAS, 2005).

**Figura 4** Estrutura química da quercetina.



Fonte: Dias, 2005.

A quercetina pode inibir o processo de formação de radicais livres em três etapas diferentes, na iniciação (pela interação com íons superóxido), na formação de radicais hidroxila (por quelar íons de ferro) e na peroxidação lipídica (por reagir com radicais peroxila de lipídeos). De modo geral, a quercetina é capaz de doar hidrogênio para os radicais livres, estabilizando-os e impedindo o estresse oxidativo capaz de gerar morte celular (DIAS, 2005).

Particularmente, a quercetina sequestra radicais de oxigênio como (OH e  $O^{2-}$ ) inibe a xantina oxidase e a peroxidação lipídica. O radical hidroxila e o ânion superóxido estão envolvidos no dano tecidual por iniciarem a peroxidação lipídica e destruição da matriz intersticial. A quercetina é conhecida também por suas propriedades quelante e estabilizadora do ferro (BEHLING, et al. 2004).

## 4. MATERIAL E MÉTODOS

Neste capítulo encontram-se descritos os procedimentos para a execução do trabalho experimental. Essa descrição envolve o processo de preparação dos filmes polimérico comestíveis, a associação de ingredientes naturais com propriedades antioxidantes, a aplicação nos frutos da maçã, a avaliação da atividade antioxidante, a avaliação do fruto após a aplicação do filme, além de abordar as técnicas de manipulação, normas, procedimentos e materiais específicos necessários na concretização do presente trabalho.

O trabalho experimental foi desenvolvido nos Laboratórios da Universidade Tecnológica Federal do Paraná – Campus Toledo.

As amostras de maçãs (*Malus communis*) utilizadas foram provenientes da região oeste do Paraná e foram adquiridas no comércio de Toledo no mês de agosto do ano de 2017.

### 4.1. Materiais

Os reagentes utilizados foram: Quitosana (Sigma Aldrich), Ácido Oleico (Dinâmica), Acido Acético (Vetec), DPPH - 2,2-difenil-1-picril-hidrazila (Sigma Aldrich), Trolox - ácido-6-hidroxi-2,5,7,8 - tetrametilcromano-2-carboxílico (Sigma Aldrich), Metanol P.A (Vetec), Hipoclorito (Ciclofarma), Quercitina (Sigma-aldrich).

### 4.2. Métodos

Os experimentos foram realizados, utilizando amostras de maçãs para a avaliação da perda de massa e maturação. A determinação da atividade antioxidante e propriedades físico-químicas foram realizadas usando os filmes poliméricos desenvolvidos.

#### 4.2.1. Preparo das amostras

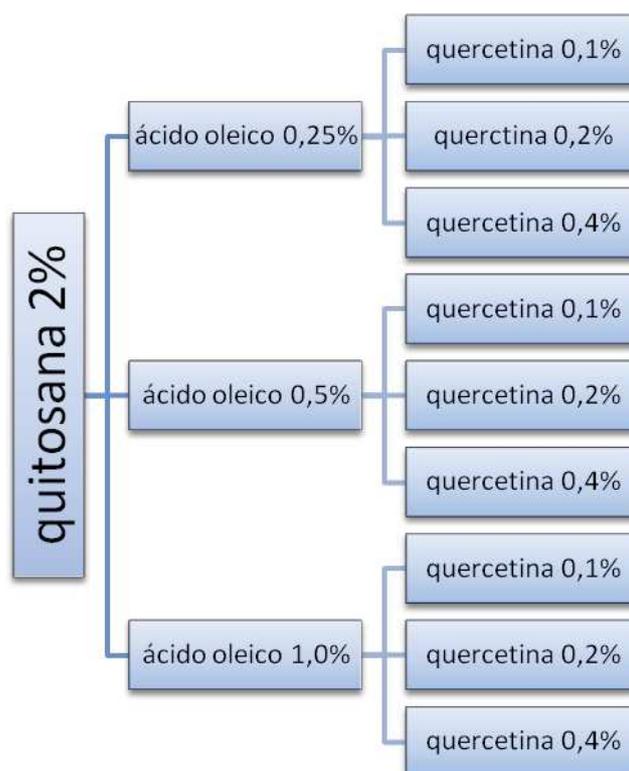
As amostras das maçãs foram escolhidas aleatoriamente, tomando cuidado para que o nível de maturação de todas as amostras fosse o mesmo. Antes das maçãs receberem as coberturas, as mesmas foram higienizadas em uma solução de hipoclorito por um período de trinta minutos. Após este período, as frutas foram retiradas da solução e mantidas sob temperatura ambiente até secagem completa.

#### 4.2.2. Preparo dos Filmes

Para o preparo dos filmes poliméricos utilizou-se quitosana numa concentração de  $20 \text{ g L}^{-1}$  (ASSIS; LEONI, 2003), dissolvido em uma solução de ácido acético  $0,5 \text{ mol L}^{-1}$  sob agitação mecânica por 4 horas, em seguida deixou-se as soluções em repouso por 24 horas para melhor solubilização.

Posteriormente foi adicionado o plastificante ácido oleico nas concentrações 0,25; 0,5 e 1% (m/v), e mantido em agitação por uma hora, homogeneizando totalmente a solução. Para as amostras que em sua composição continha antioxidante, adicionou-se quercetina nas concentrações 0,1; 0,2 e 0,4 %. Conforme Fluxograma 1.

**Fluxograma 1** - Preparo dos filmes poliméricos



Fonte: Autoria própria, 2017.

#### 4.2.3. Aplicação dos Filmes nas Maçãs

Os filmes foram aplicados imergindo as maçãs nas soluções poliméricas, após deixou-se escoar o excesso da solução e aguardou-se até a completa secagem dos filmes. Esse procedimento foi realizado por três vezes, para garantir que as maçãs ficassem completamente cobertas pelos filmes.

As maçãs foram divididas em 14 grupos, cada grupo foi testado em triplicata. Um dos grupos foi usado como controle, sem a aplicação de filme polimérico. Os demais grupos foram aplicados os filmes variando as concentrações de plastificante e concentrações de antioxidante. Para facilitar à identificação das amostras as mesmas foram nomeadas conforme a Tabela 1.

**Tabela 1** Identificação das amostras

Nomenclatura	[ ] Quitosana	[ ] Ácido oleico	[ ] Quercetina
Controle	0	0	0
QUI	2%	0	0
QUI AO A	2%	0,25%	0
QUI AO QUE A.1	2%	0,25%	0,10%
QUI AO QUE A.2	2%	0,25%	0,20%
QUI AO QUE A.3	2%	0,25%	0,40%
QUI AO B	2%	0,50%	0
QUI AO QUE B.1	2%	0,50%	0,10%
QUI AO QUE B.2	2%	0,50%	0,20%
QUI AO QUE B.3	2%	0,50%	0,40%
QUI AO C	2%	1,00%	0
QUI AO QUE C.1	2%	1,00%	0,10%
QUI AO QUE C.2	2%	1,00%	0,20%
QUI AO QUE C.3	2%	1,00%	0,40%

QUI: quitosana; AO: ácido oleico; QUE: quercetina.

### 4.3. Avaliações Físico-químicas

#### 4.3.1. Densidade

Para determinar a densidade das soluções poliméricas, empregou-se um picnometro de 10 mL, termômetro, e uma balança analítica. Pesou-se o picnometro vazio, com água destilada e com amostra. Para verificação utilizou-se a Equação (1) e os resultados expressos em g mL<sup>-1</sup>.

$$\frac{Pic\ amostra - Pic\ vazio}{PicH_2O - Pic\ vazio} \times Densidade\ da\ H_2O\ na\ T \quad (1)$$

Onde: Pic amostra é a massa obtida do picnometro completo com amostra; Pic vazio é a massa dele sem conteúdo e Pic H<sub>2</sub>O é a medida obtida através do picnometro preenchido com água purificada, e T é a temperatura da água verificada.

### 4.3.2. Viscosidade

Para determinar a viscosidade da solução aplicada utilizou-se o viscosímetro tipo copo Ford, de modo mais simples mede o tempo gasto em que o fluido gasta para esvaziar o reservatório (copo). Para a análise utilizou-se a Equação (2), empregada quando no método é necessário utilizar o orifício número 3 para fluidos líquidos.

$$U = [(2,314 * t) - 15,200] * \rho \quad (2)$$

Onde t representa o tempo em segundos que o fluido leva para esvaziar o copo,  $\rho$  a densidade da solução polimérica.

### 4.3.3. pH das soluções

Para realização do pH foi separado uma alíquota de 30 mL das soluções poliméricas previamente preparadas. Foram realizadas as leituras na solução de quitosana 2%, nas soluções com adição das três concentrações de ácido oleico e nas soluções associadas à quercetina 0,4%. A leitura do pH foi realizada por meio de um peagâmetro de bancada que possui correção automática dos valores em função da temperatura.

### 4.3.4. Análise visual

A análise visual do fruto foi avaliada qualitativamente, durante trinta dias, em condições não controladas de temperatura e umidade.

#### 4.3.5. Perda de massa

A pesagem dos frutos foi realizada em uma balança semianalítica, sendo a porcentagem de perda de massa (PM) dos frutos calculada por meio da Equação (3) e os resultados expressos em porcentagem.

$$PM = [100 - ((P_{\text{inicial}} - P_{\text{final}}) \times 100)] \quad (3)$$

#### 4.3.6. Avaliação da atividade antioxidante do filme

Para realização da determinação da capacidade antioxidante total foi utilizado o método DPPH (2,2-difenil-1-picril-hidrazila).

Primeiro procedeu-se o preparo da curva de calibração. Pesou-se 25 mg de padrão de trolox e dilui em balão volumétrico de 50 mL com etanol ([trolox] = 500 µg mL<sup>-1</sup>).

Após homogeneização da solução estoque seguiu com diluições nas concentrações de 0, 25, 125, 250, 350, 450 µg mL<sup>-1</sup>. Posteriormente pipetou-se 25 µL de cada concentração de padrão para tubos de ensaio, adicionando 2,0 mL de solução de DPPH (0,06 mM) mantendo as soluções ao abrigo da luz por 60 minutos.

Para o preparo das amostras cada solução polimérica obtida anteriormente foi diluída uma alíquota de 1 mL para balão de 10 mL em etanol.

A partir de cada solução obtida, pipetou-se 25 µL em tubo de ensaio com 2,0 mL da solução de DPPH, deixando as amostras em repouso por 60 minutos ao abrigo da luz.

O branco foi preparado conforme a amostra, mas com a ausência de solução polimérica.

A absorbância foi medida em espectrofotômetro a 517 nm. Os resultados do DPPH demonstrados em µg TE mL<sup>-1</sup> (equivalente Trolox), que é a quantidade necessária para que seja consumido o DPPH presente na solução pelas espécies antioxidantes presentes.

## 5. RESULTADOS E DISCUSSÕES

### 5.1. Propriedades Físico-químicas

A Tabela 2 apresenta os resultados obtidos das análises de pH, densidade e viscosidade das soluções poliméricas.

**Tabela 2** - Propriedades físico-químicas das soluções poliméricas.

Amostra	pH	Densidade (g/mL)	Viscosidade (cP)
QUI	3,77	1,00488	131,2195
QUI AO A	3,83	1,00809	136,3044
QUI AO B	3,86	1,01073	141,3391
QUI AO C	3,89	1,01183	146,1753
QUI AO QUE A.3	3,81	1,00889	138,7465
QUI AO QUE B.3	3,84	1,01153	143,7909
QUI AO QUE C.3	3,87	1,01263	146,2901

Como se pode observar o pH das soluções poliméricas apresentaram-se com caráter ácido, isso ocorreu devido a dissolução da quitosana ter ocorrido em solução e ácido acético. Contudo não há variações consideráveis entre os resultados.

Uma solução polimérica ideal para fins de embalagem deve ser completamente inerte e não ter efeito sobre a fruta e nem alterar a cor aparente do tecido. No entanto, os grupos amino presentes em cada anel de glicose fazem com que a quitosana seja solúvel em solução quando o  $\text{pH} < \text{pK}_a \approx 6,5$ , ou seja valores baixos de pH são necessários para obter boa dissolução da quitosana e para formação de gel homogêneo (ASSIS e PESSOA 2004).

Para os resultados da densidade e viscosidade há diferença entre as medidas. Isso pode ser explicado devido as diferentes concentrações de ácido oleico adicionados, com o aumento da concentração de plastificante aumentou a densidade que conseqüentemente aumentou a viscosidade. Segundo Assis e Brito

(2014) a adição de plastificante em soluções de quitosana altera a matriz polimérica que altera suas propriedades físicas.

A viscosidade da quitosana é maior do que para outros polímeros naturais com massa molar semelhante, que é consequência do seu esqueleto polimérico. Como a cadeia polimérica da quitosana é derivada da celulose, isto confere a ela uma conformação molecular mais rígida, o que resulta num valor mais elevado para a viscosidade (ROTTA, 2008).

Segundo Korning et al. (1998) citada por Rotta (2008) de forma geral, as propriedades físicas de uma solução polimérica são fortemente dependentes de sua concentração. Em soluções diluídas, as cadeias do polímero estão isoladas uma das outras no solvente e o volume hidrodinâmico e a conformação das moléculas são os parâmetros que determinam as propriedades físicas deste polímero. Em regimes concentrados, as macromoléculas estão enredadas e as dimensões da cadeia são independentes da concentração do polímero. Os regimes concentrados e diluídos são definidos pela concentração crítica, que é a concentração na qual as cadeias começam a se sobrepor, isto é, as cadeias poliméricas começam a aumentar fortemente o ponto de contato físico entre elas.

#### **5.1.1. Avaliação da atividade antioxidante dos filmes**

A partir das leituras realizadas com o padrão de Trolox e a solução de DPPH conhecida foi obtida a equação da reta por meio da curva de calibração que foi  $y = - 0,0010 x + 0,6451$  coeficiente de determinação = 0,9940, substituiu-se em  $y$  a absorbância das soluções e obteve-se o resultado em  $\mu\text{g TE mL}^{-1}$  (equivalente Trolox) conforme demonstrado na Tabela 3.

**Tabela 3** - Média e desvio padrão da atividade antioxidante das soluções poliméricas.

<b>Amostra</b>	<b><math>\mu\text{g TE mL}^{-1}</math></b>
QUI	192,63 $\pm$ 4,33
QUI AO A	43,33 $\pm$ 4,33
QUI AO QUE A.1	1500,65 $\pm$ 6,49
QUI AO QUE A.2	3081,30 $\pm$ 10,82
QUI AO QUE A.3	4879,42 $\pm$ 6,49
QUI AO B	4,38 $\pm$ 4,33
QUI AO QUE B.1	1487,67 $\pm$ 10,82
QUI AO QUE B.2	3159,20 $\pm$ 8,66
QUI AO QUE B.3	4700,91 $\pm$ 17,31
QUI AO C	ND
QUI AO QUE C.1	1529,86 $\pm$ 12,98
QUI AO QUE C.2	3327,98 $\pm$ 10,82
QUI AO QUE C.3	4382,83 $\pm$ 6,49

\*Não Detectado

Os resultados da Tabela 3 demonstram que a amostra que continha apenas quitosana teve atividade antioxidante, e quase insignificante e as amostras com a adição do ácido oleico tiveram atividade menor ainda, tanto que a amostra que continha 1% de ácido oleico não apresentou atividade antioxidante. No entanto as amostras que foram adicionadas a quercetina tiveram resultado positivo, também é possível notar que quanto maior a concentração de quercetina presente na amostra maior a sua atividade antioxidante. Portanto podemos afirmar que a adição de quercetina junto aos filmes é uma boa opção para aumentar a atividade antioxidante do mesmo.

Nos trabalhos apresentados por Santana et al. (2012) e Dias (2013) foi possível observar que houve um efeito protetor mais amplo apresentado pelas amostras que tinham um maior percentual de aditivo antioxidante, demonstrando assim, que, quanto maior o percentual de aditivo na amostra, menor é o processo de oxidação sofrido.

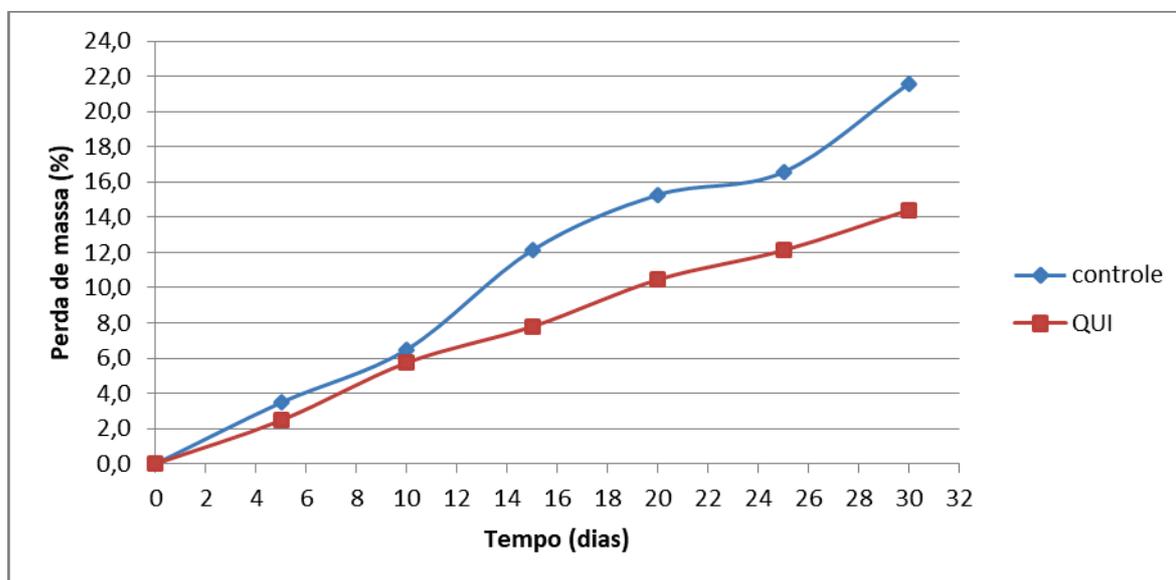
A quercetina tem entre suas principais ações, poder de remover os radicais livres, a propriedade antioxidante é direcionada sobre o radical hidroxil (OH) e o ânion superóxido ( $\text{O}^{2-}$ ), que são espécies altamente reativas envolvidas na iniciação

da peroxidação lipídica. De modo geral, a quercetina é capaz de doar hidrogênio para os radicais livres, estabilizando-os e impedindo o estresse oxidativo capaz de gerar danos tissulares ou morte celular (BEHLING, et al. 2004).

### 5.1.2. Perda de massa

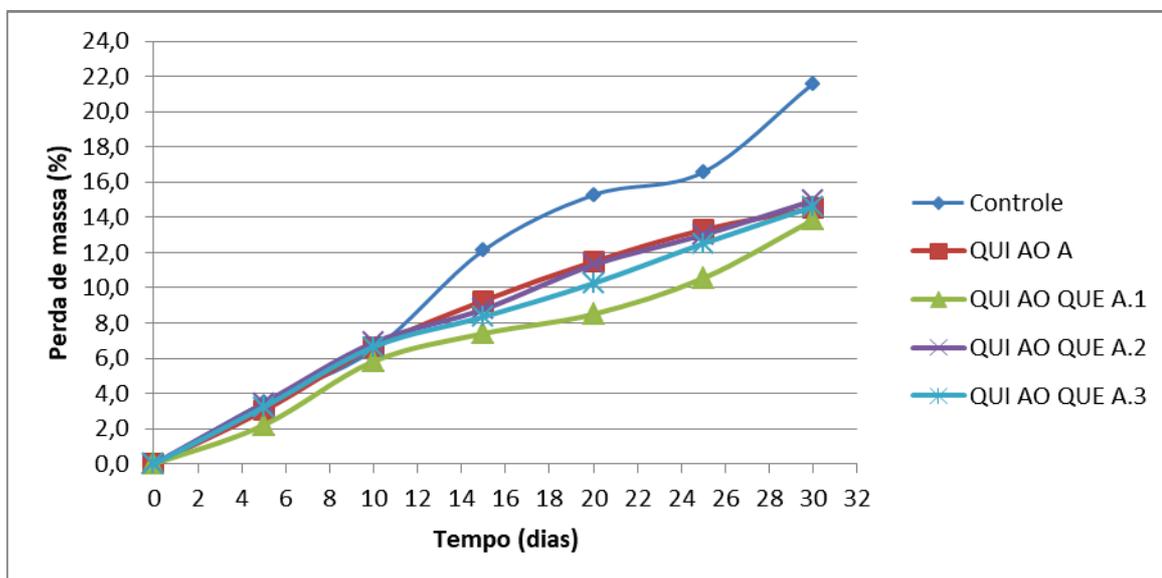
As Figuras 5, 6, 7 e 8 contêm os resultados da perda de massa das amostras de maçãs que foram revestidas com filmes poliméricos de quitosana a 2%, filmes poliméricos associados ao plastificante ácido oleico nas concentrações 0,25, 0,5 e 1,0 % e filmes poliméricos que foram combinados com antioxidante. Para cada concentração de plastificante foi adicionado o antioxidante quercetina nas concentrações 0,1, 0,2 e 0,4 %. Esses resultados foram comparados com as amostras controle, que não foram aplicados filmes poliméricos.

**Figura 5** - Perda relativa de massa em função do tempo de monitoramento. Amostra controle e com revestimento a 2% de quitosana.



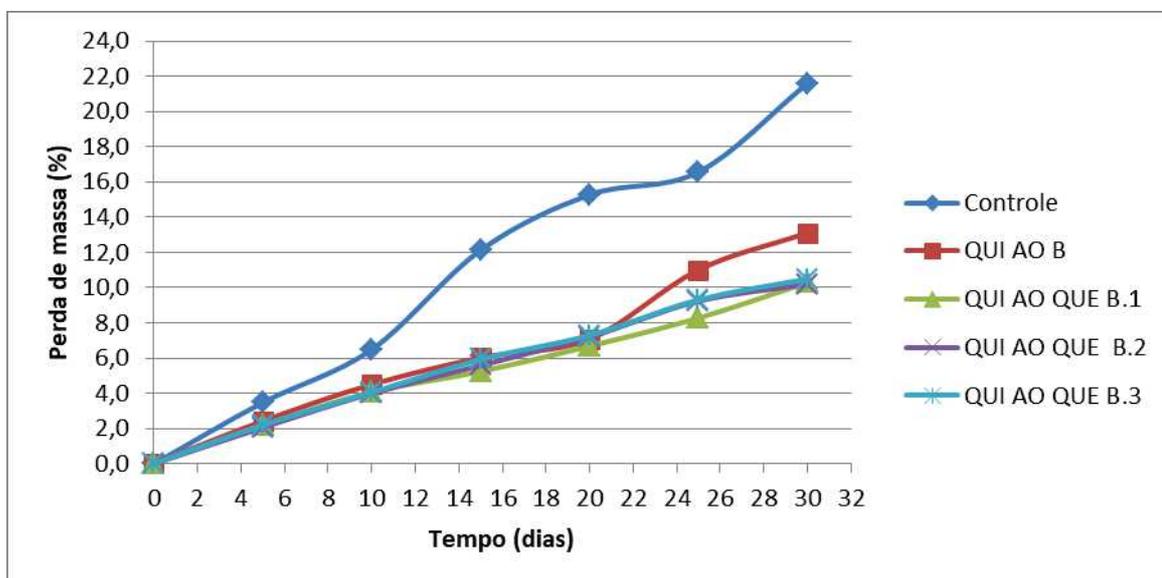
Fonte: Autoria própria, 2017.

Figura 6 - Perda relativa de massa em função do tempo de monitoramento. Amostras controle, revestimento a 2% de quitosana e 0,25% de ácido oleico.



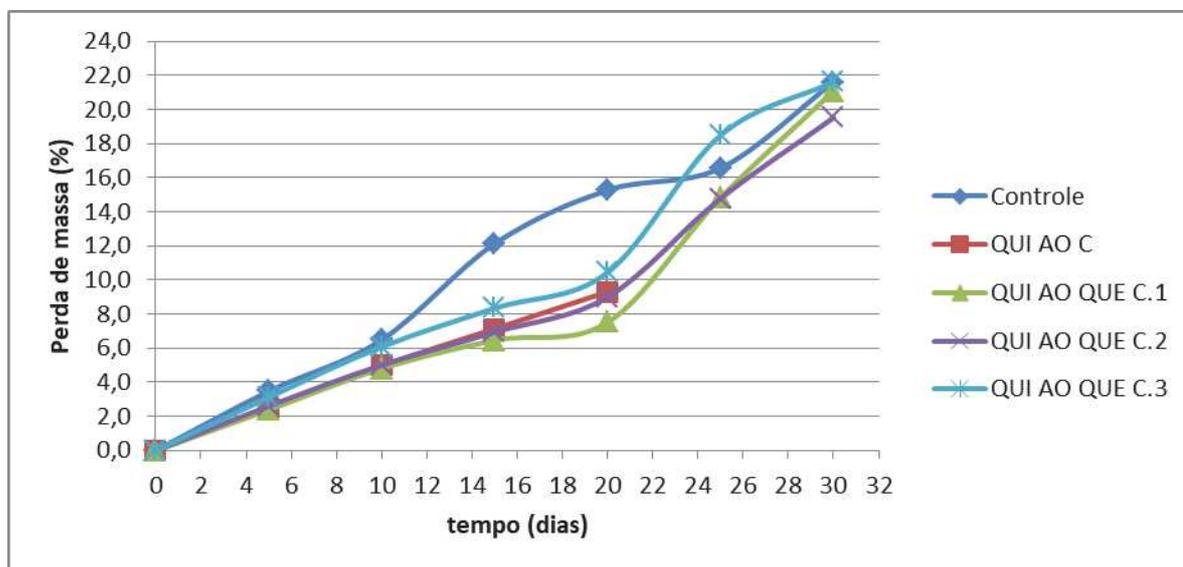
Fonte: Autoria própria, 2017.

Figura 7 - Perda relativa de massa em função do tempo de monitoramento. Amostras sem revestimento e com revestimento a 2% de quitosana e 0,5% de ácido oleico.



Fonte: Autoria própria, 2017.

**Figura 8** - Perda relativa de massa em função do tempo de monitoramento. Amostras sem revestimento e com revestimento a 2% de quitosana e 1,0% de ácido oleico.



Fonte: Autoria própria, 2017.

Diante dos resultados apresentados na Figura 5 pode-se notar que as amostras começaram a ter variação da perda de massa a partir do decimo dia de monitoramento e que as amostras que não foram revestidas com filme polimérico apresentaram perda de massa de aproximadamente 22%, já para as amostras que foram revestidas com o filme polimérico de quitosana a perda de massa foi de aproximadamente de 14%, uma diferença de quase 8% em relação as amostras de referência, confirmando assim a eficiência do aumento da vida das maçãs quando revestida com o filme polimérico de quitosana.

A literatura tem mostrado que polímeros hidrofílicos, especialmente os altamente polares como a quitosana, apresentam redução da migração da água, das trocas gasosas, da atividade metabólica e da velocidade das reações oxidativas. Assis e Leoni (2003) mostraram em seu trabalho que a perda de massa relativa em amostras de maçãs recobertas com quitosana tiveram ao final do período de monitoramento uma preservação superior a 10% da sua massa comparada com amostras não revestidas.

Segundo Assis e Brito (2014) a aplicação de revestimentos de quitosana além de reduzir a permeação dos tecidos, promove o preenchimento de aberturas e

ferimentos presentes na fruta, atuando significativamente na redução da transferência de umidade e nas trocas gasosas. Fator que além de diminuir a perda de massa também diminui a atividade microbiana. Luengo (2009) salientou que a maioria dos microrganismos que colonizam os tecidos de frutas é constituída por fungos e bactérias “oportunistas” com características necrófagas que não têm a capacidade isolada de penetração e fazem uso de aberturas e injúrias superficiais para colonizarem os tecidos internos. Portanto a proteção proporcionada pelo revestimento atua na prevenção de infestação por micro-organismos, o que permite prolongar a vida da fruta.

Na Figura 6 os resultados mostram que a associação do plastificante a 0,25% apresentou perda de massa de aproximadamente 14%, o que se assemelha aos resultados das amostras revestida apenas com quitosana (Figura 5). Também podemos notar que não houve mudança significativa nas amostras que foram enriquecidas com o antioxidante, pois essas amostras também tiveram perda de massa em torno de 14%, o que representa uma diferença de 8% em relação às amostras não revestidas.

Na figura 7 os resultados mostram que as amostras que foram revestidas com filme de quitosana associado ao plastificante ácido oleico a 0,5% obtiveram 9% a menos de perda de massa que a amostra não revestida. Entretanto as amostras revestidas com os filmes nas mesmas condições, mas enriquecidos com o antioxidante, tiveram um ótimo resultado, pois a perda de massa foi em média 12% a menos que as amostras não revestidas e 3% a menos que a amostra revestida com filme sem antioxidante.

A incorporação de ácidos graxos, a exemplo do ácido oleico, como plastificante, produz filmes flexíveis, homogêneos, transparentes e de boa aceitação. Scramin et al. (2007) demonstrou que os resultados desta aplicação apresentaram diminuição da perda de massa em maçãs, devido à menor perda de água e trocas gasosas.

Em peras armazenadas por um período de 12 dias à temperatura ambiente, uma formulação a base de zeína com baixas concentrações de ácido oleico

influenciou positivamente nas propriedades mecânicas como plastificante, obtendo-se o melhor resultado para a conservação da fruta (SCRAMIN et al., 2011).

Mello e Cunha (2010) mostraram a viabilidade da incorporação de antioxidante natural em filmes de quitosana, favorecendo a sua utilização como revestimentos comestíveis na indústria alimentar, reduzindo a oxidação de compostos e a contaminação microbiológica, diminuindo assim danos nos tecidos e conseqüentemente reduzindo os processos de oxidação e deterioração dos alimentos.

Na Figura 8 os resultados mostram que as amostras que foram revestidas com o filme polimérico de quitosana associado ao plastificante com concentração de 1% tiveram perda de massa muito superior as demais amostras, essa perda ocorreu significativamente após o 10º dia, tanto que na pesagem que foi realizada no 15º dia não foi possível fazê-la com essa amostra pois as mesmas já encontrava-se podre, sendo assim foram descartadas. Contudo as amostras que foram revestidas com os filmes na mesma condição, mas enriquecidos com o antioxidante tiveram perda de massa em média de 22%. Esse resultado demonstra que se comparado com as amostras sem revestimento a perda de massa foi aproximadamente a mesma. Portanto esse caso mostra que a associação de 1% de plastificante não é viável, pois de um modo geral acelerou a perda de massa das amostras e, mesmo com a adição de antioxidante não obteve resultado efetivo para aumentar a vida das maçãs.

Scramin et al. (2011) evidenciou que concentrações maiores de ácido oleico ao filme resultam em maior afinidade deste com a água e redução na proteção da fruta.

Segundo Assis & Brito (2014) a adição de plastificante deve ser feita com parcimônia, considerando-se que a presença de moléculas com ação plastificante na matriz polimérica não altera somente as propriedades mecânicas, mas interfere na molhabilidade e na permeação dos filmes formados. As moléculas do plastificante reduzem as forças intermoleculares facilitando o movimento relativo das cadeias. Com o aumento da concentração de plastificante, o espaço entre as cadeias se

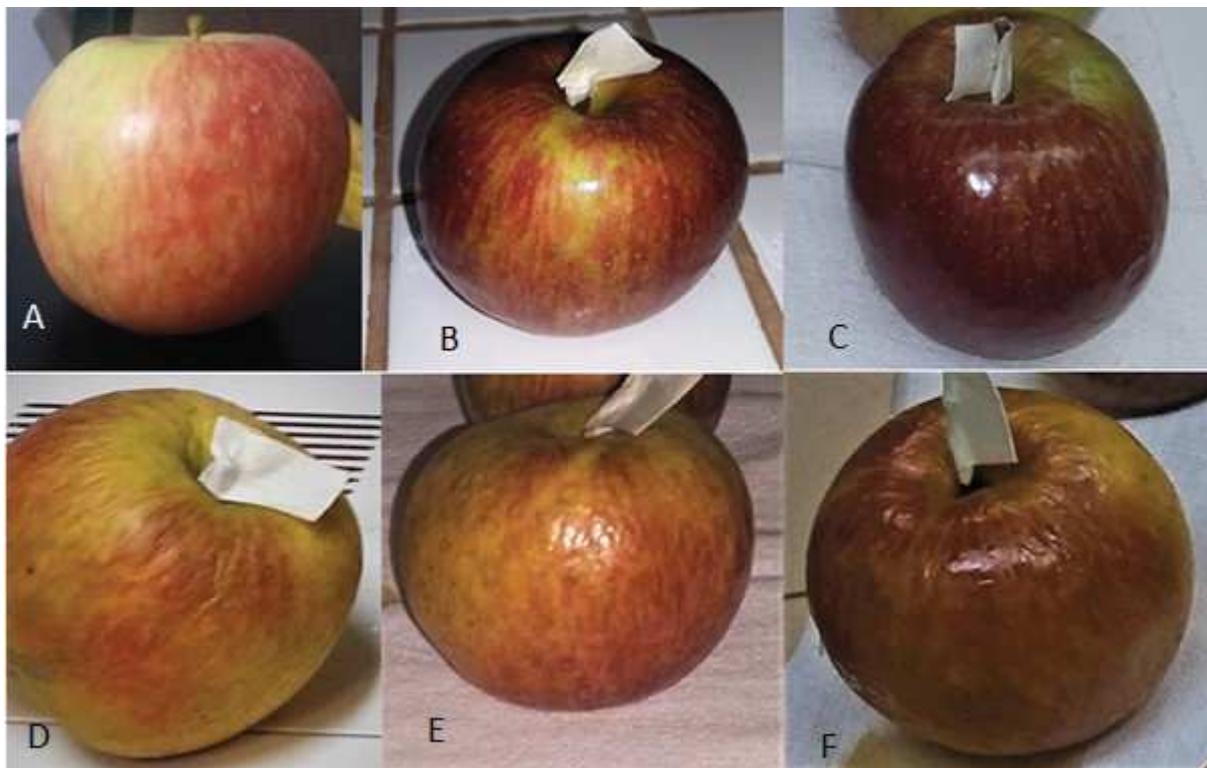
eleva e a difusão de gases é facilitada. A penetração de moléculas de água para o interior do filme também é facilitada, o que leva a uma solvatação em certos sítios polares, gerando um intumescimento da cobertura.

Essas alterações estruturais reduzem as propriedades de barreira e a aderência, e facilitam a proliferação de fungos. Assim, elevadas adições de plastificantes devem ser evitadas, as quais, muitas vezes, inviabilizam o uso da formulação como formadora de cobertura protetora (ASSIS e SILVA, 2003).

### **5.1.3. Análise visual**

A Figuras 9 apresenta os resultados da análise visual realizado nas amostras de maçãs sem revestimentos (A e D), revestidas com polímero de quitosana 2% (B e E) e revestidas com os polímeros de quitosana associado a 0,5% de ácido oleico e a 0,4% de quercetina (C e F). As imagens referem-se ao primeiro dia de monitoramento e o final do monitoramento que ocorreu após 30 dias.

**Figura 9** - Comparação do aspecto visual das maçãs. Amostras não revestidas (A e D), revestidas com quitosana (B e E) e revestidas com quitosana associado a ácido oleico 0,5% e quercetina 0,4% (C e F). Primeiro dia de monitoramento e após 30 dias de monitoramento respectivamente.



Fonte: Autoria própria, 2017

Como pode-se observar as amostras que receberam os revestimentos não apresentaram diferença de cor comparadas com a amostra sem revestimento, pois o filme formado sobre a fruta apresentou-se transparente e imperceptível a olho nu. No entanto o aspecto visual das amostras revestida foi melhor, pois o revestimento proporcionou as mesma uma aparência luminosa e brilhante.

É possível notar também que a amostra sem revestimento (Figura 6, A e D) apresentou ao final do monitoramento uma maior alteração na cor da casca e uma aparência mais rugosa e com aspecto envelhecido. As amostras revestidas também apresentaram mudança na coloração da casca, contudo apresentaram-se mais hidratadas e com a casca menos enrugada que a amostra não revestida, além disso, vale ressaltar que a amostra que foi recoberta com o polímero associado ao ácido oleico e a quercetina manteve um aspecto luminoso e brilhante mesmo após 30 dias.

Polímeros hidrofílicos como a quitosana apresentam redução da migração da água e diminuem as trocas gasosas. Com isso preservam o aspecto hidratado da fruta, mantendo por mais tempo a superfície brilhante (Assis, Brito e Forato; 2009).

Scramin (2007) demonstrou em seu trabalho que o melhor resultado para o aspecto visual das maçãs foi para as recobertas com filme contendo 0,5 de ácido oleico. Tal comportamento pode ser explicado em consequência da reestruturação das moléculas de plastificantes nas cadeias poliméricas do filme, o que contribui para um acréscimo no caráter hidrofílicos desses material.

## 6. CONCLUSÃO

Diante dos resultados encontrados concluiu-se que para obter boa dissolução da quitosana e para formação de gel homogêneo é necessário valores baixos de pH. As propriedades físicas das soluções poliméricas tiveram alterações de acordo com a concentração de ácido oleico adicionado, entretanto, as coberturas poliméricas proporcionaram às maçãs um aspecto visual luminoso e brilhante, devido as suas características hidrofílicas preservaram a hidratação da fruta.

A partir dos resultados encontrados na análise da atividade antioxidante podemos confirmar que associação da quercetina ao filme polimérico é uma boa alternativa, pois ela tem poder de remover os radicais livres impedindo o estresse oxidativo capaz de gerar danos e morte celular das frutas.

Quanto à perda de massa das maçãs, pode-se concluir que os melhores revestimentos foram os formulados com quitosana associados ao ácido oleico 0,5% e enriquecido com quercetina, pois esse grupo de amostras apresentou perda de apenas 10% de seu peso após trinta dias de monitoramento.

Os resultados obtidos na avaliação da melhor concentração de plastificante na formulação do filme polimérico demonstrou que a associação de 1% de ácido oleico é inviável, pois as amostras revestidas com ele apresentaram apodrecimento antes do tempo final de monitoramento.

Portanto com a realização deste trabalho pode-se verificar que o desenvolvimento de filme polimérico comestível a base de quitosana associado a ingrediente natural com propriedade antioxidante é uma ótima alternativa para prolongar a vida útil de frutas sensíveis. Além disso, o trabalho demonstrou que a melhor formulação para o filme polimérico foi aquele com quitosana 2% associado a ácido oleico 0,5% e com adição de quercetina a 0,4%.

## REFERENCIAS

Agencia Nacional de Vigilância Sanitária – ANVISA. **Resolução - RDC nº 162 de 11 de setembro de 2001**. Disponível em <http://portal.anvisa.gov.br>. Acessado em 10/05/17.

Agencia Nacional de Vigilância Sanitária – ANVISA. **Portaria nº 540 - SVS/MS de 27 de outubro de 1997**. Disponível em <http://portal.anvisa.gov.br>. Acessado em 10/05/17.

ANDRADE, P. F. S. **Análise da conjuntura agropecuária safra 2016/17**. Secretaria da agricultura. Departamento de economia rural. Estado do Paraná. Março, 2017.

ANDRADE et al. **Óleos essenciais de *Cymbopogon nardus*, *Cinnamomum zeylanicum* e *Zingiber officinale*: composição, atividades antioxidante e antibacteriana**. Centro de Ciências Agrárias - Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, CE. Revista Ciência Agronômica, v. 43, n. 2, p. 399-408, abr/jun, 2012.

**Anuário Brasileiro de Fruticultura**. Editora Gazeta Santa Cruz LTDA. Santa Cruz do Sul, RS. 2014.

ASSIS, O. B. G; BRITO, D. **Coberturas Comestíveis Protetoras em frutas: Fundamentos e Aplicações**. Brazilian Journal of Food Technology. Campinas, V, 17, n. 2, p. 87-97, Abr./jun. 2014.

ASSIS, O. B. G. et al. **Revestimentos comestíveis protetores em frutos minimamente processados**. Higiene Alimentar, São Paulo, v. 22, n. 160, p. 99-106, 2008.

ASSIS, O. B. G, BRITO, D. FORATO, L. A. **O Uso de Biopolímeros como Revestimentos Comestíveis Protetores Para Conservação de Frutas in natura e Minimamente Processadas**. Boletim de pesquisa e desenvolvimento. EMBRAPA, 2009.

ASSIS, O. B. G.; LEONI, M. A. **Filmes Comestíveis de Quitosana**. Revista Biotecnologia e Desenvolvimento – Edição n° 30 – janeiro/junho 2003.

ASSIS O. B. G., SILVA V. L. **Caracterização estrutural e da capacidade de absorção de água em filmes finos de quitosana processados em diversas concentrações**. Polímeros: Ciência e Tecnologia, Vol. 13, n° 4, p. 223-228, 2003.

ASSIS, O. B. G.; PESSOA, J. D. C. **Preparation of thinfilm of chitosan for use as edible coating to inhibit fungal growth on sliced fruits**. Brazilian Journal of Food Science and Technology, v. 7, p. 17-22, 2004.

AUN M. V. et al, **Aditivos em alimentos**. Revista Brasileira Alerg. Immunopatol, Vol 34 n°5 p. 177-186. 2011.

BARRANCOS, S. M. G. **Maçã Minimamente Processada**. Instituto Superior de Agronomia. Universidade Técnica de Lisboa, Lisboa, 2002, pp. 85p.

BEHLING, E.B.; SENDÃO, M.C.; FRANCESCATO, H.D.C.; ANTUNES, L.M.G.; BIANCHI, M.L.P. **Flavonóide Quercetina: Aspectos gerais e ações biológicas**. Alim. Nutr., araraquara, v. 15, n. 3, p. 285-292, 2004

BUAINAIN A. M. BATALHA O. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Cadeia produtiva de frutas**. Brasília: IICA: MAPA/SPA, 2007. 102 p.; (Agronegócios; v. 7).

CAVASSA A. L. C.; FERREIRA M. D. **Efeito da aplicação de cera de carnaúba na conservação pós-colheita de tomate**. Projeto UNIMAC, Unidade móvel de auxílio à colheita de tomate, financiado pela FAPESP. Unicamp – faculdade de Engenharia Agrícola. Campinas – SP. 2010.

CECCATO C. BASSO C. **Avaliação das perdas de frutas, legumes e verduras em supermercado de Santa Maria – RS**. Disc. Série: Ciências da Saúde, Santa Maria, v. 12, n. 1, p. 127-137, 2011.

CENCI, S. A.; SOARES, A. G.; FREIRE JUNIOR, M. **Manual de perdas pós-colheita em frutos e hortaliças**. Rio de Janeiro: EMBRAPA-CTAA, 1997. 29p. (EMBRAPA-CTAA. Documentos, 27).

DEL RÉ, P.V.; JORGE, N. **Especiarias como antioxidantes naturais: aplicações em alimentos e implicação na saúde** Rev. Bras. Pl. Med., Botucatu, v.14, n.2, p.389-399, 2012.

DIAS, A. S. **O antioxidante quercetina diminuiu estresse oxidativo hepático em ratos diabéticos**. Tese de Doutorado em ciências biológicas: fisiologia. Instituto de ciência básicas da saúde. Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 2005.

**DOSSIÊ ANTIOXIDANTES**. Food ingredients Brasil nº 6. Revista-fi, 2009.

FACHINELLO J. C. et al. **Situação e perspectivas da fruticultura de clima temperado no Brasil**. Revista Brasileira de Fruticultura, Jaboticabal - SP, Volume Especial, E. 109-120, Outubro 2011.

FARIAS M. G. et al. **O Efeito da permeabilidade ao vapor de água, atividade de água, molhabilidade e solubilidade em água em filmes de amido e polpa de acerola**. VI Workshop da Rede de Nanotecnologia Aplicada ao Agronegócio. Embrapa Agroindústria Tropical, Fortaleza, 16 a 18 de abril de 2012.

FONSECA S. F. **Utilização de Embalagens Comestíveis na Indústria de Alimentos**. Universidade Federal de Pelotas. Pelotas – RS, 2009.

GALVÃO, et al. **Avaliação do Potencial Antioxidante e extração subcrítica do óleo de linhaça**. Ciência e Tecnologia de Alimentos. Campinas n. 28, p. 551-557, jul./set. 2008.

GONÇALVES A. I. S. R. **Efeito da Aplicação de Revestimentos Comestíveis Enriquecidos em Antioxidantes na Conservação de Frutos Minimamente Processados**. Faculdade de Farmácia. Universidade de Lisboa, Lisboa, 2007.

LUENGO, R. F. A. Embalagens utilizadas no Brasil. In: LUENGO, R. F. A.; CALBO, A. G. (Ed.) **Embalagens para comercialização de hortaliças e frutas no Brasil**. Brasília: Embrapa Hortaliças, 2009. p. 11-28.

MAIA L. H. et al. **Filmes comestíveis: aspectos gerais, propriedades de barreira a umidade e oxigênio**. B.CEPPA, Curitiba, v. 18, n. 1, p. 105-128, jan./jun.2000.

MAPA – Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Cadeia produtiva de frutas**; Brasília: IICA: MAPA/SPA, 2007. 102 p.; (Agronegócios; v. 7).

MELLO, K. H. L.; CUNHA, M. G. C. **Incorporação de Ácido Ascórbico em filmes de Quitosana**. XVIII Comic e II Coniti, Universidade Federal de Pernambuco, 2010.

MOTTA, C. **Incorporação do antioxidante natural  $\alpha$ -Tocoferol em filme de carboximetilcelulose**. Dissertação de mestrado. Departamento de Química. Universidade federal de Santa Catarina, 2012.

MOTA R. D. P. **Elaboração e caracterização de filmes biodegradáveis através de blenda polimérica de amido de lírio do brejo (*Hedychium coronarium*) e de amido de fruto do lobo (*Solanum lycocarpum* St.Hill)**. Universidade Estadual de Goiás, Curso de Mestrado em Ciências Moleculares. Anápolis – Goiás, 2009.

RIGO L. N. **Desenvolvimento e caracterização de filmes comestíveis**. Departamento de ciências agrárias. Programa de Mestrado em Engenharia de Alimentos. Universidade Regional Integrada do Alto Uruguai e das Missões – URI , Campos de Erechim. Erechim – RS, 2006.

RODRIGUES T. T. **Revisão bibliográfica da utilização de bactericidas como conservantes alimentícios na última década**. 2010. 52 f. Monografia de conclusão de curso de Bacharel em Farmácia, Universidade Comunitária da região de Chapecó, Chapecó - SC, 2010.

ROTTA, J. **Propriedades físico-químicas de soluções formadoras de filmes de Quitosana e Hidroxipropilmetilcelulose**. Dissertação de Mestrado. Programa de Pós-Graduação em Ciência dos Alimentos. Universidade Federal de Santa Catarina, 2008.

SANTOS C. E. et al. **Anuário brasileiro da fruticultura 2013**. Santa Cruz do Sul : Editora Gazeta Santa Cruz, 2013. 136 p.

SANTANA M. C. C. B. et al. **Incorporação de urucum como aditivo antioxidante em embalagens biodegradáveis a base de quitosana**. *Revista Ciência Rural*, Santa Maria, 2017.

SCRAMIN, J.A. et al. **Caracterização da ação protetora de filmes à base de zeínas e ácido oleico aplicados em maçãs in natura**. São Carlos: Embrapa Instrumentação Agropecuária, 2007. Circular técnica, 37.

SCRAMIN, J.A.; BRITTO, D.; FORATO, L.A.; BERNARDES FILHO, R.; COLNAGO, L.A.; ASSIS, O.B.G. **Caracterização de ácido oleico zeína filmes e aplicações em revestimento de frutas**. *Revista Brasileira de Produtos Agroindustriais*, Campina Grande, v.18, n.1, p.31-39, 2011.

SILVA L. T. **Eficácia da atividade antioxidante e caracterização de embalagens ativas biodegradáveis formuladas com amido de mandioca e derivados de cacau e café**. Programa de Pós-Graduação em Ciência de Alimentos. Mestrado em Ciência de Alimentos. Universidade Federal da Bahia. Faculdade de Farmácia. Salvador – BA, 2009.

SILVA, M. L. C. et al. **Compostos fenólicos, carotenóides e atividade antioxidante em produtos vegetais**. *Rev. Ciências Agrárias*, Londrina, p. 669-682, 2010.

SILVA, F. S. **Atividade antifúngica do óleo essencial de *Cymbopogon citratus* frente a cepas de *Candida albicans* e *Candida tropicalis* isoladas de infecções nosocomiais**. *Rev. Inst. Adolfo Lutz (Impr.)* [online]. 2009, vol.68, n.3, pp. 434-441. ISSN 0073-9855.

SOARES, A. G. **Desperdício de Alimentos no Brasil – um desafio político e social a ser vencido**. Embrapa Agroindústria de Alimentos. Rio de Janeiro – RJ. 2007.

SOARES N. F. F. et al. **Novos desenvolvimentos e aplicações em embalagens de alimentos.** Revista Ceres, julho/agosto 2009. Viçosa – MG.

SOUZA M. L. et al. **Post-harvest of 'Tommy Atkins' mangoes covered with Chitosan / Pós-colheita de mangas 'Tommy Atkins' recobertas com Quitosana.** Revista brasileira de fruticultura 33 S1 p. 337. Outubro, 2011.

THOMAZINI M. H. et al. **Antioxidantes sintéticos e naturais aplicados em óleo vegetal sob condições de oxidação.** Anais do III ENDICT – Encontro de Divulgação Científica e Tecnológica. Universidade Tecnológica Federal do Paraná UTFPR - Campus Toledo, 19 a 21 de Outubro de 2011.