

UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS
FACULDADE DE FARMÁCIA

YURI DIAS OLIVEIRA SILVEIRA

CARACTERIZAÇÃO DE FILME POLISSACARÍDICO OBTIDO DE CASCA DE
MANDIOCA (*Manihot esculenta*) FUNCIONALIZADO COM ÓLEO ESSENCIAL
DE CRAVO-DA-ÍNDIA (*Syzygium aromaticum*)

Belo Horizonte
2018

YURI DIAS OLIVEIRA SILVEIRA

CARACTERIZAÇÃO DE FILME POLISSACARÍDICO OBTIDO DE CASCA DE
MANDIOCA (*Manihot esculenta*) FUNCIONALIZADO COM ÓLEO ESSENCIAL
DE CRAVO-DA-ÍNDIA (*Syzygium aromaticum*)

Dissertação apresentada ao Programa de
Pós-Graduação em Ciência dos
Alimentos da Faculdade de Farmácia da
Universidade Federal de Minas Gerais
como pré-requisito parcial à obtenção
do grau de Mestre em Ciência dos
Alimentos.

Área de Concentração: Qualidade de
Alimentos.

Orientador: Leandro Soares de Oliveira –
Universidade Federal de Minas Gerais.

Belo Horizonte
2018

*Dedico a minha família.
Meus pais, Emerson e Mírian, minha irmã, Uly e
minha sobrinha, Sophia.*

AGRADECIMENTOS

Agradeço ao Senhor Jesus que é sempre meu provedor e me deu coragem e forças para seguir em frente apesar das dificuldades que se apresentaram ao longo do caminho, aos meus pais pelo apoio, amor incondicional e incentivo em todas as etapas.

Agradeço a meu orientador Leandro pela oportunidade de aprendizado e desenvolvimento profissional.

Agradeço a Adriana pelo apoio no laboratório.

Agradeço aos meus amigos queridos de Ipatinga, da nossa célula e do Coral Black To Black que me apoiam com atitudes e gestos carinhosos.

Agradeço aos colegas do Laboratório de Biocombustíveis pelas conversas descontraídas, pelos conselhos e conhecimentos compartilhados. Agradeço em especial a Michelle, a Carolina, ao William, a Daniela e a Laís Maia pelas ideias, suporte e palavras amigas durante todo o trabalho.

Agradeço à Professora Roseane Batitucci Passos de Oliveira (FAFAR) por possibilitar a realização dos experimentos de microbiologia e pelas orientações durante os mesmos.

Agradeço ao Professor Antônio Ferreira Ávila (DEMEC) por possibilitar a realização dos ensaios de tração e ao doutorando Elvis Monteiro pela ajuda com as análises.

Agradeço a todos que direta ou indiretamente contribuíram para a realização deste trabalho.

“Ebenézer! Até aqui nos ajudou o Senhor!”

1 Samuel 7. 12

RESUMO

Destaca-se a geração de quantidades significativas de resíduos dentre as principais questões relacionadas a estratégias para o desenvolvimento e produção agro-industrial sustentáveis. Resíduos lignocelulósicos são abundantes, de baixo custo e amplamente disponíveis. No caso da mandioca (*Manihot esculenta*) e de seus resíduos, vislumbra-se como alternativa rentável a conversão dos mesmos em produtos de interesse para a própria indústria, como, por exemplo, a extração de biopolímeros e o consequente desenvolvimento de embalagens plásticas biodegradáveis, sendo neste caso, o amido a substância de interesse. A funcionalização de tais filmes com agentes antimicrobianos naturais se mostra promissora uma vez que podem resultar em embalagens ativas que visam aumentar a vida útil dos produtos nelas contidos. Neste trabalho foi realizada a extração do amido a partir das cascas de mandioca coletadas no Mercado Central da cidade de Belo Horizonte/MG, sendo os extratos submetidos a tratamento oxidativo com hipoclorito de sódio (NaClO) e peróxido de hidrogênio (H₂O₂), ambos em três concentrações: 2, 6 e 10% (v/v) para clarear os extratos obtidos e consequentemente os filmes resultantes. Os extratos, tanto nativos quanto oxidados, foram caracterizados quanto à cor, perfil de monossacarídeos, leitura em espectroscopia no infravermelho e conteúdo proteico. Os filmes foram elaborados a partir dos extratos, submetidos à funcionalização a partir da adição de 2 g de óleo essencial de cravo-da-índia (*Syzygium aromaticum*) a sua composição e testados contra *Staphylococcus aureus*, *Listeria monocytogenes* e *Salmonella Typhimurium*. Os extratos tratados com NaClO 6% apresentaram resultados satisfatórios em relação ao clareamento, resultando em filmes de coloração clara e que apresentaram halos de inibição de até $11,87 \pm 1,62$ mm de diâmetro, valor de permeabilidade ao vapor de água de $0,14 \pm 0,06$ g.mm/m².h.kPa e alongamento na ruptura de $48,01 \pm 18,77$ %. As características apresentadas pelos filmes são promissoras, porém são necessários maiores estudos para aprimoramento de suas propriedades e viabilidade de sua produção.

Palavras chaves: Resíduos Agro-industriais. Amido. Extratos Amiláceos. Antimicrobianos Naturais. Filmes biodegradáveis.

ABSTRACT

It's highlighted the generation of significant amounts of waste among the main issues related to strategies for sustainable agro-industrial development and production. Lignocellulosic residues are abundant, inexpensive and widely available. In the case of manioc (*Manihot esculenta*) and its residues, it is possible to convert them into products of interest to the industry itself, such as the extraction of biopolymers and the consequent development of biodegradable plastic packaging, in which case the starch is the substance of interest. The functionalization of such films with natural antimicrobial agents is shown to be promising since they can result in active packagings which aim to increase the shelf life of the products contained therein. The extracts were submitted to oxidative treatment with sodium hypochlorite (NaClO) and hydrogen peroxide (H₂O₂), both of which were used in this work. The extracts were extracted from cassava husks collected at the Central Market of the city of Belo Horizonte, MG. three concentrations: 2, 6 and 10% (v / v) to clarify the extracts obtained and consequently the resulting films. The extracts, both native and oxidized, were characterized in terms of color, monosaccharide profile, infrared spectroscopy reading and protein content. The films were prepared from the extracts, submitted to functionalization from the addition of 2 g of clove essential oil (*Syzygium aromaticum*) to their composition and tested against *Stapylococcus aureus*, *Listeria monocytogenes* and *Salmonella* Typhimurium. The extracts treated with 6% NaClO presented satisfactory results in relation to bleaching, resulting in light-colored films with inhibition halos up to 11.87 ± 1.62 mm in diameter, water vapor permeability value of 0.14 ± 0.06 g.mm/m².h.kPa and elongation at break of $48.01 \pm 18.77\%$. The characteristics presented by the films are promising, but more studies are needed to improve their properties and the feasibility of their production.

Key words: Agro-industrial waste. Starch. Amylaceae extracts. Natural Antimicrobials. Biodegradable films.

LISTA DE FIGURAS

Figura 3.1: Representação esquemática do processamento industrial de mandioca. Fonte: FGV (2003).....	23
Figura 3.2: Fluxograma dos métodos de extração de amido. Fonte: Adaptado de Vasanthan (2001).....	24
Figura 3.3: Estrutura química da amilose. Fonte: Adaptado de Denardim e Da Silva (2008).....	26
Figura 3.4: Estrutura química da amilopectina. Fonte: Adaptado de Denardim e Da Silva (2008).....	27
Figura 3.5: Modificações estruturais em amidos oxidados. Fonte: Pereira (2014).....	30
Figura 4.1: Foto da máquina de ensaios tração.....	46
Figura 4.2: Corpos de prova para ensaios de tração.....	47
Figura 4.3: Discos de difusão feitos a partir dos filmes produzidos.....	50
Figura 5.1: Diagrama de cor.....	56
Figura 5.2: Sobreposição de espectros para amostras de extratos nativos e tratados com NaClO 6%.....	59
Figura 5.3: Filme de amido elaborado a partir de extrato de amido nativo ESPM.....	67
Figura 5.4: Filme de amido elaborado a partir de extrato de amido nativo ECPM.....	67
Figura 5.5: Foto das cascas de mandioca.....	67
Figura 5.6: Sobreposição de espectros para amostras de filmes elaborados a partir de extratos nativos e tratados com NaClO 6%.....	69
Figura 5.7: Atividade antimicrobiana de filme contra <i>S. Typhimurium</i> e <i>S. aureus</i>	72
Figura 5.8: Atividade antimicrobiana contra <i>L. monocytogenes</i>	72
Figura 5.9: Comparativo de atividade antimicrobiana contra <i>L. monocytogenes</i>	73
Figura 5.10: Sistemas cápsula/filme com óleo essencial de cravo em análise de permeabilidade a vapor de água.....	76
Figura 5.11: Sistemas cápsula/filme sem óleo essencial de cravo em análise de permeabilidade ao vapor de água.....	76

Figura 5.12: Curvas de força *versus* deformação das amostras dos filmes;
(a) filmes FSPM NaClO 6% sem óleo de cravo; (b) filmes FCPM NaClO 6% sem
óleo de cravo; (c) filmes FSPM NaClO 6% com óleo de cravo; (d) filmes FCPM
NaClO 6% com óleo de cravo80

LISTA DE TABELAS

Tabela 3.1: Resíduos gerados pelo beneficiamento de raízes de mandioca.....	22
Tabela 5.1: Registro de massa dos extratos tratados (NaClO e H ₂ O ₂).....	55
Tabela 5.2: Colorimetria dos extratos nativos e tratados com NaClO e H ₂ O ₂ – 2, 6 e 10% (espaço de cor CIEL*C*h*).....	55
Tabela 5.3: Determinação do teor de proteínas nos extratos nativos (ESPM e ECPM) e extratos oxidados (ESPM NaClO 6% e ECPM NaClO 6%).....	58
Tabela 5.4: Perfil de monossacarídeos das amostras ESPM, ECPM, ESPM NaClO 6% e ECPM NaClO 6%.....	63
Tabela 5.5: Colorimetria dos filmes nativos e tratados com NaClO e H ₂ O ₂ – 2, 6 e 10% (espaço de cor CIEL*C*h*).....	68
Tabela 5.6: Atividade antimicrobiana de filmes funcionalizados com óleo essencial de cravo-da-índia (<i>S. aromaticum</i>).....	71
Tabela 5.7: Comparativo entre os controles utilizados – eugenol e óleo essencial de cravo-da-índia (<i>S. aromaticum</i>).....	73
Tabela 5.8: Espessura e coeficiente de permeabilidade ao vapor de água (PVA) dos filmes desenvolvidos.....	77
Tabela 5.9: Média dos valores da resistência a tração dos filmes.....	79

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ASTM – American Society for Testing and Materials

ATCC – American Type Culture Collection

ATP – Adenosina Trifosfato

ATR – Attenuated Total Reflectance

CIE – Commission Internationale de l'Eclairage

CPM – Cascas Com a Parte Marrom

DEMEC – Departamento de Engenharia Mecânica

DLATGS – Sulfato de Triglicina Deuterado Dopado com L-Alanina

DMSO – Dimetilssulfóxido

ECPM NaClO 6% - Extrato Com a Parte Marrom tratado com Hipoclorito de Sódio a 6%

ESPM NaClO 6% - Extrato Sem a Parte Marrom tratado com Hipoclorito de Sódio a 6%

ECPM – Extrato Com a Parte Marrom

ESPM – Extrato Sem a Parte Marrom

FCPM NaClO 6% - Filme de Amido Com a Parte Marrom tratado com Hipoclorito de Sódio a 6%

FAO – Food and Agriculture Organization of the United Nations

FSPM NaClO 6% - Filme de Amido Sem a Parte Marrom tratado com Hipoclorito de Sódio a 6%

FCPM – Filme de Amido Com a Parte Marrom

FSPM – Filme de Amido Sem a Parte Marrom

FGV – Fundação Getúlio Vargas

FTIR – Fourier-transform Infrared Spectroscopy

IBGE – Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística

LPS – Lipopolissacarídeo

PHA – Polihidróxialcanoato

PFTFE – Politetrafluoretileno

PVA – Permeabilidade ao Vapor de Água

SPM – Cascas Sem a Parte Marrom

TFA – Ácido Trifluoroacético

TTVA – Taxa de Transmissão de Vapor de Água

WECD – World Commision on Environment and Development

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO.....	15
2 OBJETIVOS.....	17
3 REVISÃO DE LITERATURA.....	17
3.1 Resíduos da Produção Agro-industrial.....	17
3.1.1 <i>Utilização e Beneficiamento de Resíduos Agroindustriais....</i>	<i>17</i>
3.1.2 <i>Utilização de Resíduos na Produção de Polímeros.....</i>	<i>19</i>
3.1.3 <i>Dados de Produção de Mandioca, Geração e Utilização de Resíduos.....</i>	<i>21</i>
3.2 Características e Utilização dos Resíduos de Mandioca.....	22
3.2.1 <i>Extração do Amido em Mandioca e Seus Resíduos.....</i>	<i>22</i>
3.2.2 <i>Composição de Polissacarídeos da Parede Celular Vegetal.....</i>	<i>24</i>
3.2.3 <i>Características Químicas e Estruturais do Amido.....</i>	<i>26</i>
3.2.4 <i>Perfil de Monossacarídeos de Produtos Ricos em Amido....</i>	<i>28</i>
3.2.5 <i>Perfil de Monossacarídeos em Raízes de Mandioca.....</i>	<i>29</i>
3.3 Modificações Químicas.....	29
3.3.1 <i>Oxidação do Amido Nativo.....</i>	<i>29</i>
3.4 Antimicrobianos de Origem Natural.....	31
3.5 Filmes Biodegradáveis e Antimicrobianos Naturais.....	33
3.6 Óleo Essencial de Cravo-da-Índia (<i>Syzygium aromaticum</i>).....	34
4 MATERIAIS E MÉTODOS.....	35
4.1 Coleta e Processamento dos Resíduos de Mandioca (<i>M. esculenta</i>).....	35
4.1.1 <i>Resíduo Utilizado.....</i>	<i>35</i>
4.1.2 <i>Coleta das Cascas de Mandioca.....</i>	<i>35</i>
4.1.3 <i>Separação das Cascas.....</i>	<i>36</i>
4.2 Obtenção dos Extratos.....	36
4.2.1 <i>Trituração das Cascas.....</i>	<i>36</i>
4.2.2 <i>Extração.....</i>	<i>36</i>
4.2.3 <i>Filtração.....</i>	<i>36</i>
4.2.4 <i>Lavagem.....</i>	<i>36</i>
4.2.5 <i>Desidratação.....</i>	<i>37</i>
4.2.6 <i>Padronização da Granulometria.....</i>	<i>37</i>

4.3 Tratamento Oxidativo dos Extratos	37
4.3.1 Tratamento com NaClO.....	37
4.3.2 Tratamento com H ₂ O ₂	38
4.3.3 Lavagem e Secagem.....	38
4.4 Caracterização dos Extratos	38
4.4.1 Colorimetria dos Extratos.....	38
4.4.2 Determinação do Teor de Nitrogênio Total.....	39
4.4.3 Espectroscopia no Infravermelho com Transformada de Fourier.....	40
4.4.4 Determinação do Perfil de Monossacarídeos.....	41
4.4.4 Processamento Das Frações-T.....	42
4.4.5 Obtenção Das Frações-F Pela Hidrólise Com Ácido Sulfúrico.....	43
4.4.6 Leitura de Amostras em Cromatografia a Gás.....	44
4.5 Elaboração dos Filmes	44
4.5.1 Obtenção dos Filmes.....	44
4.6 Caracterização dos Filmes	45
4.6.1 Colorimetria dos Filmes.....	45
4.6.2 Espectroscopia no Infravermelho com Transformada de Fourier.....	45
4.6.3 Propriedades Mecânicas de Tração.....	46
4.6.4 Permeabilidade a Umidade.....	47
4.7 Incorporação de Antimicrobiano Natural e Testes de Atividade Antimicrobiana	48
4.7.1 Extração do Óleo Essencial de Cravo-da-Índia (<i>Syzygium aromaticum</i>).....	48
4.7.2 Funcionalização Dos Filmes.....	49
4.7.3 Testes Preliminares.....	49
4.7.4 Testes de Atividade Antimicrobiana.....	50

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO	51
5.1 Utilização dos Resíduos de Mandioca (<i>Manihot esculenta</i>)	51
5.2 Oxidação do Amido Presente nos Extratos	53
5.2.1 <i>Amidos oxidados</i>	54
5.2.2 <i>Caracterização Colorimétrica dos Extratos</i>	55
5.2.3 <i>Determinação de Nitrogênio Total – Proteínas</i>	58
5.3 Análise Por Espectroscopia No Infravermelho	59
5.3.1 <i>Espectros Obtidos Para Amidos Nativos e Amidos Oxidados</i>	62
5.6 Determinação do Perfil de Monossacarídeos em Extratos Nativos e Oxidados por Cromatografia a Gás	62
5.7 Elaboração dos Filmes	66
5.8 Caracterização dos Filmes Produzidos	68
5.8.1 <i>Caracterização Colorimétrica dos Filmes Nativos e Tratados</i>	68
5.8.2 <i>Obtenção dos Espectros Para Filmes de Amido</i>	69
5.9 Atividade Antimicrobiana dos Filmes Funcionalizados com Óleo de Cravo-da-índia (<i>Syzygium aromaticum</i>)	70
5.10 Permeabilidade a Umidade	76
5.11 Propriedades Mecânicas de Tração	79
6 CONCLUSÃO	82
7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	84

1 INTRODUÇÃO

A geração e escoamento de resíduos, tanto sólidos quanto efluentes, são pontos de grande importância no que se refere ao desenvolvimento sustentável, principalmente em assuntos de nível industrial. A produção agrícola bem como as indústrias de alimentos, mais especificamente a indústria de alimentos minimamente processados, se enquadram dentre as principais geradoras de resíduos agroindustriais. Dos resíduos produzidos por essa indústria, encontra-se a classe dos lignocelulósicos, que são abundantes, de baixo custo e amplamente disponíveis (BRIONES et al., 2015). O descarte apropriado destes resíduos gera custos para os produtores de alimentos, sendo necessária, em diversos casos, uma etapa de tratamento dos mesmos para adequação às diretrizes e normas preconizadas por órgãos competentes para tal. Como opção beneficiária ao produtor, vislumbra-se como alternativa rentável a conversão desses resíduos em produtos de interesse para a própria indústria, como, por exemplo, a extração de biopolímeros e o consequente desenvolvimento de embalagens plásticas biodegradáveis utilizando os mesmos (DAI et al., 2015; LÓPEZ et al., 2015; DE MORAES et al., 2013; SELIGRA et al., 2016).

Enquadrando-se na categoria de resíduos lignocelulósicos gerados pela indústria de alimentos minimamente processados, encontram-se os resíduos de mandioca (*Manihot esculenta*), que são gerados em quantidades significativas e, devido às respectivas composições químicas peculiares e aos respectivos baixos custos, se tornam atrativos para a extração de amido e produção dos referidos polímeros (TUMWESIGYE, OLIVEIRA & GALLAGHER, 2016).

O amido é a molécula de interesse quando se utilizam os resíduos da mandioca para a produção de filmes. Assim sendo, a etapa correspondente a sua extração é uma das principais do processo. Existem diversas metodologias utilizadas para extrair amido a partir de diferentes fontes, tais como raízes, tubérculos e cereais. No caso da mandioca e de seus resíduos, uma das metodologias disponíveis trata da extração, recuperação e cianogênese simultânea da raiz. O método a ser utilizado para extração do amido deve obedecer a cuidados específicos uma vez que, ao longo das etapas, suas características físico-químicas devem ser preservadas (TUMWESIGYE, OLIVEIRA & GALLAGHER, 2016; VASANTHAN, 2001).

Além de se elaborar filmes biodegradáveis para a produção de embalagens de forma sustentável a partir dos resíduos gerados pela indústria de alimentos, existe ainda a possibilidade de funcionalização desses filmes com determinadas substâncias naturais para dar origem a embalagens ativas. A produção dessas embalagens ativas se dá pela funcionalização adicional com substâncias antimicrobianas e antioxidantes, promovendo uma melhoria da segurança e da vida útil dos produtos alimentícios, uma vez que as doenças transmitidas por alimentos, frequentemente relacionadas a microrganismos patogênicos, constituem casos de saúde pública e um enorme desafio para a indústria de alimentos (BODINI, 2011; CALATAYUD et al., 2013).

As atividades antibacterianas e antifúngicas de determinados óleos essenciais apresentam vantagens claras para uso em funcionalização de filmes em função dos respectivos efeitos sinérgicos (DE SOUZA et al., 2014). Um dos requisitos para o uso de um agente antimicrobiano natural é que este seja de grau alimentício, e uma das justificativas para o seu emprego é evitar os efeitos adversos ocasionados pelo uso de substâncias sintéticas (MASCHERONI et al., 2010).

Com base no exposto, este trabalho se justifica por apresentar uma alternativa rentável para o aproveitamento de resíduos agro-alimentares, envolvendo um método de produção de filmes (para uso em embalagens) constituídos de polímeros biodegradáveis extraídos destes resíduos, com potencial de aplicação na indústria alimentícia, atendendo à demanda atual por alternativas sustentáveis. Também por explorar o potencial de antimicrobianos naturais como agregados na composição dos filmes para produção de embalagens ativas a serem utilizadas para a preservação e/ou aumento da vida útil de produtos alimentícios.

2 OBJETIVOS

Os objetivos gerais do presente trabalho foram o aproveitamento de resíduos sólidos provenientes do beneficiamento de raízes de mandioca para elaboração de um filme polissacarídico e sua funcionalização com um agente antimicrobiano natural.

Os objetivos específicos foram:

- produzir um filme polimérico utilizando material polissacarídico extraído de cascas de mandioca; e
- funcionalizar o filme polissacarídico preparado com agente antimicrobiano natural extraído de cravos-da-índia (*Syzygium aromaticum*), e avaliar o respectivo potencial como inibidor de crescimento microbiano em testes com *Staphylococcus aureus*, *Salmonella Typhimurium* e *Listeria monocitogenes*.

3 REVISÃO DE LITERATURA

3.1 Resíduos da Produção Agroindustrial

3.1.1 Utilização e Beneficiamento de Resíduos Agroindustriais

Desenvolvimento sustentável pode ser definido como “uma nova forma de desenvolvimento na qual são integrados o processo de produção com a conservação das fontes e aprimoramento ambiental. Deve compreender as necessidades do presente sem comprometer nossa capacidade de cumprir as metas do futuro” (WECD, 1987). Dentro desta definição, esforços têm sido empregados no desenvolvimento e aprimoramento de tecnologias para a utilização de resíduos agroindustriais para sua transformação em produtos de valor agregado.

Resíduos agrícolas e alimentares sólidos possuem grande volume, materiais de baixo valor que são propensos à degradação microbiana, o que limita sua exploração. Seu uso também é restringido por questões legais e custos de secagem, processamento, armazenamento e transporte fazendo com que sejam direcionados para destinos sem grandes possibilidades como alimentação

animal, material para queima ou dispostos em aterros (FRANCA & OLIVEIRA, 2009).

No que se refere à sua aplicação direcionada ao consumo animal, podem ser citados exemplos como a utilização dos resíduos de mandioca como fonte alternativa de energia na substituição total ou parcial de alimentos que são rotineiramente empregados na alimentação de bovinos. Folhas, caule, cascas, farinha de varredura e massa de fecularia podem ser empregados na alimentação de ruminantes (MARQUES et al., 2000; MARQUES & MAGGIONI, 2010). Há relatos do uso de resíduos do processamento de frutas tropicais na elaboração de compostos nutricionais destinados ao consumo humano, já que existem estudos mostrando que esses resíduos contêm altos níveis de várias substâncias de interesse com possibilidade de extração e presença de fibras, substituindo aditivos químicos utilizados na indústria (AYALA-ZAVALA et al., 2011). Como exemplos, vale ressaltar os estudos realizados por Crizel et al. (2013) e Silva et al. (2014) demonstrando, respectivamente, o uso de fibra dietética proveniente dos resíduos de laranja como substituinte de gordura na formulação de produtos alimentícios e o uso de resíduos de jabuticaba para produção de um pigmento natural com propriedades funcionais.

Uma gama de possibilidades se abre para o aproveitamento de resíduos agroindustriais, convertendo-os em produtos de valor agregado. Na construção civil, fibras residuais podem ser utilizadas na elaboração de materiais compósitos a serem empregados, a exemplo das fibras de casca de coco adicionadas na preparação do concreto (GUNASEKARAN, KUMAR & LAKSHMIPATHY, 2011). Até mesmo a incineração de resíduos pode ser citada como promissora, pois pode ser empregada no reforço de materiais para construção civil. Segundo demonstrado por estudos, cinzas obtidas a partir de material vegetal residual como folhas de árvores, grama residual, casca de amendoim e palha de trigo podem servir como substituintes de cimento em concreto, tendo verificado que os materiais vegetais são muito ricos em sílica por absorverem vários minerais durante o processo de crescimento (AJAY et al., 2007). Para citar outros exemplos e aplicações, vale mencionar a utilização de resíduos de café para a produção de carvão (TSAI, LIU & HSIEH, 2012), resíduos naturais sólidos para produção de biocombustíveis (FRANCA & OLIVEIRA, 2009) e a produção de adsorventes a partir de resíduos agrícolas (FRANCA & OLIVEIRA, 2008).

A utilização de resíduos agro-industriais a fim de convertê-los em produtos para consumo ou até mesmo em opções biodegradáveis se mostra como uma saída promissora diante da grande e crescente demanda por alternativas que caminhem ao encontro do chamado desenvolvimento sustentável. Esses rejeitos ou subprodutos, ao serem acumulados, podem acarretar diversos problemas de contaminação de solos, proliferação de microrganismos e outros problemas ambientais devido à sua grande produção, armazenamento inadequado e opções restritas de reaproveitamento. Diante desse cenário, sua utilização na produção de polímeros e outros materiais biodegradáveis se torna ainda mais interessante por sua dupla valia: a capacidade de originar produtos sustentáveis e aceitáveis, do ponto de vista ambiental; a abertura de um canal de escoamento de materiais com potencial contaminante para conversão em produtos de interesse para a própria indústria, ou para os mercados consumidores de modo geral (BRIONES et al., 2015; TUMWESIGYE, OLIVEIRA & GALLAGHER, 2016).

3.1.2 Utilização de Resíduos na Produção de Polímeros

Conforme mencionado anteriormente, a produção de alimentos minimamente processados, envolvendo somente o descascamento de produtos vegetais e o seu fracionamento para exposição e venda posteriores, gera uma grande quantidade de resíduos com grande potencial de utilização. Os resíduos provenientes dessa atividade possuem fibras a serem incorporadas a filmes biodegradáveis a fim de melhorar as propriedades mecânicas destes, sendo uma alternativa biodegradável à utilização de fibras sintéticas (IAHNKE et al., 2015).

Ainda há mais possibilidades na obtenção de polímeros naturais a partir de resíduos agroindustriais. Um grande número desses polímeros como polissacarídeos, proteínas e lipídeos têm sido largamente explorados no desenvolvimento de embalagens ativas (SALARBASHI et al., 2016). Proteínas de origem vegetal podem ser empregadas na elaboração de filmes comestíveis destinados a recobrir alimentos em exposição. Nesse objetivo, tem sido relatado o uso de proteínas extraídas dos resíduos de sementes de girassol utilizadas na extração de óleo (SONG et al., 2013). Com a finalidade de obter filmes e revestimentos a serem aplicados nas superfícies de alimentos de modo a reduzir

a permeabilidade ao vapor de água e aos gases, tem sido apresentada a opção de utilizar ligações cruzadas entre proteínas e polissacarídeos para produzir esses revestimentos (AZEREDO & WALDRON, 2016).

Polissacarídeos são o principal polímero natural estudado com fins de produção de filmes e revestimentos biodegradáveis a serem empregados na indústria de alimentos. Várias fontes podem ser citadas a partir de estudos que relatam a extração de utilização de polissacarídeos para a produção de filmes. Entre estes exemplos pode ser citada a cevada cuja parede celular é alvo de métodos de extração de polissacarídeos, sendo o amido o polissacarídeo de interesse e, neste caso, há relato de utilização do processo de oxidação do amido de cevada para a produção de filmes já que esse processo atribui características adequadas a este fim, sendo estas discutidas posteriormente neste trabalho (LAZARIDOU et al., 2008; EL HALAL et al., 2015).

Dentro do grupo de polissacarídeos de interesse para a produção de filmes biodegradáveis se destaca o amido. Este, por apresentar boas propriedades filmogênicas, conforme dito anteriormente, estar presente numa grande variedade de vegetais e, conseqüentemente em seus resíduos, ele é o principal polissacarídeo estudado para fins tecnológicos, apresentando-se em alta disponibilidade (BHAT et al., 2013; REALINI & MARCOS, 2014). As principais fontes pelas quais se pode obter amido são cereais como milho, trigo e arroz; tubérculos e raízes como batata e mandioca, respectivamente (LÓPEZ & GARCÍA, 2012). Para a utilização de arroz, não só o amido é uma molécula de interesse para a produção de filmes, mas também proteínas que podem ser dele extraídas a partir de seu óleo residual (SHIN, SONG & SONG, 2012). A batata é tubérculo rico em carboidratos, sendo que o amido é o principal deles e o mais abundante nesse vegetal (GARCIA, 2013).

Dentre os exemplos citados, pode-se destacar a mandioca (*Manihot esculenta*), raiz cultivada no Brasil, possui grande potencial no que se refere a extração de amido, sendo uma das principais fontes. O amido proveniente da raiz é extraído, processado e vendido pela indústria como matéria-prima ou o revertido em produtos de consumo direto, a exemplo de alimentos. Assim sendo, mandioca e seus resíduos podem ser utilizados como fonte de polímeros naturais para a produção de filmes com potencial biodegradável, obedecendo aos requisitos citados anteriormente: grande volume, grande disponibilidade e

baixo custo (DE MORAES et al., 2013; TUMWEISIGYE, OLIVEIRA & GALLAGHER, 2016).

3.1.3 Dados de Produção de Mandioca, Geração e Utilização de Resíduos

Os dados de produção de raiz de mandioca são fornecidos pelo Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE) e segundo este, no ano de 2016 foram produzidos 23,71 milhões de toneladas, sendo a estimativa para o ano de 2017 de 20,80 milhões de toneladas devido à redução da área plantada na maioria dos estados produtores. Os maiores produtores de raiz de mandioca no Brasil são, em ordem crescente de produção, Pará, Paraná e Bahia seguidos por Mato Grosso do Sul e São Paulo (DE SOUZA¹, 2017).

A nível mundial, segundo dados da Organização das Nações Unidas para a Alimentação e a Agricultura (FAO), a produção de mandioca em 2014 foi de 270,28 milhões de toneladas, sendo o Brasil responsável por 54,83 milhões de toneladas, ocupando a quarta posição num *ranking* liderado por Nigéria, Tailândia e Indonésia com 54,83, 30,02 e 23,44 milhões de toneladas, respectivamente (DE SOUZA², 2017). Todo esse volume de produção vem acompanhado pela geração de resíduos já que metade da biomassa produzida pelo cultivo da mandioca é abandonada no campo após a colheita. Em dados de 2010, a produção da raiz ocupava a posição de nona maior *commodity* agrícola em produção (FAO, 2013), o que pode ser diretamente vinculado à consequente geração de um grande volume de resíduos. Na Tabela 3.1 estão relacionados os resíduos gerados por uma indústria de beneficiamento das raízes de mandioca para produção de farinha localizada no estado da Paraíba. Durante o processo de descascamento e limpeza das raízes é gerado um grande volume de cascas, constituídas de uma película celulósica de cor marrom e cepas, um material fibroso. Juntamente com as cascas, certas quantidades de solo são retiradas e as crueiras, que são pedaços de fibras e entrecascas das raízes (DE ARAÚJO et al., 2014).

Tabela 3.1 - Resíduos gerados pelo beneficiamento de raízes de mandioca.

Tipos de resíduos identificados	Quantidade estimada
Sólidos transportados do campo	-
Cascas com cepas	77,9 kg/t
Crueira	15,9 kg/t
Cinzas	-
Material particulado	-
Resíduos de varrição	-
Efluente do descascador lavador	344,3 L/t
Manipuera	279,1 L/t

(-) não quantificados.

Adaptado de: DE ARAÚJO et al., 2014

Tendo em vista a questão, cresce a necessidade de desenvolvimento de alternativas sustentáveis de aproveitamento de tais resíduos como potencial de utilização para produção de bioetanol e elaboração de materiais poliméricos biodegradáveis (ELEMIKE, OSEGHLE & OKOYE, 2015; TUMWESIGYE, OLIVEIRA & SOUSA-GALLAGHER, 2016; VEIGA et al., 2016).

3.2 Características e Utilização dos Resíduos de Mandioca

3.2.1 Extração do Amido em Mandioca e Seus Resíduos

A extração do amido a partir dos resíduos é uma das etapas mais importantes de todo o processo de produção de filmes, pois juntamente com a substância de interesse, outras partes acompanham o extrato, fazendo com que compostos como proteínas, fibras e mucilagens façam parte do extrato bruto. Assim sendo, o método de extração deve ser cuidadosamente definido para que não haja danificação do grânulo de amido e consequentes alterações de suas propriedades físico-químicas (VASANTHAN, 2001).

No processo industrial de extração, costuma-se usar um mesmo método envolvendo maquinário específico para sua realização. Vale lembrar que o processo industrial tem como alvo de utilização o máximo da raiz, passando por lavagem, descascamento, trituração e desintegração (FGV, 2003). De acordo com a Figura 3.1 podem ser verificadas as etapas do processo industrial.

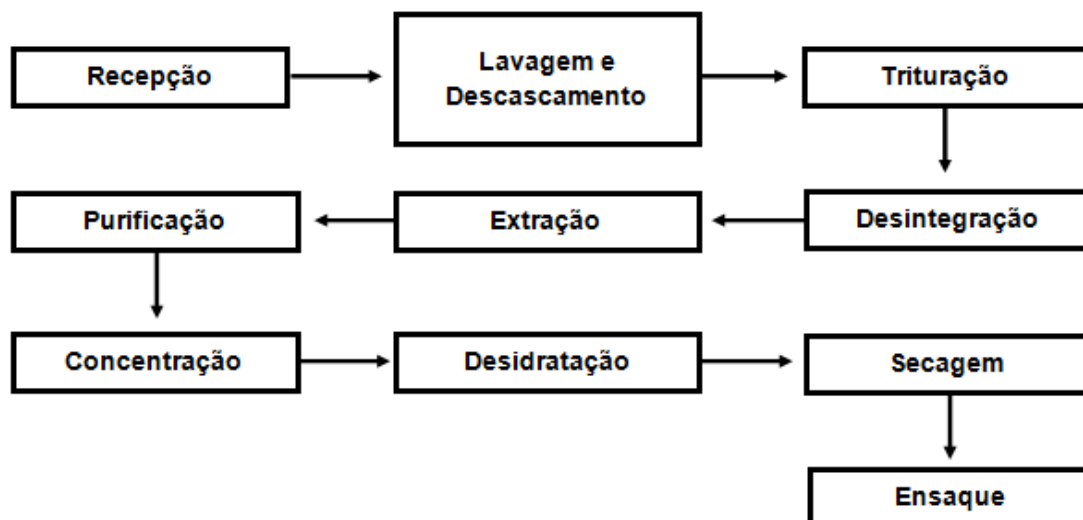


Figura 3.1 - Processo Produtivo Industrial de Processamento da Mandioca.

FONTE: FGV, 2003

A etapa de desintegração é o processo que visa romper, por agitação e atrito mecânico, as células para consequente liberação do amido (FGV, 2003). Porém, quando o objetivo final é isolamento do amido, mantendo suas propriedades físico-químicas, são necessários métodos mais refinados já que o amido extraído precisa apresentar boas propriedades filmogênicas. Dado que as propriedades físico-químicas do amido variam de acordo com a sua fonte e que etapas de lavagem devem ser empregadas para que determinadas impurezas sejam removidas, a escolha do método de extração deve levar em consideração esses fatores (VASANTHAN, 2001).

De acordo com o exposto por Vasanthan (2001), vários métodos de isolamento de amido foram elaborados, levando em conta as informações acima, sendo difícil a recomendação de um método universal. A Figura 3.2 compreende um fluxograma descritivo dos diferentes métodos disponíveis para a extração de amido de acordo com as fontes disponíveis (VASANTHAN, 2001).

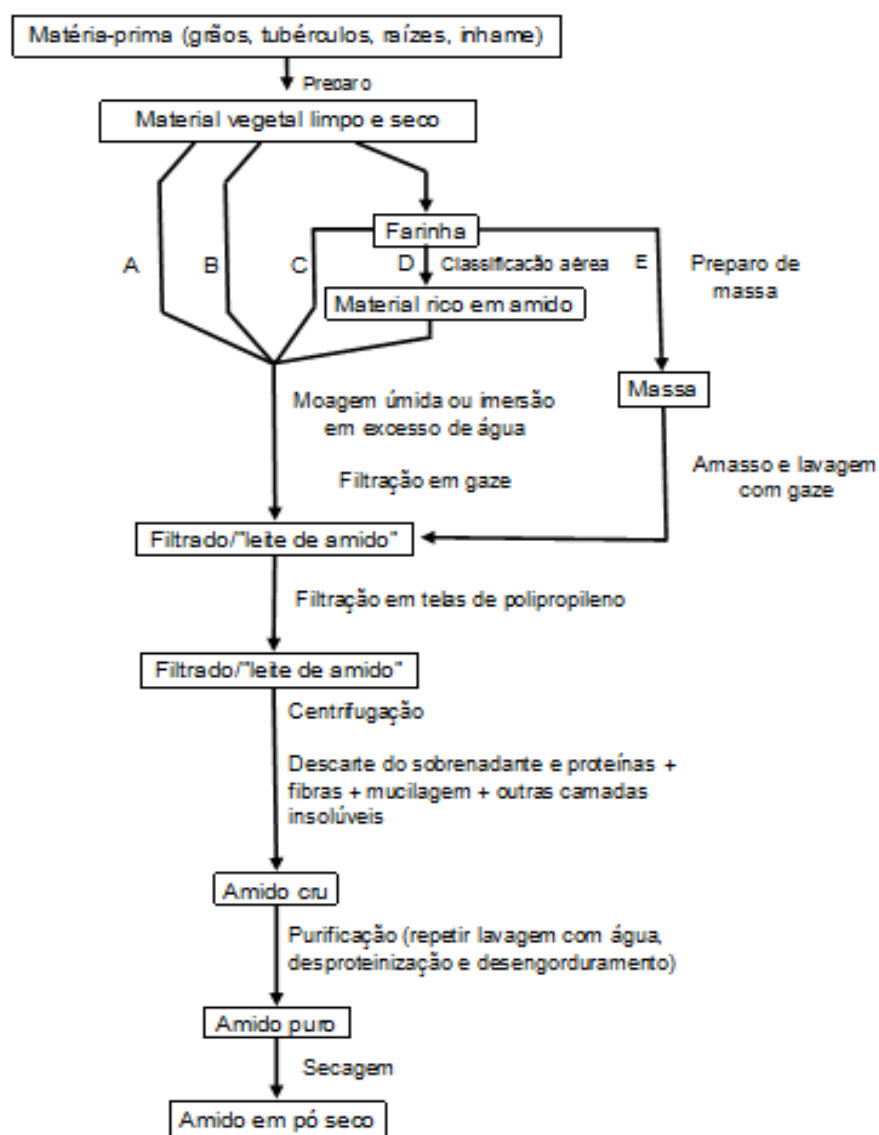


Figura 3.2 - Métodos Disponíveis para Extração de Amido. Rota A - raízes, tubérculos e inhame; Rotas B, C e D - grãos, cereais; Rota E - trigo.

Adaptado de: VASANTHAN, 2001

3.2.2 Composição de Polissacarídeos da Parede Celular Vegetal

A parede celular de vegetais é composta principalmente pelas três maiores classes de polissacarídeos, sendo elas celulose, hemicelulose e pectina que, juntamente com a lignina, formam as fibras dietéticas, importantes por induzirem inúmeros efeitos fisiológicos como aumento do bolo fecal e melhora na atividade intestinal bem como redução nos níveis sanguíneos de colesterol e açúcar (SALVADOR et al., 2000; SCHNEEMAN, 1986; THEANDER & AMAN, 1979).

A celulose, o polissacarídeo fundamental na composição da parede celular vegetal, confere rigidez, impedindo o rompimento osmótico da membrana plasmática. A estrutura da celulose é formada por polímeros lineares de várias unidades de D-glicose com ligações (β 1-4), agrupados em feixes de cerca de 36 cadeias que se agregam lado a lado para formar uma cadeia (NELSON & COX, 2014).

As hemiceluloses interagem com a celulose através de ligações de hidrogênio ou com outros compostos por meio de ligações covalentes, tendo funções variadas como mecanismo de defesa, reserva de carbono, sustentação e transporte de nutrientes e água no vegetal. Elas derivam principalmente da celulose, podendo conter outros monossacarídeos na cadeia principal, como manose e xilose, ambos os casos unidos também por ligações do tipo (β 1-4), o que confere às hemiceluloses uma estrutura linear. Podem apresentar ramificações e estruturas de alta complexidade, sendo que os monossacarídeos das cadeias principais predominam em relação aos das ramificações. A hemicelulose está presente de forma predominante na parede celular de dicotiledôneas e monocotiledôneas não-gramíneas (CARPITA & GIBEAUT, 1993; CRIVELLARI, 2012). As substâncias pécticas, grupo de polímeros encontrado na lamela média das células, são formadas por unidades de (1 – 4)- α -D-galacturonapiranosil, podendo também conter galactanos e arabinanos (FENIMAN, 2004).

Vale ressaltar a presença de xiloglucanos, polissacarídeos ramificados formados por unidades de glicose unidas por ligações glicosídicas (β 1-4) em sua cadeia principal, contendo ramificações de xilose, xilose-galactose ou xilose-galactose-fucose e que possuem uma função estrutural, conectando as microfibrilas de celulose. Os xiloglucanos podem ser encontrados na parede celular de plantas dicotiledôneas e também de monocotiledôneas, havendo uma diferença nos conteúdos de xilose e de galactose que são menores nestas do que nas dicotiledôneas. Portanto, é esperado um número maior de xiloglucanos em vegetais como mandioca e feijão (dicotiledôneas) comprado ao arroz e à cana-de-açúcar (HAYASHI, 1989; JUNIOR, BRAGA & BUCKERIDGE, 2006).

3.2.3 Características Químicas e Estruturais do Amido

O amido é definido como um homopolissacarídeo presente em diversas espécies vegetais como um carboidrato de reserva, estando armazenado nos cloroplastos das células vegetais e composto por cadeias de amilose e amilopectina. A estrutura linear da amilose é formada por unidades de glicose unidas por ligações glicosídicas α -1,4 ao passo que a estrutura da amilopectina, ramificada, possui unidades de glicose unidas por ligações α -1,4 e α -1,6, sendo que a proporção em que estão presentes varia em relação à fonte vegetal (Figuras 3.3 e 3.4). Cada grânulo de amido possui um centro original de crescimento denominado *hilum* no qual são depositadas camadas de amido com diferentes graus de hidratação (DENARDIM & DA SILVA, 2008; ROCHA, DEMIATE & FRANCO, 2008; LAJOLO & MENEZES, 2006).

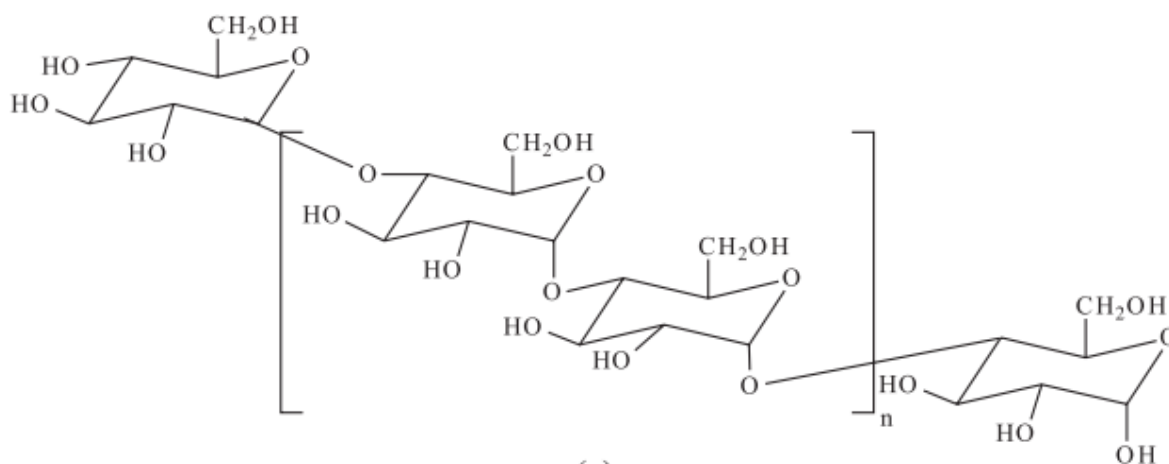


Figura 3.3 - Estrutura química da amilose. Linear, composta por unidades de glicose unidas por ligações α -1,4.

Adaptado de: CORRADINI et al., 2005

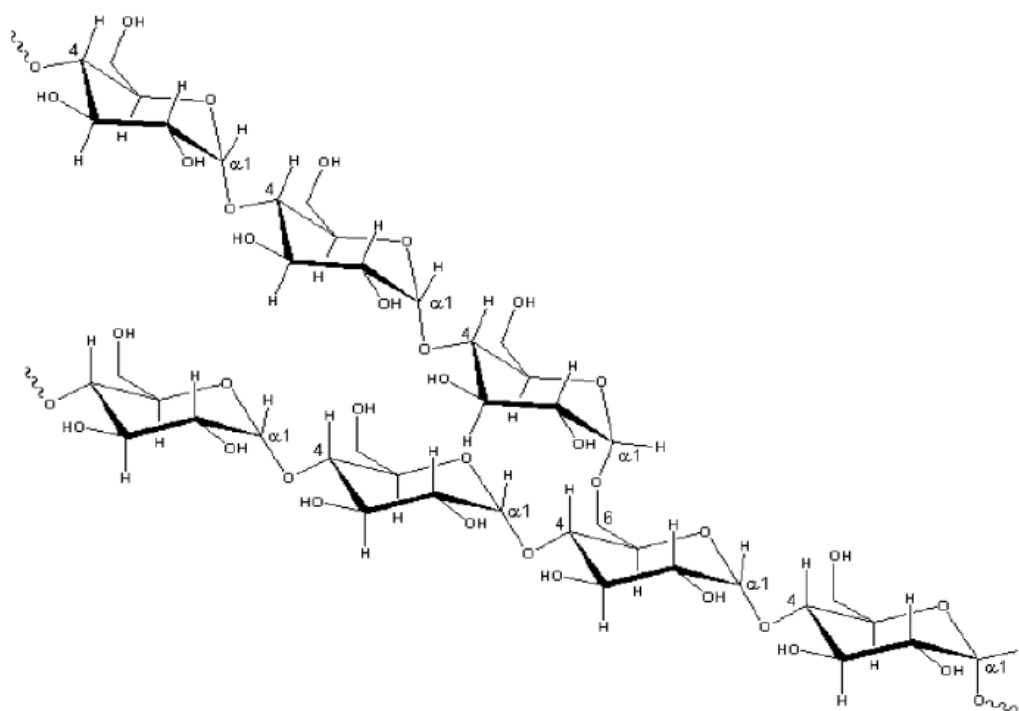


Figura 3.4 - Estrutura química da amilopectina. Ramificada, composta por unidades de glicose unidas por ligações α -1,4 e α -1,6.

Adaptado de: DENARDIM & DA SILVA, 2008

A maioria dos amidos possui cerca de 70 – 75% de amilopectina e há espécies mutantes desenvolvidas de milho, cevada e arroz contendo essencialmente nenhum ou alto conteúdo de amilose. Amidos nativos possuem conteúdos de amilose e amilopectina empacotados em partículas granulares parcialmente cristalinas e insolúveis em água, com tamanho, forma, composição química e organização estrutural característicos da planta de origem (BEMILLER & WHISTLER, 2009). A estrutura molecular do amido interfere em algumas de suas propriedades físico-químicas, sendo que características estruturais (teor de amilose, distribuição de comprimento de cadeias de amilopectina e grau de cristalinidade do grânulo) podem estar diretamente relacionadas a eventos associados à gelatinização e retrogradação como inchamento do grânulo, lixiviação da amilose e/ou amilopectina e recristalização (DENARDIM & DA SILVA, 2008). A razão amilose/amilopectina presente no amido influencia na microestrutura e, portanto, na viscosidade de soluções filmogênicas e na espessura final de filmes polissacarídicos. A transparência dos filmes resultantes está intimamente ligada à espessura e também à origem do amido utilizado como

matéria-prima, por exemplo, filmes de amido de batata são mais transparentes enquanto filmes de amido de milho e trigo são mais opacos. As propriedades mecânicas também estão ligadas a essa relação (BASIAK, LENART & DEBEAUFORT, 2017).

O amido proveniente da mandioca possui baixo conteúdo de amilose comparado aos oriundos de outras fontes vegetais e, tanto a amilopectina quanto a amilose possuem alto peso molecular. Tipicamente, o amido de mandioca possui 17 – 20% de amilose, diferentemente de outras fontes amiláceas como o milho (0 – 70% de amilose) e o arroz (0 – 40% de amilose). O amido de mandioca é diferenciado de outros amidos por seu baixo nível de materiais residuais, ou seja, gorduras, proteínas e cinzas (BEMILLER & WHISTLER, 2009).

3.2.4 Perfil de Monossacarídeos de Produtos Ricos em Amido

Dentre os principais espécimes vegetais ricos em amido podem ser mencionados milho, batata, trigo, cevada e mandioca, citados em estudos de caracterização e utilização tecnológica de moléculas polissacarídicas (DAI et al., 2015; DE MORAES et al., 2013; EL HALAL et al., 2015; GARCIA, 2013; LAZARIDOU et al., 2008). Alguns deles foram estudados ao nível de obtenção do perfil de monossacarídeos constituintes.

Em estudo feito em batata doce foi determinada a composição de monossacarídeos da fibra na qual a glicose proveniente de celulose era o principal carboidrato presente. No referido trabalho, a determinação do conteúdo de carboidratos foi realizada inclusive nas fibras de batata doce, ressaltando que estas, de modo geral, são consideradas importantes por seus efeitos fisiológicos e no melhoramento da atividade intestinal, sendo encontrada uma quantidade predominante de glicose. Os dados obtidos para a batata doce foram comparados àqueles obtidos para mandioca e batata inglesa (SALVADOR et al., 2000).

3.2.5 Perfil de Monossacarídeos em Raízes de Mandioca

Conforme mencionado anteriormente, há um interesse especial pelo conhecimento da composição química de fibras dietéticas de vegetais devido a seus importantes efeitos fisiológicos e para que a indústria possa utilizá-las em seu potencial máximo. Há estudos informando a composição de monossacarídeos presente no amido, celulose, hemicelulose e fibras da polpa de mandioca (KAJIWARA & MAEDA, 1983; KETIKU & OYENUGA, 1972).

Na estrutura constituinte da amilose e da amilopectina há unidades de glicose, carboidrato mais abundante, e maltose, ambas servindo como fonte de carbono para o metabolismo de bactérias produtoras de polihidróxialcanoatos (PHAs) que podem ser usados como alternativa biodegradável para a produção de plásticos. Assim sendo, espera-se a presença desses monossacarídeos na composição dos polissacarídeos provenientes da mandioca, bem como de seus resíduos que apresentem conteúdo de carboidratos (ALIAS & TAN, 2005; HOSTINOVÁ et al., 2003; JOHNSON, PADMAJA & MOORTHY, 2009; POOMIPUK, REUNGSANG & PLANGKLANG, 2014).

3.3 Modificações Químicas

3.3.1 Oxidação do Amido Nativo

Existem possibilidades quanto a tratamentos físicos e químicos do amido nativo para a obtenção de determinadas características de interesse para sua utilização industrial e tecnológica. Uma delas é a modificação química estrutural por meio de oxidação. Esse processo pode ser realizado utilizando-se hipoclorito de sódio (NaClO) ou peróxido de hidrogênio (H_2O_2) e, uma vez oxidado, o amido apresenta propriedades de interesse industrial a exemplo da geração de pastas fluidas, elevada transparência e resistência à retrogradação, formação de filme e propriedade de retenção de água (PEREIRA, 2014).

A oxidação do amido com NaClO é um processo comum na indústria e introduz grupos carboxila pela quebra de ligações na cadeia de amilose responsáveis pela ligação entre os monômeros de glicose, permitindo a inclusão desses grupos, enquanto a oxidação com H_2O_2 possibilita a introdução de grupos carbonila (SOROKIN et al., 2004). Essas modificações químicas na

estrutura do amido nativo afetam as propriedades físico-químicas do mesmo e consequentemente podem interferir nas propriedades de produtos desenvolvidos a partir de amidos modificados (Figura 3.5). A modificação química é um fator importante quando o objetivo final é a formação de filmes e alguns efeitos podem ser obtidos a partir disto como atividade antibacteriana devido aos aldeídos formados pela adição de carboxilas no processo de oxidação e clareamento da pasta de amido, algo que é interessante no que se refere à produção de filmes a serem aplicados em embalagens (PEREIRA, 2014).

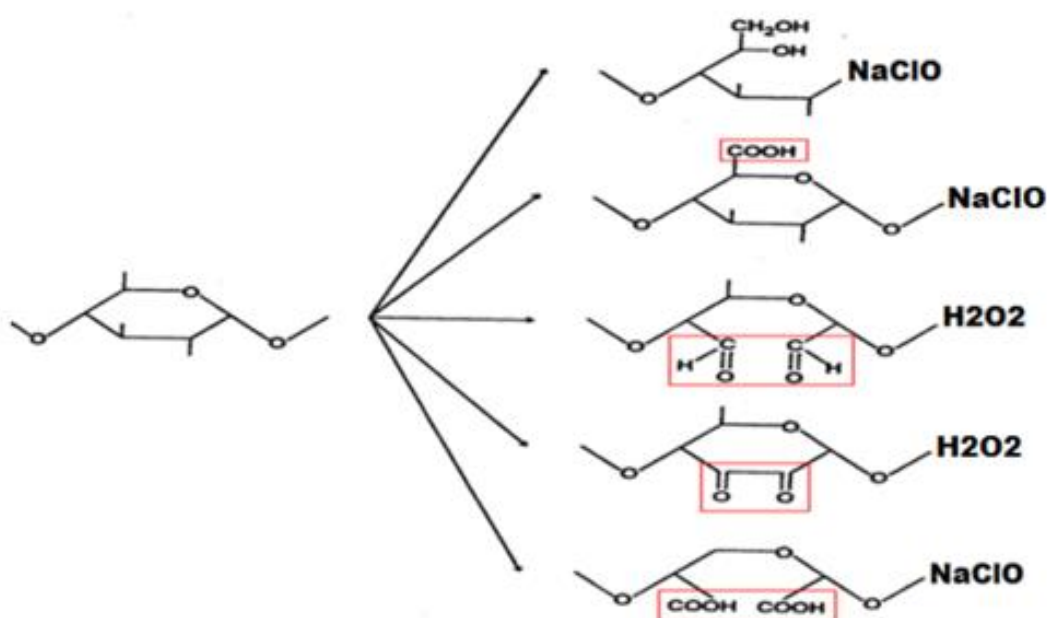


Figura 3.5 - Modificações estruturais na molécula de amido envolvendo a inserção de grupos carboxila ou carbonila na molécula.

Fonte: PEREIRA (2014)

3.4 Agentes Antimicrobianos de Origem Natural

Óleos essenciais possuem diversas propriedades de interesse em amplas aplicações na produção industrial, seja de fármacos, ou de alimentos. Citotoxicidade é uma das principais propriedades contidas em óleos essenciais pelo seu efeito biológico, mais especificamente no dano à membrana plasmática de células bacterianas, alterando sua permeabilidade com consequente perda de íons, culminando na diminuição da produção de ATP e morte celular (DI PASQUA et al., 2006; THAPA et al., 2012; TURINA et al., 2006).

A utilização de antimicrobianos naturais para a preservação de alimentos vem de longa data com o emprego de peptídeos provenientes de bactérias lácticas como substituição a produtos tóxicos ocasionadores de diversos efeitos adversos. Bacteriocinas como nisina, bacteriocinas purificadas e utilizadas comercialmente, e pediocina têm seus efeitos na preservação de alimentos demonstrados contra microrganismos vinculados a toxinfecções alimentares (CLEVELAND et al., 2001; ROLLER, 1996). A necessidade de processamento físico de alimentos e seu excesso como técnica de preservação de alimentos pode ser diminuída pelo emprego de antimicrobianos naturais de modo a garantir a vida de prateleira, sem alterar as propriedades sensoriais do produto, ao contrário da técnica mencionada anteriormente (FERREIRA, 2012).

Metabólitos secundários produzidos por espécies vegetais também têm sido relatados como agentes antimicrobianos empregados como potenciais ativos na conservação e aumento da vida de prateleira de produtos alimentícios. Compostos fenólicos, fenóis, este o mais importante e abundante grupo de substâncias químicas extraídos de plantas e que podem ser encontradas em diversos grupos alimentícios como vegetais, frutas, chocolates e bebidas como café, chá ou vinho (ANDRADE et al., 2015; BORGES et al., 2013; PLYUTA et al., 2013). Desse modo, ácidos fenólicos obtidos a partir do café, a exemplo do ácido cafeico, possuem capacidade de desestabilizar e alterar a permeabilidade da membrana plasmática de células microbianas, além da inibição de determinadas enzimas chave no funcionamento de bactérias gram-positivas e gram-negativas, tendo demonstrado atividade contra *Staphylococcus aureus* e *Escherichia coli* (ANDRADE et al., 2015).

Há, ainda, outras espécies vegetais das quais é possível a extração de óleos essenciais com comprovada atividade antimicrobiana a exemplo do alho, que já possui aplicação na indústria de alimentos como antimicrobiano e antioxidante, cujo óleo possui como substância ativa, a alicina e, combinado a outras substâncias como nicina, apresentou atividade contra um dos principais patógenos vinculados a alimentos, a bactéria *Listeria monocytogenes* (GARCÍA-DÍEZ et al., 2016; EL-SAYED et al., 2017; ROHANI et al., 2011). Sung et al. (2014) demonstraram seu emprego na composição de embalagens plásticas para alimentos.

Há plantas de origem irlandesa com uma variedade de metabólitos secundários com potencial antimicrobiano. Tais plantas pertencem à família Asteraceae cuja distribuição é global e na qual determinadas espécies ainda não tiveram explorado o potencial antimicrobiano e antioxidante de seus metabólitos secundários. Tais metabólitos foram testados contra espécies bacterianas grandemente envolvidas na contaminação de produtos alimentícios a saber *S. aureus*, *Bacillus cereus*, Gram-positivas, *Escherichia coli* e *Salmonella Typhimurium*, Gram-negativas, sendo que os resultados mais promissores foram obtidos a partir da ação contra bactérias gram-positivas (KENNY et al., 2014).

Várias outras espécies vegetais são utilizadas como fonte de óleos essenciais a serem empregados como antimicrobianos para aplicação direta em filmes destinados à produção de embalagens ativas. Uma delas é o óleo essencial de alecrim (*Rosmarinus officinalis*), testado contra *S. aureus*, *S. epidermidis*, *E. coli*, *Pseudomonas aeruginosa* e *Candida albicans*, porém não demonstrando atividade antimicrobiana eficiente contra esses microrganismos (ANGIONI et al., 2004). Conforme demonstrado por Silva et al. (2010), o óleo de orégano (*Origanum vulgare*) também é promissor como antimicrobiano natural devido à presença de compostos fenólicos, tendo sido testada sua atividade contra *Salmonella Enteritidis*, sendo esta inibida pelo óleo essencial. Porém, Ugalde (2014) observou que o óleo de orégano não inibiu o crescimento de *Klebsiella pneumoniae*, mostrando ação principalmente contra Gram-positivas, sendo que *E. coli* foi a única espécie Gram-negativa a ser inibida.

3.5 Filmes Biodegradáveis e Antimicrobianos Naturais

Embalagens ativas têm por característica principal sua interação com o produto que nelas está contido. Determinados materiais constituintes dessas embalagens incorporam componentes que podem ser lançados diretamente no alimento ou podem absorver substâncias que possam promover a deterioração do produto. Os componentes ativos da embalagem podem estar dispostos em um compartimento da embalagem ou estar diretamente envolvidos em sua composição, incorporados ao material (EUROPEAN COMMISSION, 2009).

Conforme mencionado anteriormente, antimicrobianos naturais têm sido grandemente utilizados em conjunto com filmes biodegradáveis de modo a produzir embalagens ativas que possibilitem maior vida de prateleira a produtos alimentícios. Uma das substâncias ativas utilizadas em conjunto com polímeros biodegradáveis se trata do cinamaldeído encontrado no óleo essencial de canela (*Cinnamomum zeylanicum*), sendo uma de suas aplicações em conjunto com filmes à base de amido extraído da mandioca (*M. esculenta*) de modo a produzir uma embalagem ativa cuja ação antimicrobiana seja o principal objetivo, inibindo a contaminação por espécies fúngicas, bem como de suas toxinas (DE SOUZA et al., 2014; MANSO et al., 2014).

Esta tecnologia tem sido desenvolvida não somente com fins de promover a proteção contra o crescimento de agentes patogênicos como fungos e bactérias, mas também na utilização de extratos naturais e óleos essenciais com efeito antioxidante para desacelerar a deterioração química de alimentos com aplicação realizada em filmes elaborados por ligação cruzada com material celulósico (DE CASTILLO et al., 2015; DE CASTILLO et al., 2016).

Nesta tecnologia de embalagens ativas estão compreendidos os filmes e os revestimentos, sendo estes formados diretamente na superfície do produto e aqueles são utilizados como embrulhos e embalagens firmes. Como limitação de uso de óleos essenciais como aditivos em embalagens podem ser citados o seu odor, que pode limitar sua aplicação, ou a quantidade necessária de óleo a ser aplicada para obtenção de eficácia pode comprometer as propriedades organolépticas do alimento, excedendo os níveis aceitáveis (RIBEIRO-SANTOS et al., 2017).

3.6 Óleo Essencial de Cravo-da-Índia (*Syzygium aromaticum*)

O óleo essencial de cravo-da-índia é obtido por meio do isolamento a partir dos botões florais de *Syzygium aromaticum*, espécie pertencente à família Myrtaceae. As espécies pertencentes a esta família são ricas em óleos essenciais, sendo as folhas do craveiro-da-índia possuidoras de um grande número de glândulas de óleo que podem ser vistas ao serem posicionadas contra a luz (ASCENÇÃO & FILHO, 2013; UGALDE, 2014). A planta é nativa da Índia e Indonésia, sendo cultivada em diversos países de clima tropical, como no Brasil, mais especificamente no sul do estado da Bahia e utilizado para diversos fins sejam eles medicinais ou na culinária (COSTA et al., 2011).

O óleo essencial do cravo-da-índia é composto principalmente por fenilpropoanoides, eugenol cuja composição é dada por 4-alil-2-metoxifenol e β -cariofileno e pelo monoterpene acetato de eugenila (SEBAALY et al., 2015). Ascensão et al. (2013), realizando experimentos de caracterização do óleo por meio de cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas, encontraram na composição química do óleo copaeno, cariofileno, humuleno, acetato de eugenila e o próprio eugenol, sendo este o componente majoritário com um teor de 52,53%.

A atividade antimicrobiana do óleo de cravo é um dos principais pontos de interesse na sua utilização atualmente. Tendo sido testado contra *Klebsiella pneumoniae*, *S. aureus*, *E. coli*, *Campylobacter jejuni*, *Salmonella Enteritidis*, *L. monocytogenes* e *S. epidermidis*, apresentou boa atividade de inibição do crescimento de todas estas espécies bacterianas, apresentando, também, atividade antifúngica em testes realizados contra fungos filamentosos como *Fusarium oxysporum* f. sp. vasinfectum e *Fusarium oxysporum* f. sp. lycopersici (ASCENÇÃO et al., 2013; UGALDE, 2014). Nisar et al. (2018) também testaram a ação do óleo contra *S. aureus*, *L. monocytogenes* e *E. coli* também obtendo bons resultados de atividade antibacteriana que aumentavam proporcionalmente ao aumento da concentração de óleo.

Diante da possibilidade de utilização do óleo essencial de cravo-da-índia como antimicrobiano natural, estudos têm sido desenvolvidos de modo a testar seu emprego, bem como de outros óleos essenciais, na formulação de polímeros biodegradáveis com potencial uso na fabricação de embalagens que aumentem a vida de prateleira de produtos alimentícios (ACOSTA et al., 2016; JUNEJA, DWIVEDI & YAN, 2012; NISAR et al., 2018; REALINI & MARCOS, 2014).

4 MATERIAIS E MÉTODOS

4.1 Coleta e Processamento dos Resíduos de Mandioca (*M. esculenta*)

4.1.1 Resíduo Utilizado

Cascas de mandioca (*M. esculenta*) foram o grupo de resíduos agroindustriais utilizados para a realização deste trabalho. O montante de cascas coletadas compreendeu diferentes variedades de mandioca, sendo estas tanto de massa branca quanto de massa amarela.

4.1.2 Coleta das Cascas de Mandioca

As cascas de mandioca foram coletadas na banca denominada “Tião Da Mandioca” localizada no Mercado Central da cidade de Belo Horizonte, Minas Gerais, no período de outubro de 2016 a julho de 2017. Após a coleta das cascas, elas foram encaminhadas para o Laboratório de Aproveitamento de Resíduos do Departamento de Engenharia Mecânica da Escola de Engenharia da Universidade Federal de Minas Gerais, no qual foram devidamente higienizadas para retirada de terra e demais sujidades, ensacadas, pesadas e armazenadas em freezer à temperatura de -20°C para processamento posterior (FGV, 2003; TUMWESIGYE et al., 2016).

4.1.3 Separação das Cascas

Uma porção das cascas teve o tênue, porção de coloração amarronzada, retirada, permanecendo somente a parte branca e outra porção foi mantida na íntegra (com a porção amarronzada) e, então separadas em dois grupos: SPM (cascas sem parte marrom) e CPM (cascas com parte marrom). Nos processos que se seguem, as cascas foram processadas obedecendo a cada uma destas duas categorias (FGV, 2003; TUMWESIGYE et al., 2016).

4.2 Obtenção dos Extratos

4.2.1 Trituração das Cascas

Ambas as categorias (SPM e CPM) foram processadas em liquidificador industrial (Metvisa Bing Brasil) juntamente com 1 L de água destilada, tendo sido, cada uma, processada por 5 min para total trituração e formação de uma pasta (TUMWESIGYE, 2016; VASANTHAN, 2001).

4.2.2 Extração

A pasta obtida na etapa anterior foi colada em agitação mecânica em agitador mecânico (Quimis). O processo de extração ocorreu por 30 min para cada uma das categorias processadas (TUMWESIGYE, 2016; VASANTHAN, 2001).

4.2.3 Filtração

A filtração foi feita em tela de polipropileno para retenção das fibras e material bruto proveniente das cascas e obtenção do chamado “leite de amido”. O material bruto foi reconduzido à etapa anterior para uma nova extração para otimização do processo (VASANTHAN, 2001).

4.2.4 Lavagem

O leite de amido obtido em cada uma das duas categorias (SPM e CPM) foi acondicionado em béqueres de vidro e deixados em decantação overnight em temperatura de refrigeração (7°C) para evitar a proliferação de microrganismos e consequente deterioração dos extratos. Terminado o processo de decantação,

o sobrenadante foi descartado a fim de eliminar impurezas e demais substâncias indesejadas. Cada um dos extratos foi lavado por três vezes com 100 mL de água destilada, sendo, em cada uma delas, descartado o sobrenadante entre as lavagens (VASANTHAN, 2001).

4.2.5 Desidratação

Os extratos devidamente lavados foram secos em estufa convectiva com circulação de ar (NewLab) à temperatura de $50^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ por 12 h. Após o processo de desidratação, os extratos secos foram macerados em gral de porcelana para obtenção do extrato em pó (TUMWESIGYE et al., 2016).

4.2.6 Padronização da Granulometria

O extrato em pó obtido passou por padronização da granulometria em tamiz de inox (Bertel) com tamanho de poros de 42 mesh e registradas as massas padronizadas (passantes) e retidas.

4.3 Tratamento Oxidativo dos Extratos

4.3.1 Tratamento com NaClO

Os extratos em pó (ESPM e ECPM) foram tratados com NaClO em três concentrações diferentes, sendo elas 2, 6 e 10% com objetivo final de clarear os mesmos. Em todos os tratamentos foram utilizados 10 g dos extratos originais. Para o tratamento com NaClO 2% foram utilizados 8 mL de NaClO (LimpBras, 6% de cloro ativo) e 5,6 mL de água destilada; para o tratamento com NaClO 6%, foram utilizados 21,6 mL de NaClO e 16 mL de água destilada; para o tratamento com NaClO 10%, foram utilizados 36 mL de NaClO e 32 mL de água destilada. O processo ocorreu sob agitação à temperatura ambiente por 1 h, tendo o pH ajustado entre 8,4 e 8,5 pela adição de solução de NaOH 3% (Dinâmica, P.A.). Após o período de agitação, o pH da mistura foi abaixado a 6,8 pela adição de solução de H_2SO_4 5% (Synth, P.A.), sendo adicionado em seguida 0,44 g de bissulfito de sódio (Synth, P.A.) para remoção do excesso de NaClO (PEREIRA, 2014).

4.3.2 Tratamento com H_2O_2

Os extratos em pó (ESPM e ECPM) foram tratados com H_2O_2 em três concentrações diferentes, sendo elas 2, 6 e 10% com objetivo final de clarear os mesmos. Em todos os tratamentos, foram utilizados 10 g dos extratos originais. Para o tratamento com H_2O_2 2% foram utilizados 0,5 mL de H_2O_2 (Anidro, 180 vol. – 35%) e 13,2 mL de água destilada; para o tratamento com H_2O_2 6%, foram utilizados 1,53 mL de H_2O_2 e 13,2 mL de água destilada; para o tratamento com H_2O_2 10%, foram utilizados 2,56 mL de H_2O_2 e 13,2 mL de água destilada. O processo correu sob agitação por 3 h e em seguida foram adicionados 0,44 g de bissulfito de sódio (Synth, P.A.) para remoção do excesso de H_2O_2 (PEREIRA, 2014).

4.3.3 Lavagem e Secagem

Após os tratamentos, os extratos tratados foram lavados por três vezes com 20 mL de água destilada, sendo descartados os sobrenadantes entre as lavagens. Os extratos tratados foram secos em estufa convectiva com circulação de ar à temperatura de $45^\circ\text{C} \pm 2^\circ\text{C}$ por 12 h e, em seguida, foram macerados em gral de porcelana para obtenção dos extratos em pó, sendo subsequentemente pesados.

4.4 Caracterização dos Extratos

4.4.1 Colorimetria dos Extratos

Os extratos foram submetidos a medida de cor em colorímetro (HunterLab, ColorFlex) para diferenciação e quantificação da cor e clareamento obtidos pelos tratamentos. As medidas foram feitas em triplicata, utilizando as coordenadas do sistema CIEL*a*b*, as quais foram utilizadas para cálculo das coordenadas CIEL*C*h*, em que C* designa a medida do Chroma e h* designa a medida do ângulo Hue. Por meio das fórmulas Chroma ($C^* = [(a^{*2} + b^{*2})^{1/2}]$ e ângulo Hue = $[\arctg(b^*/a^*)]$, as coordenadas obtidas em CIEL*a*b* foram transformadas em CIEL*C*h* (MINOLTA, 2007; SÁ et al., 2008; TRIGO et al., 2012). As medidas foram feitas em triplicata e a análise estatística foi feita pelo Teste de Tukey a 95% de confiança.

4.4.2 Determinação do Teor de Nitrogênio Total

O método utilizado para determinação do teor de nitrogênio total presente nas amostras foi o de Micro-Kjeldahl que se fundamenta na digestão da matéria orgânica com ácido sulfúrico, transformação do nitrogênio orgânico em sulfato de amônio, seguida de uma etapa de destilação e uma de titulação (INSTITUTO ADOLFO LUTZ, 2008).

Para a etapa de digestão, pesou-se 0,25 g de amostra para cada tratamento utilizado. Às amostras adicionou-se 0,3 g da mistura digestora composta por 96 % de K_2SO_4 e 4 % de $CuSO_4$. As pesagens foram realizadas em quadrados de papel manteiga medindo 6 x 6 cm, fechando cuidadosamente e, posteriormente, os cartuchos (papel manteiga + amostra + mistura digestora) foram colocados nos respectivos tubos digestores com o cuidado de depositá-los no fundo do tubo. Adicionou-se 5 mL de ácido sulfúrico ao tubo de digestão contendo o cartucho em seguida levado para o bloco de digestor (Marconi), no qual foram aquecidos gradualmente até que atingissem 350°C (INSTITUTO ADOLFO LUTZ, 2008).

Seguiu-se à etapa de destilação, pipetando 10 mL de solução de ácido bórico juntamente em frasco Erlenmeyer juntamente com 10 gotas do indicador misto, fazendo com que a solução adquira coloração laranja/amarronzada. Mediu-se 50 mL de água destilada em proveta e que foram adicionados a cada tubo digestor afim de prosseguir à destilação. Para o processo, foi utilizado o destilador de Kjeldahl (Quimis, modelo Q328S21). Acoplado ao equipamento, o tubo digestor recebeu 20 mL de solução de hidróxido de sódio a 40 % para neutralização e alcalinização do produto da digestão, produzindo gás amoníaco que é coletado no frasco Erlenmeyer contendo ácido bórico e o indicador misto. A coloração laranja/amarronzada da solução contida no frasco tornou-se verde/azulada devido à presença de borato de amônio, produto da reação entre o ácido bórico e a amônia (INSTITUTO ADOLFO LUTZ, 2008).

Realizou-se a titulação com 25 mL de ácido clorídrico 0,1 mol/L medidos em bureta até a viragem de cor de verde/azulado para laranja. O cálculo do percentual do nitrogênio total e consequentemente de proteínas foi feito pelo uso da equação (INSTITUTO ADOLFO LUTZ, 2008).

$$NT (\%) = \frac{(Va - Vb) \times F \times 0,1 \times 0,014 \times 100}{ma} \quad (4.1)$$

em que NT representa o teor de nitrogênio total, Va e o volume da solução de ácido clorídrico (mL) gasto na titulação da amostra, Vb é o volume da solução de ácido clorídrico (mL) gasto na titulação do branco, F é o fator de correção da solução padronizada de HCl 0,001 mol/L e m é a massa de amostra (g) (INSTITUTO ADOLFO LUTZ, 2008).

Para a determinação da proteína bruta da amostra, multiplicou-se o valor de nitrogênio total pelo fator de conversão de nitrogênio para proteína (%). O fator de conversão depende da matriz da amostra, na ausência de um fator de conversão específico para a casca de mandioca, foi utilizado o fator de conversão universal no valor de 6,25.

4.4.3 Espectroscopia no Infravermelho com Transformada de Fourier

Os extratos obtidos tanto pelos procedimentos de extração quanto de tratamentos químicos foram levados ao espectrômetro no infravermelho com transformada de Fourier (Shimadzu IRAffinity – 1) com detector DLATGS (Sulfato de Triglicina Deuterado Dopado com L-Allanina), resolução de 4 cm⁻¹. Os extratos ECPM (extrato de amiláceo com pele marrom), ESPM (extrato amiláceo sem pele marrom), ECPM NaClO 6% (extrato amiláceo com pele marrom tratado com hipoclorito de sódio 6%) e ESPM NaClO 6% (extrato amiláceo sem pele marrom tratado com hipoclorito de sódio 6%) foram analisados em acessório ATR (*Attenuated Total Reflectance*), com cristal de seleneto de zinco (ZnSe) para obtenção dos espectros e análise do perfil de grupos funcionais presentes nos extratos e verificação de possíveis modificações estruturais geradas nas moléculas de amido a partir dos tratamentos realizados (WARREN, GIDLEY & BERNARDINE, 2016).

4.4.4 Determinação do Perfil de Monossacarídeos

O material utilizado durante o processo de análise consistia de ácido trifluoroacético (TFA) (grau de pureza maior que 99,9%), metanol (grau de pureza maior que 99,9%), borohidreto de sódio (grau de pureza maior que 96%), dimetilssulfóxido (DMSO) (grau de pureza maior que 99,5%), 1-metilimidazol, diclorometano (grau de pureza maior que 99,9%), ácido acético (grau de pureza maior que 99%), padrões de açúcares eritritose, 2-deoxy-D-ribose, raminose, fucose, ribose, arabinose, 2-deoxy-Dglicose, xilose, alose, manose, galactose, glicose, galactose e mio-inositol, sendo os reagentes descritos até aqui pertencentes à marca Sigma Aldrich e o hidróxido de amônio (50%) e o ácido sulfúrico concentrado utilizados pertencendo às marcas Tec-Lab e Neon, respectivamente.

O método foi realizado a partir de adaptações do descrito por Melton & Smith (2001). Por meio da hidrólise ácida dos polissacarídeos constituintes da amostra, os monossacarídeos são liberados e convertidos a seus acetatos de alditóis a fim de passarem por etapa de identificação por meio de cromatografia a gás. Realizou-se primeiramente a hidrólise com TFA para digestão parcial das amostras e, em seguida, utilizou-se ácido sulfúrico para hidrólise total do material, ou seja, do resíduo da digestão da hidrólise com TFA. Pesou-se 5 mg de amostra, em triplicata, em frascos de politetrafluoretileno (PFTFE) e adicionou-se 0,5 mL de solução de TFA 2 M, seguida de uma etapa de incubação a 121°C conduzida em bloco digestor Marconi. Após a etapa de digestão, foram adicionados 25 µL de solução 20 mg/mL de alose, empregada como padrão interno. A cada frasco adicionou-se 2 mL de metanol, aguardando 30 min para a decantação do material residual (insolúvel em TFA).

Após a decantação do material insolúvel em TFA, o sobrenadante foi removido utilizando-se uma pipeta Pasteur, transferindo-o para novo frasco. Foi feita uma nova adição de metanol sobre o *pellet* seguida de decantação e o sobrenadante foi novamente removido e combinado com o anterior. Os sobrenadantes combinados foram, então, evaporados sob fluxo suave de gás nitrogênio, enquanto o material insolúvel em TFA foi conduzido à hidrólise com ácido sulfúrico. A partir de então, as diferentes frações foram identificadas como Fração-T (hidrolisadas pelo TFA) e Fração-F (hidrolisadas pelo ácido sulfúrico).

4.4.4 Processamento Das Frações-T

As Frações-T, anteriormente evaporadas sob fluxo de gás nitrogênio, foram acrescidas, cada uma, de 100 μ L de água mili-Q, sendo que dois tubos foram definidos como controles, um contendo somente 100 μ L de água mili-Q e outro contendo 100 μ L de mistura dos 13 açúcares estabelecidos como padrões. Posteriormente, acrescentou-se 20 μ L de amônia 15 M a cada tubo, em capela de exaustão, 1 mL de borohidreto de sódio 0,5 M em dimetilsulfóxido (DMSO) e levou-se a uma etapa de incubação a 40°C por 90 min. Após a incubação, acrescentou-se 100 μ L de ácido acético 18 M.

Iniciou-se a etapa de acetilação das frações, adicionando-se 200 μ L de 1-metilimidazol e 2 mL de anidrido acético a cada tubo, seguido de incubação à temperatura ambiente por 10 min. Adicionou-se 5 mL de água mili-Q para eliminação do excesso de anidrido acético, e nova incubação à temperatura ambiente por 10 min até o resfriamento. A extração dos acetatos de alditóis se deu pela adição de 1 mL de diclorometano, observando-se a separação de fases e, em seguida, transferindo-se, com uma pipeta Pasteur, a fase inferior (fase orgânica) para um novo frasco. Repetiu-se a adição de 1 mL de diclorometano à fase aquosa e o processo de extração e combinou-se as fases orgânicas obtidas.

Aos extratos orgânicos obtidos na etapa anterior, adicionou-se 4 mL de água mili-Q, havendo nova separação de fases e remoção da fase aquosa. Repetiu-se este procedimento por mais 3 vezes. Em seguida, evaporou-se as fases orgânicas completamente por fluxo suave de gás nitrogênio. Com as frações evaporadas, efetuou-se a adição de 2 mL de diclorometano para realização da leitura no cromatógrafo a gás.

4.4.5 Obtenção Das Frações-F Pela Hidrólise Com Ácido Sulfúrico

Adicionou-se ao material insolúvel em TFA 125 μ L de solução de ácido sulfúrico 72%, sendo estabelecido um tubo controle contendo somente 125 μ L de ácido sulfúrico 72%. Para remoção de quaisquer traços de ar dentro dos frascos, foi pulverizado gás nitrogênio dentro de cada um deles, sendo incubados a 30°C por 3 h, com intervalos de agitação para promover a completa dissolução do material. Após o resfriamento, adicionou-se 1,375 mL de água mili-Q misturando-se rapidamente, seguido de nova pulverização com gás nitrogênio e nova incubação a 100°C por 3 h.

Após as 3 h de incubação a 100°C, adicionou-se 300 μ L de amônia 15 M para neutralizar a solução, em capela de exaustão. Adicionou-se 50 μ L de alose (padrão interno) 20 mg/mL, seguindo-se à filtração das frações com seringa acoplada a um filtro de porosidade de tamanho 0,22 μ m, um filtro para cada fração. Transferiu-se 200 μ L dos hidrolisados filtrados para frascos limpos, estabelecendo-se dois controles, um contendo 200 μ L de água mili-Q, outro contendo 100 μ L da mistura dos 13 padrões, 100 μ L de água mili-Q e 20 μ L de amônia 15 M.

Posteriormente, acrescentou-se 20 μ L de amônia 15 M a cada tubo, em capela de exaustão, 1 mL de borohidreto de sódio 0,5 M em dimetilsulfóxido (DMSO) e levou-se a uma etapa de incubação a 40°C por 90 min. Após a incubação, acrescentou-se 100 μ L de ácido acético 18 M.

Iniciou-se a etapa de acetilação das frações, adicionando-se 200 μ L de 1-metilimidazol e 2 mL de anidrido acético a cada tubo, seguido de incubação à temperatura ambiente por 10 min. Adicionou-se 5 mL de água mili-Q para eliminação do excesso de anidrido acético, e nova incubação à temperatura ambiente por 10 min até o resfriamento. A extração dos acetatos de alditóis se deu pela adição de 1 mL de diclorometano, observando-se a separação de fases e, em seguida, transferindo-se, com uma pipeta Pasteur, a fase inferior (fase orgânica) para um novo frasco. Repetiu-se a adição de 1 mL de diclorometano à fase aquosa e o processo de extração e combinou-se as fases orgânicas obtidas.

Aos extratos orgânicos obtidos na etapa anterior, adicionou-se 4 mL de água mili-Q, havendo nova separação de fases e remoção da fase aquosa. Repetiu-se este procedimento por mais 3 vezes. Em seguida, evaporou-se as fases orgânicas completamente por fluxo de suave de gás nitrogênio. Com as frações evaporadas, efetuou-se a adição de 2 mL de diclorometano para realização da leitura no cromatógrafo a gás.

4.4.6 Leitura de Amostras em Cromatografia a Gás

Os acetatos de alditóis das frações T e F foram identificados utilizando-se o cromatógrafo a gás Varian 3900 equipado com detector por ionização de chamas (Figura 1). A coluna utilizada foi uma BPX-70 (30 m de comprimento x 0,75 mm de diâmetro). A configuração do método foi feita em temperatura inicial do forno de 38°C, com rampa de aquecimento de 50°C.min⁻¹ até atingir a temperatura de 170°C. Em seguida, aumentou-se a temperatura para 230°C com rampa de aquecimento de 2°C.min⁻¹, sendo mantida por 20 min (AZEVEDO, 2017).

A atividade do detector ocorreu à temperatura de 250°C. O tempo de duração de cada corrida foi de 42 min e o gás de arraste utilizado foi o nitrogênio com fluxo de 1,5 ml.min⁻¹. O cálculo da área dos picos foi realizado pelo software de aquisição de dados Galaxie Workstation. Todas as amostras foram realizadas em triplicata (AZEVEDO, 2017).

4.5 Elaboração dos Filmes

4.5.1 Obtenção dos Filmes

Tanto os extratos originais (nativos) quanto os extratos tratados com NaClO e H₂O₂ seguiram a mesma metodologia para elaboração dos filmes. Para a produção da solução filmogênica, foram utilizados 2 g dos extratos aos quais foram adicionados 0,6 g de glicerol (Synth, P.A.) e 37,4 mL de água destilada, totalizando uma massa de 40 g de solução filmogênica. Em seguida, a solução foi levada a agitação em agitadores magnéticos Nova Ética e Fisatom por 45 min à temperatura ambiente, sendo, após esse período, aquecidos ainda sob

agitação até alcançarem a temperatura de 70°C. Após aquecimento, a solução filmogênica foi transferida para moldes circulares de polipropileno e, então, acondicionados em estufa sem circulação de ar à temperatura de 40°C ± 2°C por 24 h (SELIGRA et al., 2015).

4.6 Caracterização dos Filmes

4.6.1 Colorimetria dos Filmes

Tanto os filmes obtidos a partir dos extratos nativos quanto os obtidos a partir dos extratos tratados foram submetidos à medida de cor em colorímetro para diferenciação e quantificação da cor e clareamento obtidos pelos tratamentos. As medidas foram feitas em triplicata, utilizando as coordenadas do sistema CIEL*a*b* através das quais foram utilizadas para cálculo das coordenadas CIEL*C*h* em que C* designa a medida do Chroma e h* designa a medida do ângulo Hue. Por meio das fórmulas Chroma (C^*) = $[(a^{*2} + b^{*2})^{1/2}]$ e ângulo Hue = $[\arctg(b^*/a^*)]$, as coordenadas obtidas em CIEL*a*b* foram transformadas em CIEL*C*h* (MINOLTA, 2007; SÁ et al., 2008; TRIGO et al., 2012). A análise estatística foi feita pelo teste de Tukey a 95% de confiança.

4.6.2 Espectroscopia no Infravermelho com Transformada de Fourier

Os filmes produzidos com extratos nativos e os tratados quimicamente foram levados ao espectrômetro no infravermelho com transformada de Fourier (Shimadzu IRAffinity – 1) com detector DLATGS (Sulfato de Triglicina Deuterado Dopado com L-Alanina), resolução de 4 cm⁻¹. Os filmes FCPM (filme de amido com pele marrom), FSPM (filme de amido sem pele marrom), FCPM NaClO 6% (filme de amido com pele marrom tratado com hipoclorito de sódio 6%) e FSPM NaClO 6% (filme de amido sem pele marrom tratado com hipoclorito de sódio 6%) foram analisados em acessório ATR, com cristal de seleneto de zinco (ZnSe) para obtenção dos espectros e análise do perfil de grupos funcionais presentes nos extratos e verificação de possíveis modificações estruturais geradas nas moléculas de amido a partir dos tratamentos realizados (WARREN, GIDLEY & BERNARDINE, 2016).

4.6.3 Propriedades Mecânicas de Tração

Os ensaios mecânicos dos filmes produzidos com os extratos tratados com hipoclorito de sódio a 6% (FCPM NaClO 6% e FSPM NaClO 6%), com e sem o óleo essencial de cravo-da-índia, foram realizados no Laboratório de Compósitos (DEMEC/UFMG), de acordo com a norma ASTM D 882 – 12 (ASTM, 2012) à temperatura de 26,6°C e umidade relativa de 44%.

Para a realização dos ensaios, foi utilizada a máquina de ensaios universal da marca EMIC, modelo DL, com célula de carga de 20 N e velocidade de separação das garras de 12,5 mm.min⁻¹ (Figura 4.1). Foram testados seis corpos de prova para cada grupo, tendo eles dimensões de 10 cm x 2,5 cm, medidos com auxílio de régua graduada (Figura 4.2). As medidas de espessura dos filmes foram feitas utilizando micrômetro Mitutoyo, N° 103 – 137, em cinco pontos distintos e aleatórios de cada corpo de prova. As medidas feitas foram utilizadas para realização dos cálculos referentes às propriedades mecânicas de tração (BATISTA, 2017).



Figura 4.1: Corpo de prova durante ensaio das propriedades mecânicas de tração.

FONTE: Acervo pessoal.



Figura 4.2: Corpos de prova para ensaios de tração.

FONTE: Acervo pessoal

4.6.4 Permeabilidade a Umidade

As análises de permeabilidade dos filmes à umidade foram realizadas segundo especificações da norma E96/E96 – 15 (ASTM, 2015), aplicando o método dessecante com algumas adaptações (ASTM, 2015).

No procedimento foram utilizadas cápsulas circulares, com paredes impermeáveis, contendo em seu interior 5 g de cloreto de cálcio anidro (Anidrol), o qual foi previamente seco em estufa convectiva com circulação de ar. A vedação do sistema cápsula/filme foi feita utilizando cera de abelha sendo, em seguida, pesado em balança analítica e acondicionado a 21°C em dessecadores contendo solução saturada de cloreto de sódio de modo a manter a umidade relativa a 75 %. Foram registradas 10 pesagens durante 4 horas e 30 minutos, em intervalos para pesagem de 30 minutos, período este determinado por meio de testes preliminares (BATISTA, 2017).

O ganho de massa de cada sistema está associado à umidade permeada pelo filme e, portanto, foi utilizado para o cálculo da taxa de transmissão ao vapor de água (TTVA) e a permeabilidade ao vapor de água das amostras por meio da equação 3.2 e equação 3.3, respectivamente. As análises foram executadas em quintuplicatas.

$$TTVA = \frac{G}{t.A} \quad (3.2)$$

em que G/t representa o coeficiente angular da reta ganho de massa (g) *versus* tempo (h) e A representa a área de permeação de cada filme (m²). A permeabilidade ao vapor de água foi calculada por

$$PVA = \frac{TTVA.e}{P_{sat.}(UR1 - UR2)} \quad (3.3)$$

em que PVA representa a permeabilidade ao vapor de água, e é a espessura média (mm) de cada corpo de prova, (UR1 – UR2) representa a diferença da umidade relativa entre o interior do sistema cápsula/filme e o dessecador, e P_{sat} representa a pressão de saturação do vapor de água (kPa) na temperatura do ensaio (BATISTA, 2017).

4.7 Incorporação de Antimicrobiano Natural e Testes de Atividade Antimicrobiana

4.7.1 Extração do Óleo Essencial de Cravo-da-Índia (*Syzygium aromaticum*)

Utilizou-se a técnica de destilação simples adaptada para a extração do óleo essencial de cravo-da-índia, tendo sido realizada em triplicata para obtenção de um rendimento médio de extração. Foram pesados 30 g de cravo-da-índia adquiridos no Mercado Central de Belo Horizonte - MG, transferidos para um balão de fundo redondo e acrescidos de 250 mL a ser acoplado ao sistema de destilação. O processo ocorreu sob aquecimento a uma temperatura de 110°C por um período de 5 h.

Após o processo de destilação, utilizou-se um funil de separação ao qual foram levados o conteúdo total da extração acrescido de 10 mL de clorofórmio (P.A. – Anidrol), seguido de agitação mecânica para promover a separação entre fase aquosa e a fase orgânica, esta última contendo o óleo e recolhida posteriormente à separação. Este procedimento foi repetido por mais três vezes, sendo toda a fase orgânica recolhida em frasco erlenmeyer ao qual foram adicionados 3,007 g de sulfato de sódio anidro (P.A. – Synth) e deixado em

repouso por 15 min para remoção de resíduo aquoso na fase orgânica. Após esse tempo, utilizou-se papel filtro pregueado para separar a fase orgânica do sulfato de sódio e posteriormente levado ao evaporador rotativo (Fisatom) para remoção do clorofórmio e consequente obtenção do óleo essencial.

4.7.2 Funcionalização Dos Filmes

Os filmes foram funcionalizados por meio da adição do óleo essencial previamente extraído no processo de elaboração da solução filmogênica, para o qual foi seguido o mesmo procedimento descrito na seção 4.5.1.

4.7.3 Testes Preliminares

A atividade antimicrobiana dos filmes foi avaliada através do método de difusão em discos contra *Staphylococcus aureus* CCCB S007. Essa cultura foi previamente reativada em caldo BHI a 37°C por 48 h e diluída até a concentração 10^{-3} em água peptonada tamponada.

A semeadura da cultura foi realizada por *swab* estéril (Labor Swab) a partir do tubo de diluição 10^{-3} do caldo BHI em placas de Petri contendo 12 mL de caldo BHI (Brain-Heart Infusion, Prodimol) acrescido de ágar a 0,9 % (m/v). Posteriormente, foram confeccionados discos feitos a partir dos filmes FSPM NaClO 6% e FCPM NaClO 6%, ambos contendo três medidas diferentes de óleo essencial de cravo-da-índia (*Syzygium aromaticum*), sendo elas 0,25, 0,50 e 1,0 g. Esse discos possuíam, em média, 5,38 mm de diâmetro. Para o controle, foram utilizados discos de papel filtro de diâmetro de 5,30 mm embebidos em 0,0491 g de eugenol (Biodinâmica). Tanto os discos de papel filtro quanto os discos obtidos a partir dos filmes foram submetidos à radiação ultravioleta por 30 minutos. Os discos foram colocados sobre o ágar já semeado, em quatro repetições para cada tratamento (Figura 4.3). As placas foram incubadas em estufa a 37°C por 24 horas.

Posteriormente, as placas foram observadas quanto à formação de halo ao redor dos discos. O diâmetro dos halos foi medido com paquímetro digital.

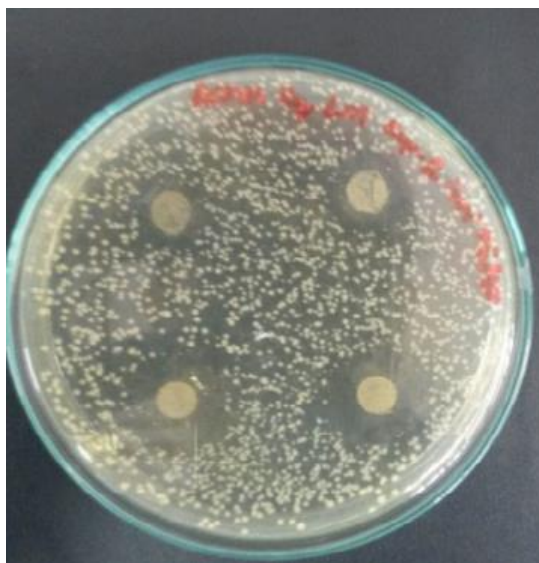


Figura 4.3: Discos feitos a partir dos filmes FSPM NaClO 6% para os testes preliminares com *S. aureus*.

FONTE: Acervo pessoal.

4.7.4 Testes de Atividade Antimicrobiana

Foi repetido o mesmo procedimento descrito anteriormente nos testes preliminares, sendo, desta vez, testados filmes (FSPM NaClO 6% e FCPM NaClO 6%) contendo 2 g de óleo essencial de cravo-da-índia. Após as 24 h de incubação e verificação de atividade antimicrobiana, os respectivos halos de inibição foram medidos com auxílio de um paquímetro. Os microrganismos utilizados para os testes de atividade antimicrobiana foram cepas previamente reativadas, conforme descrito anteriormente, de *Staphylococcus aureus* (CCCB S007), *Salmonella* Typhimurium (CCCB S004) e *Listeria monocytogenes* sorotipo 4 b (ATCC 19115) cedida pela FIOCRUZ.

Para estes testes, realizou-se um experimento controle, além do controle com 0,0491 g de eugenol aplicados em discos de papel filtro com 5,30 mm de diâmetro, discos de mesma dimensão foram embebidos também em 0,0491 g do próprio óleo essencial de cravo-da-índia previamente extraído e testado contra cada espécie bacteriana mencionada anteriormente. Tanto os discos de papel filtro quanto os discos obtidos a partir dos filmes foram submetidos à radiação ultravioleta por 30 min para esterilização. Todo o procedimento foi realizado na cabine de segurança biológica.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 Utilização dos Resíduos de Mandioca (*Manihot esculenta*)

Segundo Franca e Oliveira (2009), o aproveitamento de resíduos é algo demonstrado como alternativa para escoamento apropriado dos mesmos e respectiva conversão em produtos de valor agregado. Conforme descrito em vários estudos, a extração de polímeros naturais para elaboração de filmes com potencial biodegradável é uma via interessante de emprego de resíduos agroindustriais, sendo o amido o principal polissacarídeo com grande potencial demonstrado para tal atividade (AZWA et al., 2013; BRIONES et al., 2015; DAI et al., 2015; HASHIZUME et al., 2015). Baseado nas informações descritas anteriormente, foi escolhido o resíduo oriundo da produção e venda de mandioca (*M. esculenta*) que, segundo Marques et al. (2000), vinha tendo a alimentação animal como principal via de utilização.

Ainda, conforme descrito por Marques e Maggioni (2010), cascas, raspas, massa de fecularia úmida e massa de fecularia seca seriam resíduos da produção de mandioca a serem empregados nessa atividade. Boscolo, Hayashi e Meurer (2002) demonstraram que a farinha de varredura, resíduo proveniente da produção de farinha de mandioca, tinha como destino a produção de ração para piscicultura. Diante do exposto, para este trabalho, foi escolhida a casca de mandioca como resíduo-alvo para extração de amido e subsequente produção de filmes hipoteticamente biodegradáveis.

Na primeira extração realizada, em caráter de teste e verificação de eficiência e viabilidade, foram adotados dois métodos de extração diferentes: um denominado “via seca” no qual as cascas foram secas em estufa a 50°C overnight e outro denominado “via úmida”, processo comumente utilizado na indústria. Na “via seca”, foi utilizada uma massa de 376,97 g da categoria SPM (cascas sem a parte marrom) e uma massa de 544,43 g da categoria CPM (cascas com a parte marrom), totalizando 921,40 g de casca, sendo obtidos 44,13 g de extrato no total (SPM + CPM). A diferença de massas entre as categorias se deve à retirada da parte marrom na categoria SPM e à diferença na absorção de água, sendo que a massa de parte marrom correspondente foi de 46,71 g retirados na categoria SPM. Porém, este método não foi continuado

já que foi observado na literatura que o método de extração mais comumente utilizado em escala industrial e laboratorial é a “via úmida” (DAI et al., 2015; FGV, 2003; TUMWESIGYE et al., 2016) e que este método envolve um gasto maior de energia por envolver etapa longa de secagem e em temperaturas que podem comprometer a estrutura da matéria-prima e do amido que é o principal alvo da extração. De acordo com Vasanthan (2001), temperaturas de secagem elevadas podem danificar a estrutura do amido nativo e alterar suas propriedades físico-químicas.

Diante do exposto, a “via úmida” de extração foi priorizada, tendo sido utilizada uma massa total de 1477,80 g de cascas somando as duas categorias (SPM + CPM) e obtidos 86,40 g de extrato no total. Este método de extração está bem descrito na literatura, havendo rotas especificadas para extração de acordo com o tipo de matéria-prima que está sendo processada conforme demonstrado na Figura 3.2 (vide seção 3.2.1) sendo que, para materiais classificados como macios como a mandioca, a rota especificada é a Rota A (utilizada neste trabalho). Houve adaptações no método como a opção pela decantação em vez da centrifugação por aquela não necessitar do fracionamento das amostras, permitindo a purificação do extrato em uma única vez. Os extratos obtidos foram denominados como ESPM (Extrato Sem Parte Marrom) e ECPM (Extrato Com Parte Marrom).

5.2 Oxidação do Amido Presente nos Extratos

5.2.1 Amidos oxidados

Filmes escuros e plásticos de cor escura não são de interesse para aplicação em embalagens de alimentos, uma vez que o consumidor tende a escolher embalagens que o permita verificar o aspecto visual dos alimentos contidos nas mesmas. Para superar esta limitação encontrada para os filmes produzidos a partir de cascas de mandioca, foi necessário fazer a oxidação do amido presente nos extratos. O processo de oxidação do amido pode ser realizado por meio de dois agentes químicos: hipoclorito de sódio (NaClO) ou peróxido de hidrogênio (H_2O_2), sendo que, na indústria de alimentos, o NaClO é empregado de modo mais frequente do que o H_2O_2 (HALAL et al., 2015; PEREIRA, 2014).

Amidos oxidados são indicados para aplicação em materiais biodegradáveis, pois a oxidação confere um melhoramento das propriedades mecânicas e propriedades de barreira quando comparados a filmes de amido nativo; o processo deve acontecer em pH e temperatura controlados. Os efeitos nas propriedades mecânicas e de barreira são produzidos por modificações estruturais ocorridas no amido. O NaClO atua na clivagem das ligações entre os monômeros de glicose que formam a cadeia polimérica do amido, oxidando os grupos hidroxila especificamente ligados ao carbono C6 ou dois nos carbonos C2 e C3, envolvendo a clivagem da ligação C2-C3 e introduzindo grupos carbonila ou carboxila na estrutura. A adição desses grupos à estrutura original do amido, no fim, confere aos filmes as características citadas, bem como um caráter hidrofóbico ao amido (HALAL et al., 2015; SOROKIN et al., 2004).

De acordo com Pereira (2014), o tratamento oxidativo tem como um de seus efeitos o clareamento da pasta de amido. Os extratos obtidos (ESPM e ECPM) foram submetidos ao tratamento oxidativo com NaClO ou H_2O_2 , ambos em concentrações diferentes (2, 6 e 10%), com o principal objetivo de clarear a pasta de amido e consequentemente obter filmes mais claros, aplicando um gradativo de concentração de oxidantes para conferir qual deles teria o maior efeito no clareamento dos extratos e, em seguida, dos filmes. Os extratos utilizados, em cada tratamento, no geral, sofreram perdas em massa partindo de 10 g iniciais (Tabela 5.1).

Tabela 5.1 - Registro de massa dos extratos tratados com NaClO e H₂O₂ (2, 6 e 10%)

Extrato	Tratamento	Massa Após Tratamento (g)	Perda (%)
ESPM	NaClO 2%	6,45	35,5
	NaClO 6%	7,93	20,7
	NaClO 10%	8,99	10,1
	H ₂ O ₂ 2%	8,45	15,5
	H ₂ O ₂ 6%	8,72	12,8
	H ₂ O ₂ 10%	8,80	12,0
ECPM	NaClO 2%	5,22	47,8
	NaClO 6%	8,18	18,2
	NaClO 10%	8,74	12,6
	H ₂ O ₂ 2%	8,17	18,3
	H ₂ O ₂ 6%	8,38	16,2
	H ₂ O ₂ 10%	8,54	14,6

ESPM: Extrato Sem Parte Marrom.

ECPM: Extrato Com Parte Marrom.

5.2.2 Caracterização Colorimétrica dos Extratos

A coloração dos extratos nativos e tratados foi quantificada de acordo com as coordenadas do espaço de cor CIEL*a*b* no qual L* designa a luminosidade ou brilho da amostra, a* e b* designam as coordenadas de cromaticidade e posteriormente calculadas as coordenadas C* e h* compreendidas no espaço de cor CIEL*C*h* (MINOLTA, 2007). As medidas podem ser verificadas para os extratos nativos e tratados com NaClO e H₂O₂ na Tabela 5.2.

Tabela 5.2 - Colorimetria dos extratos nativos e tratados com NaClO e H₂O₂ – 2, 6 e 10% (espaço de cor CIEL*C*h*)

Característica do Extrato	Tipo de Tratamento	Medidas		
		L*	C*	h*
ESPM	Sem Tratamento	82,32 ± 0,03 ^d	12,27 ± 0,02 ^d	1,27 ± 0 ^c
ECPM		74,55 ± 0,30 ^g	17,95 ± 0,60 ^c	1,18 ± 0 ^e
ESPM	NaClO 2%	85,63 ± 0,07 ^b	11,01 ± 0,12 ^e	1,36 ± 0 ^a
	NaClO 6%	88,97 ± 0,20 ^a	10,67 ± 0,20 ^e	1,32 ± 0 ^b
	NaClO 10%	83,25 ± 0,41 ^c	16,06 ± 0,54 ^d	1,27 ± 0 ^c
ECPM	NaClO 2%	77,61 ± 0,32 ^e	15,36 ± 0,11 ^d	1,20 ± 0 ^d
	NaClO 6%	83,68 ± 0,06 ^c	16,03 ± 0,14 ^d	1,15 ± 0 ^f
	NaClO 10%	76,62 ± 0,32 ^f	22,24 ± 0,20 ^a	1,10 ± 0 ^g
ESPM	H ₂ O ₂ 2%	85,76 ± 0,17 ^b	11,07 ± 0,16 ^e	1,22 ± 0 ^d
	H ₂ O ₂ 6%	85,44 ± 0,19 ^b	12,22 ± 0,21 ^d	1,23 ± 0 ^d
	H ₂ O ₂ 10%	85,78 ± 0,36 ^b	13,85 ± 0,22 ^c	1,25 ± 0 ^c
ECPM	H ₂ O ₂ 2%	78,52 ± 0,06 ^e	17,38 ± 0,19 ^c	1,13 ± 0 ^f
	H ₂ O ₂ 6%	78,43 ± 0,33 ^e	17,34 ± 0,33 ^c	1,12 ± 0 ^g
	H ₂ O ₂ 10%	77,84 ± 0,16 ^e	18,85 ± 0,16 ^b	1,12 ± 0 ^g

Valores médios ± desvio padrão (n=3).

ESPM: Extrato Sem Parte Marrom.

ECPM: Extrato Com Parte Marrom.

Médias com letras diferentes em uma mesma coluna indicam que os valores apresentam diferença significativa entre si pelo Teste de Tukey a 5% de significância, utilizando-se o programa computacional Minitab.

Os espaços de cor mais utilizados para quantificação da coloração de amostras são o CIEL*a*b* e CIEL*C*h*. Conforme mencionado anteriormente, L^* designa a luminosidade ou o brilho da amostra, a^* é a coordenada de cromaticidade para verde e vermelho na qual os valores $+a^*$ estão na direção do vermelho e os valores $-a^*$ na direção do verde; b^* é a coordenada para amarelo e azul na qual os valores $+b^*$ estão na direção do amarelo e os valores $-b^*$ na direção do azul conforme o diagrama (Figura 5.1) (MINOLTA, 2007).

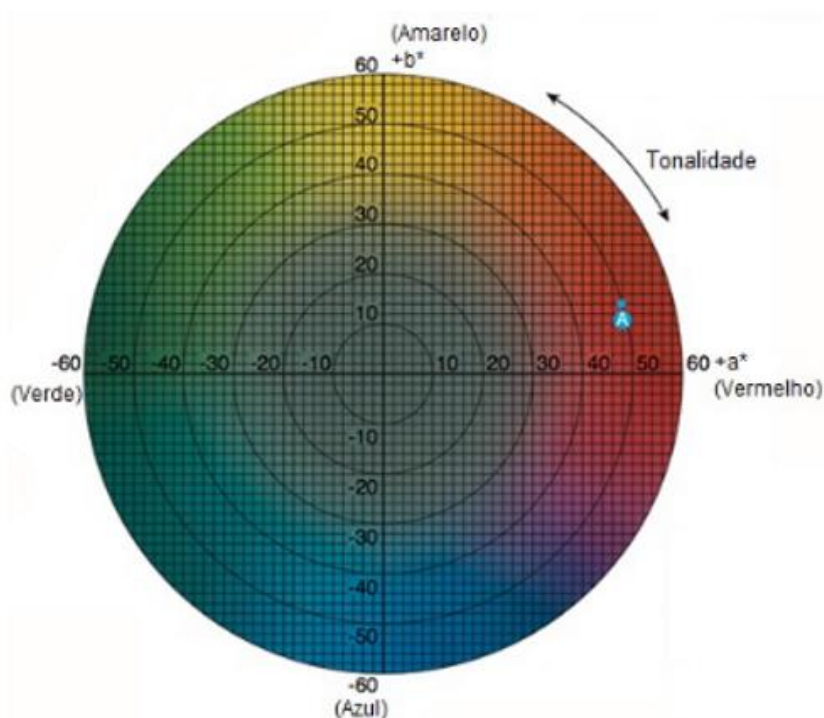


Figura 5.1 - Diagrama de Cor do espaço CIEL*a*b*

Adaptado de: MINOLTA, 2007

Os valores de a^* e b^* , dependendo da matriz analisada, não são utilizados para expressar as medidas de cor de maneira precisa, sendo utilizados para o cálculo das coordenadas compreendidas no espaço de cor CIEL*C*h* no qual C^* designa o Chroma, que corresponde à saturação da cor; h^* designa Hue ou ângulo Hue que corresponde à cor propriamente dita. Por isso, os valores expressos por C^* e h^* permitem a quantificação mais próxima ao que é transmitido pelo aspecto visual da amostra (MINOLTA, 2007).

O principal objetivo dos tratamentos foi observar o clareamento dos extratos e qual deles proporcionaria maior efeito neste sentido. Baseado nisto, dando maior destaque para os valores da coordenada L^* , foi observado que os maiores valores obtidos para esta coordenada correspondem ao tratamento do extrato sem a parte marrom com NaClO 6% (ESPM - NaClO 6%). Segundo Minolta (2007), os valores de L^* variam de 0 a 100, sendo 0 para escuro e 100 para claro. Assim, os tratamentos ESPM – NaClO 6% e ECPM – NaClO 6% demonstraram, para L^* , valores médios de 88,97 e 83,68, respectivamente. Numericamente esses resultados apontam para a utilização do NaClO a 6% porém, os valores obtidos para o tratamento com H_2O_2 a 6% também se mostraram promissores em relação ao clareamento dos extratos, principalmente para o extrato sem a parte marrom (ESPM). Pela realização do Teste de Tukey, foi verificada diferença estatística nos valores a 95% de confiança entre os dois grupos de extratos, para ambos os tratamentos (NaClO e H_2O_2). Nas análises seguintes, os extratos tratados com H_2O_2 não foram utilizados já que, conforme previsto na literatura, a oxidação com NaClO é a mais comum utilizada industrialmente (HALAL et al., 2015; PEREIRA, 2014).

5.2.3 Determinação de Nitrogênio Total – Proteínas

Do perfil bromatológico e físico-químico possível de ser determinado em um produto de origem vegetal a exemplo dos resíduos agroindustriais, o teor de proteínas foi parâmetro escolhido e determinado diretamente pelo conteúdo de nitrogênio total das amostras analisadas. Na Tabela 5.3, estão dispostos os resultados obtidos para a quantificação de proteínas.

Tabela 5.3: Determinação do teor de proteínas nos extratos nativos (ESPM e ECPM) e extratos oxidados (ESPM NaClO 6% e ECPM NaClO 6%).

Teor de Proteínas	
Extratos	Proteínas (%)
ESPM	1,83 ± 1,25 ^a
ECPM	3,71 ± 0,81 ^a
ESPM NaClO 6%	1,48 ± 0,78 ^a
ECPM NaClO 6%	1,56 ± 1,57 ^a

Valores expressos em porcentagem.

Valores médios ± desvio padrão (n=3).

Médias com letras diferentes em uma mesma coluna indicam que os valores apresentam diferença significativa entre si pelo Teste de Tukey, a 5% de significância, utilizando o programa computacional Minitab®.

Conforme pode ser observado na Tabela 5.3, não houve diferença significativa entre os valores obtidos para os extratos nativos e os tratados com hipoclorito de sódio a 6%. Porém observando-se os valores numéricos encontrados, o maior valor obtido foi de 3,71% para a amostra ECPM, referente aos extratos obtidos a partir da casca na íntegra, um valor semelhante ao determinado por Marques e Maggioni (2010), de 3,7%, num estudo de composição bromatológica de cascas de mandioca utilizadas na alimentação animal, sendo que Marques et al. (2000) encontraram o mesmo valor em estudo de substituição do milho por resíduos industriais de mandioca na ração de ovinos.

O valor numericamente inferior para a amostra ESPM (1,83%), extratos obtidos a partir da casca sem a parte marrom, pode ser justificado por esse fator já que a parte marrom da casca compreende a maior parte do conteúdo proteico da casca (GONÇALVES et al., 2014). Dentre as amostras dos extratos tratados, ESPM NaClO 6% e ECPM NaClO 6%, os valores encontrados foram

numericamente inferiores comparados aos extratos nativos, porém o mesmo foi observado entre os extratos nativos, com ECPM NaClO 6% apresentando 1,56% de proteínas enquanto ESPM NaClO 6% apresentou 1,48%. A diferença de valor numérico entre os valores dos extratos nativos e tratados pode ser justificada pela perda de massa decorrente do processo oxidativo e a consequente perda de material nitrogenado no processo (GONÇALVES et al., 2014).

5.3 Análise Por Espectroscopia No Infravermelho

5.3.1 Espectros Obtidos Para Extratos Nativos e Extratos Oxidados

Os espectros, em triplicata, obtidos neste trabalho para as amostras de amido nativo, com parte marrom (ECPM) e sem parte marrom (ESPM), bem como os espectros obtidos para os extratos tratados (ESPM NaClO 6% e ECPM NaClO 6%) podem ser visualizados na Figura 5.2.

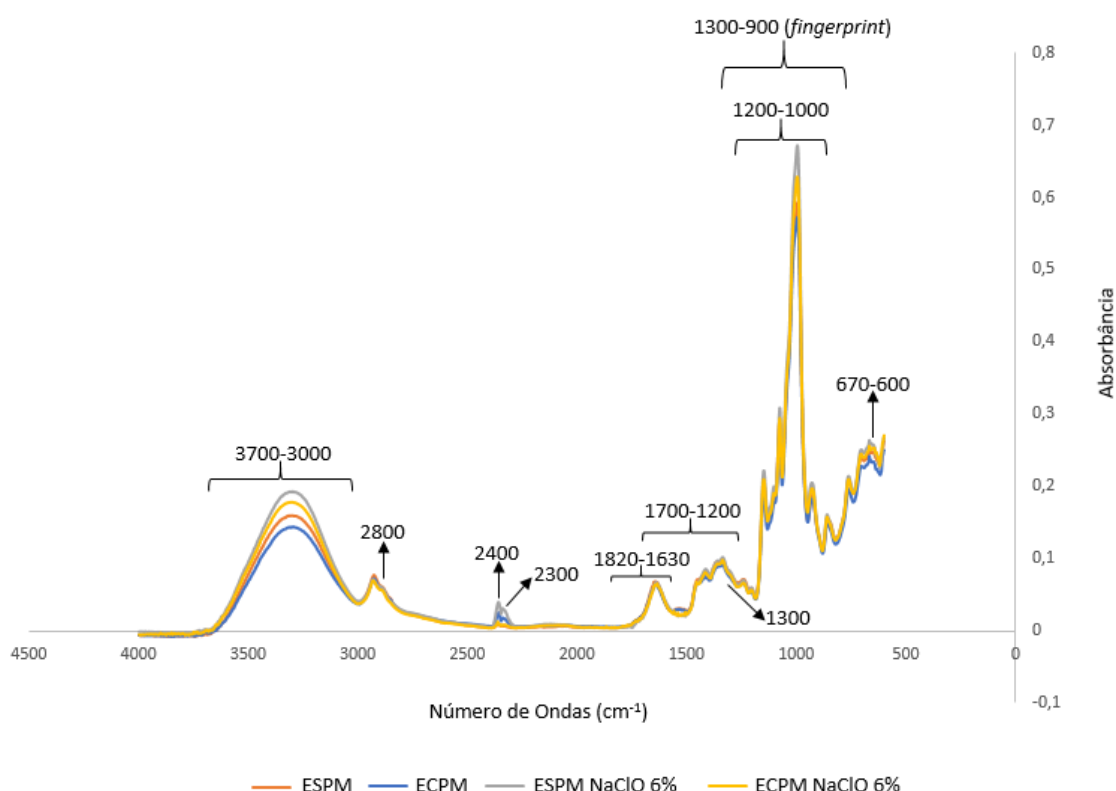


Figura 5.2: Espectro das amostras dos extratos ESPM, ECPM, ESPM NaClO 6% e ECPM NaClO 6%.

De acordo com Warren et al. (2016), o espectro obtido para amostras de amido secas demonstrou grande número de bandas de absorção na região de 1700–1200 cm^{-1} , provavelmente provenientes de componentes menores presentes em conjunto com o amido como lipídeos e proteínas, bem como picos na região de 2900 cm^{-1} indicando estiramentos de ligações C-H. As maiores bandas de absorção podem ser observadas na região de 1200–1000 cm^{-1} , bandas estas provenientes de ligações C-O e C-OH.

Liu et al. (2012) obtiveram o espectro no infravermelho para amostras de amido de batata, sendo os dados fornecidos por tais espectros, de bandas largas de absorção entre 3000 cm^{-1} e 3600 cm^{-1} , bandas atribuídas a ligações OH provenientes das hidroxilas presentes nas moléculas de amido.

Ao serem comparados os espectros com os dados obtidos por Warren et al. (2016), pode-se atestar a semelhança entre eles, também apresentando grandes bandas de absorção na região entre 1700-1200 cm^{-1} , revelando a presença de outras moléculas como proteínas e lipídeos; bandas de absorção na região de 2900-3000 cm^{-1} , sendo uma região característica de ligações C-H e bandas de estiramento de C-O (localizadas na região entre 1300-1000 cm^{-1}) e também de grupos hidroxila, características esperadas nas moléculas de amido (BARBOSA, 2007; WARREN et al., 2016). Os picos na região de 670-600 cm^{-1} também mostram flexão de grupos OH fora do plano comuns em biomateriais e o pico em 3000-2800 cm^{-1} mostra estiramento de grupos metílicos e metilênicos, comuns em estruturas lignocelulósicas (NETO et al., 2013). Também podem ser mencionados os picos na região entre 1300-900 cm^{-1} denominada região de *fingerprint*, que também são compatíveis com o espectro de amido obtido por Warren et al. (2016).

A interpretação exata de espectros no infravermelho para amostras de amido se torna complexa, não sendo, por vezes, possível extrair informações com exatidão já que os picos e bandas de absorção verificados se apresentam de forma ambígua e pouco definidos, oferecendo mais de uma possibilidade de interpretação (WARREN et al., 2016). Os espectros para as quatro amostras coincidem na maioria dos picos destacados, porém, há particularidades entre os espectros expostos acima, incluindo o obtido por Warren et al. (2016) que são dois picos curtos e largos na região entre 2500-2000 cm^{-1} que aparecem nas amostras ECPM e ESPM NaClO 6%. Os mesmos são bem menos pronunciados,

quase inexistentes nas amostras ESPM e ECPM NaClO 6%, localizados na mesma região ($2500\text{-}2000\text{ cm}^{-1}$), mais especificamente em 2400 cm^{-1} e 2300 cm^{-1} . Tais picos são descritos como indícios de interações entre o amido e as proteínas que podem ocorrer em materiais de origem vegetal, a exemplo das cascas de mandioca. Esses picos não são observados no espectro de amido obtido por Warren et al. (2016). Ao serem comparados os espectros expostos acima, podem-se observar características muito semelhantes entre as amostras de extratos nativos e extratos tratados.

Pode-se verificar uma inversão no que se refere ao aparecimento de picos na região entre $2500\text{-}2000\text{ cm}^{-1}$, sendo que esses picos são bem menos pronunciados no espectro para ECPM NaClO 6% em relação ao observado para ESPM NaClO 6%. Vale ressaltar que os picos presentes nessa região são mais pronunciados na amostra ESPM NaClO 6% do que para as demais amostras demonstradas anteriormente. Os tratamentos oxidativos em amido comumente realizados na indústria de alimentos, utilizando hipoclorito de sódio (NaClO) ou peróxido de hidrogênio (H_2O_2) modificam a estrutura do amido nativo, modificando os grupos hidroxila presentes e inserindo grupos funcionais cetona ou aldeído em tratamentos envolvendo H_2O_2 , ou ainda grupo funcional ácido carboxílico em tratamentos envolvendo NaClO (PEREIRA, 2014; SOROKIN et al., 2004). Para os espectros das amostras ESPM NaClO 6% e ECPM NaClO 6%, a presença de picos formando uma banda de absorção na região de 1700 cm^{-1} também são um indício da inserção de grupos carboxílicos na estrutura do amido, conforme esperado no tratamento realizado com NaClO 6%. Os picos observados na região de $1300\text{-}1000\text{ cm}^{-1}$ ou $1300\text{-}1200\text{ cm}^{-1}$, característicos de estiramento de C-O, podem ser tomados como confirmação para os indícios da inserção de grupos carboxílicos. Podem ser mencionadas as bandas largas, características de OH proveniente de ácido carboxílico, presentes na região $3200\text{-}2500\text{ cm}^{-1}$, bem como a banda de absorção presente na região $1820\text{-}1630\text{ cm}^{-1}$, característica de estiramento de ligações C=O, para a confirmação de tais inserções, em ambas as amostras tratadas (ECPM NaClO 6% e ESPM NaClO 6%). Mesmo não havendo total confirmação, é possível inferir a presença de grupos carboxílicos na estrutura de amidos modificados, principalmente para ESPM NaClO 6% (BARBOSA, 2007; LOPES & FASCIO, 2004; WARREN et al., 2016).

5.6 Determinação do Perfil de Monossacarídeos em Extratos Nativos e Oxidados por Cromatografia a Gás

As amostras obtidas dos extratos nativos (ESPM e ECPM) bem como as amostras dos extratos oxidados mediante tratamento com NaClO 6% (ESPM NaClO 6% e ECPM NaClO 6%) foram submetidas a duas etapas de hidrólise, sendo a primeira com hidrólise utilizando ácido trifluoracético (TFA) e a segunda com a hidrólise do resíduo insolúvel em TFA utilizando H₂SO₄ (para mais detalhes vide seção 4.4.3). Tanto as frações hidrolisadas com TFA quanto as hidrolisadas com H₂SO₄ foram derivatizadas a acetatos de alditóis para análise por cromatografia a gás. Na Tabela 5.4, estão dispostos os dados do perfil de monossacarídeos referente às hidrólises com TFA e H₂SO₄, além da composição total de cada amostra.

Conforme pode ser visualizado na Tabela 5.4, a maior porcentagem molar para todas as frações analisadas, tanto na hidrólise com TFA quanto no processo com H₂SO₄, corresponde à glicose. Nas frações ESPM e ECPM, amostras provenientes de extratos nativos e sem tratamentos oxidativos, a glicose foi o monossacarídeo majoritário em ambos os casos com 94,90% e 93,72% em hidrólise com TFA, respectivamente. Xilose e galactose aparecem como constituintes de importância menor em relação à glicose já que se apresentam em porcentagens menores, sendo que xilose e glicose foram os detectados em ambos os processos de hidrólise para todas as frações, nativas ou oxidadas. Vale ressaltar o exposto na seção 3.2.1 a respeito da presença de xiloglucanos como componentes da parede celular de dicotiledôneas, como é o caso da mandioca, sendo eles ramificações de um polissacarídeo que tem como cadeia principal unidades de glicose unidas por ligações glicosídicas β 1-4 (HAYASHI, 1989; JUNIOR, BRAGA & BUCKERIDGE, 2006).

Tabela 5.4: Perfil de monossacarídeos das amostras ESPM, ECPM, ESPM NaClO 6% e ECPM NaClO 6%

Perfil de Monossacarídeos (% mol)						
Grupo	Ribose	Arabinose	Xilose	Galactose	Glicose	Total
ESPM						
TFA	0,41 ± 0,08 ^A	0,07 ± 0,06 ^A	0,25 ± 0,16 ^A	2,16 ± 0,08 ^A	94,90 ± 7,26 ^A	97,81 ± 7,62 ^A
H ₂ SO ₄	-	-	0,63 ± 0,18 ^a	-	3,06 ± 2,00 ^a	3,69 ± 8,20 ^a
ECPM						
TFA	0,44 ± 0,03 ^A	0,04 ± 0,07 ^A	0,31 ± 0,06 ^A	2,50 ± 0,60 ^A	93,72 ± 4,36 ^A	97,03 ± 4,40 ^A
H ₂ SO ₄	-	-	0,91 ± 0,68 ^a	-	3,08 ± 4,40 ^a	4,00 ± 3,91 ^a
ESPM NaClO 6%						
TFA	0,50 ± 0,05 ^A	-	0,34 ± 0,03 ^A	1,77 ± 0,38 ^A	98,31 ± 9,91 ^A	100,98 ± 10,26 ^A
H ₂ SO ₄	-	-	0,79 ± 0,38 ^a	-	1,54 ± 1,38 ^a	2,34 ± 1,37 ^a
ECPM NaClO 6%						
TFA	0,29 ± 0,25 ^A	0,04 ± 0,07 ^A	0,39 ± 0,02 ^A	1,65 ± 0,07 ^A	94,15 ± 9,78 ^A	94,52 ± 7,10 ^A
H ₂ SO ₄	-	-	2,80 ± 3,36 ^a	-	4,32 ± 4,84 ^a	7,13 ± 8,20 ^a

Valores médios ± desvio padrão (n=3).

As amostras pertencentes ao grupo TFA foram hidrolisadas por este ácido no processo de preparo da amostra para análise por cromatografia a gás, sendo que as amostras pertencentes ao grupo H₂SO₄ foram digeridas pelo ácido sulfúrico. Médias com letras diferentes em uma mesma coluna indicam que os valores apresentam diferença significativa entre si pelo Teste de Tukey a 5% de significância (letras maiúsculas correspondem às frações-TFA e letras minúsculas correspondem às frações-H₂SO₄).

Os valores de porcentagem molar encontrados para a glicose demonstram que esta é proveniente tanto da composição de polissacarídeos estruturais presentes na casca, a saber o material celulósico presente neste tipo de material, principalmente como constituinte da parede celular vegetal, sendo a glicose um dos monossacarídeos intrinsecamente envolvidos nessa função juntamente com arabinose, manose, xilose e galactose (SALVADOR et al., 2000). Além de sua função na composição da parede celular, a glicose também é um carboidrato abundante em produtos ricos em amido já que é o único componente deste polissacarídeo (DENARDIN & DA SILVA, 2008; NUWAMANYA et al., 2010; ROCHA, DEMIATE & FRANCO, 2008). Adetunji et al. (2016), em estudo de caracterização dos efeitos de degradação enzimática da parede celular da raiz de mandioca juntamente com fermentação láctica, realizando experimentos de caracterização do perfil de monossacarídeos por cromatografia a gás, encontraram um perfil composto por glicose, arabinose, ramnose, xilose e galactose. Também foi encontrada uma composição majoritária de glicose (85%), enquanto monossacarídeos como xilose e galactose foram encontrados em porcentagens bem menores, 3% e 8%, respectivamente.

Salvador et al. (2000) realizaram um estudo comparativo do perfil de monossacarídeos existente em amostras de batata doce, mandioca e batata inglesa. Para a bata doce, foi encontrada uma quantidade aproximada de glicose e xilose, sendo elas 40,2% e 44,9%, respectivamente. Nas amostras de batata inglesa, foram encontradas principalmente glicose (32,8%), galactose (35,2%) juntamente com ácido galacturônico (22%) e, em menores quantidades, foram detectadas arabinose (5,6%) e xilose (2,2%). Nas amostras de mandioca, a glicose apareceu como monossacarídeo majoritário com a maior porcentagem (82%) seguida por galactose, xilose, arabinose, manose, ramnose e fucose, em ordem decrescente de porcentagem, um perfil semelhante ao encontrado neste trabalho com exceção da presença de manose, ramnose e fucose que aqui não foram detectados. Kajiwara e Maeda (1983) encontraram o mesmo perfil de monossacarídeos em amostras de mandioca, sendo que também encontraram ramnose, fucose e manose diferentemente do perfil encontrado neste trabalho. Vale ressaltar que os trabalhos de Salvador et al. (2000) e de Kajiwara e Maeda

(1983) foram realizados com a raiz de mandioca na íntegra e o perfil de monossacarídeos determinado neste trabalho foi referente somente à casca.

Wang et al. (2017) encontraram os mesmos monossacarídeos compondo o perfil de cinco amostras incluindo bagaço de maçã, esta com razões molares de 4,65% para arabinose, 3,08% para xilose, 0,04% para manose, 3,25% para glicose e 3,02% para galactose. Em duas das amostras analisadas, a glicose também foi detectada como componente majoritário do perfil de monossacarídeos determinado. Xilose e glicose, bem como outros monossacarídeos podem ser facilmente obtidos a partir da hidrólise de celulose e hemicelulose já que estes são polissacarídeos primários e materiais provenientes de biomassa vegetal (LODI et al., 2017).

Os resultados obtidos por meio das análises em FTIR podem ser correlacionados aos obtidos por cromatografia a gás (CG). As bandas de estiramento presentes na região entre 1300-1000 cm^{-1} caracterizam as ligações C-O presentes no amido, um polímero rico em glicose e abundante nas raízes de mandioca, o que corrobora com o encontrado na análise por CG mostrando este como principal monossacarídeo no perfil (BARBOSA, 2007; WARREN et al., 2016). O pico existente na região entre 3000-2800 cm^{-1} é característico de grupos metílicos e metilênicos comuns em estruturas lignocelulósicas. Conforme mencionado anteriormente, xilose, galactose e glicose, detectados no perfil de monossacarídeos determinado, estão envolvidos na composição do material lignocelulósico constituinte da parede celular vegetal (ALVES, 2011; NETO et al., 2013).

5.7 Elaboração dos Filmes

A partir da obtenção dos extratos (ESPM e ECPM), seguiu-se para a elaboração dos filmes. A utilização do glicerol como agente plastificante e água destilada como solvente garantiu a formação dos filmes. Inicialmente, a faixa de temperatura para preparação dos filmes durante a etapa de aquecimento da solução filmogênica era de 75°C a 85°C de acordo com metodologia proposta na literatura para filmes elaborados a partir do amido de mandioca (SELIGRA et al., 2016). Porém, foi verificado que ocorria forte gelatinização do amido, fazendo com que as soluções apresentassem alta viscosidade e, apresentando problemas na homogeneidade de secagem, que os filmes mostrassem rachaduras ou superfície irregular. A temperatura de gelatinização do amido de mandioca está na faixa de 59°C a 70°C (FENNEMA, 2008). Assim sendo, foi necessário diminuir a faixa de temperatura de aquecimento da solução filmogênica, permitindo que prosseguisse até atingir a temperatura de 75°C. A circulação de ar durante o processo de secagem dos filmes também foi retirada sendo observado que a rápida secagem aliada aos fatores descritos a respeito do aquecimento da solução contribuiu para a presença de rachaduras nos filmes, além da presença de materiais particulados (Figura 5.3 e Figura 5.4).

Uma das limitações no trabalho com extratos provenientes de casca de mandioca foi o escurecimento dos filmes durante a etapa de aquecimento da solução filmogênica. De acordo com Marques e Maggioni (2010), as cascas de mandioca apresentam em sua constituição 3,7 % de proteína bruta em matéria seca, o que indica a hipótese de que estas proteínas estariam reagindo com carboidratos na presença de calor, formando melanoidinas responsáveis pelo escurecimento num processo denominado reação de Maillard (GAVA, 1998). A presença de pigmentos naturais das cascas pode ter contribuído para o escurecimento dos filmes (Figura 5.5).

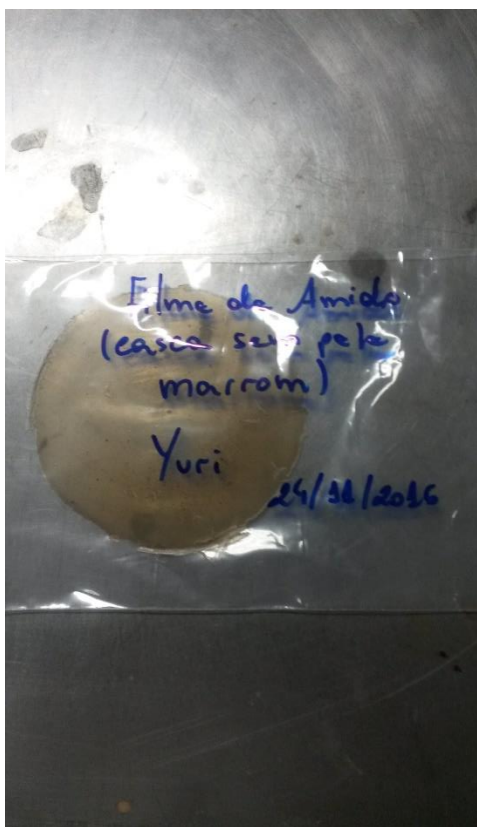


Figura 5.3 - Filme elaborado a partir de ESPM (extrato sem a parte marrom).



Figura 5.4 - Filme elaborado a partir de ECPM (extrato com a parte marrom).



Figura 5.5 - Presença de pigmentos nas cascas de mandioca (*M. esculenta*).

5.8 Caracterização dos Filmes Produzidos

5.8.1 Caracterização Colorimétrica dos Filmes Nativos e Tratados

Para estes filmes, era esperado um aspecto mais claro comparado aos filmes de extratos nativos, por isso, também foram realizadas medidas de coloração dos filmes a fim de verificar se o efeito obtido nos tratamentos dos extratos seria continuado nos filmes. Os resultados da colorimetria dos filmes estão apresentados na Tabela 5.5.

Tabela 5.5: Colorimetria dos filmes nativos e tratados com NaClO e H₂O₂ - 2, 6 e 10% (espaço de cor CIEL*a*b*)

Característica do Filme	Tipo de Tratamento	Medidas		
		L*	C*	h*
FSPM	Sem Tratamento	49,03 ± 0,08 ^c	18,90 ± 0,33 ^f	1,26 ± 0,01 ^c
FCPM		36,91 ± 00,7 ^f	20,54 ± 0,35 ^f	1,03 ± 0 ^e
FSPM	NaClO 2%	49,12 ± 0,11 ^c	31,12 ± 0,08 ^b	1,27 ± 0 ^c
	NaClO 6%	58,50 ± 0,67 ^a	25,95 ± 0,46 ^d	1,40 ± 0 ^a
	NaClO 10%	55,66 ± 0,30 ^b	29,63 ± 0,40 ^b	1,35 ± 0 ^b
FCPM	NaClO 2%	35,42 ± 0,03 ^f	23,52 ± 0,15 ^e	0,94 ± 0 ^g
	NaClO 6%	48,05 ± 0,13 ^c	38,97 ± 0,18 ^a	1,14 ± 0 ^e
	NaClO 10%	42,26 ± 0,58 ^d	37,98 ± 1,52 ^a	1,00 ± 0,01 ^f
FSPM	H ₂ O ₂ 2%	55,67 ± 1,40 ^b	27,56 ± 1,60 ^d	1,28 ± 0 ^c
	H ₂ O ₂ 6%	55,13 ± 1,36 ^b	31,26 ± 0,19 ^c	1,29 ± 0 ^d
	H ₂ O ₂ 10%	57,73 ± 0,51 ^a	31,93 ± 0,34 ^c	1,36 ± 0 ^b
FCPM	H ₂ O ₂ 2%	40,77 ± 0,15 ^d	31,58 ± 4,01 ^c	0,95 ± 0,09 ^g
	H ₂ O ₂ 6%	36,40 ± 0,34 ^f	35,04 ± 1,22 ^b	0,92 ± 0,01 ^g
	H ₂ O ₂ 10%	38,55 ± 0,02 ^e	32,90 ± 0,53 ^c	0,90 ± 0,01 ^g

Valores médios ± desvio padrão (n=3).

FSPM: Filme de Amido Sem a Parte Marrom.

FCPM: Filme de Amido Com a Parte Marrom.

Médias com letras diferentes em uma mesma coluna indicam que os valores apresentam diferença significativa entre si pelo Teste de Tukey a 5% de significância, utilizando-se o programa computacional Minitab.

Os efeitos dos tratamentos foram reproduzidos nos filmes, havendo clareamento dos mesmos. Novamente, conforme era esperado, os filmes produzidos a partir do extrato FSPM NaClO 6% e FCPM NaClO 6% apresentaram valores médios de L^* de 58,50 e 48,05, respectivamente, os maiores dentre todos os valores estabelecidos para os demais filmes entre tratados e não tratados com agentes oxidantes dentro de cada categoria. Pela realização do Teste de Tukey, foi verificada diferença estatística nos valores a 95% de confiança entre os dois grupos de filmes, para ambos os tratamentos (NaClO e H_2O_2).

5.8.2 Obtenção dos Espectros Para Filmes de Amido

Na Figura 5.6, podem ser vistos os espectros para os filmes produzidos a partir dos extratos tratados com NaClO 6%. Pode ser verificado que os espectros para os filmes são muito semelhantes ao espectro obtido por Warren et al. (2016), não havendo picos na região de 2500 cm^{-1} e apresentando um grande pico descendente na região do *fingerprint*.

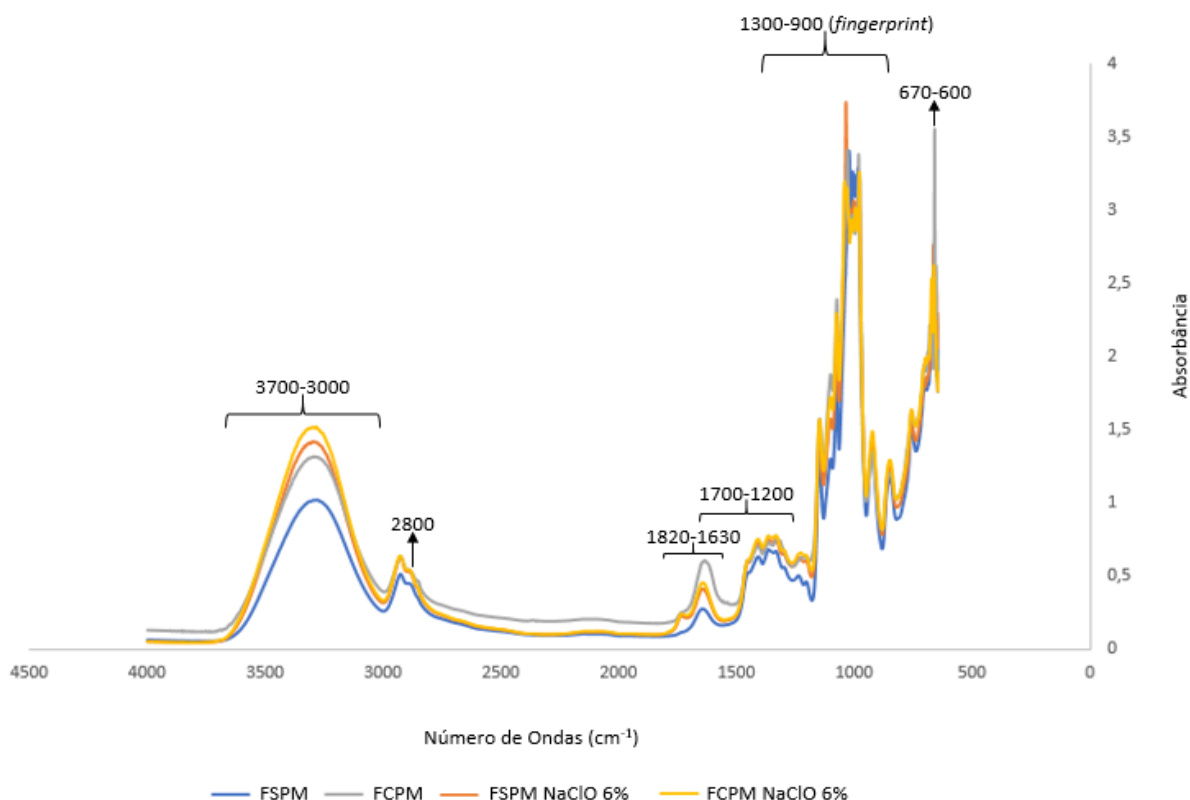


Figura 5.6: Espectros das amostras dos filmes FSPM, FCPM, FSPM NaClO 6% e FCPM NaClO 6%.

Pode-se observar que os espectros obtidos para os filmes foram bem semelhantes aos obtidos para os extratos nativos e tratados e, de igual modo, semelhantes ao espectro obtido por Warren et al. (2016), porém, existem picos mais pronunciados, principalmente aqueles compreendidos na região que caracteriza o *fingerprint*, conforme dito anteriormente. As bandas de absorção pronunciadas nas regiões entre 1200-1820 cm^{-1} que indicam as alterações químicas na estrutura ocasionadas pelo tratamento oxidativo podem ser observadas principalmente nos espectros referentes aos filmes FASPM NaClO 6% e FACPM NaClO 6%, ambos provenientes de extratos tratados. É possível observar ainda que os espectros dessas duas amostras coincidem nas bandas presentes entre 1700-1200 cm^{-1} , apresentando um perfil semelhante. As bandas de absorção entre 1630-1820 cm^{-1} também foram mais pronunciadas comparadas àquelas encontradas nos espectros obtidos para os extratos (Figura 4.6).

5.9 Atividade Antimicrobiana dos Filmes Funcionalizados com Óleo de Cravo-da-índia (*Syzygium aromaticum*)

Os filmes produzidos a partir dos extratos oxidados com NaClO 6% foram funcionalizados com 2 g de óleo essencial de cravo-da-índia (*S. aromaticum*) extraído dos botões florais. Os filmes funcionalizados foram, então, submetidos a teste de atividade antimicrobiana contra três espécies bacterianas, sendo elas *Staphylococcus aureus*, *Listeria monocytogenes* sorotipo 4B e *Salmonella enterica* serovar Typhimurium, respectivamente, Gram-positivas e Gram-negativa. Na Tabela 5.6, estão dispostos os valores médios dos diâmetros dos halos de inibição do crescimento microbiano associados aos filmes.

Tabela 5.6: Atividade antimicrobiana de filmes funcionalizados com óleo essencial de cravo-da-índia (*S. aromaticum*)

Atividade Antimicrobiana dos Filmes		
Filme	Espécie Bacteriana	Halo de inibição (mm)
FSPM NaClO 6%	<i>Staphylococcus aureus</i>	11,00 ± 5,04 ^a
	<i>Listeria monocytogenes</i>	11,80 ± 2,96 ^a
	<i>Salmonella enterica</i> Typhimurium	11,72 ± 0,87 ^a
FCPM NaClO 6%	<i>Staphylococcus aureus</i>	9,10 ± 5,50 ^a
	<i>Listeria monocytogenes</i>	3,21 ± 0 ^b
	<i>Salmonella enterica</i> Typhimurium	11,87 ± 1,62 ^a

Valores médios ± desvio padrão (n=3).

Médias com letras diferentes em uma mesma coluna indicam que os valores apresentam diferença significativa entre si pelo Teste de Tukey a 5% de significância, utilizando-se o programa computacional Minitab®.

Foram observados halos de inibição para os dois tipos de filmes testados, sendo que os maiores efeitos de inibição do crescimento microbiano foram observados para o filme FSPM NaClO 6% com halos medindo 11,00 mm, 11,80 mm e 11,72 mm para *S. aureus*, *L. monocytogenes* e *S. Typhimurium*, respectivamente (Figura 5.7 e Figura 5.8). As espécies bacterianas que demonstraram maior sensibilidade ao óleo essencial de cravo-da-índia, dentro do teste com os filmes FASPM NaClO 6%, foram *L. monocytogenes* e *S. enterica* Typhimurium. Song, Zuo e Chen (2018), testando filmes de amido de milho e trigo funcionalizados com óleo essencial e surfactante encontraram halos de inibição para *S. aureus* de 2,40 mm e para *Escherichia coli* de 2,18 mm. Para os filmes FCPM NaClO 6%, o efeito de inibição foi menor que para o filme do grupo citado anteriormente, sendo que, para este filme, *S. Typhimurium* foi o microrganismo mais sensível aos efeitos do óleo de cravo e *L. monocytogenes* demonstrou menor sensibilidade com halo de 3,21 mm. Rabêlo (2010) encontrou maior suscetibilidade de *Salmonella* spp. isoladas de alimentos a filmes polissacarídicos funcionalizados com óleo essencial de cravo-da-índia com halo de inibição de 18 mm. Biruel e Nascimento (2012) analisaram a sensibilidade de *Salmonella* spp. a três tipos de antimicrobianos naturais decorrentes do processo

de fermentação do cacau, com o microrganismo demonstrando sensibilidade a todos os compostos testados.

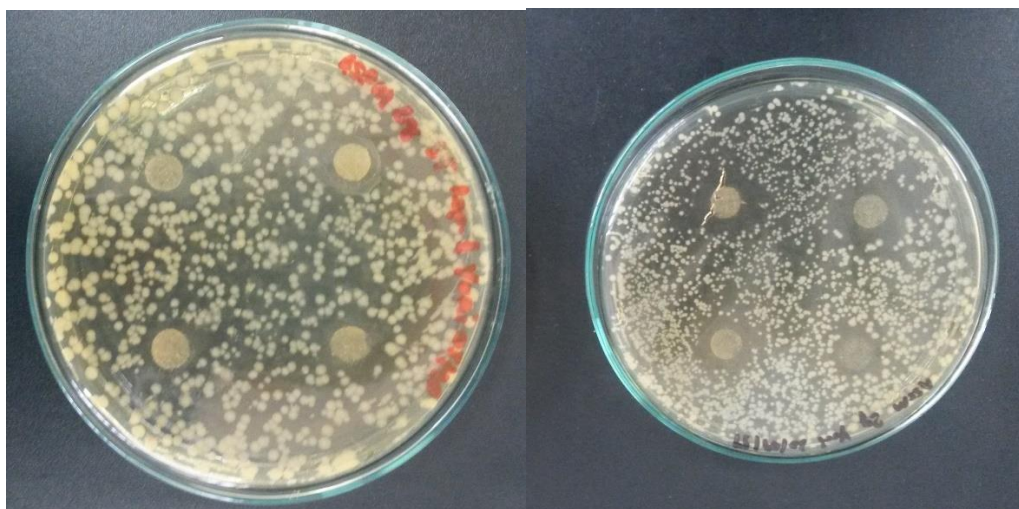


Figura 5.7: Ação do óleo essencial no filme FSPM NaClO 6% contra *S. Typhimurium* (esquerda) e *S. aureus* (direita).



Figura 5.8: Ação do óleo essencial no filme FSPM NaClO 6% contra *L. monocytogenes*.

Houve diferença significativa entre FSPM NaClO 6% e FACPM NaClO 6% no que se refere à ação do óleo essencial contra *L. monocytogenes* já que a medida do halo de inibição para este microrganismo foi menor para este filme (Figura 4.10). Em estudo testando a atividade antimicrobiana de óleos essenciais de alecrim (*Rosmarinus officinalis*) e tomilho (*Thymus vulgaris*) contra este microrganismo, foi encontrado alta sensibilidade a ambos os óleos testados medida em níveis dos efeitos sobre a população de células, sendo que a inibição do crescimento era proporcional ao tempo de exposição dos microrganismos aos óleos essenciais (GOUVEIA et al., 2016). Em filmes funcionalizados com óleo essencial de alho (*Allium sativum*), o crescimento de *L. monocytogenes* foi

inibido de modo eficiente pelo óleo, com os efeitos sendo medidos pela redução no número populacional de células em Unidades Formadoras de Colônias por grama de óleo (UFC/g) presentes na superfície de produtos cárneos embalados com o filme funcionalizado (SUNG et al., 2014). A sensibilidade de *L. monocytogenes* ao óleo essencial de cravo-da-índia foi detectada em estudos de atividade antimicrobiana juntamente com outros óleos essenciais (BERALDO et al., 2013).

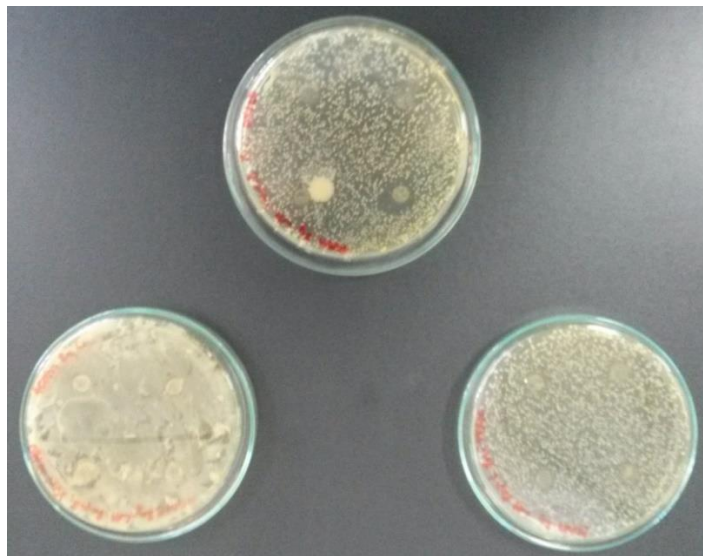


Figura 5.9: Comparativo entre as replicatas para o filme FCPM NaClO 6% testado contra *L. monocytogenes*.

Os filmes FCPM NaClO 6%, conforme exposto anteriormente, são filmes que apresentam maior variedade de compostos fibrosos e poliméricos do que os filmes FSPM NaClO 6% devido à presença dos elementos constituintes da parte marrom da casca, processados durante as etapas de obtenção dos extratos e elaboração dos filmes. Esses compostos podem promover o aprisionamento dos compostos ativos do óleo na microestrutura do filme, comprometendo sua migração e difusão pelo meio de cultura, fazendo com que a inibição do crescimento microbiano seja ineficiente (QUINTAVALLA & VICINI, 2002).

Tabela 5.7: Comparativo entre os controles utilizados - eugenol e óleo essencial de cravo-da-índia (*S. aromaticum*).

Controles		
Substância	Espécie Bacteriana	Halo de Inibição (mm)
Eugenol comercial	<i>Staphylococcus aureus</i>	23,75 ± 3,37 ^a
	<i>Listeria monocytogenes</i>	*
	<i>Salmonella enterica</i> Typhimurium	*
Óleo de Cravo	<i>Staphylococcus aureus</i>	19,37 ± 2,68 ^a
	<i>Listeria monocytogenes</i>	*
	<i>Salmonella enterica</i> Typhimurium	22,50 ± 2,05 ^a

Valores médios ± desvio padrão (n=4).

*Valores não determinados devido à inibição total de crescimento na placa para os antimicrobianos usados. Médias com letras diferentes em uma mesma coluna indicam que os valores apresentam diferença significativa entre si pelo Teste de Tukey a 5% de significância, utilizando-se o programa computacional Minitab®.

Não houve diferença significativa entre as medidas dos halos de inibição observados nas duas substâncias controle para *S. aureus*, e, para *S. enterica* Typhimurium (Tabela 5.7). Foi observado halo de inibição apenas no controle com óleo essencial de cravo extraído diretamente dos botões florais de *Syzygium aromaticum*. A ausência de halo de inibição nos casos demonstrados se deu devido à inibição total do crescimento microbiano. Tal resultado pode ter sido verificado, entre outros fatores, devido a diferenças de difusão existentes entre os discos feitos a partir dos filmes e os discos de papel de filtro utilizado nos experimentos com os controles. O eugenol é o componente majoritário do óleo essencial de cravo, sendo esperado que seu efeito inibitório seja maior do que o do óleo essencial que possui outros componentes como copaeno, cariofileno, humuleno, acetato de eugenila e o próprio eugenol, sendo este o componente majoritário com um teor de 52,53 % (ASCENÇÃO et al., 2013; SEBAALY et al., 2015).

Óleos essenciais que apresentam halo com diâmetro mínimo entre 8 e 10 mm são considerados eficientes para testes pelo método de difusão em disco (RABÊLO, 2010). Além disso, a presença do eugenol na composição do óleo de cravo faz com que ele seja capaz de interferir na síntese das enzimas bacterianas, além de provocar danos à parede em sua estrutura. Em estudo analisando as diferenças entre Gram-positivas e Gram-negativas na sensibilidade a óleos essenciais, foi encontrado maior sensibilidade de *S. aureus*, cocos Gram-positivos, às substâncias testadas, incluindo o óleo essencial de cravo-da-índia, do que para *Escherichia coli* que necessitou de concentrações mais elevadas para que fosse inibido o seu crescimento uma vez que são bastonetes Gram-negativos. A explicação possível para a diferença está na diferença estrutural da parede celular entre os dois grupos, sendo que a existência de uma membrana lipopolissacarídica (LPS) presente em Gram-negativas e ausente em Gram-positivas torna mais seletiva a entrada de substâncias, o que torna *E. coli* menos sensível, por exemplo (MATAN et al., 2006; SILVA et al., 2009). Vale ressaltar que as comparações entre resultados de estudos anteriores se tornam difíceis devido aos parâmetros adotados nos diversos estudos, bem como diferenças entre metodologias. No entanto, podem existir diferenças mesmo quando as metodologias são semelhantes, uma vez que existem também diferenças em relação à sensibilidade de estirpes de um determinado microrganismo diante de um mesmo antimicrobiano natural (SILVA et al., 2009).

5.10 Permeabilidade a Umidade

Os filmes produzidos a partir de dos extratos tratados com hipoclorito de sódio a 6% foram submetidos aos testes de permeabilidade ao vapor de água em dessecadores contendo solução saturada de cloreto de sódio e em umidade relativa de 75% conforme pode ser visto na Figura 5.10 e Figura 5.11. Foram testados tanto os filmes contendo 2 g de óleo essencial de cravo-da-índia quanto filmes sem o óleo afim de verificar que alterações na permeabilidade dos filmes sua presença poderia conferir.



Figura 5.10: Sistemas cápsula/filme formados por filmes FSPM NaClO 6% e FCPM NaClO 6% contendo 2 g de óleo essencial de cravo-da-índia (*S. aromaticum*).



Figura 5.11: Sistemas cápsula/filme formados por filmes FSPM NaClO 6% e FCPM NaClO 6% sem o óleo essencial de cravo-da-índia (*S. aromaticum*).

Segundo Janjarasskul e Krochta (2010), se comparados a filmes produzidos a partir de materiais sintéticos, aqueles obtidos a partir de materiais polissacarídicos podem apresentar elevada permeabilidade ao vapor de água devido ao caráter hidrofílico dos polissacarídeos. Filmes provenientes de materiais sintéticos podem apresentar valores de PVA entre 0,05 mg.mm/m².h.kPa e 0,010 mg.mm/m².h.kPa ou ainda 0,012 mg.mm/m².s.Pa (DELISSUS, 1997; NENADÁLOVÁ et al., 2016).

Os coeficientes de permeabilidade ao vapor de água (PVA) dos filmes FSPM NaClO 6% e FCPM NaClO 6%, com e sem óleo essencial de cravo-da-índia, estão apresentados na Tabela 5.8.

Tabela 5.8: Espessura e coeficiente de permeabilidade ao vapor de água (PVA) dos filmes desenvolvidos.

Grupo	Espessura (mm)	PVA (g.mm/m².h.kPa)
FSPM NaClO 6%*	0,270 ± 0,06 ^a	0,14 ± 0,06 ^a
FCPM NaClO 6%*	0,236 ± 0,02 ^a	0,15 ± 0,03 ^a
FSPM NaClO 6%	0,206 ± 0,06 ^a	0,23 ± 0,14 ^a
FCPM NaClO 6%	0,207 ± 0,03 ^a	0,27 ± 0,08 ^a

Valores médios ± desvio padrão (n=5).

*Filmes contendo 2 g de óleo essencial de cravo-da-índia.

Médias com letras diferentes em uma mesma coluna indicam que os valores apresentam diferença significativa entre si pelo Teste de Tukey, a 5% de significância, utilizando o programa computacional Minitab.

Conforme indicado pelos dados expostos na Tabela 5.8, não houve diferença significativa entre os valores obtidos para o coeficiente de permeabilidade ao vapor de água, mostrando que a inserção de óleo essencial de cravo-da-índia na composição dos filmes não provocou alterações nas propriedades de barreira à umidade dos filmes produzidos. Pode-se observar que os valores obtidos para os filmes sem óleo de cravo foram numericamente maiores que aqueles filmes aos quais o óleo foi incorporado. A permeabilidade de filmes hidrofílicos depende tanto da diferença de umidade relativa existente entre o interior do sistema cápsula/filme e o ambiente externo a ele quanto da umidade absoluta em ambos os lados do filme (SLAVUTSKY & BERTUZZI, 2012).

Slavutsky e Bertuzzi (2016) analisaram a permeabilidade a umidade de filmes de amido tendo incorporado em sua estrutura uma nanocamada de óleo a fim de melhorar as propriedades de barreira, tendo sido testados dois tipos diferentes de óleos essenciais, a saber óleo essencial de limão e óleo de sementes de girassol. Os filmes apresentaram maior valor de PVA para o óleo de semente de girassol do que para o óleo essencial de limão. Foi observado um comportamento similar entre os filmes que continham a nanocamada de óleo e os filmes que não a continham, porém, os valores de PVA para os filmes acrescidos de óleo caíram pela metade em relação aos anteriores, havendo também uma relação proporcional entre a quantidade de plastificante e a permeabilidade já que a substância utilizada foi o glicerol, um reagente hidrofílico (SLAVUTSKY & BERTUZZI, 2016). Isto porque o glicerol pode se inserir entre as cadeias do polímero, promovendo maior mobilidade nestas regiões o que favorece o agrupamento de moléculas de água na matriz polimérica (BATISTA, 2017).

Filmes de amido por si só não apresentam boas propriedades de barreira a umidade devido à presença de inúmeros grupos hidroxila nas cadeias de amilose e amilopectina conferindo caráter altamente hidrofílico (ROMPOTHI et al., 2017). Rompothi et al. (2017) encontraram valores de PVA para filmes de amido extraído de brotos de feijão, sem acréscimo de qualquer agente de caráter hidrofóbico para melhoramento de propriedades de barreira, de 0,20 mg.mm/m².h.kPa até 0,46 mg.mm/m².h.kPa, valores bem menores comparados aos filmes FSPM NaClO 6% e FCPM NaClO 6% sem óleo essencial de cravo-da-índia que apresentaram valores de 0,23 g.mm/m².h.kPa e 0,27 g.mm/m².h.kPa, respectivamente. Em filmes de amido de mandioca acrescidos de extrato de alecrim em três concentrações diferentes (5, 10 e 20%), não houve diferença significativa entre os valores de PVA apresentados entre os que continham o extrato a 5% e aqueles que não continham o extrato, porém foi observada uma relação na qual a permeabilidade aumentou à medida que a concentração de extratos nos filmes foi aumentada já que os filmes com as maiores concentrações de extrato testadas (10 e 20%) apresentaram pequenas rachaduras na microestrutura dos filmes, o que contribuiu para o aumento da permeabilidade (HERNANDEZ et al., 2017).

5.11 Propriedades Mecânicas de Tração

Os valores encontrados como resultados dos ensaios mecânicos de tração apresentaram diferenças significativas entre si ($p < 0,05$) para os filmes com e sem o óleo essencial de cravo-da-índia. Os resultados estão apresentados na Tabela 5.9.

Tabela 5.9: Média dos valores da resistência a tração dos filmes.

Grupos	Resistência à tração (N/mm ²)	Alongamento na Ruptura (%)	Tensão Máxima (MPa)
FSPM NaClO 6%	$8,61 \times 10^{-4} \pm 4,63 \times 10^{-4a}$	$21,40 \pm 33,0^a$	$0,32 \pm 0,13^a$
FCPM NaClO 6%	$5,15 \times 10^{-4} \pm 0,89 \times 10^{-4a,b}$	$40,24 \pm 11,38^a$	$0,21 \pm 0,04^{a,b}$
FSPM NaClO 6%*	$4,50 \times 10^{-4} \pm 1,14 \times 10^{-4b}$	$32,90 \pm 14,31^a$	$0,17 \pm 0,04^b$
FCPM NaClO 6%*	$3,66 \times 10^{-4} \pm 1,05 \times 10^{-4b}$	$48,01 \pm 18,77^a$	$0,15 \pm 0,04^b$

Valores médios $\pm$ desvio padrão (n=6).

*Filmes contendo 2 g de óleo essencial de cravo-da-índia.

Médias com letras diferentes em uma mesma coluna indicam que os valores apresentam diferença significativa entre si pelo Teste de Tukey a 5% de significância, utilizando o programa computacional Minitab.

Os valores determinados pelas análises foram, em geral, inferiores em relação aos encontrados na literatura, não sendo observadas diferenças significativas entre valores de resistência à tração e tensão máxima. Vu e Lumdubwong (2016), por exemplo, analisaram as propriedades mecânicas de tração de filmes de amido produzidos utilizando diferentes tipos de plastificantes tendo determinado o valor de 2,85 MPa para tensão máxima na ruptura de filmes de amido produzidos, utilizando glicerol como plastificante. Para o alongamento na ruptura, o maior valor encontrado foi de 48,01% para os corpos de prova do grupo FCPM NaClO 6%*, enquanto no trabalho citado foi determinado um valor de 18,82%. Vale mencionar que o valor obtido para os corpos de prova do grupo FCPM NaClO 6%* pode ser explicado pelo conteúdo de fibras presente na composição desses filmes já que foram produzidos a partir de extratos obtidos pelo processamento das cascas de mandioca na íntegra, ou seja, incluindo a parte marrom. A casca de mandioca tem grande quantidade de fibras, o que pode conferir ao filme oriundo do extrato integral da casca um caráter mais elástico (MARQUES et al., 2000; MARQUES & MAGGIONI, 2010).

Luchese, Spada e Tessaro (2017) encontraram valores maiores para filmes de amido de milho e de mandioca. No parâmetro tensão, foram encontrados 2,9 MPa para filme de amido de milho, 1,6 MPa para filme de mandioca e no parâmetro alongamento, 70% para filme de amido de milho e 25% para filme de amido de mandioca. Os valores determinados para os corpos de prova deste trabalho foram, com exceção do grupo FSPM NaClO 6%, maiores no parâmetro alongamento na ruptura do que os descritos pelo trabalho citado. Porém, para filmes de amido de mandioca, quanto maior for o conteúdo de amido presente no extrato, há uma tendência no aumento da elasticidade do filme, ou seja, maiores valores para alongamento na ruptura, e também aumento nos valores para tensão. A quantidade de amido também influencia na espessura dos filmes e na respectiva permeabilidade ao vapor de água (LUCHESE, SPADA & TESSARO, 2017).

Pode-se observar pelo exposto na Tabela 5.9 que, no parâmetro alongamento na ruptura, o desvio padrão foi alto para todas as amostras. Isso demonstra que existe heterogeneidade entre as amostras testadas conforme pode ser visto nas curvas de força *versus* deformação expostas na Figura 5.12.

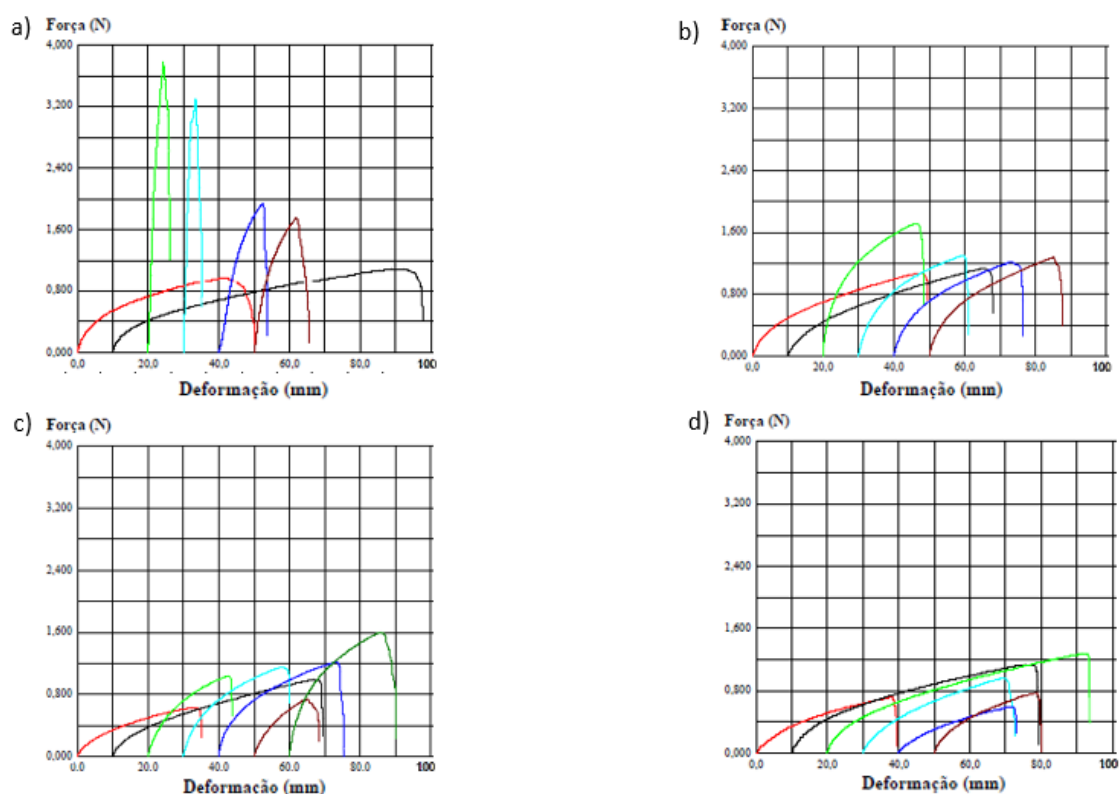


Figura 5.12: Curvas de força *versus* deformação das amostras dos filmes: (a) filmes FSPM NaClO 6%; (b) filmes FCPM NaClO 6%; (c) filmes FSPM NaClO 6%*; (d) filmes FCPM NaClO 6%*.

Pode-se observar que as curvas das amostras pertencentes ao grupo FSPM NaClO 6% representam as diferenças no comportamento dos corpos de prova entre si, com curvas apresentando picos de força e com baixo grau de deformação na ruptura, o que pode ser correlacionado com o exposto na Tabela 5.9, da qual se observa que este mesmo grupo apresentou o menor valor no parâmetro alongamento na ruptura. O grupo que apresentou maior homogeneidade no comportamento demonstrado pelas curvas, no parâmetro força, foi o das amostras FCPM NaClO 6%. Porém, os resultados expostos na Tabela 5.11 mostram que o grupo apresentou o maior valor no parâmetro alongamento na ruptura com um desvio padrão alto, o que demonstra grande variação dos valores individuais em torno da média. Esse comportamento também pode ser verificado das curvas (Figura 5.12 d) que mostram essas variações nos valores de deformação, variando entre 40 mm e 95 mm.

Pode-se inferir, pelos resultados expostos na Tabela 5.9, que os filmes de ambos os grupos produzidos a partir do extrato integral da casca de mandioca (FCPM) apresentaram melhores características mecânicas que os demais por apresentar conteúdo mais fibroso, sendo que o grupo de amostras que continham o óleo essencial de cravo-da-índia (FCPM NaClO 6%*) apresentaram maior valor de alongamento, o que permite inferir que o óleo pode interferir nas propriedades mecânicas dos filmes. No entanto, a variabilidade, que pode ser observada tanto pelos dados estatísticos apresentados quanto pelos dados gráficos demonstrados na Figura 5.12, mostra uma dificuldade de padronização no processo de produção dos corpos de prova que pode estar ligada a diferenças no grau de gelatinização do amido durante o processo de aquecimento da solução filmogênica em cada batelada experimental realizada, o que interfere na composição estrutural dos filmes e, por consequência, influencia em suas propriedades mecânicas.

6 CONCLUSÃO

A utilização de cascas de mandioca, resíduo da produção, beneficiamento e comercialização das raízes pode ser empregada para sua conversão em produtos de valor agregado e de cunho tecnológico como a produção de polímeros e consequentemente de filmes a base de materiais naturais e potencialmente biodegradáveis, uma alternativa ao seu destino comum, a saber, a alimentação animal. A formação dos filmes a partir de extratos amiláceos obtidos a partir do processamento das cascas de mandioca foi alcançada.

Entre os dois tipos de tratamentos químicos realizados, tanto o tratamento com hipoclorito de sódio (NaClO) quanto com peróxido de hidrogênio, ambos na concentração de 6%, apresentaram mais eficiência no clareamento dos extratos. No entanto, o tratamento com NaClO 6% foi priorizado já que este antioxidante é comumente utilizado na indústria, sendo que as amostras ESPM, provenientes das cascas das quais a parte marrom foi removida, apresentaram melhores resultados do que as amostras ECPM conforme demonstrado pelos resultados de colorimetria obtidos, algo desejável na produção de filmes de biopolímeros. O mesmo foi encontrado na realização das análises colorimétricas nos filmes produzidos a partir dos extratos tratados.

O óleo essencial de cravo-da-índia apresentou boas condições de incorporação aos filmes, mostrando atividade antimicrobiana contra os microrganismos testados a partir da utilização de 2 g do óleo. Não houve diferença significativa entre os diâmetros dos halos de inibição observados para os filmes FSPM NaClO 6% e FCPM NaClO 6% em relação a *S. aureus* e *S. Typhimurium*, exceto para o microrganismo *L. monocytogenes* que foi menos sensível ao efeito do óleo nos testes com os filmes FCPM NaClO 6%. Os resultados obtidos, porém, não estão distantes daqueles encontrados na literatura para atividade antimicrobiana de filmes de amido funcionalizados com antimicrobianos naturais.

Para as propriedades de permeabilidade ao vapor de água e propriedades mecânicas de tração, é necessário maior estudo de alternativas para o melhoramento das mesmas, já que os resultados obtidos foram, de modo geral, inferiores aos disponíveis na literatura, o que demonstra uma característica indesejável se os filmes tiverem como destino final a aplicação em embalagens utilizadas na indústria de alimentos.

São necessários, ainda, maiores estudos como, por exemplo, verificar e quantificar a capacidade de migração do óleo, determinando que efeitos sua incorporação pode exercer sobre o produto contido numa embalagem formada a partir dos filmes em questão e que alterações desejáveis ou não podem ser exercidas sobre as propriedades sensoriais do mesmo, o que pode restringir seu campo de utilização como embalagem ativa na indústria de alimentos. Vale mencionar a realização dos mesmos estudos aqui descritos em filmes produzidos a partir de extratos tratados com H_2O_2 6%, como método de oxidação alternativo em relação ao NaClO , afim de verificar as propriedades de tais filmes já que o tratamento oxidativo apresentou resultados promissores no clareamento dos extratos.

7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ACOSTA, S., CHIRALT, A., SANTAMARINA, P., ROSELLO, J., MARTÍNEZ, C. G., CHÁFER, M. Antifungal films based on starch-gelatin blend, containing essential oils. **Food Hydrocolloids**, v. 61, 233 – 240 v., 2016.

ADETUNJI, A. I., DU CLOU, H., WALFORD, S. N., TAYLOR, J. R. N. Complementary effects of cell wall degrading enzymes together with lactic acid fermentation on cassava tuber cell wall breakdown. **Industrial Crops and Products**, v. 90, 110 – 117 p., 2016.

AJAY, G., HATTORI, K., OGATA, H., ASHRAF, M. Agricultural and bio waste ashes alternate cementitious material – strength evaluation of partially blended cement mortars. **Tottori University**, 2 p., Tottori, Japan, 2007.

ALBERSHEIM, P., NEVINS, D. J., ENGLISH, P. D., KERR, A. A method for analysis of sugars in plant cell-wall polysaccharides by gas-liquid chromatography. **Carbohydrate Research**, v. 5, 340 – 345 p., 1967.

ALIAS, Z., TAN, I. K.P. Isolation of palm oil-utilising, polyhydroxyalkanoate (PHA)-producing bacteria by an enrichment technique. **Bioresource Technology**, v. 96, 1229 – 1234 p., 2005.

ALVES, R. E. Caracterização de fibras lignocelulósicas pré-tratadas por meio de técnicas espectroscópicas e microscópicas ópticas de alta resolução. **Dissertação de Mestrado**. São Carlos: USP, 117 p., 2011.

ANDRADE, M., BENEFITO, S., SOARES, P., MAGALHÃES E SILVA, D., LOUREIRO, J., BORGES, A., BORGES, F., SIMÕES, M. Fine-tuning of the hydrophobicity of caffeic acid: studies on the antimicrobial activity against *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli*. **RSC Advances-Royal Society of Chemistry**, v. 5, 53915 – 53925 p., 2015.

ANGIONI, A., BARRA, A., CERETI, E., BARILE, D., COISSON, J. D., ARLORIO, M., DESSI, S., CORONEO, V., CABRAS, P. Chemical composition plant genetic differences, antimicrobial and antifungal activity investigation of the essential oil of *Rosmarinus officinalis* L. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 52, 3530 – 3532 p., 2004.

ASCENÇÃO, V. L. & FILHO, V. E. M. Extração, caracterização química e atividade antifúngica de óleo essencial *Syzygium aromaticum* (cravo-da-índia). **Caderno de Pesquisa**, v. 20, 137 – 145 p., 2013.

ASTM **E96/E96M-15, Standard Test Methods for Water Vapor Transmission of Materials**, West Conshohocken, PA 2015.

AYALA-ZAVALA, J. F., VEJA-VEJA, V., ROSAS-DOMINGUEZ, C., PALAFOX-CARLOS, H., VILLA-RODRIGUEZ, J. A., SIDDIQUI, M. W., DÁVILA-AVIÑA, J. E., GONZÁLEZ-AGUILLAR, G. A. Agro-industrial potential of xotic fruit byproducts as a source of food additives. **Food Research International**, v. 44, 1866 – 1874 p., 2011.

AZEREDO, H. M. C., WALDRON, K. W. Crosslinking in polysaccharide and protein films and coatings for food contact – a review. **Trends in Food Science & Technology**, v. 52, 109 – 122 p., 2016.

AZWA, Z. N., YOUSIF, B. F., MANALO, A. C., KARUNASENA, W. A review on the degradability of polymeric composites based on natural fibres. **Materials and Design**, v. 47, 424 – 442 p., 2013.

BAKKALI, F., AVERBECK, S., AVERBECK, D., IDAOMAR, M. Biological effects of essential oils – A review. **Food and Chemical Toxicology**, n. 46, 446 – 475 p., 2008.

BASIAK, E., LENART, A., DEBEAUFORT, F. Effect of starch type on the physico-chemical properties of edible films. **Biological Macromolecules**, n. 16, 33 p., 2017.

BARBOSA, L. C. A. **Espectroscopia no infravermelho na caracterização de compostos orgânicos**. Viçosa: Ed. UFV, 177 – 179 p., 2007.

BATISTA, M. J. P. A. Desenvolvimento e Caracterização de Filmes Derivados da Borra de Café Submetida a Tratamento com Peróxido de Hidrogênio Alcalino. **Dissertação de Mestrado**. Belo Horizonte: UFMG, 106 p., 2017.

BEMILLER, J., WHISTLER, R. **Starch: Chemistry and Technology**. Nova Iorque: Elsevier, 3 ed., 900 p., 2009.

BERALDO, C., DANELUZZI, N. S., SCANAVACCA, J., DOYAMA, J. T., JUNIOR, A. F., MORITZ, C. M. F. Eficiência de óleos essenciais de canela e cravo-da-índia como sanitizantes na indústria de alimentos. **Pesq. Agropec. Trop.**, v. 43, n. 4, 436 – 440 p., 2013.

BHAT, R., ABDULLAH, N., DIN, R. H., TAY, G. S. Producing novel sago starch based food packaging films by incorporating lignina isolated from oil palm black liquor waste. **Journal of Food Engineering**, v. 119, 707 – 713 p., 2013.

BIRUEL, V. B. C., NASCIMENTO, M. S. Avaliação da sensibilidade de *Salmonella* aos principais agentes antimicrobianos presentes na fermentação do cacau. Publicação em Congresso. Jaguariúna: **VI CIIC 2012**, 10 p., ago., 2012.

BODINI, R. B. **Desenvolvimento de Materiais Poliméricos Bioativos à Base de Gelatina e Própolis**. Dissertação de Mestrado. Pirassununga: USP, 88 p., 2011.

BORGES, A., FERREIRA, C., SAAVEDRA, M. J., SIMÕES, M. Antibacterial activity and mode of action of ferulic and galic acids against pathogenic bacteria. **Microb. Drug Resist.**, v. 19, 256–265 p., 2013.

BOSCOLO, W. R., HAYASHI, C., MEURER, F. Farinha de varredura de mandioca (*Manihot esculenta*) na alimentação de alevinos de tilápia do Nilo (*Oreochondris niloticus* L.). **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 31, n. 2, 546 – 551 p., 2002.

BRIONES, R., TORRES, L., SARAIVA, Y., SERRANO, L., LABIDI, J. Liquefied agricultural residues for film elaboration. **Industrial Crops and Products**, n. 78, 19 – 28 p., 2015.

CALATAYUD, M., DICASTILLO, C. L., CARBALLO, G. L., VÉLEZ, D., MUÑOZ, P. H., GAVARA, R. Active films based on cocoa extract with antioxidant, antimicrobial and biological applications. **Food Chemistry**, v. 139, 51 – 58 p., 2013.

CARPITA, N. C., GIBEAUT, D. M., Structural models of primary cell walls in flowering plants: consistency of molecular structure with the physical properties of the cell wall during growth. **The Plant Journal**, v. 3, 1 – 30 p., 1993.

CLIVELAND, J., MONTVILLE, T. J., NES, I. F., CHIKINDAS, M. L. Bacteriocins: safe, natural antimicrobials for food preservation. **International Journal of Food Microbiology**, v. 71, 1 – 20 p., 2001.

CORRADINI, E., LOTTI, C., DE MEDEIROS, E. S., CARVALHO, A. J. F., CURVELO, A. A. S., MATTOSO, L. H. C. Estudo comparativo de amidos termoplásticos derivados do milho com diferentes teores de amilose. **Ciência e Tecnologia**, v. 15, n. 4, p. 268 – 273, 2005.

COSTA, A. R. T., AMARAL, M. F. Z. J., MARTINS, P. M., PAULA, J. A. M., FIUZA, T. S., TRESVENZOL, L. M. F., PAULA, J. R., BARA, M. T. F. Ação do óleo essencial de *Syzygium aromaticum* (L.) Merr. & L.M. Perry sobre hifas de alguns fungos fitopatogênicos. **Revista Brasileira de Plantas Medicinais**, v. 13, n. 2, 240 – 245 p., 2011.

CRIVELLARI, A. C. Caracterização estrutural das hemiceluloses de paredes celulares de cana-de-açúcar. Dissertação. São Paulo: **USP**, 95 p., 2012.

CRIZEL, T. M., JABLONSKI, A., RIOS, A. O., RECH, R., FLÔRES, S. H. Dietary fiber Orange byproducts as a potential fat replacer. **LWT – Food Science and Technology**, n. 30, 1 – 6 p., 2013.

DAI, L., QIU, C., XIONG, L., SUN, Q. Characterisation of corn starch-based films reinforced with taro starch nanoparticles. **Food Chemistry**, v. 174, 82 – 88 p., 2015.

DE ARAÚJO, N. C., GUIMARÃES, P. L. F., OLIVEIRA, S. J. C., DE LIMA, V. L. A., BANDEIRA, F. A., DE ARAÚJO, F. A. C. Quantificação de resíduos em uma casa de farinha no Estado da Paraíba. **Revista Monografias Ambientais/UFSM**, v. 13, n. 5, 3793 – 3799 p., 2014.

DE CASTILLO, C. L., RODRÍGUEZ, F., GUARDA, A., GALOTTO, M. J. Antioxidant films based on cross-linked methyl cellulose and native Chilean berry for food packaging applications. **Carbohydrate Polymers**, v. 136, 1052 – 1060 p., 2015.

DE CASTILLO, C. L., BUSTOS, F., GUARDA, A., GALOTTO, M. J. Cross-linked methyl cellulose films with murta fruit extract for antioxidante and antimicrobial active food packaging. **Food Hydrocolloids**, v. 60, 335 – 344 p., 2016.

DELASSUS, P. **Barrier polymers**. In A. L. Brody, & K. S. Marsh (Eds.). Nova Iorque: The Wiley Encyclopedia of Packaging Technology, 18 ed., pp. 71–77, 1997.

DE MORAES, J. O., SCHEIBE, A. S., SERENO, A., LAURINDO, J. B. Scale-up of the production of cassava starch based films using tape-casting. **Journal of Food Engineering**, v. 119, 800 – 808 p., 2013.

DENARDIN, C. C., DA SILVA, L. P. Estrutura dos grânulos de amido e sua relação com propriedades físico-químicas. Santa Maria: **Ciência Rural**, 10 p., 2008.

DE SOUZA, A. C., DIAS, A. M. A., SOUSA, H. C., TADINI, C. C. Impregnation of cinnamaldehyde into cassava starch biocomposite films using supercritical fluid technology for the development of food packaging. **Carbohydrate Polymers**, v. 102, 830 – 837 p., 2014.

DI PASQUA, R., HOSKINS, N., BETTS, G., MAURIELLO, G. Changes in membrane fatty acids composition of microbial cells induced by addition of thymol, carvacrol, limonene, cinnamaldehyde, and eugenol in the growing media. **J. Agric. Food Chemistry**, v. 54, 2745 – 2749 p., 2006.

DE SOUZA¹, R. G. Conjunturas da Agropecuária - Mandioca: raiz, fécula e farinha – abril de 2017. **Companhia Nacional de Abastecimento**, 4 p., 2017.

DE SOUZA², R. G. Conjunturas Mensal - Mandioca: raiz, fécula e farinha – janeiro de 2017. **Companhia Nacional de Abastecimento**, 9 p., 2017.

ELEMIKE, E. E., OSEGHLE, O. C., OKOYE, A. C. Utilization of cellulosic cassava waste for bio-ethanol production. **Journal of Environmental Chemical Engineering**, v. 3, 2797 – 2800 p., 2015.

EL HALAL, S. L. M., COLUSSI, R., DEON, V. G., PINTO, V. Z., VILLANOVA, F. A., CARREÑO, N. L. V., DIAS, A. R. G., ZAVAREZE, E. R. Films based on oxidized starch and cellulose from barley. **Carbohydrate Polymers**, v. 133, 644 – 653 p., 2015.

EL-SAYED, H. S., CHIZZOLA, R., RAMADAN, A. A., EDRIS, A. E. Chemical composition and antimicrobial activity of garlic essential oils evaluated in organic

solvent, emulsifying, and self-microemulsifying water based delivery systems. **Food Chemistry**, v. 221, 196 – 204 p., 2017.

EUROPEAN COMMISSION. Regulation (EC) No. 450/2009. *Official Journal of European Union*, L 135 (450), 3 – 11, 2009.

FENNEMA, O. R. Fennema's Food Chemistry / [edited by] Srinivasan Damodaran, Kirk Parkin, and Owen R. Fennema. **Taylor & Francis Group**, 4th ed., 2008.

FENIMAN, C. M. Caracterização de raízes de mandioca (*Manihot esculenta* Crantz) do cultivar IAC 576-70 quanto à cocção, composição química e propriedades do amido em duas épocas de colheita. Dissertação. Piracicaba: USP, 99 p., 2004.

FAO – Organização das Nações Unidas para a Agricultura e Alimentação, Dados Estatísticos da FAO, 2013. Disponível em <<http://faostat.fao.org/>>, acesso em 20 de dezembro de 2017.

FERREIRA, M. P. F. **Embalagens Ativas Para Alimentos: Caracterização e Propriedades**. Tese de Doutorado. Porto Alegre: UFRGS, 138 p., 2012.

FGV – Fundação Getúlio Vargas. **Projeto de Potencialidades Regionais – Estudo de Viabilidade Econômica: Amido de Mandioca**. Instituto Superior de Administração e Economia / Superintendência da Zona Franca de Manaus, 51 p., 2003.

FRANCA, A. S., OLIVEIRA, L. S. Chapter 3 – Low-cost Adsorbents From Agri-Food Wastes. **Nova Science Publishers**, 39 p., 2008.

FRANCA, A. S., OLIVEIRA, L. Chapter 11 – From Solid Biowastes to Liquid Biofuels. **Nova Science Publishers**, 25 p., 2009.

FRANCA, A. S., OLIVEIRA, L. S. Chapter 8 – Coffee Processing Solid Wastes: Current Uses and Future Perspectives. **Nova Science Publishers**, 35 p., 2009.

GARCIA, E. L. **Composição dos Tubérculos, Extração e Caracterização de Amidos de Diferentes Cultivares de Batata**. Dissertação de Mestrado. São Paulo: UNESP, 93 p., Batucatu, 2013.

GARCÍA-DÍEZ, J., ALHEIRO, J., PINTO, A. L., SOARES, L., FALCO, V., FRAQUEZA, M. J., PATARATA, L. Behaviour of food-borne pathogens on dry cured sausage manufactured with herbs and spices essential oils and their sensorial acceptability. **Food Control**, v. 59, 262 – 270 p., 2016.

GAVA, A. J. **Princípios de Tecnologia de Alimentos**. São Paulo: Nobel, 1 ed. 284 p., 1998.

GONÇALVES, J. A. G. ZAMBOM, M. A., FERNANDES, T., MESQUITA E. E., SCHIMIDT, E., JAVORSKI, C. R., CASTAGNARA, D. D. Chemical composition and profile of the fermentation of cassava starch by – products silage. **Bioscience Journal**, v. 30, n. 2, 502 – 511 p., 2014.

GOUVEIA, A. R., ALVES, M., SILVA, J. A., SARAIVA, C. The antimicrobial effect of Rosemary and thyme essential oils against *Listeria monocytogenes* in *Sous Vide* cook-chill beef during storage. **Procedia Food Science**, v. 7, 173 – 176 p., 2016.

GUTTMAN, A. Analysis of monosaccharide composition by capillary electrophoresis. **Journal of Chromatography A**, v. 763, n. 1 – 2, 271 – 277 p., 1997.

HASHIZUME, M., OHASHI, M., KOBAYASHI, H., TSUJI, Y., IJIMA, K. Free-standing polysaccharide composite films: improved preparation and physical properties. **Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects**, n. 483, 18 – 24 p., 2015.

HAYASHI, T. Xyloglucans In The Primary Cell Wall. **Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology**. 139 – 168 p., 1989.

HERNANDEZ, D. P., JARAMILLO, C. M., CÓRDOBA, A. L., GOYANES, S., Edible cassava starch films carrying Rosemary antioxidant extracts for potential use as active food packaging. **Food Hydrocolloids**, v. 63, 488 – 495 p., 2017.

HOSTINOVÁ, E., SOLOVICOVÁ, A., DVORSKÝ, R., GASPERÍK, J. Molecular cloning and 3D structure prediction of the first raw-starch-degrading

glucoamylase without a separate starch-binding domain. **Archives of Biochemistry and Biophysics**, v. 411, 189 – 195 p., 2003.

IAHNKE, A. O. S., COSTA, T. M. H., RIOS, A. O., FLÔRES, S. H. Residues of minimally processed carrot and gelatina capsules: potential materials for packaging films. **Industrial Crops and Products**, n. 76, 1071 – 1078 p., 2015.

INSTITUTO ADOLFO LUTZ. **Métodos físico-químicos para análise de alimentos**. Coordenadores Odair Zenebon, Neus Sadocco Pascuet e Paulo Tiglea. São Paulo: Instituto Adolfo Lutz, 4 ed., 1020 p., 2008.

JANJARASSKUL, T., KROCHTA, J. M. Edible packaging materials. **Annual Review of Food Science and Technology**, v. 1, 415 – 448 p., 2010.

JOHNSON, R., PADMAJA, G., MOORTHY, S. N. Comparative production of glucose and high fructose syrup from cassava potato roots by direct conversion techniques. **Innovative Food and Emerging Technologies**, v. 10, 616 – 620 p., 2009.

JUNEJA, V. K., DWIVEDI, H. P., YAN, X. Novel natural food antimicrobials. **Annual Review of Food Science and Technology**, v. 3, 381 – 403 p., 2012.

JUNIOR, C. J. F. O., BRAGA, M. R., BUCKERIDGE, M. S. Isolamento de oligossacarídeos de xiloglucano de dicotiledôneas através de hidrólise enzimática e cromatografia de exclusão molecular. **Revista Brasil Botânica**, v. 29, n. 3, 391 – 397 p., 2006.

KAJIWARA, S., MAEDA, H. The monosaccharide composition of cell wall material in cassava tuber (*Manihot utilissima*). **Agricultural and Biological Chemistry**, v. 47, n. 10, 2335 – 2340 p., 1983.

KENNY, O., SMYTH, T. J., WALSH, D., KELLEHER, C. T., HEWAGE, C. M., BRUNTON, N. P. Investigating the potential of under-utilised plants from the Asteraceae family as a source of natural antimicrobial and antioxidant extracts. **Food Chemistry**, v. 161, 79 – 86 p., 2014.

KETIKU, A. O., OYENUGA, V. A. **Journal of Food Science and Agriculture**, v. 23, 1451 p., 1972.

LAJOLO, F. M., MENEZES, E. W. **Carbohidratos en Alimentos Regionales Iberoamericanos**. São Paulo: EDUSP, 646 p., 2006.

LAZARIDOU, A., CHORNICK, T., BILIADERIS, C. G., IZYDORCZYK, M. S. Composition and molecular structure of polysaccharides released from barley endosperm cell walls by sequential extraction with water, malt enzymes, and alkali. **Cereal Science**, n. 48, 304 – 318 p., 2008.

LODI, G., PELLEGRINI, L. A., ALIVERTI, A., TORRES, B. R., BERNARDI, M., MORBIDELLI, M., STORTI, G. Recovery of monosaccharides from lignocellulosic hydrolysates by ion exclusion chromatography. **Journal of Chromatography A**, v. 1496, 25 – 36 p., 2017.

LÓPEZ, O. V.; GARCÍA, M. A. Starch films from a novel (*Pachyrhizus ahipa*) and conventional sources: development and characterization. **Materials Science and Engineering C**, n. 32, 1931 – 1940 p., 2012.

LÓPEZ, O. V., VERSINO, F., VILLAR, M. A., GARCÍA, M. A. Agro-industrial residue from starch extraction of *Pachyrhizus ahipa* as filler of thermoplastic corn starch films. **Carbohydrate Polymers**, n. 134, 324 – 332 p., 2015.

LUCHESI, C. L., SPADA, J. C., TESSARO, I. C. Starch content affects physicochemical properties of corn and cassava starch-based films. **Industrial Crops & Products**, v. 109, p. 619 – 626, 2017.

MANSO, S., PEZO, D., GÓMEZ-LUZ, R., NERÍN, C. Diminution of aflatoxin B1 production caused by an active packaging containing cinnamon essential oil. **Food Control**, v. 45, 101 – 108 p., 2014.

MARQUES, J. A., DO PRADO, I. N., ZEOULA, L. M., ALCADE, C. R., DO NASCIMENTO, W. G. Avaliação da mandioca e seus resíduos industriais em substituição ao milho no desempenho de novilhas confinadas. **Revista Brasileira de Zootecnia**, n. 29, v. 5, 1528 – 1536 p., 2000.

MARQUES, J. A., MAGGIONI, D. **Utilização dos subprodutos da mandioca na alimentação de ruminantes**. Cruz das Almas: UFRB, 16 p., Bahia, 2010.

MASCHERONI, E., GUILLARD, V., NALIN, F., MORA, L., PIERGIOVANNI, L. Diffusivity of propolis compounds in Poly(lactic acid) polymer for the development

of anti-microbial packaging films. **Journal of Food Engineering**, n. 98, p. 294 – 301, 2010.

MATAN, N., RIMKEEREE, H., MAWSON, A. J., CHOMPREEEDA, P., HARUTHAITANASAN, V., PARKER, M. Antimicrobial activity of cinnamon and clove oils under modified atmosphere conditions. **International Journal of Food Microbiology**, v 107, n. 2, 180 – 185 p., 2006.

MELTON, L. D., SMITH, B. G. **Current Protocols in Food Analytical Chemistry**. Unit E3.2.1 – Determination of Neutral Sugars by Gas Chromatography of Their Alditol Acetates. John Wiley & Sons Inc., 2001.

MINOLTA. **Precise Color Communication – Color Control From Perception To Instrumentation**. Konica Minolta Inc., Japan, 2007.

NELSON, D. L., COX, M. M. **Princípios de Bioquímica de Lehninger**; [tradução: Ana Beatriz Gorini da Veiga... et al.]; revisão técnica: Carlos Termignoni... [et al.]. Porto Alegre: Artmed, 6 ed., 2014.

NENADÁLOVÁ, S., BALIK, L., RYDVAL, M., BITTNER, T. Laboratory verification of water vapour permeability of plaster compositions. **Procedia Engineering**, v. 151, p. 50 – 57, 2016.

NETO, J. C. O., HOLANDA, C. A., SANTANA, S. A. A., BEZERRA, C. W. B., SILVA, H. A. S. Adsorção do corante turquesa remazol por casca de mandioca (*Manihot esculenta Crantz*). **Caderno de Pesquisa**, v. 20, n. especial, 2013.

NISAR, T., WANG, S. C., YANG, X., TIAN, Y., IQBAL, M., GUO, Y. Characterization of citrus pectin films integrated with clove bud essential oil: physical, thermal, barrier, antioxidant and antibacterial properties. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 106, 670 – 680 p., 2018.

NUWAMANYA, E., BAGUMA, Y., EMMAMBUX, N., TAYLOR, J., PATRICK, R. Physicochemical and functional characteristics of cassava starch in Ugandan varieties and their progenies. **Journ. Of Plant Breeding and Crop Science**, v. 2, n. 1, 1 – 11 p., 2010.

PERDONES, A., VARGAS, M., ATARÉS, L., CHIRALT, A. Physical, antioxidant and antimicrobial properties of chitosan – cinnamon leaf oil films as affected by oleic acid. **Food Hydrocolloids**, v. 36, 256 – 264 p., 2014.

PEREIRA, J. M. **Oxidação do amido de milho com hipoclorito de sódio e peróxido de hidrogênio**. Monografia. Campo Mourão: Universidade Tecnológica Federal do Paraná, 48 p., Paraná, 2014.

PLYUTA, V., J. ZAITSEVA, J., E. LOBAKOVA, E., N. ZAGOSKINA, N., A. KUZNETZOV, A., KHMEL, I. Effect of plant phenolic compounds on biofilm formation by *Pseudomonas aeruginosa*. **APMIS**, v.121, 1073–1081 p., 2013.

POOMIPUK, N., REUNGSANG, A., PLANGKLANG, P. Poly- β -hydroxyalkanoates production from cassava starch hydrolysate by *Cupriavidus* sp. KKU38. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 65, 51 – 64 p., 2014.

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

RABÊLO, W. F. **Caracterização Química, Toxicidade e Avaliação da Atividade Antibacteriana do Óleo Essencial do Cravo-da-Índia (*Syzygium aromaticum*)**. Dissertação de Mestrado. São Luis: UFMA, 79 p., 2010.

RAZZAQ, H. A. A., PEZZUTO, M., SANTAGATA, G., SILVESTRE, C., CIMMINO, S., LARSEN, N., DURACCIO, D. Barley β -glucan-protein based bioplastic film with enhanced physicochemical properties for packaging. **Food Hydrocolloids**, v. 58, 276 – 283 p., 2016.

REALINI, C. E., MARCOS, B. Active and intelligent packaging systems for a modern Society. **Meat Science**, 41 p. 2014.

RIBEIRO-SANTOS, R., ANDRADE, M., DE MELO, N. R., SANCHES-SILVA, A. Use of essential oils in active food packaging: recent advances and future trends. **Trends in Food Science & Technology**, v. 61, 132 – 140 p., 2017.

ROCHA, T. S., DEMIATE, I. M., FRANCO, C. M. L. Características físico-químicas de amidos de mandioca-salsa (*Arracacia xanthorrhiza*). **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 28, n. 3, 620 – 628 p., 2008.

ROHANI, S. M. R., MORADI, M., MEHDIZADEH, T., SAEI-DEHKORDI, S. S., GRIFFITHS, M. W. The effect of nisin and garlic (*Allium sativum* L.) essential oil separately and in combination on the growth of *Listeria monocytogenes*. **LWT – Food Science and Technology**, v. 44, 2260 – 2265 p., 2011.

ROLLER, S. The quest for natural antimicrobials as novel means of food preservation: status report on a European research project. **International Biodeterioration & Biodegradation**, 333 – 345 p., 1996.

ROMPOTHI, O., PRADIPASENA, P., TANANUWONG, K., SOMWANGTHANAROJ, A., JANJARASSKUL, T. Development of non-water soluble, ductile mung bean starch based edible film with oxygen barrier and heat sealability. **Carbohydrate Polymers**, v. 157, p. 748 – 756, 2017.

SÁ, C. R. L., SILVA, E. O., TERAPO, D., OSTER, A. H. Efeito do KMnO₄ e 1-MCP com atmosfera modificada na conservação pós-colheita de melão Cantaloupe. **Revista de Ciência e Agronomia**, v. 39, n. 01, 60 – 69 p., 2008.

SALARBASHI, D., MORTAZAVI, S. A., NOGHABI, M. S., BAZZAZ, B. S. F., SEDAGHAT, N., RAMEZANI, M., GHAFHARROKHI, I. S. Development of new active packaging film made from a soluble soybean polysaccharide incorporating ZnO nanoparticles. **Carbohydrate Polymers**, n. 140, 220 – 227 p., 2016.

SALVADOR, L. D., SUGANUMA, T., KITAHARA, K., TANOUE, H., ICHIKI, M. Monosaccharide composition of sweetpotato fiber and cell wall polysaccharides from sweetpotato, cassava, and potato analyzed by the high-performance anion Exchange chromatography with pulsed amperometric detection method. **J. Agric. Food Chemistry**, v. 48, 3448 – 3454 p., 2000.

SCHNEEMAN, B. O. Dietary fiber: Physical and chemical properties, methods of analysis, and physiological effects. **Food Technology**, v. 40, 104 – 110 p., 1986.

SEBAALY, C., JRAIJ, A., FESSI, H., CHARCOSSET, C., GREIGE-GERGES, H. Preparation and characterization of clove essential oil-loaded liposomes. **Food Chemistry**, v. 178, 52 – 62 p., 2015.

SELIGRA, P. G., JARAMILLO, C. M., FAMÁ, L., GOYANES, S. Biodegradable and non-retrogradable eco-films based on starch-glycerol with citric acid as crosslinking agent. **Carbohydrate Polymers**, n. 138, 66 – 74 p., 2016.

SELVENDRAN, R. R., RYDEN, P. Isolation and Analysis of Plant Cell Walls. **Methods In Plant Biochemistry, Vol. 2, Carbohydrates**. Londres: Academic Press, 549 – 579 p., 1990.

SHIN, Y. J., SONG, H. Y., SONG, K. B. Effect of a combined treatment of rice bran protein film packaging with aqueous chlorine dioxide washing and ultravioleta-C irradiation on the postharvest quality of 'Goha' satrawberries. **Journal fo Food EGINEERING**, n. 113, 374 – 379 p., 2012.

SILVA, J. P. L., ALMEIDA, J. M. D., PEREZ, D. V., FRANCO, B. D. G. de M. Óleo essencial de orégano: interferência da composição química na atividade frente a *Salmonella* Enteritidis. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 30, 136 – 141 p., 2010.

SILVA, M. C., DE SOUZA, V. B., THOMAZINI, M., DA SILVA, E. R., SMANIOTTO, T., DE CARVALHO, R. A., GENOVESE, M. I., FAVARO-TRINDADE, C. S. Use of the jabuticaba (*Myrciaria cauliflora*) depulping residue to produce a natural pigment poder with functional properties. **LWT – Food Science and Technology**, n. 55, 203 – 209 p., 2014.

SILVA, M. T. N.; USHIMARU, P. I., BARBOSA, L. N., CUNHA, M. L. R. S., FERNANDES JUNIOR, A. Antibacterial activity of plant essential oils against *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli* strains isolated from human specimens. **Revista Brasileira de Plantas Medicinai**s, v. 11, n. 3, 257 – 262 p., 2009.

SLAVUTSKY, A. M., BERTUZZI, M. A. A phenomenological and thermodynamic study of the water permeation process in corn starch/MMT films. **Carbohydrate Polymers**, n.90, v. 1, p. 551 – 557, 2012.

SLAVUTSKY, A. M., BERTUZZI, M. A. Improvement of water barrier properties of starch films by lipid nanolamination. **Food Packaging and Shelf Life**, v. 7, p. 41 – 46, 2016.

SONG, N. B., SONG, H. Y., JO, W. S., SONG, K. B. Physical properties of composite film containing sunflower seed meal protein and its application in packaging smoked duck meat. **Journal of Food Engineering**, n. 116, 789 – 795 p., 2013.

SOROKIN, A. B., SOROKINA, S. L. K., DONZÉ, C., PINEL, C., GALLEZOT, P. From native starch to hydrophilic and hydrophobic products: a catalytic approach. **Topics in Catalysis**, v. 27, n. 1 – 4, 67 – 76 p., 2004.

SUNG, S. Y., SIN, L. T., TEE, T. T., BEE, S. T., RAHMAT, A. R. Effects of *Allium sativum* essence oil as antimicrobial agent for food packaging plastic film. **Innovative Food Science and Emerging Technologies**, v. 14, 41 p., 2014.

THAPA, D., LOSA, R., ZWEIFEL, B., WALLACE, R. J. Sensitivity of pathogenic and commensal bacteria from the human colon to essential oils. **Microbiology**, v. 158, 2870 – 2877 p., 2012.

THEANDER, O.; AMAN, P. Studies on dietary fibers. 1. Analysis and chemical characterization of water-soluble and water-insoluble dietary fibers. **Swedish J. Agric. Res.**, v. 9, 97 – 106 p., 1979.

TRIGO, J. M., ALBERTINI, S., SPOTO, M. H. F., SARMENTO, S. B. S., REYES, A. E. L., SARRIÉS, G. A. Efeito de revestimentos comestíveis na conservação de mamões minimamente processados. **Brazilian Journal os Food Technology**, v. 15, n. 2, 125 – 133 p., 2012.

TSAI, W. T., LIU, S. C., HSIEH, C. H., Preparation and fuel properties of biochars from the pyrolysis of exhausted coffee residue. **Journal of Analytical and Applied Pyrolysis**, n. 93, 63 – 67 p., 2012.

TUMWESIGYE, K. S., OLIVEIRA, J. C., SOUSA-GALLAGHER, M. J. New sustainable approach to reduce cassava borne environmental waste and develop biodegradable materials for food packaging applications. **Food Packaging and Shelf Life**, n. 7, 8 – 19 p., 2016.

TURINA, A.V., NOLAN, M.V., ZYGADLO, J.A., PERILLO, M.A., Natural terpenes: self-assembly and membrane partitioning. **Biophysics Chemistry**, v. 122, p.101–113, 2006.

UGALDE, M. L. **Biofilmes Ativos Com Incorporação de Óleos Essenciais**. Tese de Doutorado. Erechin: Universidade Regional Integrada, 168 p., 2014.

VASANTHAN, T. Unit E2.1 - Overview of Laboratory Isolation of Starch from Plant Materials. **Current Protocols in Food Analytical Chemistry**. Wiley & Sons, 1199 p., 2001.

VEIGA, J. P. S., VALLE, T. L. FELTRAN, J. C., BIZZO, W. A. Characterization and productivity of cassava waste and its use as an energy source. **Renewable Energy**, v. 93, 691 – 699 p., 2016.

VU, H. P. N., LUMDUBWONG, N. Starch behaviors and mechanical properties of starch bend films with different plasticizers. **Carbohydrate Polymers**, v. 154, p. 112 – 120, 2016.

WANG, X., ZHANG, L., WU, J., XU, W., WANG, X., LU, X. Improvement of simultaneous determination of neutral monosaccharides and uronic acids by gas chromatography. **Food Chemistry**, v. 220, 198 – 207 p., 2017.

WARREN, F. J., GIDLEY, M. J., FLANAGAN, B. Infrared spectroscopy as a tool to characterize starch ordered structure – a joint FTIR-ATR, NMR, XRD and DSC study. **Carbohydrate Polymers**, 139 v., 35 – 42 p., 2016.

WECD – World Commission on Environment and Development. **Our common future**. Oxford University Press, Oxford, 1987.

ZHANG, Z., KHAN, N. M., NUNEZ, K. M., CHESS, E. K., SZABO, C. M. Complete monosaccharide analysis by high-performance anion-exchange chromatography with pulsed amperometric detection. **Analytical Chemistry**, v. 84, n. 9, 4104 – 4110 p., 2012.