

UNIVERSIDADE TECNOLÓGICA FEDERAL DO PARANÁ
DEPARTAMENTO ACADÊMICO DE ALIMENTOS
CURSO SUPERIOR DE ENGENHARIA DE ALIMENTOS

AMANDA PENAZZO GARCIA

**DESENVOLVIMENTO DE FILMES BIODEGRADÁVEIS ATIVOS A BASE DE
AMIDO DE MILHO ADICIONADOS DE EXTRATO DE PRÓPOLIS**

TRABALHO DE CONCLUSÃO DE CURSO

CAMPO MOURÃO

2016

AMANDA PENAZZO GARCIA

**DESENVOLVIMENTO DE FILMES BIODEGRADÁVEIS ATIVOS A BASE DE
AMIDO DE MILHO ADICIONADOS DE EXTRATO DE PRÓPOLIS**

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, da Universidade Tecnológica Federal do Paraná – UTFPR, Campus Campo Mourão, como requisito parcial para a obtenção do título de Engenheira de Alimentos.

Orientadora: Prof^a. Dr^a. Marcia Regina Geraldo Perdoncni

Co-orientador: Prof. Dr. Odinei Hess Gonçalves

CAMPO MOURÃO

2016



Ministério da Educação
Universidade Tecnológica Federal do Paraná
Câmpus Campo Mourão

Departamento Acadêmico de Alimentos
Curso de Engenharia de Alimentos



TERMO DE APROVAÇÃO

DESENVOLVIMENTO DE FILMES BIODEGRADÁVEIS ATIVOS A BASE DE
AMIDO DE MILHO ADICIONADOS DE EXTRATO DE PRÓPOLIS

POR

AMANDA PENAZZO GARCIA

Trabalho de Conclusão de Curso (TCC) apresentado em 22 de novembro de 2016 como requisito parcial para obtenção do título de Bacharel em Engenharia de Alimentos. O candidato foi arguido pela Banca Examinadora composta pelos professores abaixo assinados. Após deliberação, a Banca Examinadora considerou o trabalho APROVADO.

Prof^ª. Dr^ª. Marcia Regina Geraldo Perdoncini

Prof^ª. Dr^ª. Fernanda Vitória Leimann

Prof. Dr.º Alexandre Santa Barbara Azevedo

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

AGRADECIMENTOS

À Deus senhor do universo, por seu infinito amor, abençoando-me em todos os dias, me iluminando sempre nos momentos de aflição, acalmando meu coração para seguir adiante.

À minha família, minha base, meu sustento, que não mediram esforços durante os anos de graduação, sem o apoio de vocês não teria chego até aqui, uma longa caminhada que realizei ao lado de pessoas muito especiais que pude conhecer, amigos, professores e vocês família que mesmo longe se faziam presentes, em pensamentos, palavras de incentivo, acalento e orações. Em especial a minha mãe, minha inspiração de força, paciência e dedicação, sempre me acalmando, me dando forças para prosseguir, aos meus irmãos, os melhores amigos que tenho, por sempre se preocuparem e cuidarem de mim como cuidam, em especial ao Tulio por me ajudar inúmeras vezes, como meu professor particular, ao meu amado pai, sempre fazendo tudo o possível por mim, não tenho palavras suficientes para expressar meu amor e minha gratidão por vocês.

Aos amigos que fiz durante a graduação, que foram essenciais no dia a dia, compartilhando momentos únicos dos quais sentirei muitas saudades.

À professora Dr^a Regiane Gonzalez, pela oportunidade de participar do projeto de extensão, e todo o apoio ao trabalho de conclusão de curso.

À professora Dr^a Marcia Perdoncini por toda a sua atenção e orientação deste trabalho. Ao professor Dr. Odinei Hess meu co-orientador que aceitou gentilmente me auxiliar na finalização do trabalho.

À professora Dr^a Fernanda Leimann pelas dicas e ensinamentos.

RESUMO

GARCIA, A. P. **Desenvolvimento de filmes biodegradáveis ativos a base de amido de milho adicionados de extrato de própolis**. 34 f. 2016. Trabalho de Conclusão de Curso (Bacharelado em Engenharia de Alimentos), Universidade Tecnológica Federal do Paraná. Campo Mourão, 2016.

O emprego de polímeros biodegradáveis tem se apresentado uma alternativa para reduzir os impactos negativos gerados pelo descarte de materiais plásticos sintéticos no meio ambiente. O amido se destaca como uma das matérias-primas na produção de materiais biodegradáveis, pois apresenta alta disponibilidade, renovabilidade e baixo custo. Suas limitações podem ser superadas através da modificação, como a modificação ácida, que altera as propriedades físico-químicas do amido, originando filmes e revestimentos resistentes. Devido à grande importância para a proteção e segurança de alimentos e bebidas durante a distribuição e estocagem, embalagens ativas vêm sendo amplamente estudadas, como os filmes antimicrobianos, que apresentam alguma substância antimicrobiana incorporada e/ou imobilizada no material da embalagem sendo capazes de eliminar ou inibir microrganismos deterioradores e/ou patogênicos. Agentes antimicrobianos naturais, tem chamado a atenção de pesquisadores como a própolis, relatada como efetiva contra bactérias patogênicas. Neste trabalho foram desenvolvidos filmes a base de amido de milho ácido-modificado, adicionados de extrato de própolis em três concentrações diferentes (1,2%, 1,5%, 1,8%). A atividade antimicrobiana dos filmes foi avaliada frente a *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Salmonella*, *Pseudomonas* e *Aeromonas*, apresentando-se efetivo na inibição de *Staphylococcus aureus*, para as três concentrações testadas, houve um aumento do halo de inibição conforme aumento de 3% na concentração do extrato de própolis. A incorporação de extrato de própolis nos filmes não afetou negativamente as propriedades mecânicas destes, havendo uma melhora na resistência a tração do material em relação a formulação sem adição deste composto.

Palavras-chave: filme biodegradável, amido, filme antimicrobiano, própolis.

ABSTRACT

GARCIA, A. P. **Development of active biodegradable films maize starch base added propolis extract.** 34 f. 2015. Trabalho de Conclusão de Curso (Bacharelado em Engenharia de Alimentos), Universidade Tecnológica Federal do Paraná. Campo Mourão, 2015.

The use of biodegradable polymers is an alternative to reduce the negative impacts from the disposal of synthetic plastic materials into the environment. Starch stands out as one of the raw materials in the production biodegradable materials, because of its high availability, renewability and low cost. Its limitations can be overcome by modifying methods such as acid modification, altering the physicochemical properties of starch resulting in films and coatings resistant. Because of the great importance to the protection and safety of food and beverages during distribution and storage, active packaging have been widely studied as antimicrobial films. When antimicrobial substance are incorporated or immobilized on the packaging material they are able to kill or inhibit spoilage and pathogenic microorganisms. Natural antimicrobial agents have drawn the attention of researchers as propolis, reported as effective against pathogenic bacteria. In this work films composed by acid-modified corn starch added with propolis extract in three different concentrations (1,2%, 1,5%, 1,8%). The antimicrobial activity of the films was evaluated against *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Salmonella*, *Pseudomonas e Aeromonas*, presenting effective in inhibiting *Staphylococcus aureus* for the three concentrations tested, there was an increase of the inhibition halo as a 3% increase in the concentration of the propolis extract. Propolis extract incorporation in films led to the improvement in tensile strength of the material relative to the formulation without the addition of this compound.

Keywords: biodegradable film, starch, antimicrobial film, propolis.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Estrutura química da amilose e amilopectina.....	14
Figura 2 - Corpo de prova.....	21
Figura 3 - Halos de inibição. A: controle, B: F1, C: F2, D: F3.....	25

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Formulações dos filmes de amido com extrato de própolis.....	20
Tabela 2 – Propriedades mecânicas dos filmes com e sem adição de extrato de própolis (EP).....	23
Tabela 3 – Medidas dos halos de inibição dos filmes de amido com extrato de própolis.....	26

SUMÁRIO

1.	INTRODUÇÃO	10
2.	OBJETIVOS	12
2.1.	OBJETIVO GERAL	12
2.2.	OBJETIVOS ESPECÍFICOS	12
3.	REVISÃO DA LITERATURA	13
3.1.	MATERIAIS BIODEGRADÁVEIS	13
3.2.	AMIDO	13
3.2.1.	Amido modificado	15
3.3.	PRODUÇÃO DE FILMES BIODEGRADÁVEIS DE AMIDO	15
3.4.	FILMES BIODEGRADÁVEIS ATIVOS	16
4.	MATERIAL E MÉTODOS	19
4.1.	MATERIAL	19
4.2.	MODIFICAÇÃO ÁCIDA E PRODUÇÃO DOS FILMES	19
4.3.	PROPRIEDADES MECÂNICAS	20
4.3.1.	Resistência máxima à tração	21
4.3.2.	Elongação na ruptura	21
4.3.3.	Módulo de Young	22
4.4.	AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIMICROBIANA	22
4.5.	ANÁLISE ESTATÍSTICA	23
5.	RESULTADOS E DISCUSSÕES	23
5.1.	FILMES PRODUZIDOS EM MEIO ÁCIDO	23
5.2.	PROPRIEDADES MECÂNICAS	23
5.3.	ATIVIDADE ANTIMICROBIANA	25
6.	CONCLUSÃO	27
7.	REFERÊNCIAS	28

1. INTRODUÇÃO

Polímeros sintéticos como os polietilenos, polipropilenos, poliestirenos, poliésteres e poliuretanos são largamente empregados em diversas áreas da indústria, principalmente em embalagens na indústria alimentícia, devido às suas características de baixo custo, peso reduzido, elevada resistência, impermeabilidade, transparência, capacidade de serem coloridos e impressos (ABIPLAST, 2009).

No entanto, estes materiais podem demorar entre 100 e 450 anos para se degradar quando descartados no meio ambiente, e interferem de forma significativa nos processos de compostagem e de estabilização biológica (SPINACÉ; de PAOLI, 2005). O aumento da utilização de plásticos é de tal forma significativo que, em 2050, os oceanos terão mais detritos desse material do que peixes, alertou o Fórum Econômico Mundial de Davos (EXAME, 2016). Assim, surgem os esforços para reduzir os impactos negativos gerados, como o emprego de polímeros biodegradáveis. Os plásticos biodegradáveis quando descartados no solo entram em contato com diversos tipos de microrganismos e se degradam totalmente em um período de 6 a 12 meses (COUTINHO et al., 2004).

O amido vem se destacando como uma das matérias-primas na produção de materiais biodegradáveis, pois apresenta alta disponibilidade e renovabilidade, encontrado nos vegetais como milho, batata e mandioca, é um polímero considerado de baixo custo e pode ser obtido no mercado com boas propriedades (JACOB, 2006). Todavia este polímero, assim como a maioria dos polímeros biodegradáveis usados para a produção de materiais biodegradáveis, apresenta grande absorção de água devido ao caráter hidrofílico, o que resulta na redução de propriedades mecânicas e estabilidade dimensional. A modificação do amido é uma alternativa que vem sendo desenvolvida há algum tempo com o objetivo de superar uma ou mais limitações dos amidos nativos, aumentando sua utilidade na indústria (SPIER, 2010).

A modificação ácida envolve principalmente a quebra das moléculas do amido em fragmentos de baixo peso molecular, levando ao aumento do número de moléculas lineares menores em relação ao amido nativo, alterando suas propriedades físico-químicas e deixando intacta a estrutura cristalina do grânulo. O resultado é o aumento da tendência de gelificação da solução de amido e de formar gel sob resfriamento e repouso (SANDHU et al., 2008).

Devido à grande importância para a proteção e segurança de alimentos e bebidas durante a distribuição e estocagem, embalagens ativas vêm sendo estudadas, pois são

sistemas que podem mudar a condição de acondicionamento para aumentar a vida de prateleira e melhorar a segurança ou as propriedades sensoriais do produto, mantendo sua qualidade (AZEVEDO, 2012). Dentre as embalagens ativas mais importantes e promissoras encontram-se os filmes antimicrobianos, desenvolvidos com o objetivo de reduzir, inibir ou retardar o crescimento de microrganismos na superfície dos alimentos, quando em contato com produtos acondicionados (APPENDINI; HOTCHKISS, 2002).

Um agente antimicrobiano natural que vem sendo utilizado para diversos fins é a própolis, cuja atividade antimicrobiana tem sido amplamente investigada. Seu efeito contra uma gama de bactérias, fungos e vírus data de 1940, apresentando atividade variável frente a diferentes microrganismos (BASTOS, 2010).

2. OBJETIVOS

2.1. OBJETIVO GERAL

Produzir filmes biodegradáveis ativos a base de amido adicionados de extrato de própolis, para utilização como embalagens ativas antimicrobianas.

2.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Produzir filmes à base de amido de milho pela técnica de *casting* em meio ácido;
- Avaliar filmes adicionados de diferentes concentrações de extrato de própolis (1,2 %, 1,5% e 1,8%);
- Determinar as propriedades mecânicas de resistência a tração, alongação na ruptura e módulo de Young dos filmes produzidos;
- Avaliar o potencial antimicrobiano dos filmes produzidos frente a *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Salmonella*, *Pseudomonas* e *Aeromonas*.

3. REVISÃO DA LITERATURA

3.1. MATERIAIS BIODEGRADÁVEIS

A produção de novos materiais biodegradáveis, deve atender a alguns requisitos principais como: não toxicidade sua e de seus produtos de degradação; apresentarem propriedades mecânicas adequadas; processabilidade e baixo custo (AMASS, AMASS; TIGHE, 1998). A utilização de polímeros biodegradáveis vem crescendo de forma vertiginosa, o mercado mundial destes materiais em 1950 era de 5 milhões de toneladas e em 2011 chegou em torno de 100 milhões de toneladas, sendo que o setor de embalagens consumiu aproximadamente 42% do total (SILVESTRE; DURACCIO; CIMMINO, 2011).

Dentre os polímeros biodegradáveis disponíveis, o amido tem recebido uma atenção especial no setor de embalagens pois trata-se de uma matéria-prima abundante e disponível em todo o mundo, que apresenta muitas possibilidades de modificação química, física ou genética capaz de originar filmes e revestimentos resistentes. O amido de milho por exemplo, apresenta-se uma fonte potencial, tendo em vista que o Brasil é o terceiro maior produtor mundial de milho. Segundo a Conab (Companhia Nacional de Abastecimento), a expectativa de produção de milho para a safra 2016/17 é em torno de 82 milhões de toneladas (EMBRAPA, 2016).

3.2. AMIDO

O amido é um polissacarídeo de reserva de cereais (milho, trigo e arroz), tubérculos (batata) e raízes (mandioca), onde se encontra armazenado sob a forma grânulos. Possui caráter semicristalino, com grau de cristalinidade que pode variar de 20 a 45% (CEREDA, 2002).

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

amido com propriedades físico-químicas e funcionais muito diferentes, que podem afetar as suas aplicações industriais (MALI et al., 2010).

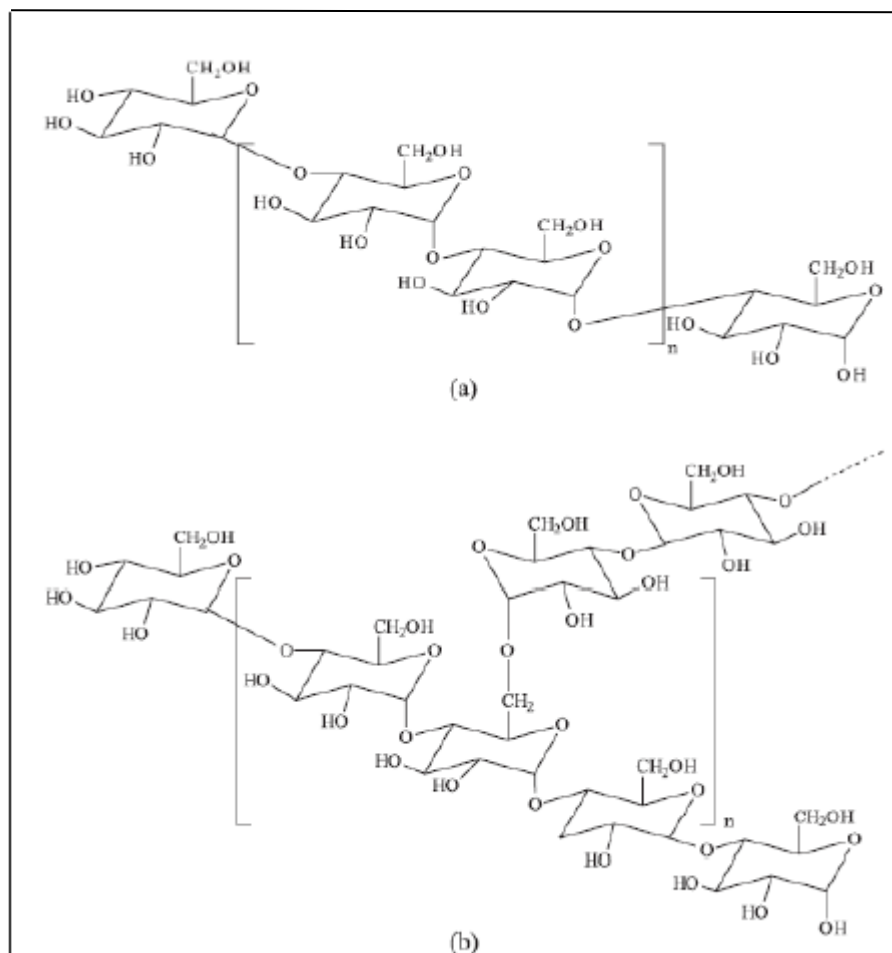


Figura 1. Estrutura química da amilose (a) e amilopectina (b).

Fonte: Corradini (2005).

Segundo BULÉON et al. (1998), os grânulos de amido apresentam caráter semicristalino, sendo formados por regiões cristalinas (mais densas) e por regiões amorfas (menos densas), as quais se encontram distribuídas de forma alternada. Apresentam birrefringência quando observados em microscópio óptico sob luz polarizada, que está relacionada basicamente com o arranjo cristalino nativo das frações lineares da amilopectina, isto é, a porção linear das moléculas de amilopectina forma uma dupla hélice, sendo estabilizada por ligações de hidrogênio entre seus grupamentos hidroxila, originando as regiões cristalinas dos grânulos. A região amorfa é composta pelas cadeias de amilose e pelas ramificações da amilopectina.

3.2.1. Amido modificado

Os amidos nativos apresentam algumas limitações para aplicações industriais, devido à sua baixa resistência ao cisalhamento, retrogradação e sinérese elevadas. Estas deficiências podem ser superadas submetendo o amido a modificações, desenvolvendo assim propriedades distintas do material, resultando em uma diversidade de aplicações como na indústria química e de alimentos (SÁNCHEZ- RIVERA et al., 2005). Estas modificações podem melhorar por exemplo a formação de filmes de amido.

A estrutura do amido pode ser alterada por métodos químicos, físicos, enzimáticos ou pela combinação de todos, com a formação de material com propriedades diferentes do amido nativo (CEREDA; VILPOUX, 2003). A hidrólise ácida é uma modificação química do amido, onde o amido é suspenso em solução diluída de ácido e mantido em temperatura que varia da ambiente àquela logo abaixo da temperatura de gelatinização, agitada até que a viscosidade potencial do amido esteja reduzida ao valor desejado, e então é neutralizada com hidróxido de sódio ou carbonato de sódio (MOORTHY, 2000). Durante o tratamento ácido, a amilopectina é degradada preferencialmente e de forma mais rápida que a amilose. Em decorrência há um aumento relativo da amilose como fração linear (RIBEIRO e SERAVALLI, 2004). A principal característica dos amidos ácido-modificados é a baixa viscosidade à quente. Pode-se obter pastas com baixa viscosidade durante a cocção e géis firmes durante o resfriamento (CEREDA et al., 2003).

3.3. PRODUÇÃO DE FILMES BIODEGRADÁVEIS DE AMIDO

A produção de embalagens biodegradáveis a partir do amido está relacionada com as propriedades químicas, físicas e funcionais da amilose (WURZBURG, 1986).

Para a formação de uma embalagem biodegradável a partir do amido, é necessário que sua estrutura granular seja destruída, para originar uma matriz polimérica, homogênea e essencialmente amorfa, que pode ser obtida através dos fenômenos de gelatinização e/ou fusão. Nos processos de gelatinização e fusão ocorre a conversão do amido em um material termoplástico. O processo de gelatinização pode ser definido como fenômeno irreversível que inclui a perda da estrutura cristalina do amido promovendo a sua solubilização. Quando uma suspensão aquosa de amido é aquecida, as ligações de hidrogênio são rompidas, e as moléculas de água se ligam aos grupos hidroxila das

moléculas de amido. Durante esse tempo, as duplas hélices da amilopectina desassociam-se, resultando em maior intumescimento dos grânulos e dissolução dos cristais (LIU et al., 2009). A amilose encontrada no interior dos grânulos é liberada durante e após a gelatinização, formando uma fase contínua de gel ao redor destes grânulos, resultando em um aumento da viscosidade. Após a gelatinização do amido, quando a temperatura é reduzida à ambiente, ocorre um rearranjo das moléculas por ligações de hidrogênio, fator que favorece a recristalização, comumente chamada de retrogradação (MALI; GROSSMANN, 2010).

Dentre os processos de obtenção de materiais a partir de amido pode-se citar a técnica de *casting*, que se baseia na dispersão ou solubilização dos biopolímeros em um solvente (água, etanol ou ácidos orgânicos) com acréscimo de aditivos (plastificantes ou agentes de liga) obtendo-se a solução ou dispersão filmogênica. Essa solução é vertida sobre um suporte e levada para completa evaporação do solvente em condições controladas, quando então o filme seco pode ser retirado do suporte (GONTARD; GUILBERT; CUQ, 1992; ZACARIAS et al., 2007)

Para a melhoria das propriedades mecânicas dos filmes como a rigidez, faz-se necessário a adição de plastificantes (GONTARD; GUILBERT; CUQ, 1993). Os plastificantes são moléculas pequenas, pouco voláteis, adicionados aos polímeros de alto peso molecular para amolecê-los ou abaixar seu ponto de fusão durante o processamento, ou para lhe adicionar uma flexibilidade ou extensibilidade semelhante à da borracha (MATHEW e DUFRESNE, 2002). Para os filmes a base de amido, os plastificantes mais empregados são os polióis, como glicerol e sorbitol, porém os efeitos provocados pelo glicerol são mais acentuados que os provocados pelo sorbitol (MALI et al., 2005; CHANG; KARIM; SEOW, 2006; SHIMAZU; MALI; GROSSMANN, 2007). No entanto, dependendo da concentração em que são empregados, podem causar um efeito chamado antiplastificante, isto é, ao invés de aumentar a flexibilidade e hidrofilicidade, podem causar um efeito contrário o que não é desejável (GAUDIN et al., 2000).

3.4. FILMES BIODEGRADÁVEIS ATIVOS

Embalagens ativas podem ser definidas como embalagens em que elementos adicionais foram deliberadamente incluídos no material ou no espaço-livre da embalagem, para melhorar seu desempenho (ROBERTSON, 2006). Entre os diversos tipos de embalagens ativas conhecidas, as antimicrobianas e as antioxidantes, com ação

sobre o produto embalado são de grande importância (BRODY, 2001). A crescente preocupação com a qualidade microbiológica dos alimentos tem aumentado o interesse pelos filmes antimicrobianos. A embalagem antimicrobiana é um tipo promissor de embalagem ativa que apresenta substância antimicrobiana incorporada e, ou imobilizada no material da embalagem e é capaz de eliminar ou inibir microrganismos deterioradores e, ou patogênicos. O princípio básico de atuação dessa embalagem é a adição de uma barreira extra (microbiológica) às barreiras físicas (oxigênio e umidade) (HAN, 2003).

Tradicionalmente, os compostos antimicrobianos são adicionados diretamente aos alimentos, mas sua atividade pode ser inibida ou reduzida por substâncias do próprio alimento (QUINTAVALLA; VICINI, 2002). Na maioria dos alimentos frescos ou processados, a contaminação microbiana ocorre predominantemente na superfície, requerendo, assim, um controle efetivo do crescimento microbiano nesse local (PADGETT et al., 1998). Diante disso, o emprego de filmes antimicrobianos pode ser mais eficiente do que o uso direto de agentes antimicrobianos no alimento, pois o agente migra seletiva e gradualmente da embalagem para a superfície do alimento, onde mantém-se em concentração necessária para inibir o desenvolvimento de microrganismos (OUATTARA et al., 2000).

Os filmes antimicrobianos devem: ser efetivos contra um largo espectro de microrganismos, ser eficientes em baixas concentrações dos aditivos incorporados, não causar alterações sensoriais no produto, ter custo compatível e atender a legislação vigente (AZEVEDO, 2012).

Por se tratar de um antimicrobiano e antioxidante natural o extrato de própolis tem chamado a atenção de pesquisadores. O própolis é uma substância produzida pelas abelhas da espécie *Apis mellifera*, a partir de substâncias de origem resinosa que estas colhem do pólen e das plantas, sendo posteriormente misturadas com secreções da própria abelha (LUO et. al., 2011; VIUDA et. al., 2008). A sua composição média é de 45% de resinas vegetais e bálsamos, 30% de cera de abelhas e ácidos graxos, 10% de óleos essenciais, 5% de pólen, e 10% de outros compostos orgânicos e minerais (TYLKOWSKI et. al., 2010). Sua composição completa é complexa, pelo menos 200 compostos já foram identificados em diferentes amostras, mas sua atividade antibacteriana e antifúngica é reportada como sendo devido aos flavonóides, ácidos aromáticos e seus ésteres (BURDOCK, 1998).

Alguns estudos mostram que o extrato etanólico de própolis é eficiente contra bactérias patogênicas (SANTOS et al., 2002; SONMEZ et al., 2005; KORU et al., 2007).

A própolis age sobre a membrana citoplasmática, reduzindo a mobilidade e inibindo a atividade enzimática de bactérias (MIRZOEVA et al., 1997). Mohammadzadeh et al. (2007) avaliaram a eficiência contra bactérias e fungos como, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* e *Aspergillus niger*.

Ainda existem poucos estudos sobre a incorporação de própolis em filmes poliméricos, principalmente para aplicações alimentícias. ARAÚJO et. al (2014) produziram filmes a base de amido de mandioca incorporados com extrato de pópolis, os filmes exibiram atividade antimicrobiana contra *Staphylococcus aureus* e *Escherichia coli* mesmo em concentrações mais baixas do extrato. PASTOR et al. (2010) estudaram a atividade antifúngica de filmes ativos a base de hidroxipropilmetilcelulose (HPMC) contendo própolis contra *Penicillium italicum* e *Aspergillus niger*. Os filmes apresentaram efetividade na ação antifúngica contra os fungos estudados, sendo mais intensa contra *Penicillium sp.*, demonstrando que as propriedades das substâncias ativas naturais da própolis foram preservadas. Bodini et al. (2013) produziram filmes a base de gelatina plastificados com sorbitol e adicionados de diferentes concentrações de EEP, estes apresentaram atividade antimicrobiana frente a *Staphylococcus aureus* quando incorporado 40 g de EEP / 100 g de gelatina, características mecânicas interessantes, e ainda mantiveram a concentração de polifenóis durante 177 dias de armazenamento. Mascheroni et al. (2010) avaliaram embalagens aditivadas com própolis e obtiveram resultados satisfatórios que demonstram a potencialidade do uso da própolis para a produção de embalagens ativas com ação antimicrobiana.

4. MATERIAL E MÉTODOS

4.1. MATERIAL

Para a produção dos filmes foram utilizados amido de milho nativo (Unilever Brasil Alimentos), extrato etanólico de própolis 11% de extrato seco (Arte Nativa), glicerol da marca Hexis Científica, ácido clorídrico marca Proquímios, e hidróxido de sódio da marca Dinâmica.

Os microrganismos utilizados para os ensaios de atividade antimicrobiana dos filmes foram: *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Salmonella TYPHIMURIUM* ATCC 14028, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 e *Aeromonas hydrophila* ATCC 25922 provenientes do Laboratório de Microbiologia de Alimentos, da Universidade Tecnológica Federal do Paraná, UTFPR, Campus Campo Mourão. OS meios utilizados foram ágar Mueller Hinton da marca Biomark, e caldo nutriente da marca Himedia.

4.2. MODIFICAÇÃO ÁCIDA E PRODUÇÃO DOS FILMES

Os filmes foram elaborados pelo método de *casting* de acordo com Mali et al., (2005), com algumas modificações. Foi utilizada a concentração de amido de 3 g de amido/100 g de solução filmogênica e 0,8 g de glicerol/100 g de solução filmogênica. Foram formulados filmes com três concentrações de extrato etanólico de própolis (EP) F1:1,2%, F2:1,5%, e F3:1,8% em relação à solução filmogênica total, e uma formulação controle sem adição de própolis. Inicialmente todos os componentes foram pesados conforme Tabela 1.

Tabela 1. Formulações dos filmes de amido com extrato de própolis.

Formulação	Amido (g)	Glicerol (g)	Água (g)	Extrato de Própolis (g)
Controle	3	0,8	96,2	0
F1 (1,2% EP)	3	0,8	95,0	1,2
F2 (1,5% EP)	3	0,8	94,7	1,5
F3 (1,8% EP)	3	0,8	94,4	1,8

A modificação ácida do amido foi realizada durante a produção dos filmes seguindo o seguinte procedimento. Em um béquer adicionou-se 3 g de amido, 27 ml de água destilada e 3 ml de solução de ácido clorídrico (HCl) 0,1 mol/L, este foi aquecido em uma chapa aquecedora sob agitação manual até a temperatura de gelatinização do amido de milho (por volta de 70 °C), e mantida até a completa gelatinização, então foi adicionado o volume de água restante para completar 100 g de solução filmogênica e esta foi neutralizada até pH 7 adicionando hidróxido de sódio (NaOH) 1 mol/L (aproximadamente 0,5 ml), então foi adicionado o glicerol e novamente a solução foi aquecida agitando-se manualmente até 70°C. Após para as formulações F1, F2 e F3, foi adicionado o extrato etanólico de própolis mantendo-se a agitação. A solução filmogênica foi espalhada em placas de petri de poliestireno e secas em estufa com circulação de ar (Nova ética, Vargem Grande Paulista – SP, Brasil) a 38 °C / 20 horas.

4.3. PROPRIEDADES MECÂNICAS

Para os ensaios mecânicos, os corpos de prova foram preparados seguindo os métodos e normas da *American Society for Testing and Material* (ASTM D-882-00,2001). Os filmes foram cortados conforme a Figura 2 e condicionados em dessecador contendo solução salina saturada de nitrato de magnésio (53% de umidade relativa de equilíbrio) a 25 °C por 48 horas. Posteriormente foram realizados os ensaios de tração em 15 corpos de prova para a determinação das propriedades: resistência máxima a tração

(MPa), alongamento na ruptura (%), e módulo de elasticidade ou de Young (MPa). Foi utilizado um texturômetro da marca Stable Micro Systems, modelo TXT Express, com distância inicial das garras de 15 mm e velocidade de tração de 1 mm/s. A espessura dos filmes foi medida com micrômetro digital (Pantec), com resolução de 0,001 mm, em cinco posições aleatórias para cada corpo de prova.

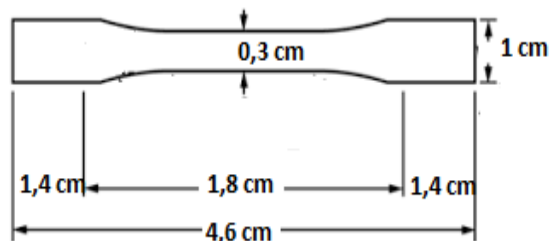


Figura 2. Corpo de prova (Fonte: ASTM D638 (2014)).

4.3.1. Resistência máxima à tração

A resistência máxima à tração ($R_{m\acute{a}x}$) foi determinada através da relação entre a força máxima ($F_{m\acute{a}x}$) medida e a área (A) inicial do corpo de prova, a qual é calculada com os valores de largura (L) e espessura (e) do corpo de prova, através da Equação (1).

$$R_{m\acute{a}x} = \frac{F_{m\acute{a}x}}{A} = \frac{F_{m\acute{a}x}}{L \cdot e} \quad (\text{Equação 1})$$

Onde:

$F_{m\acute{a}x}$ = Força máxima medida (N)

A = Área inicial (mm²)

e = Espessura do corpo de prova (mm)

L = Largura inicial do corpo de prova (mm)

4.3.2. Elongação na ruptura

A elongação na ruptura (E) foi encontrada através da relação percentual entre elongação (E_{rup}) do corpo de prova na ruptura e o seu comprimento inicial, que corresponde à distância entre as garras (D_{garras}), conforme Equação (2).

$$E = \frac{E_{rup}}{D_{garras}} \cdot 100 \text{ (Equação 2)}$$

Onde:

E_{rup} = Elongação (mm)

D_{garras} = Distância entre as garras (mm)

4.3.3. Módulo de Young

O módulo de Young (MY) foi determinado a partir da região linear da curva de tensão x deformação, conhecida como região elástica, de acordo com a Equação (3)

$$MY = \frac{(F/A_0)}{(\Delta L/L_0)} \text{ (Equação 3)}$$

Onde:

F = Força (N)

A_0 = Área (mm²)

L_0 = Largura inicial (m)

ΔL = Largura final – largura inicial (m)

4.4. AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIMICROBIANA

Foi realizada a análise da atividade antimicrobiana dos filmes frente a cinco microrganismos: *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Salmonella*, *Pseudomonas* e *Aeromonas*. Inicialmente as bactérias foram incubadas em caldo nutriente a 37 °C por 24 horas. Posteriormente o cultivo teve a turbidez ajustada com solução salina 0,1% até escala de Mac Farland 0,5. Em placas de petri contendo ágar Muller-Hinton, foram inoculadas as bactérias, e sobre a superfície colocou-se discos de 7 mm de diâmetro dos filmes, esterilizados previamente em luz UV por 5 minutos. As placas foram incubadas a 37 °C por 24 horas e após analisadas quanto a formação de halos de inibição. O experimento foi realizado em triplicata para cada formulação do filme, inclusive o controle.

4.5. ANÁLISE ESTATÍSTICA

Para análise estatística dos resultados foi empregado o programa computacional Statistica versão 7.7 pt. Foram realizadas análises de variância (ANOVA) e teste de Tuckey para comparação das médias, com nível de significância de 5%.

5. RESULTADOS E DISCUSSÕES

5.1. FILMES PRODUZIDOS EM MEIO ÁCIDO

Através dos testes preliminares realizados, produzindo-se filmes com diferentes tipos de amido para escolha da matéria-prima, foi possível perceber uma significativa melhora das características intrínsecas dos filmes a base de amido de milho produzidos por *casting* em meio ácido, estes apresentaram-se mais flexíveis, uniformes, transparentes, e também apresentaram menos problemas de secagem como descontinuidades.

5.2. PROPRIEDADES MECÂNICAS

As medidas das espessuras dos filmes estão apresentadas na Tabela 2. As propriedades mecânicas de resistência à tração ($R_{máx}$), alongação na ruptura (E_{rup}) e módulo de Young (MY) encontram-se na Tabela 2.

Tabela 2. Propriedades mecânicas dos filmes com e sem adição de extrato de própolis (EP).

Formulação	Espessura(μm)	$R_{\text{máx}}$ (MPa)	E (%)	MY(MPa)
Controle (sem adição de EP)	104 ^d \pm 8	6,8 ^c \pm 1,2	71 ^a \pm 18	68,1 ^c \pm 35
F1 (1,2% EP)	120 ^c \pm 11	9,9 ^{ab} \pm 1,0	60 ^a \pm 12	187,4 ^a \pm 38
F2 (1,5% EP)	135 ^b \pm 11	10,5 ^a \pm 1,5	59 ^a \pm 14	159,7 ^{ab} \pm 41
F3 (1,8% EP)	147 ^a \pm 7	8,8 ^b \pm 0,5	72 ^a \pm 12	139,3 ^b \pm 21

$R_{\text{máx}}$ = Resistência máxima à tração, E= Elongação na ruptura, MY= Módulo de Young.

^{a, b, c} As médias na mesma coluna com diferentes letras diferem significativamente ($p \leq 0,05$) pelo Teste de Tukey.

Os filmes produzidos apresentaram diferentes espessuras, tanto em relação ao controle quanto em relação as três formulações com diferentes concentrações de extrato de própolis. O filme controle apresentou menor espessura, e o filme F3 apresentou a maior espessura, assim houve um aumento da espessura conforme a adição do extrato de própolis, devido a maior quantidade de sólidos na solução filmogênica.

Conforme os dados obtidos, a adição do extrato de própolis levou ao aumento da resistência à tração em comparação com o filme controle. Segundo Hoque et. al. (2011) que avaliaram a incorporação de extrato de canela, cravo e estrela de anis em filmes à base de gelatina, o aumento da resistência dos filmes devido à incorporação de extrato está relacionada com a interação de compostos fenólicos presentes nos extratos com a matriz polimérica.

Não houve diferença significativa na elongação dos filmes assim a adição do extrato de própolis não afetou esta propriedade dos materiais produzidos. De acordo com Kechichian et. al. (2010), a concentração de agentes antimicrobianos pode promover uma maior eficácia de filmes biodegradáveis contra microorganismos, sem reduzir a elongação dos mesmos.

O módulo de Young indica a rigidez do filme, ou seja, quanto maior seu valor, mais rígido será o filme (OLIVEIRA, 1996). Neste trabalho verificou-se que o filme controle apresentou o menor valor deste parâmetro, em comparação com os filmes adicionados de extrato de própolis, logo estes filmes apresentaram-se mais rígidos, possivelmente devido ao aumento na resistência a tração ocasionada pela adição do

extrato. Corrêa et. al., (2011) constatou aumento na resistência a tração e módulo de Young de filmes a base de pectina adicionados de 5 % de extrato de própolis vermelha em comparação com filme controle sem adição do extrato.

Segundo Ribeiro e Seravalli (2004) durante o tratamento ácido a amilopectina é degradada preferencialmente e de forma mais rápida que a amilose, com a ação do ácido concentrada na região amorfa, ocasionando um aumento relativo da amilose como fração linear, o que reflete na formação dos filmes. Alves et al. (2007) produziu filmes de amido de mandioca pelo método de *casting* com o objetivo de investigar o efeito do glicerol e amilose em suas propriedades. Os resultados demonstram que os filmes com maior proporção de amilose apresentaram-se mais fortes e menos permeáveis ao vapor de água.

5.3. ATIVIDADE ANTIMICROBIANA

Os filmes produzidos não apresentaram atividade antimicrobiana contra *Escherichia coli*, *Salmonella*, *Pseudomonas* e *Aeromonas*, no entanto apresentaram atividade antimicrobiana frente ao *Staphylococcus aureus*. Para as três formulações de filmes com concentrações diferentes de extrato de própolis houve formação de halos de inibição de crescimento de *Staphylococcus aureus* conforme indicado na Figura 3 e na Tabela 3. Como esperado, a formulação controle (sem adição de extrato de própolis) não apresentou inibição.

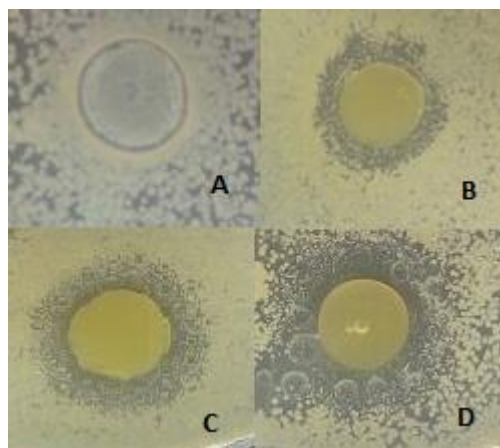


Figura 3. Halos de inibição. A: controle, B: F1, C: F2, D: F3

Tabela 3 - Medidas dos halos de inibição dos filmes de amido com extrato de própolis.

	F1 (1,2% EP)	F2 (1,5% EP)	F3 (1,8% EP)	C (sem adição de EEP)
Halos de inibição para <i>Staphylococcus aureus</i> (mm)	11,4 ± 0,9	13,5 ± 0,9	14,1 ± 1,3	-

(-) Não houve inibição de crescimento.

Os filmes com extrato de própolis apresentaram-se efetivos na inibição de *Staphylococcus aureus*, mesmo na concentração mais baixa testada. Com o aumento de 3% na concentração de extrato de própolis, houve um aumento da atividade antimicrobiana. Segundo Fernandes Júnior et al. (1997) a própolis, mesmo quando utilizada numa concentração abaixo da necessária, é capaz de promover um efeito bacteriostático, se tornando interessante quando se propõe obter um produto com potencial de uso como antimicrobiano.

A atividade antibacteriana da própolis é reportada como sendo devido aos flavonóides, ácidos aromáticos e seus ésteres, sendo importante o sinergismo entre os compostos fenólicos e outros compostos presentes (BURDOCK, 1998). Bodini et al. (2013) também constataram atividade antimicrobiana frente à *Staphylococcus aureus*, de filmes a base de gelatina adicionados de 40g extrato de própolis/100 g gelatina.

A ausência de atividade antimicrobiana dos filmes contra *Escherichia coli*, *Salmonella*, *Pseudomonas* e *Aeromonas* pode ser justificada pela baixa susceptibilidade destes ao extrato de própolis, conforme Fernandes Júnior et al. (1997) verificou em seu estudo, onde bactérias Gram negativas foram menos susceptíveis ao extrato de própolis testado do que as bactérias Gram positivas. Um estudo realizado com extratos de própolis comercializados no Brasil mostrou atividade antimicrobiana pronunciada contra bactérias Gram-positivas e *Candida albicans* ATCC 10231, e atividade menos evidente contra Gram-negativos e *Candida albicans* FT 2010 (REZENDE et al., 2006). Segundo Vargas et al. (2004), estas bactérias possuem uma parede celular quimicamente mais complexa e um teor lipídico maior, o que pode explicar essa maior resistência.

6. CONCLUSÃO

Os filmes produzidos neste trabalho apresentam potencial para aplicação como embalagem biodegradável ativa, visto que a incorporação do extrato de própolis concedeu ao material propriedade antimicrobiana, sendo efetivo na inibição de *Staphylococcus aureus*.

A modificação ácida do amido de milho possibilitou a formação de filmes flexíveis e uniformes. A incorporação de extrato de própolis nos filmes não afetou negativamente as propriedades mecânicas destes, havendo uma melhora na resistência a tração e aumento da rigidez do material em relação a formulação sem adição deste composto.

Como sugestão para trabalhos futuros, mais estudos podem ser realizados afim de analisar a atividade contra outros microrganismos como fungos, e sua viabilidade na aplicação como embalagem ativa para alimentos.

7. REFERÊNCIAS

ABIPLAST, 2009. **Os Plásticos**. Disponível em: <<http://www.abiplast.org.br/site/os-plasticos>>. Acesso em: 04/07/2016.

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.

AMASS, W.; AMASS, A.; TIGHE, B. A Review of Biodegradable Polymers: Uses, Current Developments in the Synthesis and Characterization of Biodegradable Polyesters, Blends of Biodegradable Polymers and Recent Advances in Biodegradation Studies. **Polymer International**, v. 47, p.89 - 144, 1998.

APPENDINI, P.; HOTCHKISS, J. H. Review of antimicrobial food packaging. **Innovative Food Science & Emerging Technologies**, Amsterdam, NL, v. 3, p. 113-126, 2002.

ARAÚJO, G. K. P., SOUZA, S. J., SILVA, M. V., YAMASHITA, F., GONÇALVES, O. H., LEIMANN, F. V. SHIRAI, M. A. Physical, antimicrobial and antioxidant properties of starch-based film containing ethanolic propolis extract. **International Journal of Food Science Technology**, v.50, p. 2080–2087, (2015).

AZEVEDO, H. M. C. **Fundamentos de estabilidade de alimentos**, editora técnica. – 2 ed. rev. e ampl. – Brasília, DF: Embrapa, 2012. 326 p. 2012.

BASTOS, I. B. N. **Própolis: revisão bibliográfica. Monografia (Especialização em Endodontia da Faculdade de odontologia)**. Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2010.

BRODY, A. L. What's active in active packaging. **Food Technology**, Chicago, v. 55, n. 9, p. 104-106, 2001.

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

BULÉON, A.; COLONNA, P.; PLANCHOT, V.; BALL, S. Starch granules: structure and biosynthesis. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 23, p. 85–112, 1998.

BURDOCK, G.A. Review of the biological properties and toxicity of bee propolis (propolis). **Food and Chemical Toxicology**, v.36, p. 347-363, 1998.

CEREDA, M. P.; VILPOUX, O. F. Tecnologia, usos e potencialidades de tuberosas amiláceas **Latino Americanas São Paulo: Fundação Cargill**, v. 4, 2003.

CEREDA, M. P. FRANCO, C. M. L.; DAIUTO, É. R.; DEMIATE, I. M. CARVALHO, I. C. B.; LEONEL, M.; VILPOUX, O. F.; SARMENTO, S. B. S. Propriedades gerais do amido. Série Cultura de Tubérculos **Amiláceas Latino Americanas, São Paulo: Fundação Cargill**, v. 1, p. 204, 2002.

CORRÊA, S. J. P.; MENDONÇA, A. B.; COSTA, L. P.; ANDRADE, L. N. T.; LIMA, N. R. S.; RAZZO, D.; RABELO, A. S.; FIGUEIREDO, R. T.; PADILHA, F. F.; CARDOSO, J. C. The use of pectin-based films containing red propolis extract for sunflower seed protection. **Carbohydrate Polymers**, 2011.

COUTINHO, B. C.; MIRANDA, G. B.; SAMPAIO, G.R.; DE SOUZA, L. B. S.; SANTANA, W. J.; COUTINHO, H. D. M. A importância e as vantagens do polihidroxibutirato (plástico biodegradável). **Holos**, 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.

EXAME: **Oceanos em 2050 vão ter mais plástico do que peixes**. Editora Abril S.A, 19 jan. 2016. Disponível em: <<http://exame.abril.com.br/tecnologia/noticias/oceanos-em-2050-va-ter-mais-plastico-do-que-peixes>>. Acesso em: 18 ago. 2016.

FERNANDES JÚNIOR, A.; LOPES, C.A.M.; SFORCIN, J.M.; FUNARI, S.R.C. Population analysis of susceptibility to própolis in reference strains of *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli*. **Journal of Venomous Animals and Toxins**, v. 3, p.287-294, 1997.

CHANG, Y. P.; KARIM, A. A.; SEOW, C. C. Interactive plasticizing-antiplasticizing effects of water and glycerol on the tensile properties on tapioca starch films. **Food Hydrocolloids**, Oxford, v. 20, n. 1, p.1-8, 2006.

GAUDIN, S.; LOURDIN, D.; FORSELL, P. M.; COLONNA, P. Antiplasticisation and oxygen permeability of starchorbitol films. **Carbohydrate Polymers**, Barking, v.43, p.33- 37, 2000.

GONTARD, N.; GUILBERT, S.; CUQ, J.L. Edible wheat gluten films: influence of the main process variables on film properties using response surface methodology. **Journal of Food Science**, v. 57, n. 1, p. 190-199, 1992.

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

HAN, J. H. Antimicrobial food packaging. In: Ahvenainen R (Ed.) **Novel food packaging techniques**. Washington, CRC Press.p. 69-89, 2003.

HOQUE, M. S; BENJAKUL, S.; PRODPRANT, T. Proprieties of film from cuttlefish (*Sepia pharaeonis*) skin gelatina incorporated with cinnamon, clove and star anise extracts. **Food hydrocolloids**, Oxford, v. 25, p. 1085-1095, 2011.

JACOB, R. F. Estudo das propriedades das blendas de amido termoplástico e látex natural. Tese (Doutorado em Ciências – Físico-químicas). **Instituto de Química de São Paulo**, Universidade de São Paulo, São Carlos, 2006.

KECHICHIAN, V., DITCHFIELD, C., VEIGA, S. P.; TADINI, C. C. Natural antimicrobial ingredients incorporated in biodegradable films based on cassava starch). **LWT - Food Science and Technology**, 43, 1088-1094, 2010

KORU, O.; TOKSOY, F.; ACIKEL, C. H.; TUNCA, Y. M.; USKUDAR, A. G.; OZKOK, A. T.; SORKUN, K.; TANYUKSEL, M.; SALIH, B. In vitro antimicrobial activity of própolis samples from diferente geographical origins against certain oral pathogens. **Anaerobe**, London, v. 13, p. 140-145, 2007.

LIU, H.; YU, L.; DEAN, K.; SIMON, G.; PETINAKIS, E.; CHEN, L. Starch gelatinization under pressure studied by high pressure DSC. **Carbohydrate Polymers**, v. 75, p. 395–400, 2009.

LUO, C.; ZOU, X.; LI, Y.; SUN, C.; JIANG, Y.; WU, Z. Determination of flavonoids in propolis-rich functional foods by reversed phase high performance liquid chromatography with diode array detection. **Food Chemistry**, v. 127, p. 314-320, 2011.

MALI, S.; GROSSMANN, M. V. E.; YAMASHITA, F. Filmes de amido: produção, propriedades e potencial de utilização. Seminário: Ciências Agrárias, Londrina, 2010.

MALI, S., GROSSMANN, M. V. E., GARCÍA, M. A., MARTINO, M. M.; ZARITZKY, N. E. Mechanical and thermal properties of yam starch films. **Food Hydrocolloids**, Oxford, v. 19, n. 1, p. 157-164, 2005.

MASCHERONI, E.; GUILLARD, V.; NALIN, F.; MORA, L.; PIERGIOVANNI, L. Diffusivity of propolis compounds in Polylactic acid polymer for the development of anti-microbial packaging films. **Journal of Food Engineering**, London, v. 98, n. 3, p. 93-97, 2010.

MATHEW, A. P.; DUFRESNE, A. Plasticized waxy Maize Starch: Effect of Polyols and Relative Humidity on Material Properties. **Biomacromolecules**, Washington, v. 3, p. 1101- 1108, 2002.

MIRZOEVA, O. K.; GRISHANIN, R. N.; CALDER, P. C. Antimicrobial action of propolis and some of its components: the effects on growth, membrane potential and motility of bacteria. **Microbiological Research**, Jena, v. 152, p. 239-246, 1997.

MOHAMMADZADEH, S.; SHARRIATPANAHI, M.; HAMEDI, M.; OSTAD, L. S. N. Antioxidant power of Iranian propolis extract. **Food Chemistry**, London, v. 103, p. 729-733, 2007.

MOORTHY, S. N.; BALAGOPALAN. Intergrated technologies for value addition and post harvest management in tropical tubercrops. **Thiruvananthapuram: Central Tuber Crops Research Institute**, 2000. Cap.6, p. 106-137.

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

OUATTARA, B.; SIMARD, R.; PIETTE, G.; BÉGIN, A.; HOLLEY R.A. Inhibition of surface spoilage bacteria in processed meats by application of antimicrobial films prepared with chitosan. **International Journal of Food Microbiology**, Amsterdam, NL, v. 62, p. 139-148, 2000.

PADGETT, T.; HAN, L. Y.; DAWSON, P. L. Incorporation of food-grade antimicrobial compounds into biodegradable packaging films. **Journal of Food Protection**, Ames, v. 61, n. 10, p. 1330-1335, 1998.

PASTOR C., SANCHEZ-GONZALES L., CHAFER M., CHIRALT A., GONZALES-MARTINEZ C. Physical and antifungal properties of hydroxypropylmethylcellulose based films containing propolis as affected by moisture content. **Carbohydrate Polymers**, 82, p. 1174–1183, 2010.

QUINTAVALLA, S.; VICINI, L. Antimicrobial food packaging in meat industry. **Meat Science**, Barking, v. 62, p. 373-380, 2002.

REZENDE, G. P. S. R.; PIMENTA, F. C.; COSTA L. R. R. S. Antimicrobial activity of two Brazilian comercial própolis extracts. **Brazilian Journal of Oral Sciences**, v. 5, p. 967-970, 2006.

RIBEIRO, E.P.; SERAVALLI, E.A.G. **Química de alimentos**. São Paulo: Edgard Blücher. Instituto de Mauá de Tecnologia, 2004,183p

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

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. **Seminário Ciências Agrárias**, Londrina, v. 28, n. 1, p. 79 – 88, 2007.

SÁNCHEZ-RIVERA, M.M.; GARCÍA-SUÁREZ, F.J.L.; VELÁZQUEZ DEL VALLE, M.; GUTIERREZ-MERAZ, F.; BELLO-PÉREZ, L.A. Partial characterization of banana starches oxidized by different levels of sodium hypochlorite. **Carbohydrate Polymers**, v.62, p. 50 - 56, 2005.

SANDHU, K. S.; KAUR, M.; SINGH, N.; LIM, S. A comparison of native and oxidized normal and waxy corn starches: Physicochemical, termal, morphological and pasting properties. **LWT- Food Science and Technology**, v. 41, p.1000-1010, 2008.

SANTOS, F. A.; BASTOS, E. M.; UZEDA, M.; CARVALHO, M. A.; FARIAS, L. M.; MOREIRA, E. S.; BRAGA, F. C. Antibacterial activity of Brazilian propolis and fractions against oral anaerobic bacteria. **Journal of Ethnopharmacology**, Limerick, v. 80, p. 1-7, 2002.

SILVESTRE, C.; DURACCIO, D.; CIMMINO, S. Food packaging based on polymer nanomaterials, **Progress in Polymer Science**, v. 36, p. 1766–1782, 2011.

SONMEZ, S.; KIRILMAZ, L.; YUCESYOY, M.; YUCEL, B.; YILMAZ, B. The effect of bee propolis on oral pathogens and human gingival fibroblasts. **Journal of Ethnopharmacology**, Lausanne, v. 102, n.3, p. 371-376, 2005.

SPIER, F. **Efeito dos tratamentos alcalino, ácido e oxidativo nas propriedades de amido de milho**. Dissertação de Mestrado, Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia Agroindustrial, Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel, Universidade de Pelotas, Pelotas, 72 p. 2010.

SPINACÉ, M. A. S.; DE PAOLI, M. A. **A tecnologia da reciclagem de polímeros**. Química. Nova, v. 28, n.1, p. 65-72, 2005.

TYLKOWSKI, B.; TRUSHEVA, B.; BANKOVA, V.; GIAMBERINI, M.; PEEV, G.; NIKOLOVA, A. Extraction of biologically active compounds from propolis and concentration of extract by nanofiltration. **Journal of Membrane Science**, v. 348, p. 124-130, 2010.

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

VIUDA, M. M.; RUIZ, N. Y.; FÉRNANDEZ, L. J.; PÉREZ, J. A. Functional properties of honey, propolis, and royal jelly. **Journal of Food Science**, v. 73, p. 117-124, 2008.

ZACARIAS, F. M.; SILVA, D. B.; ZOLIN, L. G.; FERRAREZI, J. G.; DRAGUNSKI, D. C.; FERRAREZI, A. D. M.; FERREIRA, J.; GIROTTO, E. M. Obtenção de filmes poliméricos a partir de amido e lignina. **30ª Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química**, 2007.

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