UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS
FACULDADE DE ENGENHARIA DE ALIMENTOS
DEPARTAMENTO DE ENGENHARIA DE ALIMENTOS

BIOFILMES DE FARINHA DE AMARANTO ADICIONADOS DE ÁCIDO ESTEÁRICO: ELABORAÇÃO E APLICAÇÃO EM MORANGOS FRESCOS (FRAGARIA ANANASSA)

PARECER

Este exemplar corresponde à redação final da tese defendida por **Eliane Colla**, aprovada pela Comissão Julgadora em 15 de abril de 2004.

Campinas, 15 de abril de 2004.

Profa. Dra. Florência Cecília Menegalli
Presidente da Banca

Eliane Colla
Engenheira de Alimentos

Profª Drª Florencia Cecilia Menegalli
Orientadora

Prof. Dr. Paulo José do Amaral Sobral
Co-orientador

Dissertação apresentada à Faculdade de Engenharia de Alimentos da Universidade Estadual de Campinas para a obtenção do Título de Mestre em ENGENHARIA DE ALIMENTOS.

Campinas, março de 2004.

UNICAMP
BIBLIOTECA CENTRAL
SEÇÃO CIRCULANTE

UNIDADE BC
Nº CHAMADA T/UNICAMP
C683b
V ____ EX
TOMBO BC/ 58723
PROC. 16.127.04
C ☐ D ☒
PREÇO 11,00
DATA 24-08-04
Nº CPD ____

CM00198427-4
BIB ID 317983

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA
BIBLIOTECA DA F.E.A. – UNICAMP

C683b

Colla, Eliane
Biofilmes de farinha de amaranto adicionados de ácido esteárico: elaboração e aplicação em morangos frescos (*Fragaria Ananassa*) / Eliane Colla.—Campinas, SP: [s.n.], 2004.

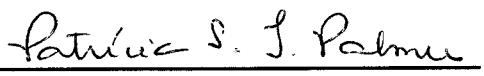
Orientador: Florência Cecília Menegalli
Co-orientador: Paulo José do Amaral Sobral
Dissertação (mestrado) – Universidade Estadual de Campinas.Faculdade de Engenharia de Alimentos.

1.Biofilmes. 2.Amaranto. 3..Ácido esteárico. 4.*Coberturas. I.Menegalli, Florencia Cecilia. II.Sobral, Paulo José do. III.Universidade Estadual de Campinas.Faculdade de Engenharia de Alimentos. IV.Título.

BANCA EXAMINADORA

Profª Drª Florencia Cecilia Menegalli
ORIENTADORA - DEA-FEA/UNICAMP

Prof. Dr. Carlos Raimundo Ferreira Grosso
DEPAN - FEA/UNICAMP



Drª Patrícia Tanada Palmu
DEA-FEA/UNICAMP

Profª. Drª. Sílvia Almeida de Souza
CCTA-UENF

"O que se tem, pode-se perder; normalmente passa de mão, preocupa e desaparece. Todavia, o que se é, quanto às conquistas morais e aos títulos espirituais, tem sabor de eternidade".

(Joanna de Angelis- Divaldo Pereira Franco)

"O ponto delicado do sentimento é o amor; não o amor no sentido vulgar do termo, mas esse sol interior que condensa e reúne em seu ardente foco todas as aspirações e todas as revelações sobre-humanas. A lei de amor substitui a personalidade pela fusão dos seres; extingue as misérias sociais. Ditoso aquele que, ultrapassando a sua humanidade, ama com amplo amor os seus irmãos em sofrimento! Ditoso aquele que ama, pois não conheça a miséria da alma, nem a do corpo"

(O Evangelho Segundo o Espiritismo - "A lei de amor")

Aos meus pais, Antônio e Ana, e a minha irmã Luciane, por compartilharem comigo esta existência, pela presença em todos os momentos, pelo incentivo e carinho.

Ao meu querido Dani, por me amar.

Dedico

AGRADECIMENTOS

A Deus, pela valiosa oportunidade de vida, por todas as conquistas e, sobretudo, por me presentear com minha família e preencher meu coração com a sua divina luz;

Aos meus queridos e amados pais, Ana e Antônio, por tornarem bela e feliz a minha existência, por proporcionarem o meu crescimento sob o véu do amor, pela harmonia, paciência e aconchego no lar; por terem me ensinado as virtudes da humildade, força de vontade e coragem;

A minha irmã Luciane, pelo apoio constante, pelo exemplo de dedicação ao trabalho, por sempre procurar abrir os meus caminhos, pelos momentos felizes na infância...

Ao amor da minha vida, Daniel, por todos estes anos de confiança, admiração e respeito, por ser um pedaço de mim, pelo amor sincero....obrigada pela coragem na vinda à Campinas para que pudéssemos juntos viver;

A minha orientadora Florência, pela amizade e profissionalismo com os quais pude contar nesta importante etapa;

Ao Prof. Dr. Paulo do Amaral Sobral, pela co-orientação deste trabalho;

Aos membros da banca, pelas valiosas críticas e sugestões no aprimoramento deste trabalho;

Aos colegas do LEP pelo coleguismo, a Delia por todo auxílio prestado, a Joyce e D. Ana;

A CAPES, que desde a minha graduação concede apoio financeiro na forma de bolsa de estudos;

A Nirse, pela amizade sincera, pela companhia, carinho e respeito;

Aos amigos especiais que conheci em Campinas, Lu, Camila, Bia e Lineu, e aos amigos da FURG, obrigada por esses agradáveis anos de convívio;

A UNICAMP e ao Departamento de Engenharia de Alimentos desta faculdade, por possibilitar a complementação da minha formação.

ÍNDICE GERAL

ÍNDICE DE TABELAS x
ÍNDICE DE FIGURAS xii
RESUMO xv
SUMMARY xvii

1 INTRODUÇÃO 1

2 OBJETIVOS 3
2.1 OBJETIVO GERAL 3
2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS 3

3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA 4
3.1 AMARANTO 4
3.1.1 COMPOSIÇÃO DOS GRÃOS DE AMARANTO 5
3.1.2 CARACTERÍSTICAS DO AMIDO E PROTEÍNA DE AMARANTO 6
3.2 FILMES E COBERTURAS BIODEGRADÁVEIS: GENERALIDADES E APLICAÇÕES .. 8
3.3 COMPONENTES ESSENCIAIS E PROCESSO DE ELABORAÇÃO DE BIOFILMES ... 11
3.4 PROPRIEDADES DOS BIOFILMES 12
3.5 BIOFILMES DE AMIDO E PROTEÍNA 14
3.6 ADIÇÃO DE COMPONENTES LIPÍDICOS EM BIOFILMES 15
3.7 APLICAÇÃO DE COBERTURAS COMESTÍVEIS EM FRUTAS FRESCAS 18

4 MATERIAL E MÉTODOS 21
4.1 MATÉRIA PRIMA 21
4.2 PRODUÇÃO DA FARINHA E ISOLAMENTO DO AMIDO DE AMARANTO 21
4.3 CARACTERIZAÇÃO DO AMIDO E FARINHA DE AMARANTO 22
4.3.1 ANÁLISE DA COMPOSIÇÃO 22
4.3.2 ÍNDICE DE INCHAMENTO E SOLUBILIDADE 23
4.3.3 ANÁLISES TÉRMICAS DO AMIDO E FARINHA DE AMARANTO 24
4.3.4 MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE VARREDURA 25
4.4 ELABORAÇÃO DOS BIOFILMES DE FARINHA DE AMARANTO ADICIONADOS DE ÁCIDO ESTEÁRICO 25
4.4.1 PLANEJAMENTO EXPERIMENTAL 25
4.4.2 TÉCNICA DE PREPARAÇÃO DOS BIOFILMES 28
4.4.3 CARACTERIZAÇÃO DOS FILMES 29
4.4.3.1 Força e deformação de ruptura em teste de perfuração 29

4.4.3.2 Força e deformação na ruptura em teste de tração 30
4.4.3.3 Solubilidade em água 30
4.4.3.4 Permeabilidade ao vapor de água 31
4.4.3.5 Permeabilidade ao oxigênio 32
4.5 APLICAÇÃO - EFEITO DE COBERTURA COMPOSTA DE FARINHA DE AMARANTO E ÁCIDO ESTEÁRICO SOBRE A QUALIDADE DE MORANGOS (*FRAGARIA ANANASSA*) REFRIGERADOS 33
4.5.1 PREPARAÇÃO DAS AMOSTRAS 33
4.5.2 TRATAMENTOS 33
4.5.3 ANÁLISES DOS FRUTOS 34
4.5.3.1 Decaimento microbiológico 34
4.5.3.2 Perda de peso 34
4.5.3.3 Firmeza 34
4.5.3.4 Desenvolvimento superficial de cor 35
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO 36
5.1 CARACTERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA DO AMIDO E FARINHA DE AMARANTO 36
5.1.1 COMPOSIÇÃO FÍSICO-QUÍMICA 36
5.1.2 ÍNDICE DE INCHAMENTO E SOLUBILIDADE 37
5.1.3 ANÁLISES TÉRMICAS 40
5.1.4 MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE VARREDURA (MEV) 41
5.2 ELABORAÇÃO DOS BIOFILMES DE FARINHA DE AMARANTO ADICIONADOS DE ÁCIDO ESTEÁRICO 45
5.2.1 PROCESSO DE ELABORAÇÃO 45
5.2.1.1 Efeito da base ajustadora de pH 45
5.2.1.2 Definição da máxima concentração de ácido esteárico 47
5.2.2 RESULTADOS DO PLANEJAMENTO FATORIAL COMPLETO 2^3 48
5.2.3 SOLUBILIDADE 50
5.2.4 PERMEABILIDADE AO VAPOR DE ÁGUA 54
5.2.5 FORÇA E DEFORMAÇÃO DE RUPTURA EM TESTE DE PERFURAÇÃO 61
5.2.6 PROPRIEDADES MECÂNICAS EM TESTE DE TRAÇÃO 68
5.2.6.1 Tensão de ruptura 68
5.2.6.2 Elongação de ruptura 70
5.2.6.3 Módulo de Young (módulo de elasticidade) 72
5.2.6.4 Discussão global e análise das superfícies de resposta para a tensão e elongação de ruptura 75

5.2.7 DEFINIÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DA FORMULAÇÃO OTIMIZADA *81*

5.3 APLICAÇÃO DE COBERTURAS A BASE DE FARINHA DE AMARANTO E ÁCIDO ESTEÁRICO EM MORANGOS FRESCOS (*FRAGARIA ANANASSA*) 85

5.3.1 CARACTERIZAÇÃO VISUAL DAS COBERTURAS *85*

5.3.2 DECAIMENTO MICROBIOLÓGICO *95*

5.3.3 PERDA DE PESO *96*

5.3.4 FORÇA DE RUPTURA (FIRMEZA) *99*

5.3.5 DESENVOLVIMENTO SUPERFICIAL DE COR *100*

6 CONCLUSÕES 102

7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS 105

8 ANEXOS 116

ÍNDICE DE TABELAS

Tabela 1- Variáveis do planejamento experimental, níveis reais e codificados..... 26
Tabela 2- Planilha de experimentos do Planejamento Fatorial Completo 2^3..... 27
Tabela 3- Resultados da caracterização físico-química do Amido e Farinha de Amaranto..... 36
Tabela 4- Resultados para a temperatura de gelatinização do amido e farinha de amaranto..... 40
Tabela 5- Efeito da base ajustadora de pH nas propriedades mecânicas e de permeabilidade ao vapor de água dos biofilmes..... 47
Tabela 6- Resultados do planejamento experimental Fatorial Completo 2^3..... 48
Tabela 7- Resultados da espessura e a umidade final dos biofilmes..... 49
Tabela 8- Efeito dos fatores estudados para a resposta de Solubilidade (%)..... 50
Tabela 9- Coeficientes de regressão e níveis de significância do modelo para a Solubilidade..... 51
Tabela 10- ANOVA do ajuste do modelo obtido para a Solubilidade dos biofilmes..... 51
Tabela 11- Efeito dos fatores estudados para a resposta de Permeabilidade ao Vapor de Água (g.mm/h.m^2.kPa)..... 54
Tabela 12- Coeficientes de regressão e níveis de significância do modelo para a Permeabilidade ao Vapor de Água..... 56
Tabela 13- ANOVA do modelo obtido para a Permeabilidade ao Vapor de Água dos biofilmes..... 57
Tabela 14- Efeito dos fatores estudados para a resposta de Força de Ruptura (N).... 62
Tabela 15- Efeito dos fatores estudados sobre a Deformação de Ruptura (%)..... 63
Tabela 16- Coeficientes de regressão do modelo para a Força de Ruptura (N)..... 63
Tabela 17- Coeficientes de regressão do modelo para Deformação de Ruptura (%).. 63
Tabela 18- ANOVA do modelo estatístico para a Força de Ruptura dos biofilmes..... 64
Tabela 19- ANOVA do modelo estatístico obtido para a Deformação de Ruptura dos biofilmes..... 64
Tabela 20- Efeitos dos fatores estudados sobre a Tensão de Ruptura (MPa)..... 68
Tabela 21- Coeficientes de regressão e níveis de significância do modelo para a tensão de ruptura..... 69
Tabela 22- ANOVA do modelo estatístico para a Tensão de Ruptura dos biofilmes..... 69
Tabela 23- Efeito dos fatores estudados sobre a Elongação de Ruptura (%)..... 71

Tabela 24- Coeficientes de regressão do modelo para Elongação de Ruptura (%).... 71
Tabela 25- ANOVA do modelo estatístico obtido para a Elongação de Ruptura dos biofilmes..... 72
Tabela 26- Efeitos dos fatores estudados sobre o Módulo de Young (MPa)..... 73
Tabela 27- Coeficientes de regressão do modelo para o Módulo de Young (MPa)..... 74
Tabela 28- ANOVA do modelo estatístico para o Módulo de Young dos biofilmes..... 74
Tabela 29- Caracterização do biofilme composto de farinha de amaranto e ácido esteárico obtido de acordo com a formulação otimizada..... 82

INDICE DE FIGURAS

Figura 1- Aparência das plantas de Amaranthus cruentus..... 5

Figura 2- Permeabilidade ao vapor de água de biofilmes de metilcelulose adicionados de ácidos graxos a três gradientes de umidade relativa e 22,6ºC..... 17

Figura 3- Fluxograma de extração do Amido e Farinha de Amaranto..... 22

Figura 4- Sistema para determinação de deformação em teste de perfuração..... 30

Figura 5- Corpos de prova para teste de tração (esquema)..... 30

Figura 6- Esquema do dispositivo para determinação da permeabilidade ao vapor de água..... 32

Figura 7- Índices de Inchamento ($gH_2O/g_{amostra}$) (a) e Solubilidade (b) do amido e farinha de amaranto, e amido de milho, em função da temperatura..... 39

Figura 8- Estrutura microscópica do grão de *Amaranthus cruentus* (MEV): (a) Visão global do grão seccionado; aumento de 250x. (b) Perisperma do grão; aumento de 6000x..... 43

Figura 9- Amido de amaranto isolado; aumento de 6000x. (I) = complexo de amido, lipídeos e proteínas não removidas no processo de isolamento..... 44

Figura 10- Farinha de amaranto isolada; aumento de 6000x. (II) = complexo de amido, lipídeos e proteínas..... 44

Figura 11- Representação esquemática das forças de interação não covalentes entre as cadeias protéicas e bases iônicas..... 46

Figura 12- Superfície de resposta e curva de contorno para a Solubilidade (%) em função da concentração de ácido esteárico (C.AE) e glicerol (C.Gli), com o valor de velocidade de agitação fixo em 10000rpm..... 52

Figura 13- Superfície de resposta e curva de contorno para a PVA ($g.mm/h.m^2.kPa$) em função da concentração de ácido esteárico (C.AE) (%) e glicerol (C.Gli) (%), com o valor de velocidade de agitação fixo em 10000rpm..... 58

Figura 14- Superfície de resposta e curva de contorno para a PVA ($g.mm/h.m^2.kPa$) em função da concentração de ácido esteárico (C.AE) (%) e velocidade de agitação (VA) (rpm), com concentração de glicerol fixa em 30%..... 58

Figura 15- Superfície de resposta e curva de contorno para a PVA ($g.mm/h.m^2.kPa$) em função da concentração de glicerol (C.Gli) (%) e velocidade de agitação (VA) (rpm), com concentração de ácido esteárico fixa em 10%.... 58

Figura 16- Superfície de resposta e curva de contorno para a força de ruptura (N) em função da concentração de glicerol (C.Gli) (%) e de ácido esteárico (C.AE) (%), com velocidade de agitação fixa em 10000rpm..... 66

Figura 17- Superfície de resposta e curva de contorno para a força de ruptura (N) em função da concentração de ácido esteárico (C.AE) (%) e velocidade de agitação (VA) (rpm), com concentração de glicerol fixa em 30%..... 66

Figura 18- Superfície de resposta e curva de contorno para a força de ruptura (N) em função da velocidade de agitação (VA) (rpm) e da concentração de glicerol (C.Gli) (%), com concentração de ácido esteárico fixa em 10%..... 66

Figura 19- Superfície de resposta e curva de contorno para a deformação de ruptura (%) em função da concentração de glicerol (C.Gli) (%) e de ácido esteárico (C.AE) (%), com velocidade de agitação fixa em 10000rpm..... 67

Figura 20- Superfície de resposta e curva de contorno para a deformação de ruptura (%) em função da concentração de ácido esteárico (C.AE) (%) e velocidade de agitação (VA) (rpm) (C.Gli fixa em 30%)..... 67

Figura 21- Superfície de resposta e curva de contorno para a deformação de ruptura (%) em função da velocidade de agitação (VA) (rpm) e da concentração de glicerol (C.Gli) (%) (C.AE fixa em 10%)..... 67

Figura 22- Superfície de resposta e curva de contorno para a tensão de ruptura (MPa) em função da concentração de glicerol (C.Gli) (%) e de ácido esteárico (C.AE) (%), com velocidade de agitação fixa em 10000rpm..... 79

Figura 23- Superfície de resposta e curva de contorno para a tensão de ruptura (MPa) em função da concentração de ácido esteárico (C.AE) (%) e velocidade de agitação (VA) (rpm) (C.Gli fixa em 30%)..... 79

Figura 24- Superfície de resposta e curva de contorno para a tensão de ruptura (MPa) em função da velocidade de agitação (VA) (rpm) e da concentração de glicerol (C.Gli) (%) (C.AE fixa em 10%)..... 79

Figura 25- Superfície de resposta e curva de contorno para a elongação de ruptura (%) em função da concentração de glicerol (C.Gli) (%) e de ácido esteárico (C.AE) (%), com velocidade de agitação fixa em 10000rpm..... 80

Figura 26- Superfície de resposta e curva de contorno para a elongação de ruptura (%) em função da concentração de ácido esteárico (C.AE) (%) e velocidade de agitação (VA) (rpm) (C.Gli fixa em 30%)..... 80

Figura 27- Superfície de resposta e curva de contorno para a elongação de ruptura (%) em função da velocidade de agitação (VA) (rpm) e concentração de glicerol (C.Gli) (%), com concentração de ácido esteárico fixa em 10%..... 80

Figura 28- Morangos não recobertos ("Controle") nos tempos de 2 (a), 13 (b), 16 (c) e 21(d) dias de armazenamento..... 89

Figura 29- Morangos cobertos com PVC nos tempos de 2 (a), 13 (b), 16 (c) e 21(d) dias de armazenamento..... 90

Figura 30- Morangos cobertos com a formulação "Otimizada" nos tempos de 2 (a), 13 (b), 16 (c) e 21(d) dias de armazenamento..... 91

Figura 31- Morangos com cobertura dupla da formulação otimizada ("Otimizada dupla"), tempos de 2 (a), 13 (b), 16 (c) e 21(d) dias de armazenamento..... 92

Figura 32- Morangos com a cobertura de farinha de amaranto sem a adição de ácido esteárico ("Otimizada sem A.E") nos tempos de 2 (a), 13 (b), 16 (c) e 21(d) dias de armazenamento..... 93

Figura 33- Morangos com a cobertura de amido de amaranto ("Amido") nos tempos de 2 (a), 13 (b), 16 (c) e 21(d) dias de armazenamento..... 94

Figura 34- Decaimento microbiológico dos morangos (%) para os seis tratamentos realizados em função do tempo de armazenamento (dias)..... 96

Figura 35- Efeito das coberturas de farinha de amaranto e amido sobre a perda de peso (%) em função do tempo de armazenamento (dias)..... 98

Figura 36- Efeito das coberturas de farinha de amaranto e amido sobre a firmeza (força de ruptura em N) em função do tempo de armazenamento (dias)..... 100

Figura 37- Desenvolvimento superficial de cor dos morangos (razão de cromaticidade: a/b) em função do tempo de armazenamento (dias)..... 101

RESUMO

Biofilmes têm recebido atenção especial nos últimos anos devido à necessidade de redução da quantidade de materiais plásticos descartáveis depositada no ambiente e ao aumento das exigências do consumidor por produtos alimentícios de alta qualidade. Eles podem controlar a transferência de massa entre o alimento e o meio ambiente, atuando como barreira ao vapor de água, a gases e a aromas indesejáveis. Os grãos de amaranto são constituídos por 48-62% de amido e 12-18% de proteína, sendo que o amido apresenta características especiais, principalmente o pequeno tamanho dos grânulos, sendo indicado por vários pesquisadores para a elaboração de biofilmes. Biofilmes elaborados a partir de polissacarídeos e proteínas apresentam excelentes propriedades mecânicas, porém, propriedades de barreira ao vapor de água relativamente pobres. O objetivo principal deste trabalho foi estudar a elaboração de filmes a base de farinha de amaranto adicionados de ácido esteárico e realizar a sua aplicação em morangos frescos (*Fragaria ananassa*), na forma de coberturas. Na primeira fase do trabalho foi realizado o isolamento da farinha de amaranto, bem como do amido puro, e a caracterização físico-química de ambos através da análise da composição, determinação do índice de inchamento e solubilidade, determinação da temperatura de gelatinização e avaliação da microestrutura (microscopia eletrônica de varredura - MEV). Na segunda etapa estudou-se o efeito das concentrações de ácido esteárico e glicerol (plasticizante), bem como da velocidade de agitação (incorporação do ácido esteárico na rede polimérica), sobre as propriedades dos filmes elaborados, através de um Planejamento Fatorial Completo 2^3, com 3 pontos centrais e 6 pontos axiais (17 ensaios). As respostas estudadas foram a permeabilidade ao vapor de água, a solubilidade e resistência mecânica à tração e à ruptura. Outras variáveis de processo, a citar a temperatura de gelatinização, o pH da suspensão filmogênica e a temperatura e umidade relativa de secagem foram fixadas neste trabalho, de acordo com um estudo anterior sobre a elaboração de biofilmes de farinha de amaranto, realizado no Laboratório de Engenharia de Processos da FEA. Os valores otimizados das variáveis estudadas foram 26% de glicerol, 10% de ácido esteárico e velocidade de agitação de 12000rpm. As propriedades mecânicas dos filmes elaborados com estes valores das variáveis estudadas foram de 2,53N para a força de ruptura, 2,60MPa para a tensão de ruptura, 148% de elongação e módulo de Young de 25MPa. Para a solubilidade obteve-se um valor médio de 15% e para as propriedades de

barreira, valores de 0,32 g.mm/m^2.h.kPa para a permeabilidade ao vapor de água e 20,40 cm^3.μm/m^2.dia.kPa para a permeabilidade ao O_2. A terceira etapa do trabalho consistiu na aplicação da formulação otimizada, na forma de cobertura, em morangos frescos mantidos sob refrigeração. Outros tratamentos foram realizados para fins de comparação, a citar: cobertura de amido de amaranto, de PVC, cobertura dupla da formulação otimizada (bicamada), cobertura da formulação otimizada não adicionada de ácido esteárico e um grupo de frutas controle. Avaliou-se a perda de peso, a força de ruptura (firmeza), o desenvolvimento superficial de cor e o decaimento microbiológico dos morangos, observando-se que a cobertura elaborada a partir da formulação otimizada foi a mais eficiente, em comparação às demais coberturas (excetuando-se o PVC), retardando a senescência e proporcionando a retenção da textura e a diminuição da perda de peso.

Palavras-chave: biofilmes, farinha de amaranto, ácido esteárico, propriedades funcionais, coberturas.

SUMMARY

Biofilms have received special attention in the last years due to the necessity of reduction of plastic materials deposited in environment and a increase of consumer demand for high quality foods. It can control mass transfer between the food and environment, acting as water vapor, gas and undesirable aroma barriers. Application of semi permeable coatings in fresh vegetables and fruits can modify the post harvest physiology, reducing weight and texture loss, retarding the senescence process. Amaranth grains are composed by 48-62% starch and 12-18% protein. The starch has small granule size (< 1μm), which can be helpful in easy dispersion and hence it may yield better properties of resultant films. Biofilms made from polysaccharides and proteins have good mechanical properties, but poor moisture barrier. The aim of this work was the development and characterization of composite amaranth flour films, emulsified with stearic acid, as well as the application of coatings in fresh strawberries (*Fragaria ananassa*). Firstly, isolation of amaranth flour and pure starch was performed, followed by physical chemical characterization, determination of swelling power, solubility index, gelatinization temperature and study of the microstructure (Scanning Electron Microscopy). In the second part, the effects of glycerol (plasticizer) and stearic acid concentrations, as well as the stirring velocity (incorporation of stearic acid in polimerical net) were studied through a 2^3 factorial experimental design whit 3 central points and six axial points. Water vapor permeability, solubility and mechanical resistance to tensile strength and puncture strength were the responses studied. Other process variables, as gelatinization temperature, pH of filmogenic suspension and dry conditions (temperature and relative humidity) were fixed in this work, according to a prior investigation about biofilms development from amaranth flour, realized in the laboratory of Engineering Process, in FEA. The optimum values of variables studied were 26% glycerol and 10% stearic acid, under stirring of 12000rpm. Mechanical properties of the biofilms obtained at these conditions were 2,53N puncture strength, 2,60MPa tensile strength, 148% elongation and Young´s modulus of 25MPa. Solubility value was around 15% and barrier properties were 0,32 g.mm/m^2.h.kPa for water vapor permeability and 20,40 cm^3.μm/m^2.dia.kPa for oxygen permeability. In the third part of the work the application of optimized formulation in form of coating was effected on fresh strawberries maintained upon refrigeration, and the analysis of weight loss, retention of texture, color and evaluation of appearance to determine the shelf life, were realized.

Other treatments were effected to compare: amaranth starch coating, PVC film, bilayer coating of optimized formulation, optimized formulation coating without stearic acid additon and a control group of fruits (with no coating). It was observed that the coating of optimized formulation was more efficient than the other coatings (excepting PVC film), and had a significant effect in the retention of texture and reduction of weight loss, retarding the senescence process of strawberries.

Keywords: edible films, amaranth flour, stearic acid, functional properties, coatings.

1 INTRODUÇÃO

Durante a última década muitos esforços têm sido realizados pelas indústrias de alimentos e de embalagens, na tentativa de diminuir o impacto ambiental causado pela deposição de materiais de embalagem no meio ambiente. A necessidade da redução do acúmulo de resíduos sólidos não biodegradáveis é um fator primordial, devido aos distúrbios ecológicos e às questões sociais.

As embalagens produzidas com polímeros sintéticos convencionais são consideradas inertes ao ataque imediato de microrganismos, apresentando longo tempo de vida útil. Conseqüentemente, provocam sérios problemas ambientais visto que após o seu descarte, demoram cerca de 100 anos para a decomposição total (ROSA et al., 2001).

Como alternativa a este problema surgem os biofilmes comestíveis ou degradáveis biologicamente, que quando entram em contato com diversos tipos de microrganismos, degradam-se rapidamente. Assim, constituem alternativas viáveis para materiais de embalagem, apresentando a vantagem de não contribuir para a poluição do ambiente (ARVANITOYANNIS e BILIADERIS, 1999).

Os biofilmes podem ser de dois tipos: coberturas, quando são aplicadas diretamente nas superfícies dos alimentos e filmes, que possuem a capacidade de formar estruturas próprias independentes. Ambos podem ser definidos como uma fina camada contínua formada ou depositada no alimento, preparada a partir de materiais biológicos, que age como barreira a elementos externos (umidade, óleos, gases), protegendo o alimento e aumentando sua vida de prateleira. Algumas possíveis propriedades funcionais dos filmes e coberturas são: inibir a migração de umidade, retardar o transporte de gases (O_2, CO_2), de óleos e de gorduras e o transporte de solutos, oferecer integridade estrutural adicional aos alimentos, reter compostos aromáticos e poder carregar aditivos alimentícios (KROCHTA e MULDER-JOHNSTON, 1997).

Os principais biopolímeros utilizados para a elaboração de biofilmes são os polissacarídeos (especialmente o amido) e as proteínas, provenientes de diversas fontes. No entanto, novos materiais vêm sendo pesquisados na última década, no intuito de ampliar as possibilidades de elaboração de filmes e coberturas biodegradáveis com as mais diversas funções e capacidades de proteção para os alimentos.

As propriedades de barreira dos biofilmes constituem parâmetros importantes na avaliação de sua capacidade para uso como embalagens de alimentos (ANKER et al., 2002). As proteínas e carboidratos possibilitam a obtenção de filmes com boas propriedades mecânicas, no entanto, não fornecem adequada barreira ao vapor d'água, devido ao seu caráter hidrofílico (ANKER et al., 2002).

Como alternativa para melhorar as propriedades de barreira dos biofilmes, a incorporação de lipídeos surge como alternativa interessante e tem sido estudada por vários pesquisadores. Além de diminuir a permeabilidade ao vapor d'água dos biofilmes, os lipídeos podem prevenir a migração de água entre os componentes do alimento. Quando se adiciona um componente hidrofóbico à suspensão formadora do filme produzem-se filmes compostos, nos quais o componente lipídico atua como barreira ao vapor d'água e a proteína ou polissacarídeo fornecem a barreira ao oxigênio e dão as características mecânicas necessárias (ANKER et al., 2002).

Nos últimos trinta anos, vários pesquisadores têm estudado principalmente as propriedades mecânicas e de permeabilidade de biofilmes adicionados de lipídeos, avaliando-se os efeitos da formulação e das condições experimentais sobre estas propriedades. Atenção especial tem sido dada à camada lipídica em relação à sua distribuição na matriz polimérica dos biofilmes, grau de saturação e comprimento da cadeia carbônica, e os seus efeitos sobre a permeabilidade dos biofilmes (GALLO et al., 2000).

O Amaranto (*Amaranthus sp.)* é um pseudocereal que foi cultivado e consumido pelas civilizações pré-colombianas e que, atualmente, tem recebido considerável atenção por parte dos pesquisadores. A farinha extraída dos grãos é uma mistura natural de amido, proteínas e lipídeos, constituindo-se em uma matéria prima interessante para a elaboração de biofilmes. Várias espécies de grãos de amaranto têm ressurgido, devido às suas características nutricionais e de facilidade de cultivo. Os grãos de amaranto contêm alto teor de proteína rica em lisina, fibras, lipídeos e cinzas, em níveis mais elevados do que os grãos de cereais convencionais (CALZETTA et al., 1999).

O principal constituinte dos grãos de amaranto é o amido, que possui características diferenciadas, especialmente o pequeno diâmetro dos grânulos, característica que pode facilitar a dispersão em suspensões e resultar em filmes de melhores propriedades.

2 OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

Diante do potencial apresentado pelos biofilmes e pelos grãos de amaranto como novos materiais de embalagem e fonte de amido e proteínas, respectivamente, este trabalho teve como objetivo principal a elaboração de biofilmes de farinha de amaranto adicionados de ácido esteárico e a posterior aplicação em morangos frescos (*Fragaria ananassa*), na forma de coberturas.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Estudar a possibilidade de formação de um sistema emulsionado de farinha de amaranto e ácido esteárico;

- Realizar o isolamento e caracterização físico-química da farinha e do amido puro isolados de amaranto;

- Definir a técnica de preparação a ser utilizada na elaboração dos filmes emulsionados;

- Determinar os efeitos da concentração de ácido esteárico, da concentração de glicerol e da velocidade de agitação sobre a permeabilidade ao vapor de água, propriedades mecânicas e solubilidade dos filmes, utilizando a Metodologia de Superfície de Resposta;

- Avaliar a interação entre as variáveis estudadas;

- A partir da formulação otimizada, realizar a aplicação do biofilme na forma de coberturas, em morangos frescos mantidos sob refrigeração, e avaliar o seu efeito sobre a vida de prateleira das frutas.

3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1 AMARANTO

O Amaranto (*Amaranthus sp.*) é uma planta dicotiledônea cujas folhas e sementes apresentaram grande importância na dieta das civilizações pré-colombianas (Maias, Astecas e Incas), que o consideravam como um alimento sagrado (TOSI et al., 2001). Estima-se que os astecas produziam anualmente, cerca de 15000-20000 toneladas de amaranto (WU e CORKE, 1999).

Os grãos de amaranto possuem características e propriedades similares às apresentadas pelos cereais como o trigo, especialmente em relação à composição das sementes, porém, em virtude da ausência de glúten, o amaranto é denominado como um pseudocereal (BREENE, 1991).

Em razão do maior potencial para uso na alimentação, as espécies de amaranto mais estudadas e cultivadas são o *A.cruentus* (México, África, Caribe e América do Sul), *A.caudatus* (América do Sul), *A.hypochondriacus* (Índia, México e Estados Unidos) e *A. tricolor* (China e índia) (BREENE, 1991; SAUNDERS e BECKER, 1984).

O interesse crescente pelas espécies de grãos de amaranto é resultado de sua resistência às condições ambientais, sua utilidade como fonte de nutrientes e sua grande tolerância a solos áridos e pobres, não aptos para o cultivo de outros cereais (CALZETTA et al., 1999).

Por serem pouco conhecidos ou estudados fora dos centros de origem ou produção, os pseudocereais encontram-se limitados em seu cultivo. Em relação ao cultivo do amaranto no Brasil, a Embrapa Cerrados-DF lançou a variedade "BRS Alegria", do *Amaranthus cruentus,* a primeira recomendada ao cultivo para a produção. A designação "BRS Alegria" deve-se à origem desta variedade. No México, nos festejos da Páscoa, são feitos torrões de amaranto expandido (pipoca) e caramelado, que é um dos símbolos da alegria pela ressurreição de Cristo (SPEHAR et al., 2002).

Segundo SPEHAR et al. (2002), o amaranto variedade BRS Alegria, com ciclo curto e rápido crescimento, apresenta duas utilidades principais: proteção do solo e produção de grãos e forragem na entressafra. Constitui-se também em boa opção para

rotação de culturas, pois possibilita quebrar o ciclo milho/soja. Pode vir em sucessão a qualquer dessas culturas, uma vez que não é gramínea nem leguminosa, nem é suscetível às pragas dessas culturas. Em relação às características das plantas desta variedade, estas possuem inflorescências (panículas ou cachos) coloridas, variando do amarelo até a coloração roxa.

Através da Figura 1 pode-se observar a aparência da planta de *Amaranthus cruentus.*

Figura 1 - Aparência das plantas de Amaranthus cruentus
Fonte: SPEHAR et al. (2002)

3.1.1 COMPOSIÇÃO DOS GRÃOS DE AMARANTO

Os grãos de amaranto têm sido identificados como uma fonte importante de nutrientes, especialmente de proteínas alimentares. Com cerca de 1mm de diâmetro, os grãos contém entre 12 e 18% de proteína rica em lisina (0,34g de lisina por grama de Nitrogênio) (TOSI et al., 2001; AHAMED et al., 1996; SALCEDO-CHÁVEZ et al., 2002). O conteúdo de lipídeos varia de 5 a 8%, contendo uma quantidade relativamente alta de esqualeno (MYERS e FOX, 1994). Entretanto, o principal constituinte é o amido, em proporções que variam de 48 a 62%, dependendo da variedade, concentrando-se no perisperma (AHAMED et al., 1996; TOSI et al., 2001).

SAUNDERS e BECKER (1984) constataram que o conteúdo de proteína (14,9), gordura (6,98) e fibra (4,5) do amaranto são superiores aos dos cereais comuns, como o trigo (12,3% de proteína, 1,8% de gordura e 2,3% de fibra), o milho (8,9% de proteína,

3,9% de gordura, 2,0% de fibra) e o arroz integral (7,5% de proteína, 1,9% de gordura, 0,9% de fibra), estando os valores relatados, expressos em base seca.

De acordo com TOSI et al. (2001), altas concentrações de cálcio, fósforo, ferro, potássio, zinco, vitamina E, vitaminas do complexo B, assim como baixos níveis de fatores antinutricionais, fazem dos grãos de amaranto um produto de grande interesse para uso em formulações de alimentos.

Inúmeros alimentos podem ser derivados dos grãos de amaranto, como farinhas, cereais matinais, massas e biscoitos livres de glúten. Na alimentação de monogástricos (suínos) e aves, o grão apresenta vantagem sobre o milho ou a soja, isoladamente, como fonte de proteína de alto valor biológico, comparável à caseína do leite (SPEHAR et al., 2002).

3.1.2 CARACTERÍSTICAS DO AMIDO E PROTEÍNA DE AMARANTO

O amido é o principal constituinte dos grãos de amaranto (48-62%), apresentando tamanhos de grânulo variáveis, de acordo com a variedade (entre 1,0 e 3,5μm) (TOSI et al., 2001). Paralelamente ao pequeno tamanho dos grânulos, as propriedades incluem baixa temperatura de gelatinização, boa estabilidade às temperaturas de congelamento e resistência ao corte mecânico (CALZETTA et al., 1999). WU e CORKE (1999) indicam que o início da gelatinização do amido de *A. cruentus* ocorre a aproximadamente 68,8°C e continua a ocorrer até 89,1°C, apresentando portanto, uma faixa de gelatinização de 20,3°C. Para a mesma variedade utilizada neste trabalho, PAMPA-QUISPE (2003) determinou, através de ensaios de reologia dinâmica, uma temperatura inicial de gelatinização de 66°C e uma temperatura final de 75°C.

Um estudo sobre a incorporação de amido de grãos de *Amaranthus paniculatas* em filmes de polietileno de baixa densidade foi realizado por AHAMED et al. (1996), com o objetivo de produzir filmes biodegradáveis. Os autores indicaram que o pequeno tamanho dos grânulos de amido do amaranto facilita a dispersão nos filmes poliméricos, possibilitando a obtenção de boas propriedades mecânicas.

Em relação à composição em amilose, a maioria das variedades cultivadas de amaranto contém amido ceroso, com cerca de 98-100% de amilopectina, embora alguns amarantos sejam conhecidos por apresentarem mais de 20% de amilose (SAUNDERS e

BECKER, 1984). PEREZ et al. (1993), encontrou teores de ~10% de amilose em amido de *Amaranthus cruentus*, enquanto WU e CORKE (1999), indicam percentuais de ~20%.

A maioria dos amidos contém entre 20-25% de amilose. Porém, os amidos cerosos apresentam proporções muito menores (até <1%) e outros, como o amido de milho de variedades especialmente desenvolvidas, apresentam cerca de 65% de amilose (PARKER e RING, 2001).

Uma das características mais interessantes dos grãos de amaranto é a sua composição protéica, que varia entre 14-18% nas espécies mais cultivadas e estudadas (*A. cruentus*, *A. caudatus* e *A. hypocondriacus*), dependendo dos diferentes métodos de cultivo, condições ambientais, estação do ano, tratamento de fertilizantes, etc. (SAUNDERS e BECKER, 1984; SALCEDO-CHÁVEZ et al., 2002).

A composição em aminoácidos da proteína de diferentes espécies de grãos de amaranto mostra, em geral, que o amaranto contém níveis elevados de aminoácidos sulfurados e lisina. O conteúdo em lisina e triptofano é maior em relação aos grãos convencionais e a leucina é o aminoácido limitante. Em relação a digestibilidade, as proteínas do amaranto apresentam valores semelhantes à caseína (SALCEDO-CHÁVEZ et al., 2002). De acordo com OLESZEK et al. (1999), as proteínas do amaranto são incomuns, uma vez que apresentam um balanço de aminoácidos semelhante ao balanço requerido na nutrição humana.

O baixíssimo conteúdo de gliadina, menos de 0,01% em algumas variedades (*A. Cruentus, A. mantegazzianus*) na fração protéica torna o amaranto passível de uso por pessoas sensíveis a estas proteínas (celíacos) (SALCEDO-CHÁVEZ et al., 2002; TOSI et al., 2001).

As maiores frações protéicas dos grãos de amaranto são, de acordo com a classificação de Osborne, a albumina, a globulina e a glutelina. Embora não exista uma concordância geral, muitos autores indicam que a albumina está presente em maior quantidade, seguida pelas glutelinas e globulinas (MARTÍNEZ et al., 1997). No entanto, CORREA et al. (1986), trabalhando com a extração e fracionamento da proteína de cinco espécies de amaranto, encontraram uma média de 65% de albumina, 17% de globulina, 11% de prolamina e 7% de glutelina.

SALCEDO-CHÁVEZ et al. (2002), trabalhando com isolamento de proteínas de grãos de *Amaranthus cruentus*, indicam que o perfil de solubilidade das proteínas da

farinha é semelhante ao perfil de proteínas vegetais como as da soja e do farelo de arroz. Estes perfis são caracterizados pela mínima solubilidade em pH próximo ao ponto isoelétrico (~4,0), uma vez que as interações proteína-proteína aumentam em função das cargas eletrostáticas das moléculas estarem no ponto mínimo e, nesta condição, diminui a interação entre a água e a proteína. Os mesmos autores indicaram que a maior solubilidade das proteínas de *Amaranthus cruentus* foi alcançada em pH superior a 10,0, a partir do qual a solubilidade continuou a aumentar, embora a uma menor taxa.

3.2 FILMES E COBERTURAS BIODEGRADÁVEIS: GENERALIDADES E APLICAÇÕES

O conceito de biofilmes como envoltório de proteção para alimentos foi registrado desde 1950 (SOUZA, 2001), no entanto, a aplicação de coberturas a base de ceras em frutas cítricas, para retardar a desidratação, já ocorria na China, nos séculos XII e XIII (BALDWIN et al., 1997). A aplicação comercial de ceras (de carnaúba, de abelha e parafina) e óleos (mineral, vegetal), por sua vez, teve início em 1930, quando se utilizavam emulsões destes compostos em água, aspergidas sobre as frutas para melhorar sua aparência (brilho e cor) e para controlar o amadurecimento e a perda de peso (DEBEAUFORT et al., 1998; GENNADIOS et al., 1997).

Indústrias alimentícias e pesquisadores têm demonstrado interesse crescente nessas embalagens, especialmente devido a sua biodegradabilidade e ao fato de que podem ser produzidas a partir de biopolímeros como proteínas e polissacarídeos, que são recursos renováveis (SOBRAL et al., 2001; KROCHTA e MULDER-JOHNSTON, 1997). Na última década houve um grande aumento no número de pesquisas envolvendo biofilmes, para prolongar a vida de prateleira e melhorar a qualidade de alimentos frescos, congelados e industrializados, devido aos seguintes fatores: preocupações ambientais sobre o descarte de materiais não renováveis de embalagem; aumento das exigências dos consumidores por alimentos frescos como frutas e vegetais minimamente processados; oportunidades para a abertura de novos mercados às matérias-primas formadoras de filmes (DIAB et al., 2001).

Por definição, biofilmes são materiais de fina espessura, preparados a partir de materiais biológicos, que agem como barreira a elementos externos (umidade, gases e óleos) e conseqüentemente, protegem o produto e aumentam a sua vida de prateleira. A

aplicação de coberturas pode ajudar a manter a qualidade dos alimentos após a abertura das embalagens, oferecendo proteção contra a umidade, oxigênio e perda de aroma (KROCHTA e MÜLDER-JOHNSTON, 1997). Adicionalmente, podem prover nutrientes, melhorar as características sensoriais do produto e incorporar aromas, pigmentos ou outros aditivos, incluindo agentes antioxidantes e antimicrobianos. Assim, atuam como embalagens ativas, interagindo com o alimento e controlando suas mudanças fisiológicas, microbiológicas e físico-químicas (KO et al., 2001).

Os biofilmes são produzidos a partir de materiais biológicos como as proteínas, os polissacarídeos, lipídeos e derivados. Entre as proteínas estudadas estão o glúten do trigo, as proteínas da soja, do leite (como a caseína) e do soro de leite, a zeína do milho, o colágeno, a albumina do ovo, a gelatina e proteínas miofibrilares de peixes e da carne bovina (SOBRAL et al., 2001). Entre os polissacarídeos estudados destaca-se o amido proveniente de diversas fontes (milho, amaranto, farelo de arroz, fécula de mandioca), a celulose e seus derivados (metilcelulose), polissacarídeos secretados por microrganismos, alginatos, pectina e carragena (ARVANITOYANNIS e BILIADERIS, 1999; YANG e PAULSON, 2000). Entre os lipídeos utilizados como componentes ou como formadores de filmes e coberturas estão as ceras (abelha, carnaúba), os ácidos graxos (palmítico, esteárico, oléico, linoléico), monoglicerídios e diglicerídios, e óleos comestíveis (soja, girassol, palma, algodão) (BALDWIN et al., 1997; GARCÍA et al., 2000; MORILLON et al., 2002).

Novos materiais que possam ser utilizados para a elaboração de coberturas e filmes vêm sendo estudados na última década, como por exemplo a quitosana, indicada como capaz de limitar o crescimento de fungos (PARK, 1999; HOAGLAND e PARRIS, 1996).

A tendência atual na área de elaboração de biofilmes é a combinação de diferentes materias biológicos (lipídeos, proteínas e polissacarídeos) para melhorar as propriedades mecânicas e de barreira. Os lipídeos apresentam elevada barreira ao vapor de água, no entanto, podem levar a condições anaeróbias quando frutas e vegetais são expostas a temperaturas mais altas que as de refrigeração, perdendo a aderência na superfície hidrofílica (PARK, 1999). Por sua vez, os polissacarídeos possuem boas propriedades de barreira a gases e aderem-se facilmente em superfícies de frutas e vegetais, mas são compostos hidrofílicos, apresentando pobre barreira ao vapor de água. No caso das proteínas, estas são boas formadoras de filmes e também apresentam boa

aderência mas, na maioria dos casos, não resistem a difusão de umidade. Tendo em vista as vantagens e desvantagens de cada um dos componentes citados, a combinação dos mesmos vem sendo utilizada para melhorar as propriedades de aderência de coberturas, e de barreira ao vapor de água e aos gases (BALDWIN et al., 1995).

No sentido de atender a esta tendência, além de misturas artificiais de amido e proteína, também encontram-se na literatura filmes elaborados a partir de misturas naturais de origem agrícola. RAYAS e HERNANDEZ (1997) elaboraram filmes de três tipos de farinha de trigo com e sem reticulante, observando que a adição de reticulante aumentou a resistência dos filmes e a elongação em teste de tração. Os valores de permeabilidade ao oxigênio dos filmes de farinha de trigo foram semelhantes aos relatados para filmes de nylon.

A farinha de amaranto também é uma mistura natural de amido, proteína e lipídeos. TAPIA BLÁCIDO (2003) estudou a elaboração de biofilmes a partir da farinha de amaranto da espécie *Amaranthus caudatus*, observando que as interações amido-proteína-lipídeos influenciaram as características finais dos filmes. A autora indica que a presença das proteínas diminuiu a solubilidade dos filmes, uma vez que os filmes elaborados com o amido puro, extraído dos grãos, apresentaram maior solubilidade. A presença dos lipídeos, segundo a autora, diminuiu a resistência mecânica e a permeabilidade ao vapor de água, e aumentou a flexibilidade e a opacidade dos filmes.

As aplicações comerciais de filmes e coberturas biodegradáveis citadas na literatura incluem a cobertura de produtos frescos com ceras e outros lipídeos, invólucros de colágeno para produtos cárneos como lingüiça, coberturas de zeína do milho para doces, carnes curadas e produtos farmacêuticos, coberturas de gelatina para produtos farmacêuticos e embalagens solúveis de celulose para ingredientes alimentícios (GENNADIOS et al., 1997). A aplicação também é indicada para carnes bovina, de aves e de pescados, onde as coberturas podem apresentar os seguintes benefícios: evitar a perda de água durante a estocagem e, conseqüentemente, a perda de cor, textura e "flavor"; evitar a rancificação da gordura e a oxidação da mioglobina quando as coberturas possuem baixa permeabilidade ao oxigênio; formulações contendo antioxidantes (tocoferóis) e agentes antimicrobianos (ácidos orgânicos) podem ser usadas diretamente nas superfícies de carnes, diminuindo os problemas de ataque microbiano e oxidação das gorduras; em produtos empanados e "nuggets" a aplicação de coberturas nos pedaços

de carne, antes dos demais ingredientes do processo, pode melhorar o valor nutricional do produto por reduzir a absorção de óleo durante a fritura (GENNADIOS et al., 1997).

3.3 COMPONENTES ESSENCIAIS E PROCESSO DE ELABORAÇÃO DE BIOFILMES

A formação de biofilmes envolve ligações inter e intramoleculares cruzadas entre cadeias de polímeros para formar uma matriz tridimensional semi-rígida que envolve e imobiliza o solvente (KESTER e FENEMMA, 1986). O grau de coesão depende da estrutura do polímero, do processo de fabricação, fatores físicos (temperatura, técnica de evaporação e aplicação) e da presença de plasticizante (GONTARD et al., 1994).

O processo de obtenção de biofilmes apresenta vários componentes com finalidades específicas, a citar: um biopolímero de alto peso molecular, capaz de formar uma matriz contínua e coesa, um plasticizante, solvente e agente ajustador de pH (CUQ et al., 1997). Além destes componentes também podem ser incorporados agentes antimicrobianos, antioxidantes, corantes e vitaminas (KROCHTA e MULDER-JOHNSTON, 1997).

Segundo MALI et al. (2002), a adição de plasticizantes à suspensão formadora do filme reduz a fragilidade do mesmo, aumentando a flexibilidade e extensibilidade. A incorporação de plasticizantes modifica a organização molecular tridimensional da rede protéica, diminuindo as forças de atração intermoleculares e aumentando o volume livre do sistema. A rede torna-se menos densa devido à redução das forças entre as cadeias de polímeros adjacentes, ocorrendo diminuição da temperatura de transição vítrea (Tg) e aumentando a mobilidade das cadeias do polímero.

Compostos hidrofílicos como os polióis (glicerol, sorbitol e polietileno glicol) são os plasticizantes comumente usados nas formulações de biofilmes, por possuírem propriedades favoráveis como baixo peso molecular e afinidade com a proteína, sendo que dentre estes, o glicerol é o mais utilizado (MALI et al., 2002; STADING et al., 2001).

Os solventes para filmes comestíveis ou coberturas são água e etanol, ou a combinação dos dois. O pH ótimo para a formação de filmes a base de proteínas varia com o tipo de proteína, de acordo com a sua estrutura, configuração e comportamento em solução, exercendo forte influência sobre a solubilidade destas moléculas; os ajustadores

de pH citados na literatura são o ácido acético, hidroclórico, láctico e ascórbico, os hidróxidos de sódio e amônia e o trietilamônia (KESTER e FENEMMA, 1986; GONTARD et al., 1992).

Em relação aos processos de elaboração de biofilmes, o método "casting" é o mais amplamente utilizado, compreendendo o preparo de uma solução coloidal da macromolécula e os aditivos. Nesta técnica, a macromolécula é hidratada e submetida a um processo de gelatinização, através de tratamento térmico. O aquecimento provoca, no caso da proteína, a desnaturação seguida de gelatinização e, no caso do amido, a gelatinização. Ao serem resfriadas, as suspensões de proteína ou amido gelatinizadas sofrem a geleificação.

No caso da elaboração de filmes, o método "casting" consiste na desidratação de uma suspensão filmogênica convenientemente aplicada em um suporte (SOBRAL et al. 2001). No processo de formação de coberturas a suspensão filmogênica é aplicada diretamente sobre o alimento, sendo que atenção especial deve ser dada à temperatura de aplicação e às características de viscosidade da cobertura.

3.4 PROPRIEDADES DOS BIOFILMES

As principais características dos biofilmes são as propriedades de barreira ao vapor de água e aos gases (CO_2 e O_2), propriedades de barreira a solutos e a óleos e gorduras, propriedades mecânicas, opacidade e textura, que por sua vez, dependem da formulação, do processo de obtenção e do modo de aplicação.

Embora muitas funções dos filmes e coberturas comestíveis sejam semelhantes às funções dos filmes sintéticos, existem requerimentos adicionais para que elas possam ser aplicadas em alimentos, como possuir características sensoriais aceitáveis, ter propriedades de barreira, mecânicas e de adesão adequadas, apresentar estabilidade microbiológica e físico-química, ser segura para a saúde, não contendo compostos tóxicos, ser efetiva no transporte de aditivos antioxidantes, antimicrobianos, componentes de cor e aroma, serem produzidas a partir de materiais renováveis e de baixo custo e possuírem tecnologia de produção simples (DIAB et al., 2001).

O uso adequado dos biofilmes depende de suas propriedades de barreira e mecânicas. Uma das principais propriedades de barreira é a permeabilidade ao vapor de

água, seguida da permeabilidade aos gases (CO_2 e O_2) e solutos. A eficiência de barreira ao vapor de água é desejável para retardar a desidratação da superfície de produtos frescos (carnes, frutas e verduras) ou congelados. O controle das trocas gasosas, particularmente do oxigênio, permite o melhor controle da maturação das frutas ou a redução da oxidação de alimentos sensíveis ao oxigênio e a rancidez de gorduras poliinsaturadas, por exemplo. A transferência de vapores orgânicos deve ser diminuída a fim de reter os compostos aromáticos no produto durante a estocagem ou prevenir a penetração de solventes no alimento (GENNADIOS e WELLER, 1990).

A permeabilidade ao vapor de água é definida pela ASTM E96-90 como a taxa de transmissão de vapor de água por unidade de área através do filme, de espessura conhecida, induzida por um gradiente de pressão entre duas superfícies específicas, de temperatura e umidade relativa especificada (ASTM, 1990).

A permeabilidade a gases depende fortemente da interação entre a matriz polimérica e o gás permeante, bem como das condições ambientais, tais como temperatura e umidade relativa. Diversas pesquisas indicam que a difusão de gases através de biofilmes aumenta com o aumento da temperatura e umidade. Os efeitos do conteúdo de glicerol, sorbitol e açúcares também foram estudados e observou-se que a difusão dos gases aumenta com o aumento da concentração destes componentes (FORSSEL et al., 2002).

Materiais sintéticos geralmente apresentam baixa permeabilidade a gases, tal como o polietileno de baixa densidade, que apresenta valores de $2,16x10^{-11}$ para o O_2 e $9,45x10^{-11}$ ($cm^3\ m^{-1}\ s^{-1}\ Pa^{-1}$) para o CO_2, mas apresenta baixa seletividade entre CO_2 e O_2 (em torno de 4). CUQ et al. (1995), compararam a razão de permeabilidade entre CO_2 e O_2 de vários filmes sintéticos e de biofilmes e concluíram que os biofilmes apresentam maior seletividade do que os filmes sintéticos, apresentando razões entre 8 e 30.

Um filme com propriedades de barreira adequadas pode ser ineficiente se as propriedades mecânicas não permitirem a manutenção da integridade do filme durante o processo de manipulação, empacotamento e transporte. Os biofilmes devem ser resistentes à ruptura e à abrasão, fazendo com que o alimento não perca a sua proteção por manuseio ou armazenamento (SARMENTO, 1999). Assim, a resistência mecânica e a deformabilidade dos biofilmes deve ser determinada. Os testes utilizados para medir a força mecânica são o teste de tração, onde podem ser derivadas as propriedades de resistência à tração, elongação e módulo de elasticidade, e o teste de perfuração, do qual

pode-se obter valores de força e deformação de ruptura. A resistência à tração e ruptura são medidas pela força máxima de tração e de perfuração que o filme pode sustentar, respectivamente. Elongação é geralmente tirada do ponto de quebra, no teste de tração, sendo expressa como percentual de aumento do comprimento original da amostra. De maneira análoga, a deformação é obtida no teste de perfuração. O módulo de elasticidade ou módulo de Young também mede a resistência do filme. Os testes mecânicos são geralmente conduzidas de acordo com métodos padrão para determinação de propriedades mecânicas de filmes plásticos finos (ASTM, 1993). Utiliza-se um instrumento universal de teste mecânico, como o Instron ou o Texturômetro TA-XT2.

3.5 BIOFILMES DE AMIDO E PROTEÍNA

O potencial de polissacarídeos e proteínas para formar biofilmes tem sido reconhecido. Entretanto, comparativamente às proteínas, o número de publicações indicando o uso de amido e seus constituintes, e as possibilidades de aplicação na indústria de alimentos, é maior (ARVANITOYANNIS et al., 1997).

Geralmente, biofilmes elaborados a partir de proteínas e polissacarídeos apresentam adequada barreira ao oxigênio a umidades relativas baixas e intermediárias, e possuem boas propriedades mecânicas. No entanto, apresentam altas taxas de permeabilidade ao vapor de água, devido ao seu caráter hidrofílico e também, devido a considerável quantidade de plasticizantes incorporados nestes filmes para conferir adequada flexibilidade, os quais também são hidrofílicos (ANKER et al., 2002). Em contraste a isto, componentes lipídicos tais como glicerídeos, ácidos graxos de cadeia longa, ceras, resinas e óleos, apresentam boas propriedades de barreira ao vapor de água (WELLER et al., 1998).

Entre os trabalhos publicados a respeito da elaboração de biofilmes a partir de misturas de amido e proteína, estão o de PARRIS et al. (1997) e o de ARVANITOYANNIS et al. (1997). Os primeiros estudaram o efeito da incorporação de amido nas propriedades de resistência e solubilidade de filmes elaborados a partir de zeína, concluindo que os filmes com 1% de amido apresentaram menor permeabilidade ao vapor de água em relação aos filmes sem amido. Os segundos autores elaboraram biofilmes a partir de uma mistura de gelatina e amido solúvel de batata na presença de glicerol e sorbitol, obtendo um sistema homogêneo com ambos plasticizantes.

TAPIA BLÁCIDO (2003) elaborou biofilmes a partir da farinha de *Amaranthus caudatus*, composta por amido (~68%), proteína (~14%) e lipídeos (~9%), estudando os efeitos da concentração de glicerol, pH de ajuste da suspensão e da temperatura de processo sobre as propriedades de barreira e mecânicas dos biofilmes, obtendo filmes de alta flexibilidade e boa barreira ao vapor de água. A utilização de misturas de amido e proteína, que ocorrem naturalmente nas farinhas de cereais, apresenta-se como alternativa interessante para a aplicação na elaboração de biofilmes, especialmente pelo fato de que os filmes de amido puro apresentam aplicação limitada, devido a sua instabilidade frente à umidade (TAPIA BLÁCIDO, 2003; KROCHTA e MULDER-JOHNSTON, 1997).

3.6 ADIÇÃO DE COMPONENTES LIPÍDICOS EM BIOFILMES

Muitos pesquisadores têm estudado o efeito da adição de componentes lipídicos nas propriedades mecânicas e de permeabilidade de biofilmes elaborados a partir de proteínas ou polissacarídeos. Assim, biofilmes compostos de proteínas e lipídeos apresentaram menor permeabilidade ao vapor de água quando comparados a filmes controle de caseinatos (AVENA-BUSTILLOS e KROCHTA, 1993), proteínas do soro de leite (ANKER et al., 2002), zeína (WELLER et al., 1998) e glúten do trigo (POMMET et al., 2003; GONTARD et al., 1995). O mesmo comportamento foi observado em biofilmes compostos de polissacarídeos e lipídeos, elaborados com metilcelulose (DEBEAUFORT et al., 2000; AYRANCI e TUNC, 2001; GALLO et al., 2000), amido de milho comercial (GARCÍA et al., 2000) e hidroxi-propil-metilcelulose (KAMPER e FENNEMA, 1984).

Biofilmes compostos, elaborados a partir de proteínas ou polissacarídeos e um lipídeo, podem ser divididos em filmes laminados (também denominados de filmes bicamada) e filmes emulsionados. Filmes laminados são aqueles onde o lipídeo constitui uma fase distinta, formando uma camada sobre a matriz do hidrocolóide, enquanto que nos biofilmes emulsionados, o lipídeo está uniformemente disperso na matriz (ANKER et al., 2002; GALLO et al., 2000).

Ambas formas de adição de lipídeos em biofilmes apresentam vantagens e inconvenientes. Os filmes laminados possuem maior facilidade de aplicação, em relação à temperatura, uma vez que a matriz polimérica (de amido ou proteína) e o lipídeo possuem propriedades diferentes (KOELSCH, 1994). Durante a aplicação da camada lipídica, as

temperaturas do filme e do lipídeo podem ser controladas separadamente. No entanto, a principal desvantagem dos filmes laminados é que são necessárias duas etapas de "casting" e duas etapas de secagem, motivo pelo qual são de menor interesse para as indústrias de alimentos, embora apresentem maior barreira ao vapor de água (DEBEAUFORT e VOILLEY, 1995).

No caso da produção de biofilmes emulsionados, a temperatura da emulsão deve ser superior à temperatura de fusão do lipídeo, mas inferior a temperatura de volatilização do solvente da rede estrutural. A principal vantagem deste método de preparação é que são necessárias apenas uma etapa de "casting" e uma de secagem. No entanto, os filmes produzidos apresentam permeabilidade ao vapor de água maior em relação aos filmes laminados, uma vez que as moléculas de água difundem-se através da fase hidrofílica (ANKER et al., 2002).

Quando se produzem biofilmes emulsionados, atenção especial deve ser dada à etapa de emulsão, em relação à velocidade de agitação, temperatura, possibilidade de formação de espuma, uma vez que suas características exercem grande influência nas propriedades mecânicas e de barreira dos biofilmes obtidos. Quanto menor for o diâmetro dos glóbulos de lipídeo obtidos e quanto mais homogênea for a sua distribuição, melhores serão as propriedades de barreira ao vapor de água e aos gases (GALLO et al., 2000; BALDWIN et al., 1997).

As características dos lipídeos também exercem forte influência sobre as propriedades de barreira dos biofilmes. Em geral, a permeabilidade ao vapor de água de uma camada lipídica aumenta com o aumento da polaridade, com a diminuição do comprimento da cadeia carbônica e com o aumento do grau de insaturação e número de ramificações, como conseqüência da maior mobilidade da cadeia carbônica (FENNEMA et al., 1994; GARCÍA et al., 2000).

Em relação à polaridade dos lipídeos, a resistência a transferência de vapor de água aumenta com a diminuição da mesma, de modo que os lipídeos mais hidrofóbicos, como ceras e parafinas, possuem propriedades de barreira ao vapor de água mais eficientes (DEBEAUFORT et al., 2000). No entanto, apresentam problemas de aplicação (controle da homogeneidade, superfície oleosa) e problemas sensoriais (rancificação, sabor). Lipídeos mais hidrofílicos, tais como ácidos graxos, são menos resistentes à transmissão de vapor de água, uma vez que a presença de grupos polares proporciona a

atração de moléculas de água e facilita o seu transporte (GALLO et al., 2000; FENNEMA et al., 1994).

Para componentes lipídicos de natureza química semelhante o comprimento da cadeia carbônica modifica as propriedades de barreira, sendo que a barreira ao vapor de água de ácidos graxos aumenta com o número de carbonos (de 14-18), uma vez que a parte apolar da molécula aumenta e dificulta a transferência de umidade (MORILLON et al., 2002). Muitos autores demonstraram que entre os ácidos carboxílicos, os ácidos esteárico ($C_{18}H_{36}O_2$) e palmítico ($C_{16}H_{32}O_2$) apresentaram as menores permeabilidades ao vapor de água. No entanto, quando o comprimento da cadeia carbônica ultrapassa 18 átomos de carbono, como no caso de filmes contendo ácido araquidônico, a permeabilidade apresenta valores elevados, o que pode ser explicado pelo fato de que a cadeia longa do lipídeo induz a uma estrutura heterogênea da rede polimérica (MORILLON et al., 2002). A Figura 2 mostra a permeabilidade ao vapor de água de biofilmes de metilcelulose adicionados de ácidos graxos, frente a umidades relativas diferentes e 22,6°C, de acordo com resultados obtidos por KOELSCH e LABUZA (1992).

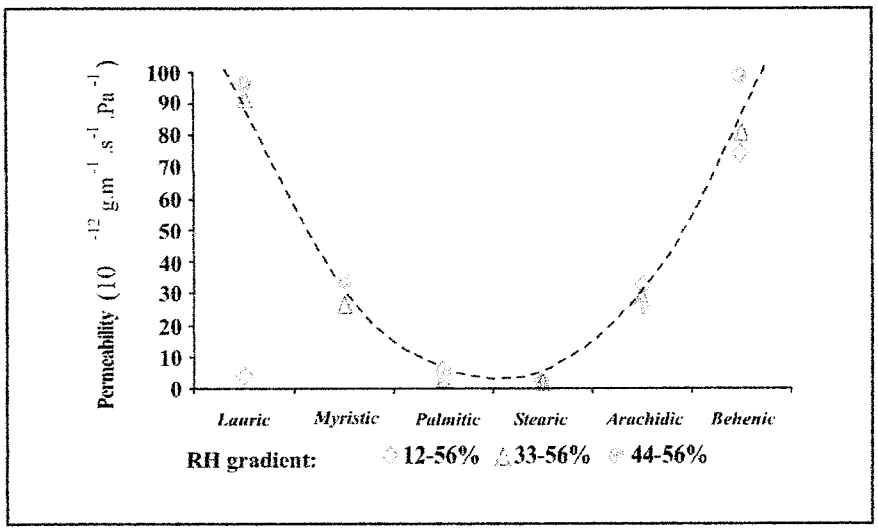


Figura 2 - Permeabilidade ao vapor de água de biofilmes de metilcelulose adicionados de ácidos graxos a três gradientes de umidade relativa e 22,6°C.
Fonte: KOELSCH e LABUZA (1992).

A concentração da substância hidrofóbica é um fator essencial para a eficiência da proteção contra o vapor de água. GONTARD et al. (1994) estudaram a adição de componentes lipídicos em biofilmes a base de glúten de trigo e verificaram que a adição em concentrações de até 20% (em relação a matéria seca) resultou em uma diminuição pronunciada na permeabilidade ao vapor de água. A adição em concentrações superiores levou ao aumento da transferência de vapor de água. Os autores sugeriram que acima de 20% de lipídeos, a distribuição dos mesmos na matriz estrutural da proteína pode ter sido prejudicada, formando-se zonas com maior concentração do componente apolar, que por sua vez podem ter proporcionado o aparecimento de rachaduras e canais preferenciais, através dos quais o vapor de água difundiu-se na estrutura dos filmes.

Em contrapartida, HAGENMAIER e SHAW (1990) elaboraram biofilmes de hidroxipropil-metilcelulose e ácido esteárico, observando que a permeabilidade ao vapor de água diminuiu pronunciadamente com concentrações lipídicas superiores a 14%, obtendo-se as menores permeabilidades com adição de 40 - 50% de ácido esteárico.

3.7 APLICAÇÃO DE COBERTURAS COMESTÍVEIS EM FRUTAS FRESCAS

A utilização de coberturas semi-permeáveis em frutas e vegetais tem mostrado resultados favoráveis, modificando a fisiologia do produto e o metabolismo pós-colheita, retardando o amadurecimento e estendendo a vida de prateleira. Tradicionalmente, as coberturas são utilizadas para reduzir a perda de peso, alterando a permeabilidade e criando um efeito de "atmosfera modificada" sobre as frutas frescas (TANADA-PALMU, 2003).

O desenvolvimento de coberturas a partir de polissacarídeos e proteínas para a preservação de frutas e vegetais é de grande interesse dos pesquisadores, em virtude da permeabilidade seletiva destes biopolímeros ao O_2 e CO_2 sob condições adequadas de temperatura e umidade relativa. Assim, são capazes de fornecer boa barreira à entrada de O_2 e à transmissão de CO_2 do interior para o exterior da fruta ou vegetal coberto, reduzindo a taxa de respiração e a produção de etileno, aumentando a vida de prateleira do produto fresco de maneira similar ao que ocorre nos processos de conservação que utilizam atmosferas modificadas ou controladas (DIAB et al., 2001; BALDWIN et al., 1995). Paralelamente a isto, a propriedade de barreira ao vapor de água relativamente baixa dos polissacarídeos e proteínas permite a migração das moléculas de água através

do filme, prevenindo a condensação no interior da embalagem, que muitas vezes é fator preponderante na deterioração de vegetais (GARCÍA et al., 1998).

Frutas altamente perecíveis como morangos e outras frutas tropicais são produtos nos quais a aplicação de coberturas é interessante, devido ao custo adicional esperado em virtude deste tratamento e da curta vida de prateleira destes produtos. Após a colheita os morangos (*Fragaria ananassa*) apresentam alta atividade fisiológica, ocorrendo desidratação e deterioração progressiva em virtude da ação de bactérias e fungos, com modificações indesejáveis de aroma e textura. Assim, apresenta curtos períodos de amadurecimento e senescência, fatores que fazem da comercialização desta fruta, um desafio (GARCÍA et al., 1998).

Os efeitos da aplicação de coberturas na composição gasosa interna e sua interação com os parâmetros de qualidade devem ser determinados para produtos frescos cobertos. A modificação da cor e da firmeza são importantes parâmetros de qualidade em frutas, assim como a perda de peso e o decaimento microbiológico (PARK, 1999).

Em relação às aplicações encontradas na literatura, BENDER et al. (1993) cobriram abacates com "NatureSeal", um filme comestível a base de celulose, e conseguiram retardar o amadurecimento. Os abacates cobertos tiveram menor taxa de respiração e produção de etileno e maior firmeza do que as frutas sem cobertura. PARK et al. (1994) aplicaram uma cobertura a base de zeína na superfície de tomates, observando que a cobertura retardou a mudança de cor e a perda de peso, e manteve a firmeza dos frutos durante a estocagem.

Duas coberturas comerciais a base de carboximetilcelulose e uma mistura de ésteres de sacarose de ácidos graxos são a "Semperfresh" e a "Tal Pro-Long". Mangas tratadas com suspensões aquosas de "Pro-Long" tiveram um aumento da vida de prateleira, pelo retardo no amadurecimento e perda de peso, sem que a qualidade sensorial da fruta fosse afetada (DIAB et al., 2001).

Coberturas a base de amido aplicadas em morangos mantidos sob refrigeração reduziram o número de frutas infectadas e estenderam a vida de prateleira. Os morangos cobertos tiveram menor perda de peso e mudança de cor, e mantiveram a firmeza, em relação aos morangos sem cobertura. As modificações dos parâmetros fisiológicos, como conteúdo de antocianina, açúcares redutores e não redutores, acidez e pH foram diminuídas nas frutas cobertas (GARCÍA et al., 1998). Resultados semelhantes foram

obtidos por TANADA-PALMU (2003), que utilizou coberturas a base de glúten de trigo em morangos frescos. Outra aplicação interessante é a reportada por HENRIQUE e CEREDA (1999), que utilizaram biofilmes de fécula de mandioca em morangos armazenados na temperatura ambiente, verificando que a cobertura prolongou a vida pós-colheita em até 5 vezes.

4 MATERIAL E MÉTODOS

4.1 MATÉRIA PRIMA

Utilizou-se como matéria prima para este trabalho, grãos de amaranto da variedade "*Amaranthus cruentus*" cultivada pela Embrapa Cerrados (DF-Brasil). Após a colheita, os grãos foram limpos e estocados a 20°C em embalagens fechadas, até a utilização para a preparação da farinha e isolamento do amido de amaranto.

4.2 PRODUÇÃO DA FARINHA E ISOLAMENTO DO AMIDO DE AMARANTO

A farinha de amaranto foi preparada a partir dos grãos através da técnica de moagem úmida utilizando NaOH 0,25%, proposta por PEREZ et al. (1993), realizando-se modificação na etapa de neutralização. Para o isolamento do amido, o método não foi modificado. Os grãos (200g) foram imersos em solução de NaOH 0,25% a 5°C por 24 horas. Após este período, foram lavados com água destilada e triturados com NaOH 0,25% em processador, por cerca de dois minutos. O material resultante foi filtrado através de malha com abertura de 80 mesh (177 mícrons de diâmetro). O resíduo não passante na malha de 80 mesh foi reprocessado quatro vezes até a completa trituração dos grãos, consumindo um volume total de 1000mL de solução de NaOH 0,25%. O material resultante foi filtrado sucessivamente através de três malhas de 80, 200 e 270 mesh, respectivamente. O filtrado foi neutralizado com uma solução de HCl 0,2N até pH 7,0, sendo posteriormente centrifugado a 2500rpm (840xg) por 20 minutos. Para a obtenção do amido, após a centrifugação realizou-se a remoção da camada superior do precipitado, de cor marrom, correspondente às proteínas e outros componentes, como pigmentos e lipídeos. Para a obtenção da farinha, a neutralização do filtrado foi realizada antes da etapa de centrifugação, para que não houvesse perda de proteínas do amaranto, visto que as mesmas são solúveis em pH alcalino (SALCEDO-CHÁVEZ et al., 2002). O material obtido foi congelado e liofilizado em um Liofilizador de Bancada HETO, modelo FD3, sob condições de vácuo e temperatura de -50°C. Após a secagem, ambos produtos (amido e farinha) foram homogeneizados em relação a granulometria através da passagem em malha de 80 mesh, sendo armazenados em frascos escuros sob

refrigeração até utilização. O esquema da extração do amido e farinha de amaranto está representado pela Figura 3.

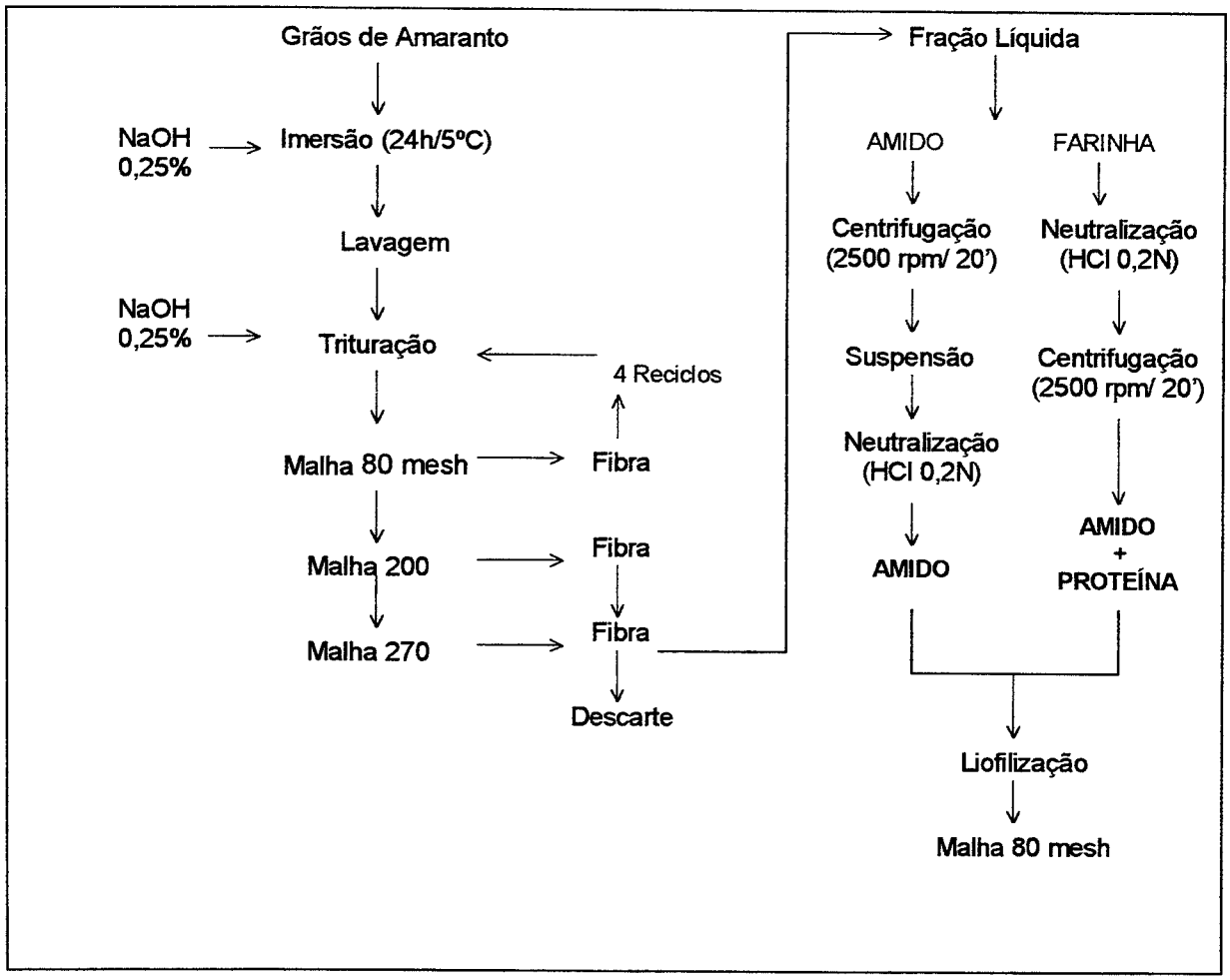


Figura 3 - Fluxograma de extração do Amido e Farinha de Amaranto.

4.3 CARACTERIZAÇÃO DO AMIDO E FARINHA DE AMARANTO

4.3.1 ANÁLISE DA COMPOSIÇÃO

O teor de umidade da farinha e do amido de amaranto foi determinado pelo método gravimétrico 925.10 sugerido pela AOAC (1997), através do qual a água presente na amostra é evaporada em estufa com circulação de ar a 105°C.

A determinação do teor de cinzas foi realizada segundo a técnica 923.03 da AOAC (1997), que consiste na completa incineração da amostra a 550°C.

O teor de lipídeos totais foi determinado pelo método de BLIGH e DYER (1959). As amostras de amido e farinha (entre 3,0 e 5,0g) foram dissolvidas em uma mistura de clorofórmio, metanol e água (proporção 1:2:0,8), na qual os três solventes coexistem como solução homogênea, agitando-se por 10 minutos. Após este período, adicionou-se 10mL de clorofórmio e 10mL de solução de sulfato de sódio (1,5%), ocorrendo a separação total do clorofórmio (na camada inferior), que carrega consigo os lipídeos. Esta solução de clorofórmio foi filtrada (para eliminar traços de água) e 5mL do filtrado foram transferidos para uma placa de Petri (previamente tarada em estufa a 100°C) e submetidos a secagem em estufa a 100°C por cerca de 15 minutos. O teor de lipídeos da amostra foi calculado através da Equação 4.1.

$$\%\text{Lipídios} = \frac{P \cdot 4 \cdot 100}{G} \qquad [4.1]$$

Onde:

P= peso de lipídeos (em gramas) contidos em 5ml de solução.
G= peso da amostra (em gramas).

O teor de proteínas foi determinado pelo método de Micro-Kjeldahl, de acordo com a técnica 960.52 da AOAC (1997), utilizando-se o fator de conversão de nitrogênio para proteína bruta, de 6,25.

O teor de amilose do amido e da farinha de amaranto foi determinado pela técnica colorimétrica de MARTINEZ e CUEVAS (1989), que consiste basicamente na gelatinização do amido da amostra e posterior reação da amilose com uma solução de iodo, ocorrendo a formação de cor. Realiza-se a leitura da absorbância a 610nm em espectrofotômetro, sendo o teor de amilose da amostra, calculado através de uma curva padrão de amilose de batata.

Todas as análises citadas acima foram realizadas em triplicata.

4.3.2 ÍNDICE DE INCHAMENTO E SOLUBILIDADE

Os índices de inchamento e solubilidade do amido e da farinha de amaranto foram determinados pelo método de HOOVER et al., (1998). Amostras de amido de milho também foram analisadas, para fins de comparação. Suspensões de 1,0% (p/v) de amido ou farinha foram preparadas em balões volumétricos, em triplicata, (registrando-se o peso de amostra em base seca - $P_{amostra}$) e aquecidas por 30 minutos, sob agitação freqüente,

nas temperaturas de 60, 65, 70, 80 e 90°C, em banho-maria. As suspensões foram centrifugadas por 10 minutos a 5000 x g em uma centrífuga de alta rotação marca BECKMAN, modelo J2-21. O sobrenadante foi retirado dos tubos da centrífuga e submetido à secagem até peso constante ($P_{sobr.seco}$) em estufa a 100°C. Somente o material aderido à parede dos tubos da centrífuga foi considerado como precipitado, sendo pesado ($P_{precipitado}$). Os Índices de Inchamento ($Inchamento_{índice}$) e Solubilidade ($Solubilidade_{índice}$) foram calculados através das Equações 4.2 e 4.3.

$$Solubilidade_{índice} = \frac{(P_{sobr.seco})}{(P_{amostra})} \cdot 100\% \qquad [4.2]$$

$$Inchamento_{índice} = \frac{P_{precipitado}}{[(P_{amostra})(100\% - Solubilidade_{índice})]} \ (g/g) \qquad [4.3]$$

4.3.3 ANÁLISES TÉRMICAS DO AMIDO E FARINHA DE AMARANTO

As temperaturas e entalpias de gelatinização de suspensões de amido e farinha de amaranto, nas concentrações de 5 e 10% (p/p) (em triplicata), foram determinadas em um Calorímetro Diferencial de Varredura (DSC) TA Instruments - Modelo 2920, dotado de sistema de resfriamento RCS (Refrigerated Cooling System), operando com Nitrogênio líquido. A concentração de 5% foi definida para análise por ser semelhante à concentração de farinha de amaranto utilizada no preparo das suspensões filmogênicas. As suspensões foram preparadas com água destilada, realizando-se a homogeneização em agitador magnético durante 30 minutos. Alíquotas contendo entre 10 e 15mg da suspensão foram pesadas em balança de precisão (Microbalance CAHN C-35) e acondicionadas em cápsulas de alumínio com auxílio de uma micropipeta, as quais foram seladas hermeticamente.

Para a obtenção dos termogramas foi empregada uma taxa de aquecimento de 10°C por minuto, varrendo-se uma faixa de temperatura de 30 a 100°C. Índium (ΔH de fusão de 28,71 J/g e ponto de fusão de 156,6°C) com elevada pureza (99,9 %) e água deionizada (ΔH de fusão de 335 J/g e ponto de fusão de 0,01°C) foram utilizados para calibrar o sistema. Utilizando-se o software Thermal Solutions obtiveram-se as temperaturas de gelatinização inicial, de pico e final das suspensões, e a entalpia (ΔH em J/g) envolvida na transição, calculada como a área sob o pico endotérmico.

4.3.4 MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE VARREDURA

Os grãos de amaranto, a farinha e o amido isolados foram analisados por microscopia eletrônica de varredura (SEM) para a avaliação da microestrutura. Para a análise dos grãos, estes foram congelados com nitrogênio líquido (-196°C), seccionados com uma lâmina e colocados sobre porta amostras circulares com auxílio de adesivo apropriado. Em seguida realizou-se a cobertura da amostra com uma camada de 92 Â de ouro. As amostras de amido e farinha foram preparadas da mesma maneira, com exceção do congelamento, para as quais esta etapa não foi necessária, realizando-se apenas o espalhamento sobre os porta amostras cobertos com adesivo. As amostras foram analisadas em um Microscópio Eletrônico de Varredura LEICA Modelo LEO440i, sob voltagem de aceleração de 10 kV.

4.4 ELABORAÇÃO DOS BIOFILMES DE FARINHA DE AMARANTO ADICIONADOS DE ÁCIDO ESTEÁRICO

O ácido esteárico foi adicionado aos biofilmes para avaliar a sua eficiência como barreira de proteção contra o vapor de água e gases (CO_2 e O_2). Este foi escolhido em função de suas características químicas e pelos resultados favoráveis obtidos por vários pesquisadores. Entre as características químicas destacam-se o ponto de fusão e o comprimento da cadeia carbônica:

Ácido Esteárico - ($C_{18}H_{36}O_2$)
Ponto de Fusão: 67 - 68°C

4.4.1 PLANEJAMENTO EXPERIMENTAL

Neste trabalho as variáveis estudadas foram a concentração de ácido esteárico e de glicerol, e a velocidade de agitação da suspensão formadora (incorporação do ácido esteárico). As demais variáveis de processo foram fixadas de acordo com estudos anteriores realizados no Laboratório de Engenharia de Processos (LEP) da Faculdade de Engenharia de Alimentos (TAPIA BLÁCIDO, 2003), a saber:

Temperatura de gelatinização: 82°C
Concentração de farinha de amaranto: 4%

pH de gelatinização: 10,7

Temperatura de secagem: 40°C

%Umidade Relativa na secagem: 55%

Os efeitos das concentrações de ácido esteárico e de glicerol, e da velocidade de agitação sobre as propriedades dos biofilmes foram estudados através da Metodologia de Superfície de Resposta (RSM), utilizando-se um Planejamento Fatorial Completo 2^3 com três repetições no ponto central e 6 pontos axiais, totalizando 17 ensaios. O número de pontos axiais corresponde a 2xn, onde "n" é o número de variáveis independentes, no caso deste estudo, igual a três. A distância dos pontos axiais foi determinada através da Equação 4.4 (KHURI e CORNELL, 1987).

$$\alpha = (2^n)^{1/4} \qquad [4.4]$$

Onde: n = número de variáveis independentes; α = distância dos pontos axiais.

Os níveis codificados das variáveis foram determinados através da Equação 4.5.

$$x_i = \frac{\left(X_i - X_i^*\right)}{\Delta X_i} \qquad [4.5]$$

Onde: x_i é o valor codificado da variável independente i; X_i é o valor real da variável independente i; X_i^* é o valor real no ponto central e ΔX_i é a diferença entre o valor no ponto central e o valor a ser codificado.

Na Tabela 1 podem ser visualizados os níveis reais e codificados de cada variável. A Tabela 2 representa a matriz de experimentos para o planejamento experimental citado.

Tabela 1 - Variáveis utilizadas no planejamento experimental, níveis reais e codificados.

Variáveis/ Níveis	**Concentração de Ácido Esteárico (%)*	**Concentração de Glicerol (%)*	*Velocidade de Agitação (rpm)*
-α (-1,68)	5,0	25,0	6640
-1	7,0	27,0	8000
0	10,0	30,0	10000
+1	13,0	33,0	12000
+α (+1,68)	15,0	35,0	13360

*Percentuais de ácido esteárico e glicerol = g/100g de farinha de amaranto, em base seca.

Tabela 2 - Planilha de experimentos para o Planejamento Fatorial Completo 2^3.

Experimentos	*C.AE(X_1)* *	*C.GLI (X_2)*	*VA(X_3)*
1	-1 (7) #	-1 (27)	-1 (8000)
2	1 (13)	-1 (27)	-1 (8000)
3	-1 (7)	1 (33)	-1 (8000)
4	1 (13)	1 (33)	-1 (8000)
5	-1 (7)	-1 (27)	1 (12000)
6	1 (13)	-1 (27)	1 (12000)
7	-1 (7)	1 (33)	1 (12000)
8	1 (13)	1 (33)	1 (12000)
9	-1,68 (5,04)	0 (30)	0 (10000)
10	1,68 (15,04)	0 (30)	0 (10000)
11	0 (10)	-1,68 (25,04)	0 (10000)
12	0 (10)	1,68 (35,04)	0 (10000)
13	0 (10)	0 (30)	-1,68 (6640)
14	0 (10)	0 (30)	1,68 (13360)
15	0 (10)	0 (30)	0 (10000)
16	0 (10)	0 (30)	0 (10000)
17	0 (10)	0 (30)	0 (10000)

* X_1, X_2, X_3 = variáveis independentes

Valores entre parênteses= níveis reais das variáveis independentes.

Onde:

C.AE= Concentração de Ácido Esteárico (%= g/100g de farinha de amaranto)

C.GLI= Concentração de Glicerol (%=g/100g de farinha de amaranto)

VA= Velocidade de Agitação (rpm)

As respostas obtidas (variáveis dependentes) corresponderam à permeabilidade ao vapor de água, força e deformação de ruptura em teste de perfuração, tensão e deformação de ruptura em teste de tração, módulo de Young e solubilidade em água.

A análise estatística foi realizada através do programa STATISTICA 5.0 (Statsoft Inc. 2325 East 13th Street, Tulsa, OK, 74104, USA). Este programa possibilitou a avaliação do ajuste dos dados experimentais aos modelos matemáticos obtidos, através do teste *F*, e a obtenção das superfícies de resposta em função das variáveis estudadas.

4.4.2 TÉCNICA DE PREPARAÇÃO DOS BIOFILMES

Os biofilmes foram produzidos através do método "Casting". Uma suspensão contendo 4% (p/v) de farinha de amaranto foi homogeneizada em agitador magnético, durante 15 min. Após a hidratação da farinha a suspensão foi aquecida sob agitação constante até 50°C em banho-maria, quando se ajustou o pH para 10,7 com solução de NaOH 1,0N, para a solubilização das proteínas. O processo de aquecimento foi continuado até a temperatura atingir 82°C, quando se realizou a adição do glicerol, previamente dissolvido em água deionizada aquecida, de acordo com as concentrações definidas pelo planejamento experimental. A suspensão foi mantida a 80°C durante 15 min e em seguida adicionou-se o ácido esteárico, de acordo com os níveis do planejamento. Após a fusão do ácido graxo a suspensão foi imediatamente submetida à agitação para a emulsificação do mesmo, com o auxílio de um Homogeneizador Ultra-Turrax IKA (Model T18 Basic) com controle de velocidade de 6000-24000rpm, por 3 min nas velocidades definidas pelo planejamento experimental.

Após a agitação a suspensão foi resfriada em banho de gelo até a temperatura ambiente e mantida sob vácuo durante 3 horas, para a remoção de bolhas e ar dissolvido, sendo então espalhada sobre placas de Teflon (18 x 21 cm^2). A quantidade de suspensão nas placas foi controlada em balança semi-analítica (±0.01 g) (Marte, AM5500), para a obtenção de filmes de espessura constante e de aproximadamente 80μm. Adicionou-se o equivalente a 75,6g de suspensão para atingir esta espessura final, o que correspondeu a uma gramatura de 0,2g/cm^2, definida através de testes preliminares.

As suspensões filmogênicas foram submetidas à desidratação em incubadora para BOD Modelo MA-415UR (Marconi) com sistema de controle de temperatura e umidade relativa a 40°C e 55% UR por 16-18 horas, quando o equilíbrio de umidade foi atingido.

Após a secagem determinou-se a espessura dos filmes através de um micrômetro Interprise Modelo Fowler, medindo-se 10 posições diferentes. Em seguida os filmes foram cortados em amostras adequadas para a determinação dos testes mecânicos e de permeabilidade ao vapor de água e acondicionados a 25°C e 58% UR em dessecadores contendo solução saturada de NaBr, por 3 dias, sendo então submetidos aos testes.

4.4.3 CARACTERIZAÇÃO DOS FILMES

A caracterização dos biofilmes foi realizada através da determinação das Propriedades Mecânicas (força e deformação na ruptura em teste de perfuração e tração), Solubilidade em Água e Permeabilidade ao Vapor de Água. A determinação da Permeabilidade ao Oxigênio foi realizada somente para os filmes elaborados de acordo com a formulação otimizada.

4.4.3.1 FORÇA E DEFORMAÇÃO DE RUPTURA EM TESTE DE PERFURAÇÃO

A força e deformação de ruptura foram determinadas através de teste de perfuração, em um texturômetro TA-XT2i (Stable Micro Systems, Inglaterra), segundo a metodologia de GONTARD et al. (1992), baseado na norma da ASTM Standard Method D 882-91 (ASTM, 1993). As medidas foram realizadas em triplicata.

Após o acondicionamento em ambiente com 58% de Umidade Relativa, por 48h, as amostras foram retiradas e cortadas em forma de discos com 6cm de diâmetro, sendo então fixadas em uma célula com abertura circular na tampa, de 3,4cm de diâmetro. Também foi feito um pequeno orifício lateral na célula, para evitar a formação de pressão contrária ao movimento da sonda durante o teste.

Um sensor cilíndrico de 3mm de diâmetro foi deslocado perpendicularmente à superfície do filme, com velocidade constante de 1,0mm/s, até a ruptura do filme (GONTARD et al., 1992), de acordo com o esquema da Figura 4, onde *Lo* corresponde ao raio da superfície do filme não tensionado, D, à distância penetrada pela sonda no ponto de ruptura e L, ao raio da superfície do biofilme no ponto da ruptura (filme tensionado). Foram registradas as curvas da Força (N) em função da Penetração (deslocamento da sonda em mm) no ponto de ruptura. A deformação no ponto de ruptura ($\Delta L/Lo$) foi calculada através da Equação 4.6.

$$\frac{\Delta l}{Lo} = \frac{\sqrt{D^2 + Lo^2} - Lo}{Lo} \cdot 100 \qquad [4.6]$$

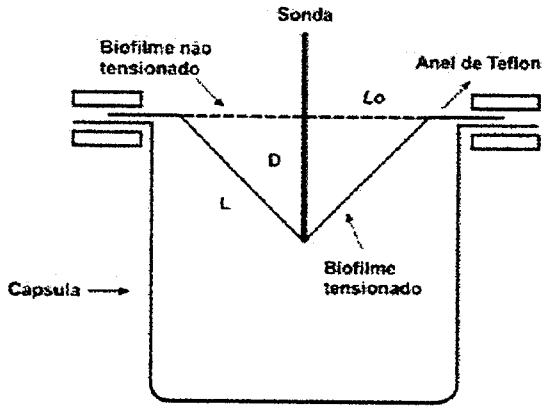


Figura 4 - Sistema para determinação de deformação em teste de perfuração.

4.4.3.2 FORÇA E DEFORMAÇÃO NA RUPTURA EM TESTE DE TRAÇÃO

Corpos de prova cortados de acordo com a Figura 5, em triplicata, foram submetidos à tração com velocidade de 1,0mm/s, partindo-se de uma separação inicial de 80mm, até a ruptura do filme. A tensão na ruptura e a elongação na ruptura foram obtidas diretamente da curva de tensão em função da elongação, conhecidas as dimensões iniciais dos corpos de prova. O módulo de elasticidade, ou módulo de *Young*, foi obtido da tangente na região linear da curva.

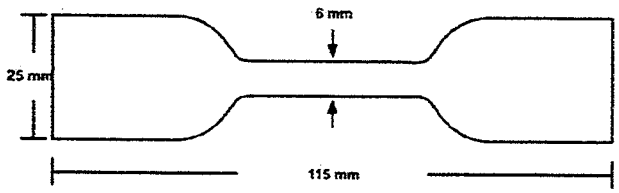


Figura 5 – Corpos de prova para teste de tração (desenho esquemático).

4.4.3.3 SOLUBILIDADE EM ÁGUA

A determinação da solubilidade em água foi realizada segundo a metodologia proposta por GONTARD et al. (1992). Três discos de cada amostra de filme, com 2cm de diâmetro, foram cortados e submetidos à secagem por 24h a 100°C, sendo posteriormente pesados. As amostras foram imersas em 50mL de água destilada contendo azida sódica (0,02% p/v) para prevenir o crescimento microbiano, onde foram

mantidas durante 24h, sob agitação esporádica. Após este período, determinou-se o conteúdo de matéria seca não solubilizada, através de filtração e secagem a 100°C por 24h. A solubilidade foi calculada como a relação entre a matéria seca final e a matéria seca inicial (GONTARD et al.,1992), utilizando-se a Equação 4.7.

$$\%M.S. = \frac{(m_i - m_f)}{m_i} \cdot 100 \qquad [4.7]$$

Onde:

%M.S.: percentual de material solubilizado
m_i: massa inicial de amostra (matéria seca inicial)
m_f: massa final de amostra (matéria seca final)

4.4.3.4 PERMEABILIDADE AO VAPOR DE ÁGUA

A permeabilidade ao vapor de água foi determinada utilizando-se o método padrão modificado da ASTM E96-90 (ASTM, 1990), de acordo com o procedimento descrito por GONTARD et al. (1994). As amostras de filme foram fixadas em células de permeação de vidro vedadas hermeticamente e contendo sílica gel em seu interior (0% UR, 0mmHg de pressão de vapor de água), as quais foram colocadas em dessecadores mantidos a 25°C e 100% UR (23,76mmHg de pressão de vapor de água) com água destilada. As células de permeação de vidro com abertura circular (diâmetro) de 3,4cm, possuem área de exposição dos filmes de 9,1cm^2. A difusão de umidade através do biofilme levou ao aumento de peso da célula, devido à absorção de umidade pela sílica gel, que foi registrado em balança semi-analítica em intervalos de 24h durante 7 dias. A condição de estado estacionário foi considerada quando a mudança no peso da célula tornou-se constante com o tempo. As determinações foram realizadas em triplicata, conforme o esquema da Figura 6.

A Equação 4.8 foi utilizada para o cálculo da permeabilidade ao vapor de água, sendo a razão G/t calculada através de regressão linear dos valores experimentais.

$$Pva = \frac{G}{t} \cdot \frac{x}{A \cdot (p_1 - p_2)} \qquad [4.8]$$

Onde:

G= ganho de peso do sistema no tempo t (h)
x= espessura do filme (mm)

A= área exposta do filme (m^2)
($p_1 - p_2$)= diferença de pressão parcial de vapor de água nos lados opostos do filme (kPa)
Pva= permeabilidade ao vapor de água (g.mm/h. m^2. kPa)

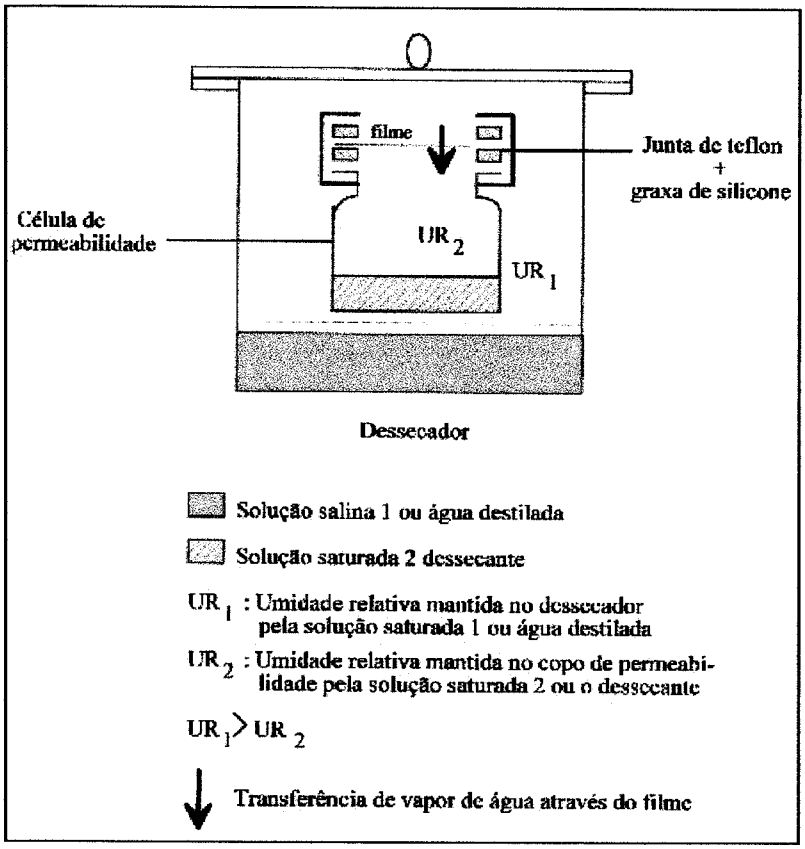


Figura 6 - Esquema do dispositivo para determinação da permeabilidade ao vapor de água.

4.4.3.5 PERMEABILIDADE AO OXIGÊNIO

A permeabilidade ao oxigênio (O_2) foi determinada utilizando o método modificado da ASTM D 3985-81 (ASTM, 1980) através de um aparelho Ox-Tran 2/90 (MOCON, Inc., Mineapolis, USA) a 25ºC. As amostras foram acondicionadas por dois dias a 52% UR antes das medidas. A permeabilidade foi calculada dividindo-se a taxa de transmissão de oxigênio pela pressão de oxigênio no sistema e multiplicando pela espessura média da amostra. As determinações foram feitas em triplicata.

4.5 APLICAÇÃO - EFEITO DE COBERTURA COMPOSTA DE FARINHA DE AMARANTO E ÁCIDO ESTEÁRICO SOBRE A QUALIDADE DE MORANGOS (*Fragaria Ananassa*) REFRIGERADOS

Após a obtenção da formulação otimizada realizou-se a sua aplicação sobre morangos frescos para avaliar o seu efeito sobre a qualidade dos frutos.

4.5.1 PREPARAÇÃO DAS AMOSTRAS

Foram utilizados morangos frescos (*Fragaria Ananassa*) em estágio comercial de maturação, colhidos em uma fazenda local localizada em Valinhos (SP), com tamanho uniforme e livres de danos físicos e infecção por fungos. Para a lavagem, os morangos foram mergulhados em desinfetante clorado para verduras e frutas - SUMAVEG (Diversey Lever), na concentração de 0,66% (p/v), por aproximadamente 1 minuto, sendo então submetidos à secagem em temperatura ambiente antes da aplicação dos tratamentos.

4.5.2 TRATAMENTOS

Seis tratamentos diferentes foram planejados para realizar a cobertura dos morangos e para fins de comparação com a cobertura elaborada a partir da formulação otimizada:

1. *Controle:* os morangos foram mergulhados em água destilada a 25°C durante 1 minuto.
2. *PVC*: os morangos foram individualmente embalados com uma camada de filme de PVC.
3. *Formulação Otimizada:* a formulação definida como otimizada pelo planejamento experimental (item 4.4) foi elaborada e resfriada até 25°C, mergulhando-se os morangos durante 1 minuto.
4. *Bicamada da Formulação Otimizada:* neste tratamento os morangos foram mergulhados duas vezes na formulação otimizada. Após a aplicação da primeira camada os morangos foram submetidos à secagem durante uma hora a 20°C, sendo então mergulhados novamente na suspensão.
5. *Formulação Otimizada não adicionada de Ácido Esteárico:* neste tratamento a cobertura foi elaborada de acordo com a formulação otimizada porém, sem a adição do

ácido esteárico, para a percepção geral do efeito do lipídeo na cobertura. Todas as etapas do processo foram realizadas, inclusive a homogeneização e a etapa de vácuo. Da mesma maneira que nos tratamentos anteriores, os morangos foram mergulhados na suspensão durante 1 minuto.

6. *Amido de amaranto:* uma suspensão de amido puro de amaranto foi preparada utilizando-se a concentração de glicerol otimizada porém, sem a adição de lipídeo.

O tratamento 6 foi planejado para que se pudessem comparar as coberturas de farinha de amaranto com e sem ácido esteárico, com a cobertura de amido. A elaboração de filmes de amido puro adicionados de ácido esteárico não foi realizada neste trabalho.

Após a aplicação das coberturas, os morangos foram mantidos a 20ºC por aproximadamente 4 horas, para a secagem, sendo então estocados a 7ºC e 80% UR por 21 dias em uma incubadora para BOD Modelo MA-415UR (Marconi), com sistema de controle de temperatura e umidade relativa.

4.5.3 ANÁLISES DOS FRUTOS

4.5.3.1 DECAIMENTO MICROBIOLÓGICO

Um grupo de 10 morangos para cada tratamento foi inspecionado visualmente após 3, 6, 9, 11, 14 e 18 dias de armazenamento, sendo considerados como contaminados quando uma lesão visível foi observada. Os resultados foram expressos como percentual de frutas contaminadas.

4.5.3.2 PERDA DE PESO

Os mesmos morangos utilizados para avaliar o decaimento microbiológico foram utilizados para as análises de perda de peso, nas quais os frutos foram pesados após a secagem das coberturas e após 3, 6, 9, 11, 14 e 18 dias de armazenamento.

4.5.3.3 FIRMEZA

As medidas de perda de firmeza foram realizadas através de teste de compressão uniaxial, em um texturômetro TA-XT2i (Stable Micro Systems, Inglaterra) equipado com uma célula de compressão de 5,0Kg e geometria em formato de placa cilíndrica de

acrílico, com 45mm de diâmetro. Esta geometria foi escolhida por apresentar diâmetro superior às laterais das amostras, evitando-se o aparecimento de forças cisalhantes durante o teste.

A análise de textura foi realizada nos tempos de 1, 3, 6, 10, 13 e 16 e 18 dias de armazenamento, utilizando-se um número de 7 morangos para cada tempo, em todos os tratamentos. As amostras utilizadas apresentaram dimensões aproximadas entre si, sendo levemente cortadas na base e no topo de modo a obter áreas de contato definidas e semelhantes entre as amostras.

A compressão foi realizada até uma deformação de 80%, de modo a garantir a ruptura do material. A velocidade do ensaio foi de 1,0mm/s coletando-se 200 medidas de força por segundo.

4.5.3.4 DESENVOLVIMENTO SUPERFICIAL DE COR

O desenvolvimento superficial de cor foi acompanhado através do sistema de leitura de três parâmetros, CIELAB, proposto pela Commission Internationale de l'Eclairage (CIE) em 1971. Neste sistema define-se um espaço cromático em coordenadas retangulares (L*, a* e b*), associando a outro em coordenadas cilíndricas (L*, H*, C*). Os parâmetros L*, a* e b* foram fornecidos pelo espectrofotômetro de bancada Color Quest II, marca Hunter Lab, onde L* define a luminosidade (L*=0 preto e L*=1 branco) e a* e b* são responsáveis pela cromaticidade (+a* vermelho e –a* verde), b* (+b* amarelo e –b* azul). Antes de cada medida, calibrou-se o equipamento com fundo branco, usado como padrão, sendo usados os seguintes valores dos parâmetros: L_0*=93,494; a_0*=-0,766 e b_0*=1,399.

As medidas de cor foram realizadas nos tempos de 1, 3, 6, 10, 13 e 16 e 18 dias de armazenamento, calculando-se a razão entre os parâmetros de cromaticidade (a/b).

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 CARACTERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA DO AMIDO E FARINHA DE AMARANTO

5.1.1 COMPOSIÇÃO FÍSICO-QUÍMICA

Os resultados da composição do amido e farinha extraídos dos grãos de *Amaranthus cruentus* estão expressos na Tabela 3. Os rendimentos obtidos para o processo de extração do amido e da farinha de amaranto foram, em média, de 30,5 e 35,0%, respectivamente. Os valores para o rendimento em amido são comparáveis aos obtidos por HOOVER et al. (1998), que obtiveram valores de 30,2 e 29,0% para duas variedades de *Amaranthus cruentus*, e URIYAPONGSON e RAYAS-DUARTE (1994), que indicaram rendimentos de 30,4% e 32,2% para a extração de amido de *A. cruentus* e *A. hypochondriacus*, respectivamente. O rendimento obtido para a farinha de amaranto foi maior em relação ao do amido em virtude da farinha ser constituída por um complexo de amido, proteínas e lipídeos.

Tabela 3 - Resultados da caracterização físico-química do Amido e Farinha de Amaranto.

g/100g (Média ± DP*)	***Amido***	***Farinha***
Umidade $_{b.u}$	6,17±0,09 [a]	6,10±0,14 [b]
Cinzas $_{b.s}$	1,66±0,41[a]	2,94±0,01 [b]
Proteínas $_{b.s}$	1,20±0,01[a]	15,72±0,16 [b]
Lipídeos $_{b.s}$	0,09±0,01[a]	10,81±0,14 [b]
**Amido $_{b.s}$	97,05±0,03	70,53±0,02
Amilose $_{b.s}$	13,90±0,11 [c]	15,70±0,05 [d]
**Amilopectina $_{b.s}$	86,10±0,13 [c]	84,30±0,09 [d]

*Desvio Padrão - os resultados representam média de 3 determinações;
b.s - resultados expressos em base seca; b.u - resultado expresso em base úmida;
[a] g/100 de amido;
[b] g/100g de farinha;
** Resultado obtido por diferença;
[c] g/100 de amido puro (base 97,05% de amido, presente no amido isolado);
[d] g/100g de amido presente na farinha (base 70,53% de amido).

Os resultados dos teores de proteína, lipídeos e cinzas da farinha de amaranto são comparáveis aos indicados por BECKER et al. (1981), ZHAO e WHISTLER (1994), YANEZ et al. (1986) e PAREDES-LÓPEZ et al. (1988). O teor de proteína obtido para o amido de amaranto (1,20± 0,01%) foi superior ao encontrado por RADOSAVLJEVIC et al. (1998) (0,40%), provavelmente devido às diferenças entre os métodos de isolamento (uso de tratamento com proteases pelo último autor). No entanto, este valor é aceitável e semelhante ao obtido por outros autores que utilizaram o mesmo método de isolamento (PAREDES-LÓPEZ et al., 1989).

Os teores de amilose para o amido e a farinha (13,90 e 15,70%, respectivamente) foram superiores aos valores indicados por PEREZ et al. (1993) (10,1%) e HOOVER et al. (1998) (3,9%), para amido de *Amaranthus cruentus*; no entanto, foram inferiores aos obtidos por WU e CORKE (1999) (19.5 e 22.0%) para o amido de duas variedades de *Amaranthus cruentus* cultivadas na China. SUGIMOTO et al. (1981) indicaram que ambos tipos de amido, normal e ceroso, podem ocorrer em uma mesma espécie de amaranto, encontrando teores de 14 e 0% de amilose em duas variedades de *A. hypochondriacus*. As diferenças no teor de amilose em variedades pertencentes a uma mesma espécie podem ocorrer em função de diferentes métodos de cultivo e condições ambientais.

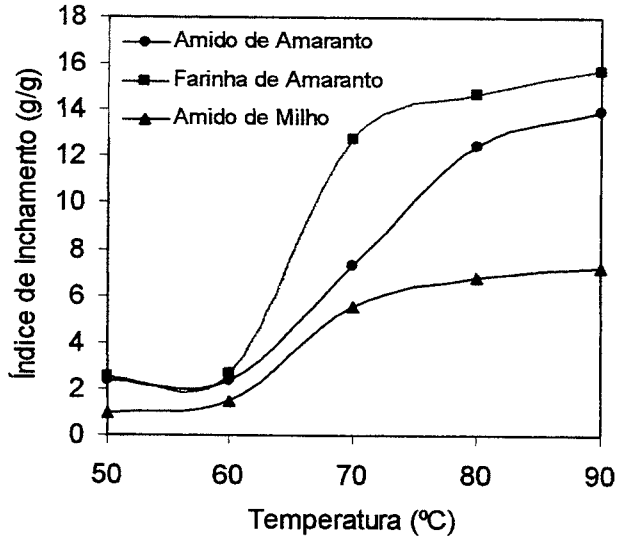
5.1.2 ÍNDICE DE INCHAMENTO E SOLUBILIDADE

Através da Figura 7(a) pode-se verificar os resultados para o índice de inchamento do amido e farinha de amaranto, e para o amido de milho, no intervalo de 50-90°C. Para o amido e a farinha de amaranto, a influência da temperatura foi maior entre 60 e 70°C, provavelmente devido a ruptura dos grânulos de amido nesta faixa. Estes resultados estão de acordo com os dados obtidos nas análises térmicas para a temperatura inicial de gelatinização do amido (67,68°C) e da farinha de amaranto (66,60 °C).

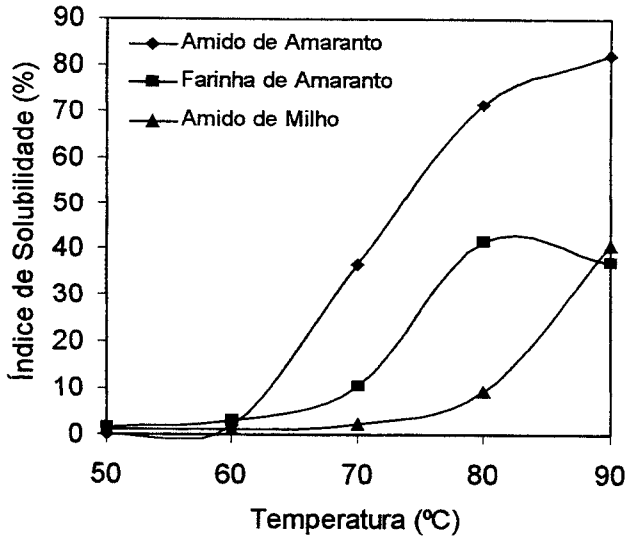
Em relação ao amido de milho, os índices de inchamento do amido e farinha de amaranto mostraram-se superiores. Os valores obtidos são semelhantes aos resultados indicados por RESIO et al. (2000), os quais citam que o amido de *Amaranthus cruentus* apresenta elevado índice de inchamento (8,85 gH_2O/g amostra) em relação ao amido de milho (5,83 g/g), a 70°C. Estes resultados já eram esperados, uma vez que o índice de inchamento é uma propriedade da amilopectina e o amido e a farinha de amaranto apresentam teores de amilose inferiores (13,9 e 15,7%, respectivamente) em relação ao

amido de milho (~27%). Conseqüentemente, a fração em amilopectina do amido de amaranto é superior à do amido de milho. Além disso, os grânulos de amido de amaranto, com diâmetro de 1,0-1,5μm, apresentam maior área de contato com as moléculas de água se comparados aos grânulos de amido de milho, os quais são em média dez vezes maiores (CALZETTA et al., 1999).

Para o índice de solubilidade, ambos amidos de amaranto e de milho, assim como a farinha de amaranto, apresentaram valores crescentes com o aumento da temperatura, o que pode ser observado na Figura 7(b). Este comportamento é similar ao indicado por vários pesquisadores (JENG-YUNE e AN-I, 2001; PAREDES-LÓPEZ et al., 1989; RESIO et al., 2000). Para a farinha de amaranto ocorreu uma diminuição da solubilidade entre 80 e 90°C, provavelmente devido à desnaturação de suas proteínas (SALCEDO-CHÁVEZ et al., 2002). Além disso, pode-se observar que a solubilidade da farinha de amaranto mostrou-se inferior à do amido puro, provavelmente devido a presença de proteínas e lipídeos. Sabe-se que a solubilização do amido ocorre quando seus grânulos constituintes são rompidos, havendo a lixiviação da amilose e a perda de material. Na farinha de amaranto os grânulos de amido apresentam-se complexados com moléculas de proteínas e lipídeos, o que foi confirmado neste trabalho através da técnica de microscopia eletrônica de varredura (item 5.1.4). Supõe-se portanto que a presença destes complexos na camada externa dos grânulos do amido dificultou o processo de solubilização, por impedir a liberação de material dos grânulos e também pelo fato de que os lipídeos são hidrofóbicos. Desta forma, uma maior quantidade de energia é necessária para a solubilização da farinha de amaranto em água, o que é confirmado pelos resultados apresentados na Tabela 4 para a temperatura de gelatinização de suspensões de amido e farinha de amaranto, na qual observa-se que a entalpia de gelatinização das suspensões de farinha de amaranto foram superiores às obtidas para as suspensões preparadas com amido puro. Somado a isto, de acordo com MARTÍNEZ et al. (1997), as proteínas do amaranto apresentam características especiais de solubilidade, de modo que a albumina é totalmente solubilizada em água somente após a extração da globulina com soluções salinas.



(a)



(b)

Figura 7- Índices de Inchamento (g $H_2O/g_{amostra}$) (a) e Solubilidade (b) do amido e farinha de amaranto, e amido de milho, em função da temperatura.

5.1.3 ANÁLISES TÉRMICAS

Os resultados para as faixas de temperatura de gelatinização (ΔT) das suspensões de amido e farinha de amaranto, obtidos por calorimetria diferencial de varredura, estão indicados na Tabela 4. Pode-se verificar que, para o sistema avaliado, um aumento na concentração de soluto (5-10%) provocou um ligeiro aumento da temperatura de gelatinização, confirmando o que foi indicado por SLADE e LEVINE (2002), de que a água atua como plasticizante no sistema, diminuindo a temperatura de transição vítrea de suspensões de amido e também a subseqüente fusão dos cristais (gelatinização).

Tabela 4 - Resultados para a temperatura de gelatinização do amido e farinha de amaranto.

	Concentração (% p/p)	T_o [1] (°C)	T_p [2] (°C)	T_f [3] (°C)	ΔT (°C)	ΔH (J/g) [4]
Amido	5	67,68	72,26	77,37	9,69	12,12
	10	68,25	73,00	78,83	10,58	12,62
Farinha	5	66,60	70,83	75,13	8,53	15,78
	10	67,40	71,06	75,50	8,10	17,38

[1] T_o = temperatura inicial de gelatinização; [2] T_p = temperatura de pico de gelatinização; [3] T_f = temperatura final de gelatinização; [4] ΔH (J/g de amostra seca) = Entalpia de Gelatinização.

O intervalo de gelatinização observado para o amido de amaranto foi superior a faixa obtida para a farinha, para ambas concentrações estudadas, o que pode ser explicado em função do menor número de grânulos de amido existente na farinha, em relação ao amido puro isolado, em uma mesma concentração. De acordo com EVANS e HAISMAN (1982), enquanto o intervalo de temperatura de gelatinização para uma população de grânulos de amido é de aproximadamente 10°C, um grânulo de amido isolado gelatiniza em uma faixa muito curta, menor que 1°C, assim, é de se esperar que o amido isolado apresente uma faixa de temperatura de gelatinização maior que a farinha de amaranto.

Entretanto, os resultados para a entalpia de gelatinização (Tabela 4) revelam que o processo de gelatinização da farinha consumiu maior quantidade de energia por grama de suspensão, comparando-se com os resultados para a gelatinização das suspensões de amido, em ambas concentrações estudadas. Este comportamento pode ser explicado em função da composição da farinha de amaranto, ou seja, a presença de proteínas e de lipídeos formando complexos nas camadas externas dos grânulos de amido pode ter

afetado o processo de gelatinização, dificultando o rompimento dos grânulos e, conseqüentemente, a gelatinização. Somado a isso, as proteínas presentes na farinha de amaranto podem ter sofrido desnaturação, uma vez que a faixa de temperatura utilizada na técnica de calorimetria diferencial de varredura foi de 30 a 100ºC, e este processo também é endotérmico.

A temperatura de processo utilizada neste trabalho para a elaboração das suspensões filmogênicas de farinha de amaranto foi de 82ºC, sendo portanto, superior à temperatura final de gelatinização obtida pela análise de DSC, para as suspensões contendo 5 e 10% de farinha de amaranto. No entanto, este valor de temperatura de processo foi utilizado em função dos resultados obtidos por TAPIA BLÁCIDO (2003), que utilizou a metodologia de superfície de resposta (RSM) para otimizar este e outros parâmetros. Pode-se dizer que a estruturação dos componentes na matriz polimérica do filme foi melhor ao utilizar-se esta temperatura, uma vez que as propriedades mecânicas obtidas foram superiores nesta condição.

Torna-se difícil comparar os resultados da Tabela 4 com os dados da literatura, uma vez que os autores que estudaram o processo de gelatinização do amido e farinha de amaranto através de DSC utilizaram diferentes concentrações de soluto e solvente, e diferentes variedades ou espécies de amaranto. Entretanto, RADOSAVLJEVIC et al. (1998) encontraram intervalos de gelatinização de 70,6 - 82,9ºC e 68,0 - 77,9ºC para o amido e a farinha de *Amaranthus cruentus*, respectivamente, a uma concentração de 33% de soluto, dados que são comparáveis aos obtidos neste trabalho.

5.1.4 MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE VARREDURA (MEV)

As Figuras 8, 9 e 10 mostram as imagens obtidas através de microscopia eletrônica de varredura (MEV) do grão de amaranto seccionado e do amido e farinha isolados, respectivamente. Pode-se observar na Figura 8(a), a camada externa, a radícula, cotilédones e o perisperma do grão, que possui aproximadamente 1,0mm de diâmetro. No centro do grão está o tecido de reserva, denominado perisperma. De acordo com YANEZ et al. (1986), o amido é o carboidrato mais abundante dos grãos de amaranto, sendo armazenado principalmente no perisperma, o que pode ser confirmado através da Figura 8(b), que mostra a parte central do grão seccionado com um maior aumento (6000x) em relação a Figura 8(a) (250x).

A Figura 9 mostra o amido de amaranto isolado, na qual pode-se observar que os grânulos possuem um diâmetro médio de 1,0μm, apresentando forma poligonal similar à observada em amidos de outras espécies de amaranto (RADOSAVLJEVIC et al., 1998). As características morfológicas estão de acordo com as observações de outros pesquisadores (CALZETTA et al., 1999; YANEZ et al., 1986; HOOVER et al., 1998; RADOSAVLJEVIC et al., 1998). As regiões delimitadas na Figura 9 mostram complexos formados por lipídeos, proteína e grânulos de amido, formados devido a remoção incompleta de proteína e lipídeos durante o processo de isolamento.

A Figura 10 representa a farinha de amaranto isolada sob aumento de 6000x, na qual pode-se observar que os grânulos de amido encontram-se complexados com moléculas de proteínas e lipídeos, com ausência de grânulos de amido livres, como pode-se observar na região delimitada.

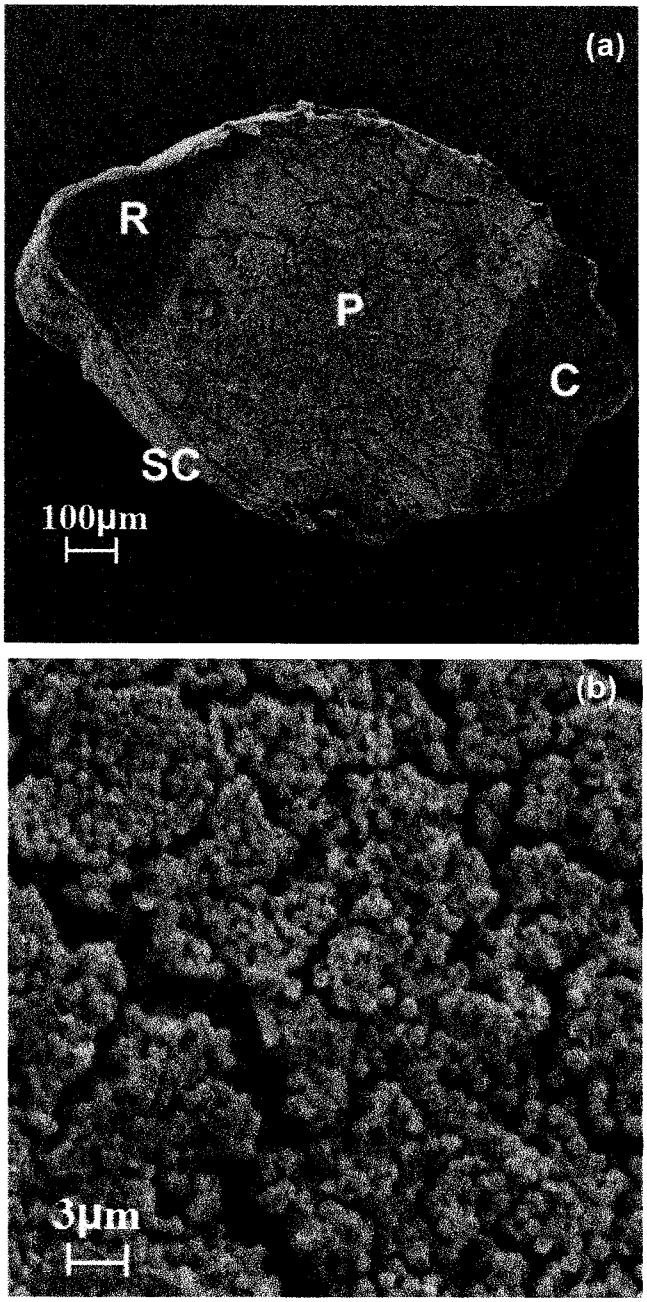


Figura 8- Estrutura microscópica do grão de *Amaranthus cruentus* obtida por microscopia eletrônica de varredura (MEV): **(a)** Visão global do grão seccionado; aumento de 250x. **(b)** Perisperma do grão; aumento de 6000x. Siglas: C= cotilédone; P= perisperma; R= radícula; SC= camada externa do grão.

UNICAMP
BIBLIOTECA CENTRAL
SEÇÃO CIRCULANTE

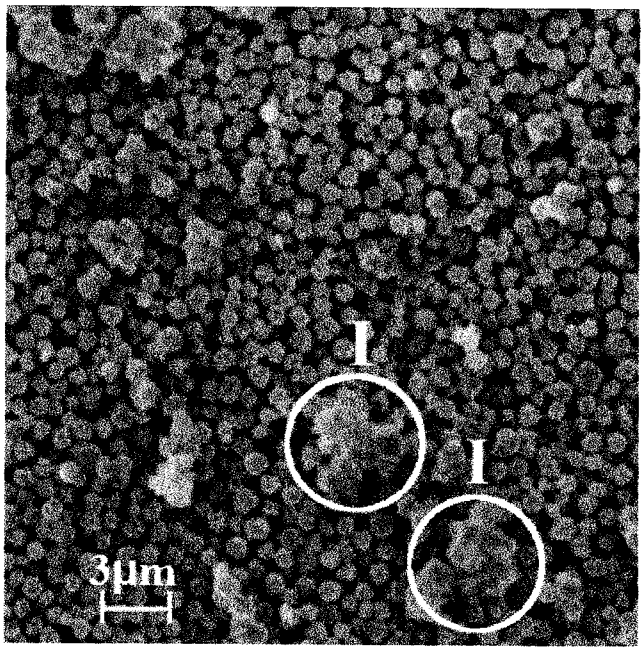


Figura 9- Amido de amaranto isolado; aumento de 6000x. (I) = complexo de amido, lipídeos e proteínas não removidas no processo de isolamento.

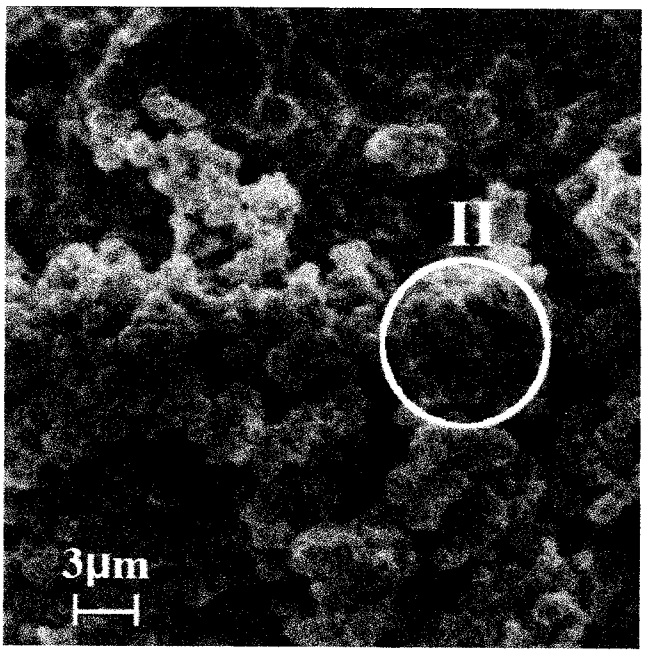


Figura 10- Farinha de amaranto isolada; aumento de 6000x. (II) = complexo de amido, lipídeos e proteínas.

5.2 ELABORAÇÃO DOS BIOFILMES DE FARINHA DE AMARANTO ADICIONADOS DE ÁCIDO ESTEÁRICO

5.2.1 PROCESSO DE ELABORAÇÃO

Para a definição do procedimento de elaboração dos biofilmes adicionados de ácido esteárico apresentado no item 4.4.2, vários testes preliminares foram realizados para a definição do melhor suporte para a secagem da suspensão filmogênica, do ajustador de pH, do tempo e umidade final de secagem, da gramatura e espessura final do filme e do método de remoção de bolhas de ar após a etapa de emulsificação do ácido esteárico.

Como suporte de secagem, inicialmente foram utilizadas placas de acrílico, as quais, no entanto, dificultaram a retirada do filme após a secagem, devido a forte aderência, não sendo possível realizá-la sem a ocorrência de quebras. Desta forma optou-se pelo uso de superfícies de teflon, dada sua característica de anti aderência, as quais possibilitaram a retirada dos filmes com facilidade.

A gramatura definida para a obtenção dos filmes foi de 0,2g/cm^2, a qual possibilitou a obtenção de filmes com espessura final na faixa de 80-100μm.

A umidade de equilíbrio foi alcançada após aproximadamente 16-18h de secagem, dependendo da formulação, obtendo-se filmes com aproximadamente 20% de umidade final.

Para a remoção das bolhas de ar formadas após a emulsificação do ácido esteárico (agitação em homogeneizador), foram testados os métodos de centrifugação a baixa rotação (800rpm) e de vácuo. Optou-se por manter a suspensão em dessecador sob vácuo durante 3 horas, visto que observou-se a separação do ácido esteárico ao utilizar-se centrifugação. A manutenção da suspensão filmogênica em banho de ultrassom também foi testada, porém o método não foi efetivo na remoção das bolhas de ar.

5.2.1.1 EFEITO DA BASE AJUSTADORA DE pH

Para o ajuste do pH da suspensão formadora foram testadas soluções de Hidróxido de Sódio e de Hidróxido de Amônio. De acordo com AYHLLON-MEIXUEIRO et al. (2000), que estudaram a elaboração de filmes a partir de proteínas do girassol, a base

utilizada para a dissolução das proteínas exerce forte influência nas propriedades mecânicas dos filmes, as quais estão relacionadas à distribuição das interações intra- e intermoleculares e ao arranjo espacial das estruturas protéicas. As estruturas tridimensionais das proteínas são estabilizadas por interações não covalentes (forças de Van der Waals, pontes de H e interações iônicas), e a base ajustadora, a qual não é removida da suspensão formadora do filme, pode interferir em tais interações, tal como é mostrado na Figura 11.

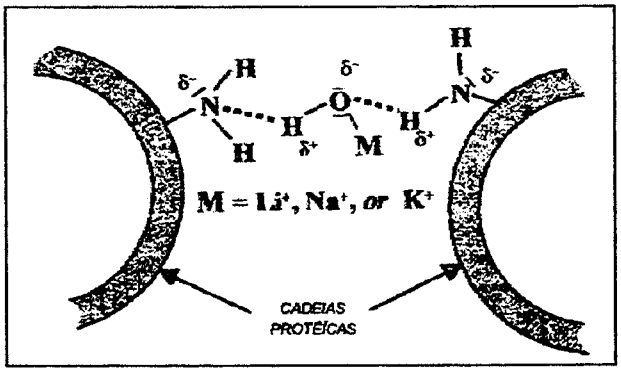


Figura 11- Representação esquemática das forças de interação não covalentes entre as cadeias protéicas e bases iônicas.
Fonte: AYHLLON-MEIXUEIRO et al. (2000)

AYHLLON-MEIXUEIRO et al. (2000) testaram o uso de bases iônicas fortes - NaOH, LiOH, KOH - e de bases fracas - NH_4OH e Trietilamônia, indicando que o uso das bases fortes resultou em tensão e elongação de ruptura cerca de três vezes maiores. Esses autores sugerem que os íons fortes podem interpor-se facilmente entre as cadeias protéicas, criando pontes que estabilizam e fortalecem a rede, indicando também que no caso do NH_4OH e da Trietilamônia, a alta volatilidade impede que estas bases permaneçam na rede polimérica após a secagem do filme e, portanto, as ligações entre as cadeias não podem ser mantidas.

Tendo em vista estas considerações, foram elaborados filmes com NaOH 1,0N e NH_4OH 10,0N como bases ajustadoras e verificado o seu efeito sobre as propriedades mecânicas e de permeabilidade ao vapor de água. Definiu-se uma formulação para o teste, de 10% de ácido esteárico e 25% de glicerol, utilizando-se velocidade de agitação de 12000rpm. Os resultados estão apresentados na Tabela 5.

Tabela 5 - Efeito da base ajustadora de pH nas propriedades mecânicas e de permeabilidade ao vapor de água dos biofilmes.

Base	*Propriedades mecânicas*					*PVA (g.mm/ m^2.h. kPa)*
	T(MPa)	**Elo (%)**	**M.Y (MPa)**	**F (N)**	**D (%)**	
NaOH 1,0N	2,70	148,00	0,25	2,20	4,20	0,28
NH_4OH 10,0N	2,45	122,10	0,15	2,05	3,20	0,90

Onde:
T= Tensão de Ruptura (MPa) no teste de Tração;
Elo= Elongação de Ruptura (%) no teste de Tração;
M.Y= Módulo de Young (MPa) no teste de Tração;
F= Força de Ruptura (N);
D= Deformação de Ruptura (%);
PVA= Permeabilidade ao Vapor de Água (g.mm/m^2.h.kPa).

Através dos resultados da Tabela 5 verificou-se que ambas propriedades mecânicas e de permeabilidade ao vapor de água foram superiores no filme elaborado com NaOH 1,0N como ajustador de pH, confirmando as observações de AYHLLON-MEIXUEIRO et al. (2000). Desta forma, esta base foi escolhida para a elaboração dos biofilmes estudados neste trabalho.

5.2.1.2 DEFINIÇÃO DA MÁXIMA CONCENTRAÇÃO DE ÁCIDO ESTEÁRICO

Foram realizados testes preliminares para a definição da máxima quantidade de ácido esteárico possível de ser adicionada aos biofilmes de farinha de amaranto. Em concentrações acima de 15% os filmes apresentaram distribuição irregular do lipídeo, além de característica extremamente cerosa, tornando-se de difícil manuseio. Assim, a concentração superior de ácido esteárico utilizada no planejamento experimental (nível +1,68) foi de 15% em relação a matéria seca. Nestas condições, outros problemas freqüentemente encontrados na formação de filmes compostos, como deformações, formação de poros e furos durante a secagem (KAMPER e FENNEMA, 1984; GONTARD et al., 1994; PEREZ-CAGO e KROCHTA, 2000), não foram observados neste trabalho, obtendo-se filmes homogêneos e de superfície lisa. Estas observações podem ser resultado do poder emulsificante das proteínas presentes na farinha de amaranto, uma vez que não foi necessária a utilização de compostos emulsificantes e o ácido esteárico foi bem incorporado ao sistema.

5.2.2 RESULTADOS DO PLANEJAMENTO FATORIAL COMPLETO 2^3

Os resultados para as propriedades mecânicas em teste de perfuração (força e deformação de ruptura) e de tração (tensão, elongação e módulo de Young), e para a permeabilidade ao vapor de água e solubilidade dos biofilmes estão apresentados na Tabela 6. Através da Tabela 7 pode-se observar os resultados para a espessura e a umidade final dos biofilmes de farinha de amaranto adicionados de ácido esteárico.

Tabela 6 - Resultados do planejamento experimental Fatorial Completo 2^3.

ENSAIO	X_1	X_2	X_3	S (%)	PVA (g.mm/ m^2.h. KPa)	RUPTURA		TRAÇÃO		
						F (N)	D (%)	T (MPa)	Elo (%)	M.Y (MPa)
1	-1	-1	-1	15,5	0,71	1,8	4,0	2,0	120,1	26,9
2	1	-1	-1	14,0	0,55	1,8	3,4	1,7	210,0	13,4
3	-1	1	-1	18,6	0,75	1,2	6,1	2,1	269,3	19,5
4	1	1	-1	17,0	0,65	1,2	9,1	0,8	344,3	14,3
5	-1	-1	1	17,3	0,76	2,1	4,0	3,0	74,2	21,1
6	1	-1	1	15,6	0,37	1,9	5,3	1,4	280,7	14,4
7	-1	1	1	17,8	0,55	1,4	9,8	1,1	470,7	6,4
8	1	1	1	16,6	0,56	1,3	6,4	0,9	510,0	7,5
9	-1,68	0	0	14,9	0,71	1,7	9,2	1,8	502,0	4,7
10	+1,68	0	0	12,0	0,45	1,5	4,6	1,4	620,0	12,4
11	0	-1,68	0	11,3	0,45	2,1	2,8	2,3	113,0	48,8
12	0	+1,68	0	19,4	0,60	1,1	9,2	0,8	420,0	4,8
13	0	0	-1,68	16,9	0,52	1,6	7,7	1,2	230,0	24,4
14	0	0	+1,68	14,6	0,48	2,0	5,8	2,0	371,6	13,0
15	0	0	0	15,9	0,43	1,7	6,1	1,2	284,1	17,8
16	0	0	0	15,5	0,42	1,7	6,0	1,1	277,2	17,4
17	0	0	0	14,9	0,43	1,6	6,5	1,2	267,7	17,6

Onde:

Variáveis:

X_1 (C.AE)= Concentração de Ácido Esteárico (g/100g de farinha de amaranto); X_2 (C.Gli)= Concentração de Glicerol (g/100g de farinha de amaranto); X_3 (VA)= Velocidade de Agitação (rpm).

Respostas:

S= Solubilidade (%); **PVA**= Permeabilidade ao Vapor de Água (g.mm/m^2.h.kPa); **F**= Força de Ruptura (N); **D**= Deformação de Ruptura (%); **T**= Tensão de Ruptura (MPa) no teste de Tração; **Elo**= Elongação de Ruptura (%) no teste de Tração; **M.Y**= Módulo de Young (MPa) no teste de Tração.

Tabela 7 - Resultados para a espessura e a umidade final dos biofilmes.

ENSAIO	X_1	X_2	X_3	*Espessura (μm)*	*Umidade (g/100g)*
1	-1	-1	-1	98,0	20,4
2	1	-1	-1	100,0	20,5
3	-1	1	-1	98,5	20,3
4	1	1	-1	96,0	21,4
5	-1	-1	1	91,2	19,8
6	1	-1	1	100,0	20,1
7	-1	1	1	100,0	21,2
8	1	1	1	89,2	19,7
9	-1,68	0	0	96,3	20,6
10	+1,68	0	0	100,0	19,9
11	0	-1,68	0	91,5	21,2
12	0	+1,68	0	99,2	20,8
13	0	0	-1,68	87,5	19,8
14	0	0	+1,68	100,0	20,3
15	0	0	0	89,0	20,5
16	0	0	0	92,5	20,8
17	0	0	0	93,5	19,8

Em anexo (Anexo A) são apresentados alguns exemplos das curvas obtidas nos testes mecânicos de perfuração e tração, a partir dos quais foram obtidos os resultados apresentados na Tabela 6.

5.2.3 SOLUBILIDADE

A análise estatística foi realizada, sendo os resultados para os efeitos das variáveis estudadas sobre a resposta de solubilidade, apresentados na Tabela 8. Observa-se que, para um intervalo de confiança de 95%, apenas as variáveis C.AE e C.Gli (termos lineares) apresentaram efeito estatisticamente significativo sobre a resposta. A concentração de ácido esteárico apresentou efeito negativo sobre a solubilidade, de modo que um aumento de 7% (nível -1) para 13% (nível +1) causou uma diminuição de, em média, 1,59% na solubilidade dos biofilmes. Por sua vez, a concentração de glicerol apresentou efeito positivo sobre a solubilidade, provocando um aumento da mesma em 3,08%, ao ser acrescida de 27% para 33% de adição.

Tabela 8 - Efeito dos fatores estudados para a resposta de Solubilidade (%).

	Fatores	*Efeito* [a]	*Desvio Padrão*	*p (95% confiança)*
	Média	15,32	0,290	0,0004*
	C.AE	-1,59	0,272	0,0281*
Linear	C.Gli	3,08	0,272	0,0078*
	VA	-0,26	0,272	0,4335
	C.AE (Q)	-0,64	0,299	0,1683
Quadrático	C.Gli (Q)	0,72	0,299	0,1386
	VA (Q)	0,99	0,299	0,1852
	C.AE x C.Gli	0,07	0,356	0,8622
Interações	C.AE x VA	0,09	0,356	0,8239
	C.Gli x VA	-1,18	0,356	0,1132

* Fatores significativos ao nível de significância (p) menor que 0,05.
[a] Os efeitos são apresentados em percentual (%).

Desconsiderando-se os fatores não significativos, obtiveram-se os coeficientes de regressão para o modelo estatístico da solubilidade em função das variáveis estudadas, apresentados na Tabela 9, a partir da qual foi possível estabelecer o modelo codificado representado pela Equação 5.1.

Tabela 9 - Coeficientes de regressão e níveis de significância do modelo para a Solubilidade.

	Fatores	*Coef. de Regressão*	*Desvio Padrão*	*p (95% confiança)*
	Média	15,75	0,122	0,0000*
Linear	C.AE	-0,80	0,136	0,0281*
	C.Gli	1,54	0,136	0,0077*

*Coeficientes estatisticamente significativos para p<0,05.

OBS: Os fatores desconsiderados na obtenção dos coeficientes de regressão do modelo são incorporados aos resíduos.

$$S = 15,75 - 0,80x_1 + 1,54x_2 \quad [5.1]$$

Onde: x_1= C.AE
x_2= C.Gli

Os resultados da análise de variância (ANOVA) para o ajuste dos dados experimentais ao modelo proposto pela Equação 5.1 estão apresentados na Tabela 10. Observa-se que o modelo estatístico é válido, uma vez que o valor de $F_{calculado}$ da regressão em relação aos resíduos foi maior que o valor de $F_{tabelado}$. Porém, embora seja válido, o modelo apresentou falta de ajuste relativamente alta, o que pode ser confirmado pelo coeficiente de correlação (0,71).

Tabela 10 - ANOVA do ajuste do modelo obtido para a Solubilidade dos biofilmes.

Fonte de Variação	*Soma Quadrática (SQ)*	*Graus de Liberdade (GL)*	*Média Quadrática (SQ/GL)*	$F_{calculado}$	$F_{tabelado}$
Regressão	41,12	2	20,56	9,65	3,74
Resíduos	29,87	14	2,13		
Falta de Ajuste	29,36	12	2,45		
Erro Puro	0,51	2	0,25		
Total	70,99	16			
R^2= 0,71					

Uma vez validado o modelo estatístico, foi possível obter a superfície de resposta para a solubilidade em função das variáveis C.AE e C.Gli (Figura 12), na qual pode-se verificar que as menores solubilidades foram obtidas quando utilizou-se o nível inferior de concentração de glicerol e o superior de ácido esteárico.

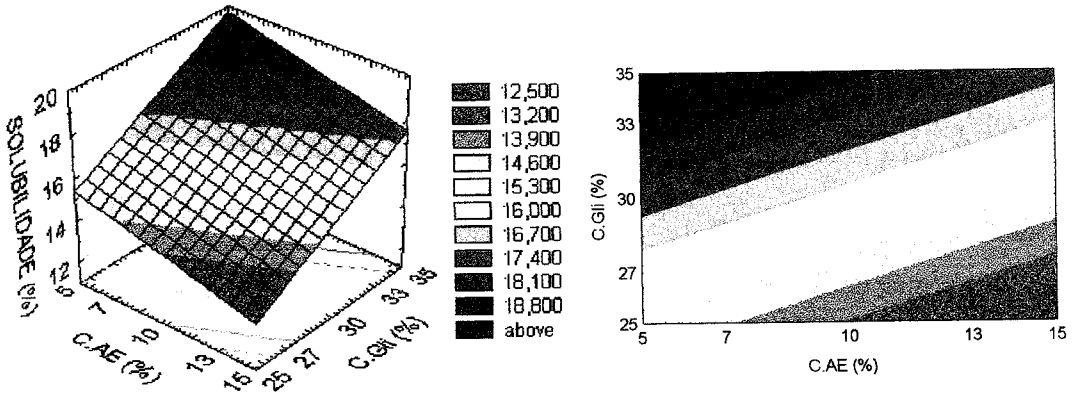


Figura 12 - Superfície de resposta e respectiva curva de contorno para a Solubilidade (%) em função da concentração de ácido esteárico (C.AE) e glicerol (C.Gli), com o valor de velocidade de agitação fixo em 10000rpm.

A baixa solubilidade é uma característica desejável para filmes biodegradáveis, tornando-os mais resistentes na presença de alta atividade de água. Os valores de solubilidade encontrados neste trabalho são inferiores aos indicados por TAPIA BLÁCIDO (2003), que elaborou biofilmes de farinha de amaranto com solubilidades entre 40-60%. A máxima solubilidade indicada na Tabela 6 (neste trabalho) é de 19,38%, para a formulação contendo 10% de ácido esteárico e 35% de glicerol. Este comportamento já era esperado, em função do caráter hidrofóbico do ácido esteárico, causando a diminuição da solubilidade dos biofilmes obtidos.

De acordo com a Figura 12, as maiores concentrações de glicerol resultam em biofilmes de maior solubilidade, similarmente aos resultados reportados por TAPIA BLÁCIDO (2003), para biofilmes de farinha de amaranto, SARMENTO (1999), para filmes de gelatina reticulada, e TANADA-PALMU (2003), para filmes a base de glúten de trigo. Este comportamento resulta da característica hidrofílica e plasticizante do glicerol, que proporciona o aumento da capacidade de ligação com a água, por diminuir as forças de atração intermoleculares entre as cadeias de polímeros adjacentes, alongando e "afrouxando" a estrutura polimérica dos filmes (MALI et al., 2002).

A incorporação de ácido esteárico aos biofilmes resultou em uma diminuição da matéria solúvel total, o que explica o efeito negativo desta variável sobre a solubilidade dos biofilmes estudados. Resultados semelhantes foram encontrados por GONTARD et al. (1994) e KIM e USTUNOL (2001), para biofilmes de glúten de trigo e soro de leite adicionados de lipídeos.

Convém destacar que, embora o efeito do ácido esteárico tenha sido significativo, o efeito da adição de glicerol apresentou maior impacto sobre a solubilidade dos biofilmes, o que pode ser confirmado pelos próprios valores dos efeitos (-1,59 e 3,08 para o ácido esteárico e para o glicerol, respectivamente) e também pelos resultados da Tabela 6, na qual verifica-se que aumentando-se a concentração de glicerol de 25 para 35%, mantendo-se fixos os valores das demais variáveis nos pontos centrais (ensaios 11 e 12), a solubilidade passa de 11,34 para 19,38%.

Através da Figura 12 pode-se definir que na faixa de 10-15% de ácido esteárico e de, aproximadamente, 25-28% de glicerol, biofilmes de menor solubilidade foram obtidos. Visto que a velocidade de agitação não apresentou efeito significativo, o uso de qualquer condição dentro da faixa estudada resulta em valores de solubilidade estatisticamente semelhantes.

5.2.4 PERMEABILIDADE AO VAPOR DE ÁGUA

Entre os resultados obtidos para a permeabilidade ao vapor de água (Tabela 6), o menor valor foi de 0,37 g.mm/h.m^2.kPa, para o ensaio realizado com 13% de ácido esteárico e 27% de glicerol, sob agitação de 12000rpm (ensaio 6). O maior valor foi de 0,76 g.mm/h.m^2.kPa, para o ensaio realizado sob as mesmas condições de velocidade de agitação e concentração de glicerol, mas com 7% de ácido esteárico (ensaio 5).

Quando comparados aos resultados indicados por outros pesquisadores para vários biopolímeros e lipídeos, os valores obtidos neste trabalho foram inferiores, o que pode ser explicado pelas características da farinha de amaranto e do ácido esteárico utilizados. Para exemplificar, YANG e PAULSON (2000) obtiveram valores de 1.3 g.mm/h.m^2.kPa para a PVA de biofilmes a base de gelana (polissacarídeo secretado por microrganismos) emulsificados com 20% de uma mistura de ácido esteárico e palmítico. ANKER et al. (2002) obtiveram permeabilidades próximas a 6,5 g.mm/h.m^2.kPa para biofilmes de proteína de soro de leite com 11% de um monoglicerídeo acetilado. GARCÍA et al. (2000) indicaram PVA de 0,70 g.mm/h.m^2.kPa para filmes de amido de milho com 2,0g/L de óleo de girassol. Entre os ácidos carboxílicos, autores têm demonstrado que o ácido esteárico, seguido pelo ácido palmítico, apresentam as menores PVAs (YANG e PAULSON, 2000; MORILLON et al., 2002). Além disto, a farinha de amaranto apresenta percentual de lipídeos de ~10% (Tabela 3), o que pode ter contribuído para a barreira ao vapor de água dos biofilmes elaborados.

Os efeitos das variáveis estudadas sobre a PVA são demonstrados na Tabela 11.

Tabela 11 - Efeito dos fatores estudados para a resposta de Permeabilidade ao Vapor de Água (g.mm/h.m^2.kPa).

	Fatores	*Efeito* [a]	*Desvio Padrão*	*p (95% confiança)*
	Média	0,42	0,003	0,0000*
	C.AE	-0,16	0,003	0,0004*
Linear	C.Gli	0,05	0,003	0,0033*
	VA	-0,07	0,003	0,0019*
	C.AE	0,14	0,003	0,0006*
Quadrático	C.Gli	0,10	0,003	0,0011*
	VA	0,08	0,003	0,0017*
	C.AE x C.Gli	0,12	0,004	0,0013*
Interações	C.AE x VA	-0,03	0,004	0,0180*
	C.Gli x VA	-0,04	0,004	0,0113*

*Fatores significativos ao nível de significância (p) menor que 0,05.
[a] Os efeitos são apresentados em g.mm/m^2.h.kPa.

Verifica-se através da Tabela 11 que todos os fatores foram significativos no intervalo de confiança considerado (95%), no entanto, os efeitos mais importantes são os da concentração de ácido esteárico e da interação entre esta variável e a concentração de glicerol (C.AE x C.Gli), visto que os valores dos efeitos destes parâmetros são maiores que os demais.

A variável concentração de ácido esteárico apresentou efeito negativo sobre a PVA, indicando que um aumento no nível de sua adição, de –1 (7%) para +1 (13%), levou a uma redução de, em média, 0,16 g.mm/h.m^2.kPa na PVA dos filmes estudados, o que se deve a sua característica hidrofóbica. No entanto, em concentrações superiores a aproximadamente 12%, observou-se a ocorrência de um aumento na PVA. De acordo com SAPRU e LABUZA (1994), um aumento na PVA para concentrações lipídicas acima de um valor crítico ocorre devido à formação de cristais grandes do lipídeo, ocorrendo zonas intersticiais livres do componente hidrofóbico, que favorecem a migração das moléculas de água.

Como pode ser verificado nos resultados apresentados na Tabela 11, um aumento na concentração de glicerol levou ao aumento da PVA dos filmes (efeito positivo), o que pode ser atribuído a sua alta higroscopicidade, levando ao aumento do teor de água dos filmes, a qual, por sua vez, também apresenta efeito plastificante e favorece o movimento de moléculas de água através da estrutura do filme (DEBEAUFORT et al., 2000; GONTARD et al., 1995).

Da mesma maneira que a concentração de ácido esteárico, a velocidade de agitação também apresentou efeito negativo sobre a PVA dos filmes, ou seja, com os maiores níveis desta variável obtiveram-se os menores resultados para a PVA. De acordo com PÉROVAL et al. (2002), o tamanho das partículas do lipídeo adicionado na estrutura final do filme é um fator importante para a PVA, e é resultado de um processo de homogeneização adequado; o mesmo autor indica que a diminuição do tamanho destas partículas correlaciona-se bem com a redução da PVA, o que pode ser explicado pela dispersão homogênea de partículas esféricas do lipídeo, as quais dificultam a difusão das moléculas de água através do filme.

Após a análise dos efeitos de cada variável foram obtidos os coeficientes de regressão para o modelo quadrático que relaciona a PVA com as variáveis estudadas, demonstrados na Tabela 12. As interações C.AE x VA e C.Gli x VA, embora significativas a 95% de confiança, foram desconsideradas na obtenção dos coeficientes de regressão,

por apresentarem valores de efeito baixos se comparados aos efeitos dos demais fatores (Tabela 11).

Tabela 12 - Coeficientes de regressão e níveis de significância do modelo para a Permeabilidade ao Vapor de Água.

	Fatores	*Coef. de Regressão*	*Desvio Padrão*	*p (95% confiança)*
	Média	0,42	0,003	0,0000*
	C.AE	-0,08	0,002	0,0004*
Linear	C.Gli	0,03	0,002	0,0033*
	VA	-0,04	0,002	0,0019*
	C.AE	0,07	0,002	0,0006*
Quadrático	C.Gli	0,05	0,002	0,0011*
	VA	0,04	0,002	0,0017*
Interações	C.AE x C.Gli	0,06	0,002	0,0013*

*Coeficientes estatisticamente significativos para p<0,05.

De acordo com a Tabela 12, o modelo codificado para a resposta de PVA está representado pela Equação 5.2.

$$PVA = 0,42 - 0,08x_1 + 0,03x_2 - 0,04x_3 + 0,07x_1^2 + 0,05x_2^2 + 0,04x_3^2 + 0,06x_1x_2 \quad [5.2]$$

Onde: x_1= C.AE
x_2= C.Gli
x_3= VA

A Tabela 13 representa a análise de variância (ANOVA) para o modelo de segunda ordem (Eq. 5.2). Pode-se observar que este modelo é válido, uma vez que o valor de $F_{calculado}$ da regressão em relação aos resíduos foi maior que o valor de $F_{tabelado}$, e o coeficiente de correlação foi razoavelmente bom. Além disto, o erro puro foi extremamente baixo, indicando uma boa reprodutibilidade dos dados experimentais.

O modelo codificado (Eq. 5.2) foi usado para gerar as superfícies de resposta representadas pelas Figuras 13, 14 e 15.

Tabela 13 - ANOVA do modelo obtido para a Permeabilidade ao Vapor de Água dos biofilmes.

Fonte de Variação	*Soma Quadrática (SQ)*	*Graus de Liberdade (GL)*	*Média Quadrática (SQ/GL)*	$F_{calculado}$	$F_{tabelado}$
Regressão	0,21	7	0,03	6,25	3,29
Resíduos	0,04	9	0,0048		
Falta de Ajuste	0,04	7	0,0061		
Erro Puro	0,00067	2	0,00033		
Total	0,25	16			
R^2= 0,83					

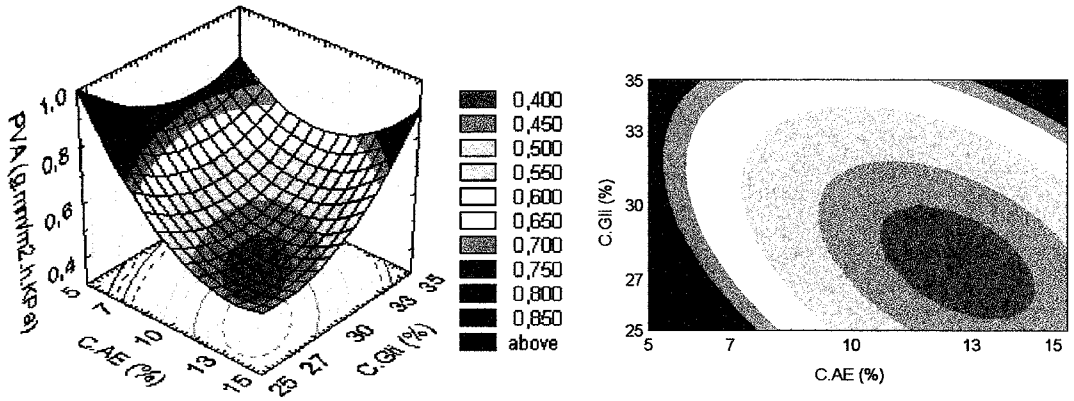


Figura 13 - Superfície de resposta e respectiva curva de contorno para a PVA (g.mm/h.m^2.kPa) em função da concentração de ácido esteárico (C.AE) (%) e glicerol (C.Gli) (%), com o valor de velocidade de agitação fixo em 10000rpm.

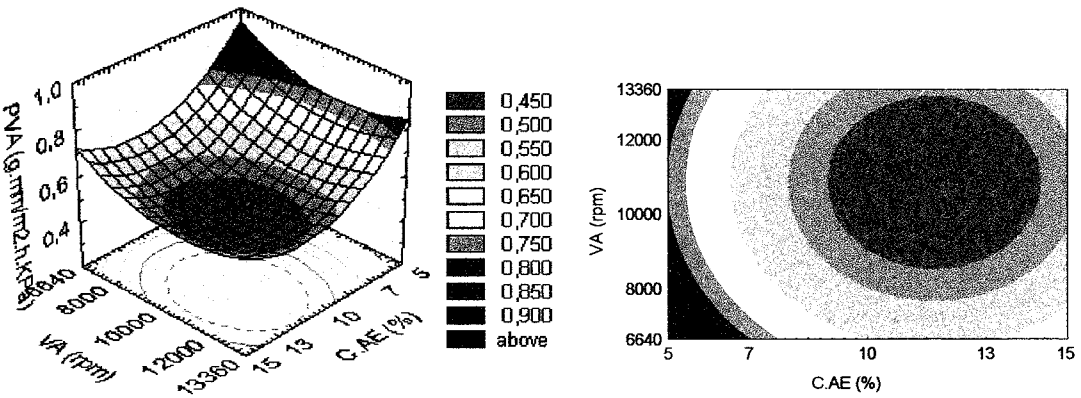


Figura 14 - Superfície de resposta e respectiva curva de contorno para a PVA (g.mm/h.m^2.kPa) em função da concentração de ácido esteárico (C.AE) (%) e velocidade de agitação (VA) (rpm), com o valor de concentração de glicerol fixo em 30%.

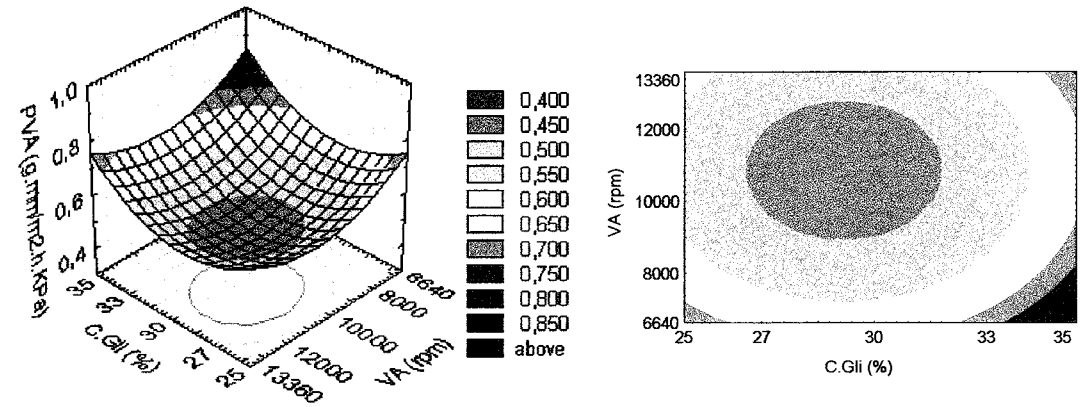


Figura 15 - Superfície de resposta e respectiva curva de contorno para a PVA (g.mm/h.m^2.kPa) em função da concentração de glicerol (C.Gli) (%) e velocidade de agitação (VA) (rpm), com o valor de concentração de ácido esteárico fixo em 10%.

Pode-se verificar através da Figura 13 que o aumento da concentração de ácido esteárico e a diminuição da concentração de glicerol resultaram na redução da PVA dos biofilmes estudados, e que a interação entre estas duas variáveis é um fator importante. Quando a concentração de glicerol é fixada em 25%, os valores de PVA diminuem continuamente com o aumento da concentração de ácido esteárico; no entanto, quando o nível de adição de glicerol é de 35%, os valores de PVA diminuem somente até 12% de ácido esteárico, aumentando sob maior adição deste componente. GONTARD et al. (1994) observaram comportamento semelhante em biofilmes a base de glúten de trigo, para os quais a adição de componentes lipídicos em concentrações superiores a 20% (em relação a matéria seca) resultou no aumento da transferência de vapor de água. De acordo com esses autores pode-se sugerir que em níveis superiores a 12% de ácido esteárico, a configuração dos componentes apolares na matriz estrutural de proteína e amido dos biofilmes de farinha de amaranto é tal, que o efeito dos grupos polares das proteínas, amido e glicerol, não pode mais ser limitado pela adição de uma maior quantidade de lipídeo.

Somado a isto, SAPRU e LABUZA (1994) indicam que o aumento da permeabilidade ao vapor de água frente a adição de componentes lipídicos em níveis superiores a um valor crítico ocorre, provavelmente, em função da formação de zonas com maior concentração do componente apolar, levando ao aparecimento de zonas livres de lipídeos, havendo formação de canais preferenciais e rachaduras através dos quais ocorre a difusão do vapor de água.

Em relação a velocidade de agitação, pode-se verificar através das Figuras 14 e 15 que os valores mais elevados desta variável resultaram no decréscimo da PVA, provavelmente devido ao pequeno tamanho de partículas de ácido esteárico obtido nestas condições e a sua melhor distribuição. No entanto, valores acima de 12000rpm resultaram em uma possível injúria da matriz estrutural, visto que, para tais valores, a PVA aumentou.

Baseando-se nestas observações foi possível estabelecer as faixas das variáveis estudadas que resultaram nos valores mais baixos de PVA, ou seja, que propiciaram a obtenção de filmes com melhor propriedade de barreira ao vapor de água, as quais são: C.AE= 10-13%; C.Gli= 27-32%; VA= 9000-13000rpm. Dentro destas faixas, os resultados para a PVA foram estatisticamente similares, correspondendo a uma condição de PVA mínima.

Os valores otimizados também foram estabelecidos, baseando-se nas observações das superfícies de resposta: C.AE= 11,5%, C.Gli= 28,5% e VA= 11000rpm. Nestas condições, valores de aproximadamente 0,4 g.mm/h.m^2.kPa foram obtidos para a PVA.

5.2.5 FORÇA E DEFORMAÇÃO DE RUPTURA EM TESTE DE PERFURAÇÃO

Em virtude da força e deformação de ruptura serem propriedades mecânicas obtidas em um mesmo teste, as mesmas serão analisadas conjuntamente.

De acordo com DEBEAUFORT e VOILLEY (1995), as propriedades mecânicas são fortemente afetadas pela presença de lipídeos, especialmente quando estes são incorporados à matriz polimérica dos filmes através da técnica de emulsão. Os resultados obtidos neste trabalho são concordantes com a indicação destes autores, visto que as propriedades mecânicas foram afetadas pela presença do ácido esteárico na formulação.

Através da Tabela 6 pode-se verificar que o ensaio 5, realizado com 7% de ácido esteárico e 27% de glicerol, sob agitação de 12000rpm, levou ao melhor resultado para a força de ruptura (2,14N), enquanto o ensaio 12, no qual utilizou-se 10% de ácido esteárico e 35% de glicerol com 10000rpm de velocidade de agitação, levou a formação do filme de menor resistência em relação a esta propriedade (1,06N). Para a deformação de ruptura, o máximo valor alcançado foi de 9,78%, no ensaio 7 (7% de ácido esteárico, 33% de glicerol, 12000rpm) e o resultado inferior foi de 2,80%, obtido no ensaio 11 (10% de ácido esteárico, 25% de glicerol, 10000rpm). Percebe-se portanto, que a presença do lipídeo exerceu efeito negativo sobre ambas propriedades, uma vez que o aumento de sua concentração levou a formação de filmes de menor resistência, o que pode ser confirmado pela Tabelas 14 e 15, na qual são apresentados os efeitos das variáveis estudadas sobre a força e a deformação de ruptura, respectivamente.

Os valores máximos para a força e a deformação de ruptura obtidos neste trabalho são inferiores aos reportados por TAPIA BLÁCIDO (2003) que trabalhou com a elaboração de biofilmes de farinha de amaranto sem a adição de lipídeos e obteve filmes com até 4,3N e 37,2% de força e deformação de ruptura, respectivamente. O efeito negativo da presença de lipídeos sobre as propriedades mecânicas de biofilmes compostos foi reportado por vários pesquisadores e, segundo PÉROVAL et al. (2002), resulta do fato de que os lipídeos são incapazes de formar uma matriz coesa e contínua. Portanto, a obtenção de melhores propriedade mecânicas está diretamente relacionada à matriz de proteína, polissacarídeo ou a mistura de ambos, e de como o lipídeo incorpora-se nesta matriz.

A concentração de glicerol exerceu efeito negativo sobre a força de ruptura, mas positivo sobre a deformação (Tabelas 14 e 15), ou seja, os filmes tornaram-se menos

resistentes à ruptura em concentrações maiores de glicerol, mas adquiriram maior flexibilidade nesta condição, apresentando maiores deformações antes do rompimento. Segundo AYHLLON-MEIXUEIRO et al. (2000), o glicerol atua sobre a rede polimérica formada nos filmes. de modo a facilitar o movimento das cadeias formadas, umas sobre as outras, o que proporciona o aumento da flexibilidade do filme resultante.

Este comportamento também foi observado por GONTARD et al. (1992), que observaram uma redução linear da força de ruptura, de 1,9 para 0,3N, e um aumento na deformação, de 6 para 20%, como resultado de um incremento na concentração de glicerol de 16 para 33g/100g de proteína de glúten.

SARMENTO (1999) observou que um aumento na concentração de sorbitol, de 61 para 79g/100g de gelatina, provocou um aumento da deformação de filmes de gelatina reticulada, de em média 7%, enquanto sobre a força de ruptura, causou uma diminuição de aproximadamente 2,3N.

A velocidade de agitação exerceu efeito estatisticamente significativo somente para a força de ruptura, sendo este positivo, o que indica que as velocidades de agitação mais elevadas resultaram em maiores forças de ruptura, provavelmente devido a melhor distribuição dos componentes na matriz polimérica, especialmente do ácido esteárico, evitando a formação de poros e de regiões com acúmulo do ácido graxo. Pesquisas relatando a influência da velocidade de agitação para a emulsificação dos lipídeos nas suspensões filmogênicas de biofilmes compostos são escassas, no entanto, as velocidades utilizadas são altas, variando de 7000rpm (GARCÍA et al., 2000) até 27000rpm (YANG e PAULSON, 2000).

Tabela 14 - Efeito dos fatores estudados para a resposta de Força de Ruptura (N).

	Fatores	*Efeito* [a]	*Desvio Padrão*	*p (95% confiança)*
	Média	1,67	0,023	0,0002*
	C.AE	-0,14	0,022	0,0242*
Linear	C.Gli	-0,62	0,022	0,0012*
	VA	0,20	0,022	0,0111*
	C.AE	-0,08	0,024	0,0871
Quadrático	C.Gli	-0,10	0,024	0,0499*
	VA	0,06	0,024	0,1232
	C.AE x C.Gli	0,01	0,028	0,8724
Interações	C.AE x VA	-0,10	0,028	0,0727
	C.Gli x VA	-0,05	0,028	0,2279

*Fatores significativos ao nível de significância (p) menor que 0,05.
[a] Os efeitos são apresentados em N.

Tabela 15 - Efeito dos fatores estudados para a resposta de Deformação de Ruptura (%).

	Fatores	*Efeito*[a]	*Desvio Padrão*	*p (95% confiança)*
	Média	6,22	0,161	0,0007*
	C.AE	-1,06	0,151	0,0196*
Linear	C.Gli	3,73	0,151	0,0016*
	VA	-0,08	0,151	0,6640
	C.AE	0,24	0,166	0,2797
Quadrático	C.Gli	-0,39	0,166	0,1438
	VA	0,15	0,166	0,4727
	C.AE x C.Gli	-0,26	1,198	0,3240
Interações	C.AE x VA	-1,13	1,198	0,0292*
	C.Gli x VA	-0,22	1,198	0,3837

*Fatores significativos ao nível de significância (p) menor que 0,05.
[a]Os efeitos são apresentados percentual (%).

Após a análise dos efeitos de cada variável e de sua significância, foram definidas as variáveis a serem incluídas nos modelos da força e da deformação de ruptura em função das variáveis estudadas, demonstradas nas Tabelas 16 e 17, que representam os coeficientes de regressão para os modelos estatísticos de predição das duas propriedades citadas.

Tabela 16 - Coeficientes de regressão do modelo para a Força de Ruptura (N).

	Fatores	*Coef. de Regressão*	*Desvio Padrão*	*p (95% confiança)*
	Média	1,66	0,013	0,0000*
Linear	C.AE	-0,07	0,001	0,0241*
	C.Gli	-0,31	0,001	0,0012*
	VA	0,10	0,001	0,0463*
Quadrático	C.Gli	-0,05	0,001	0,0111*

*Coeficientes estatisticamente significativos para p<0,05.

Tabela 17 - Coeficientes de regressão do modelo para a Deformação de Ruptura (%).

	Fatores	*Coef. de Regressão*	*Desvio Padrão*	*p (95% confiança)*
	Média	6,22	0,068	0,0001*
Linear	C.AE	-0,53	0,076	0,0196*
	C.Gli	1,86	0,076	0,0016*
Interações	C.AE x VA	-0,57	0,099	0,0292*

*Coeficientes estatisticamente significativos para p<0,05.

De acordo com as Tabelas 16 e 17, os modelos codificados para a resposta de força e deformação de ruptura estão representados pelas Equações 5.3 e 5.4, respectivamente.

$$F = 1,66 - 0,07x_1 - 0,31x_2 + 0,10x_3 - 0,05x_2^2 \quad [5.3]$$

$$D = 6,22 - 0,53x_1 + 1,86x_2 - 0,57x_1x_3 \quad [5.4]$$

Onde: x_1= C.AE
x_2= C.Gli
x_3= VA

Nas Tabelas 18 e 19 são apresentados os resultados da ANOVA para os modelos da força e deformação de ruptura, respectivamente, nas quais pode-se observar que os mesmos são estatisticamente válidos ($F_{calculado}>F_{tabelado}$), com bons coeficientes de correlação, especialmente para a força de ruptura (0,95), e baixos valores para o erro puro. Uma vez validados os modelos estatísticos, foram geradas as superfícies de resposta para a força e a deformação de ruptura em função das variáveis estudadas, representadas pelas Figuras 16 a 21.

Tabela 18 - ANOVA do modelo estatístico obtido para a Força de Ruptura dos biofilmes.

Fonte de Variação	*Soma Quadrática (SQ)*	*Graus de Liberdade (GL)*	*Média Quadrática (SQ/GL)*	$F_{calculado}$	$F_{tabelado}$
Regressão	1,53	4	0,38	53,69	3,26
Resíduos	0,09	12	0,007		
Falta de Ajuste	0,08	10	0,008		
Erro Puro	0,003	2	0,002		
Total	1,61	16			
R^2= 0,95					

Tabela 19 - ANOVA do modelo estatístico obtido para a Deformação de Ruptura dos biofilmes.

Fonte de Variação	*Soma Quadrática (SQ)*	*Graus de Liberdade (GL)*	*Média Quadrática (SQ/GL)*	$F_{calculado}$	$F_{tabelado}$
Regressão	53,86	3	17,95	11,29	3,41
Resíduos	20,72	13	1,59		
Falta de Ajuste	20,56	11	1,87		
Erro Puro	0,16	2	0,08		
Total	74,58	16			
R^2= 0,72					

Através da Figura 16 pode-se confirmar o que foi dito anteriormente a respeito do efeito negativo do glicerol e do ácido esteárico sobre a força de ruptura, visto que há uma tendência ao seu aumento com a diminuição da concentração de ambos componentes, comportamento que pode ser confirmado nas superfícies representadas pelas Figuras 17 e 18. Observa-se também, que o efeito do glicerol sobre a força de ruptura foi maior quando comparado ao efeito do ácido esteárico, especialmente através da observação da curva de contorno da Figura 16. É notável que na faixa de 5-10% de ácido esteárico foram obtidos resultados estatisticamente significativos para a força de ruptura, enquanto que para o glicerol, esta faixa é mais reduzida, compreendendo concentrações entre 25-28%.

A velocidade de agitação apresentou efeito mais marcante sobre a força de ruptura quando relacionada à concentração de ácido esteárico (Figura 17) do que quando relacionada ao glicerol (Figura 18), ou seja, frente ao aumento da concentração de glicerol, resultados estatisticamente semelhantes foram obtidos para a força de ruptura com a aplicação de velocidades na faixa de 8000-13360rpm, enquanto a faixa mais adequada observada na Figura 17 é de 11000-13360rpm. Isto já era esperado, uma vez que a função primordial da aplicação das velocidades de agitação neste trabalho, foi a de dispersão e emulsificação do ácido esteárico.

Para a deformação de ruptura, pode-se verificar através das Figuras 19 e 20 que as faixas para a concentração de glicerol e de ácido esteárico nas quais obtiveram-se os melhores resultados são de, aproximadamente, 5-10% de ácido esteárico e 30-35% de glicerol. A velocidade de agitação não apresentou efeito significativo sobre a deformação de ruptura, o que é confirmado pela Figura 21, na qual observa-se que resultados estatisticamente semelhantes são obtidos frente a aplicação das diferentes velocidades de agitação.

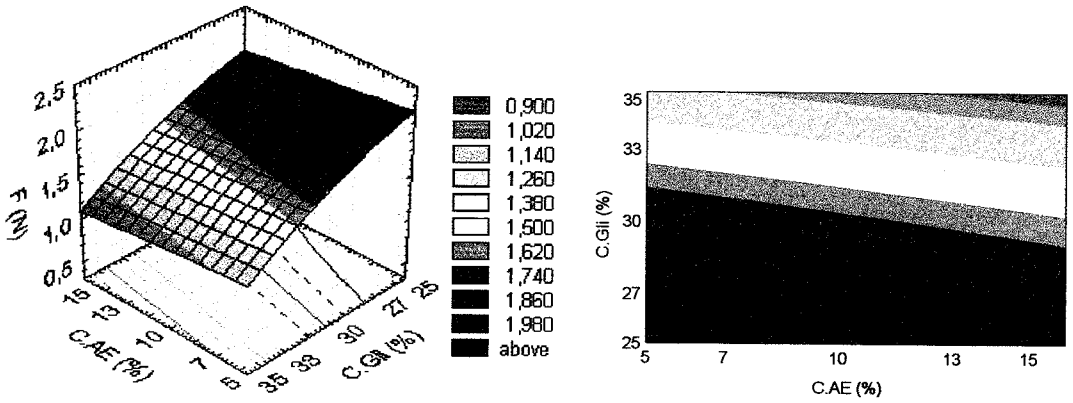


Figura 16 - Superfície de resposta e respectiva curva de contorno para a força de ruptura (N) em função da concentração de glicerol (C.Gli) (%) e de ácido esteárico (C.AE) (%), com o valor da velocidade de agitação fixo em 10000rpm.

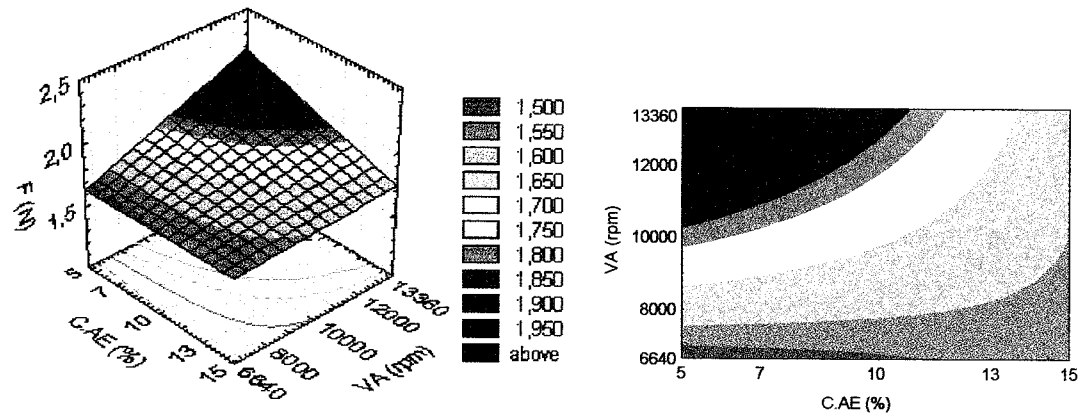


Figura 17 - Superfície de resposta e respectiva curva de contorno para a força de ruptura (N) em função da concentração de ácido esteárico (C.AE) (%) e velocidade de agitação (VA) (rpm), com o valor de concentração de glicerol fixo em 30%.

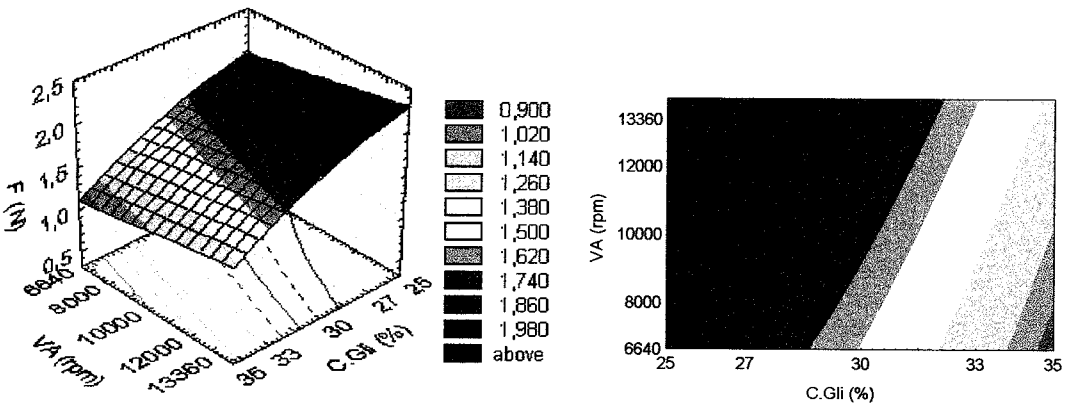


Figura 18 - Superfície de resposta e respectiva curva de contorno para a força de ruptura (N) em função da velocidade de agitação (VA) (rpm) e da concentração de glicerol (C.Gli) (%), com o valor da concentração de ácido esteárico fixo em 10%.

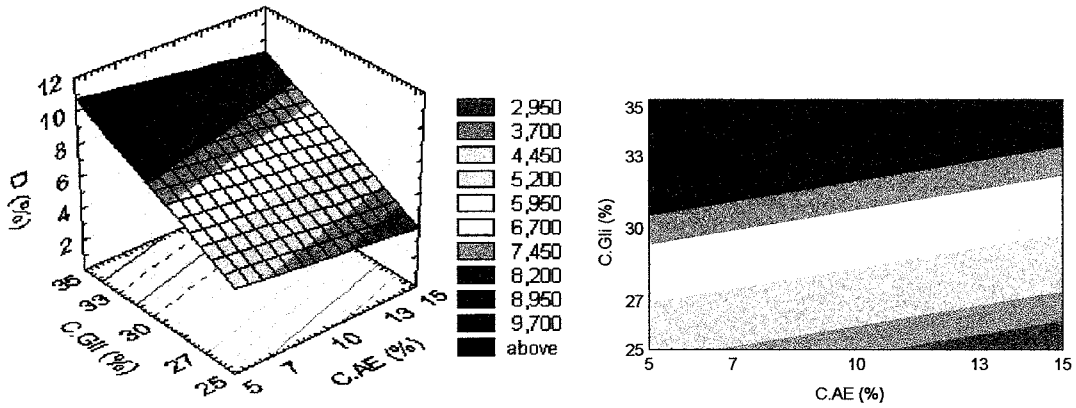


Figura 19 - Superfície de resposta e respectiva curva de contorno para a deformação de ruptura (%) em função da concentração de glicerol (C.Gli) (%) e de ácido esteárico (C.AE) (%), com o valor da velocidade de agitação fixo em 10000rpm.

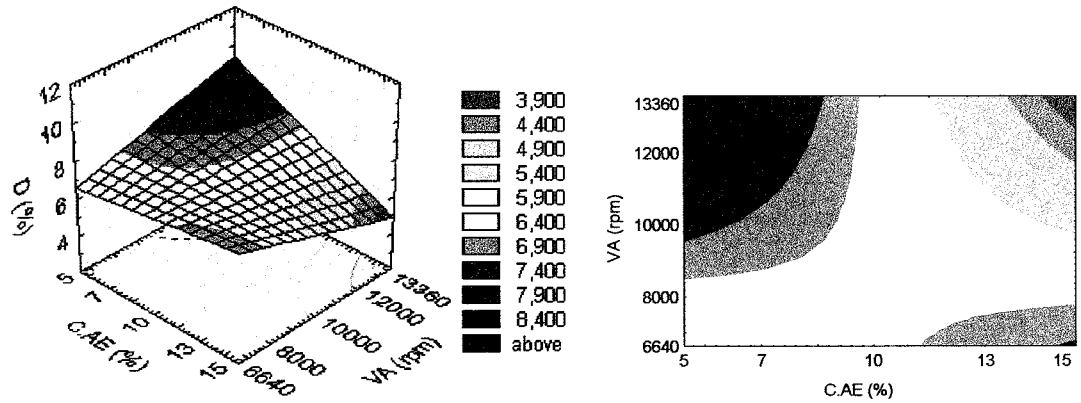


Figura 20 - Superfície de resposta e respectiva curva de contorno para a deformação de ruptura (%) em função da concentração de ácido esteárico (C.AE) (%) e velocidade de agitação (VA) (rpm), com o valor da concentração de glicerol fixo em 30%.

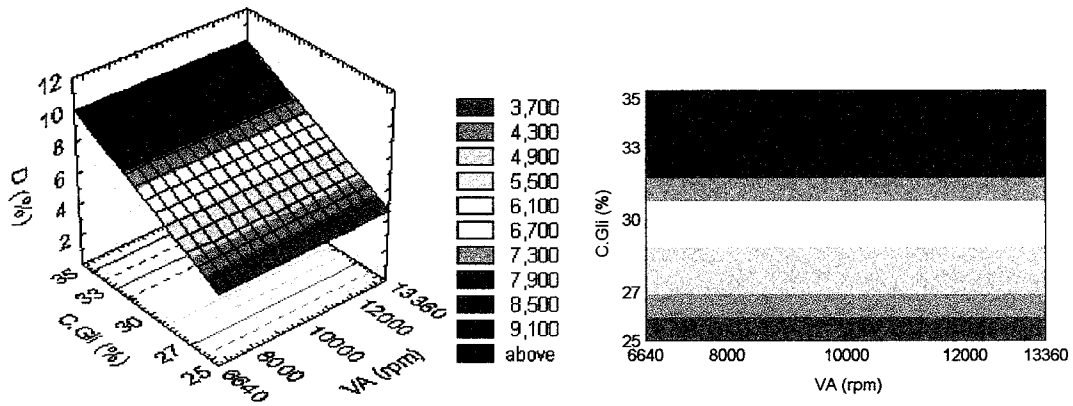


Figura 21 - Superfície de resposta e respectiva curva de contorno para a deformação de ruptura (%) em função da velocidade de agitação (VA) (rpm) e da concentração de glicerol (C.Gli) (%), com o valor da concentração de ácido esteárico fixo em 10%.

5.2.6 PROPRIEDADES MECÂNICAS EM TESTE DE TRAÇÃO

As propriedades mecânicas de tensão e elongação de ruptura, e o módulo de elasticidade (Módulo de Young), foram analisadas de forma conjunta, por terem sido obtidas a partir de um mesmo teste. Inicialmente estão apresentados os resultados individuais e a análise estatística, sendo apresentada no prosseguimento a discussão global das superfícies de resposta.

5.2.6.1 TENSÃO DE RUPTURA

De forma similar aos resultados encontrados para a força de ruptura, o máximo valor para a tensão de ruptura foi obtido no ensaio 5 (7% de ácido esteárico, 27% de glicerol, agitação de 12000rpm), correspondendo a 3,0 MPa. O resultado inferior foi de 0,75 MPa, também observado para o mesmo ensaio no qual obteve-se a menor força de ruptura na perfuração: ensaio 12 (10% de ácido esteárico, 27% de glicerol, 12000rpm).

Na Tabela 20 estão apresentados os efeitos das variáveis estudadas sobre a tensão de ruptura. Pode-se observar que a concentração de glicerol e de ácido esteárico apresentaram efeitos significativos negativos sobre esta resposta; o termo velocidade de agitação linear não apresentou efeito significativo, no entanto, a interação entre esta variável e a concentração de glicerol deve ser considerada. Um aumento na concentração de ácido esteárico, de 7 para 13%, causou uma diminuição de, em média 0,83 MPa na tensão de ruptura. Para a concentração de glicerol, um aumento de 27 para 33% causou uma diminuição da tensão de ruptura de, em média, 0,60 MPa.

Tabela 20 - Efeitos dos fatores estudados para a resposta de Tensão de Ruptura (MPa).

	Fatores	*Efeito* [a]	*Desvio Padrão*	*p (95% confiança)*
	Média	1,16	0,041	0,0013*
	C.AE	-0,60	0,039	0,0042*
Linear	C.Gli	-0,83	0,039	0,0022*
	VA	0,16	0,039	0,0541
	C.AE	0,33	0,043	0,0167*
Quadrático	C.Gli	0,26	0,043	0,0263*
	VA	0,32	0,043	0,0177*
	C.AE x C.Gli	0,12	0,050	0,1451
Interações	C.AE x VA	-0,04	0,050	0,5566
	C.Gli x VA	-0,41	0,050	0,0151*

*Fatores significativos ao nível de significância (p) menor que 0,05.
[a] Os efeitos são apresentados em MPa.

O efeito de interação entre a concentração de glicerol e a velocidade de agitação levou a diminuição da tensão de ruptura em 0,41 MPa (em média), o que indica que nos níveis mais elevados de concentração de glicerol, o aumento da velocidade de agitação atuou negativamente sobre a tensão, ou seja, na estrutura do filme.

Na Tabela 21 são apresentados os coeficientes de regressão significativos ($p<0,05$) para o modelo da tensão de ruptura, o qual, por sua vez, está representado na Equação 5.5.

Tabela 21 - Coeficientes de regressão e níveis de significância do modelo para a tensão de ruptura.

	Fatores	*Coef. de Regressão*	*Desvio Padrão*	*p (95% confiança)*
	Média	1,16	0,041	0,0013*
Linear	C.AE	-0,30	0,019	0,0042*
	C.Gli	-0,42	0,019	0,0022*
	C.AE	0,16	0,021	0,0167*
Quadrático	C.Gli	0,13	0,021	0,0263*
	VA	0,16	0,021	0,0177*
Interações	C.Gli x VA	-0,20	0,025	0,0151*

*Coeficientes estatisticamente significativos para $p<0,05$.

$$T = 1,16 - 0,30x_1 - 0,42x_2 + 0,16x_1^2 + 0,13x_2^2 + 0,16x_3^2 - 0,20x_2x_3 \quad [5.5]$$

Onde: x_1= C.AE
x_2= C.Gli
x_3= VA

A análise de variância, obtida pelo ajuste dos dados ao modelo da Equação 5.5 é apresentada na Tabela 22, na qual observa-se que o modelo é válido, pois $F_{calculado}>F_{tabelado}$. Sendo assim, gerou-se as superfícies de resposta para a tensão de ruptura em função das variáveis estudadas, representadas pelas Figuras 22, 23 e 24.

Tabela 22 - ANOVA do modelo estatístico obtido para a Tensão de Ruptura dos biofilmes.

Fonte de Variação	*Soma Quadrática (SQ)*	*Graus de Liberdade (GL)*	*Média Quadrática (SQ/GL)*	$F_{calculado}$	$F_{tabelado}$
Regressão	4,42	6	0,74	5,40	3,22
Resíduos	1,37	10	0,14		
Falta de Ajuste	1,36	8	0,17		
Erro Puro	0,01	2	0,005		
Total	5,80	16	0,36		
R^2= 0,76					

5.2.6.2 ELONGAÇÃO DE RUPTURA

Os efeitos das variáveis estudadas sobre a elongação de ruptura estão apresentados na Tabela 23, na qual pode-se observar que os termos lineares apresentaram efeitos positivos sobre esta resposta, contrariando o que foi observado para a tensão de ruptura, para a qual as concentrações de ácido esteárico e glicerol apresentaram efeitos negativos.

A máxima elongação observada entre os resultados da Tabela 6 foi de 620%, no ensaio realizado com o nível superior de ácido esteárico,15%, e com 30% de glicerol, sob agitação de 10000rpm (ensaio 10). O filme com menor elongação (74,3%) foi obtido no ensaio 5, realizado com 7% de ácido esteárico, 27% de glicerol e 12000rpm de velocidade de agitação. É possível perceber que o ácido esteárico, além do glicerol, também exerceu efeito plastificante sobre a estrutura dos filmes, visto que a maior elongação foi observada com o uso do maior nível de adição do ácido esteárico.

As elongações obtidas para os biofilmes deste trabalho foram superiores às observadas por TAPIA BLÁCIDO (2003), que obteve um valor máximo de 168% de elongação para biofilmes de farinha de amaranto com 38,4% de glicerol. PÉROVAL et al. (2002) elaboraram filmes de arabinoxilana (polímero extraído do farelo de milho, pertencente ao grupo da hemicelulose) emulsificados com 27% de ácido esteárico e obtiveram valores de apenas 7,4% de elongação. Em filmes de amilose e amilopectina de batata foram obtidas elongações de 31 e 29%, respectivamente, na presença de 40% de glicerol (RINDLAV-WESTLING et al., 1998).

Na Tabela 23 pode-se observar, pelo valor dos efeitos, que um aumento na concentração de ácido esteárico, de 7 para 13% resulta em um aumento na elongação de, em média, 89,2%. O efeito do glicerol é preponderante e superior aos efeitos do ácido esteárico e da velocidade de agitação, pois um aumento de sua concentração de 27 para 33%, resulta em 208,8% de acréscimo, em média, no percentual de elongação. Para a velocidade de agitação, observa-se que ao passar-se de 8000 para 12000rpm, houve um aumento da elongação de ruptura em 92,3%.

Tabela 23 - Efeito dos fatores estudados para a resposta de Elongação de Ruptura (%).

	Fatores	*Efeito* [a]	*Desvio Padrão*	*p (95% confiança)*
	Média	282,59	4,759	0,0003*
	C.AE	89,21	4,470	0,0025*
Linear	C.Gli	208,77	4,470	0,0005*
	VA	92,29	4,470	0,0023*
	C.AE	158,12	4,920	0,0009*
Quadrático	C.Gli	-50,12	4,920	0,0095*
	VA	-25,85	4,920	0,0343*
	C.AE x C.Gli	-45,52	5,840	0,0160*
Interações	C.AE x VA	20,21	5,840	0,0743
	C.Gli x VA	85,55	5,840	0,0046*

*Fatores significativos ao nível de significância (p) menor que 0,05.
[a] Os efeitos são apresentados em percentual de elongação (%).

Na Tabela 24 estão apresentados os coeficientes de regressão estatisticamente significativos a 95% de confiança, para o modelo de predição da propriedade de elongação de ruptura.

Tabela 24 - Coeficientes de regressão do modelo para a Elongação de Ruptura (%)

	Fatores	*Coef. de Regressão*	*Desvio Padrão*	*p (95% confiança)*
	Média	282,59	4,759	0,0003*
Linear	C.AE	44,60	2,235	0,0025*
	C.Gli	104,38	2,235	0,0005*
	VA	46,15	2,235	0,0023*
Quadrático	C.AE	79,06	2,460	0,0009*
	C.Gli	-25,06	2,460	0,0095*
	VA	-12,93	2,460	0,0344*
Interações	C.AE x C.Gli	-22,76	2,920	0,0160*
	C.Gli x VA	42,78	2,920	0,0046*

*Coeficientes estatisticamente significativos para p<0,05.

De acordo com a Tabela 24, o modelo codificado para a resposta de Elongação de Ruptura está representado pela Equação 5.6.

$$Elo = 282,59 + 44,60x_1 + 104,38x_2 + 46,15x_3 + 79,06x_1^2 - 25,06x_2^2 - 12,93x_3^2 - 22,76x_1x_2 + 42,78x_2x_3 \quad [5.6]$$

Onde: x_1= C.AE
x_2= C.Gli
x_3= VA

Os resultados da análise de variância, obtida pelo ajuste dos dados experimentais ao modelo da Equação 5.6, estão apresentados na Tabela 25. O modelo apresentou um bom coeficiente de correlação e $F_{calculado}>F_{tabelado}$, indicando-se portanto, a validade estatística do mesmo.

Tabela 25 - ANOVA do modelo estatístico obtido para a Elongação de Ruptura dos biofilmes.

Fonte de Variação	*Soma Quadrática (SQ)*	*Graus de Liberdade (GL)*	*Média Quadrática (SQ/GL)*	$F_{calculado}$	$F_{tabelado}$
Regressão	331560	8	41445	9,04	3,44
Resíduos	36684	8	4285,5		
Falta de Ajuste	36547	6	6091,19		
Erro Puro	136	2	68,22		
Total	368244	16			
R^2= 0,90					

As superfícies de resposta para a elongação de ruptura em função das variávies estudadas estão representadas pelas Figuras 25, 26 e 27.

5.2.6.3 MÓDULO DE YOUNG (MÓDULO DE ELASTICIDADE)

Os efeitos dos fatores estudados e de suas interações, sobre o módulo de Young, estão demonstrados na Tabela 26. Apenas o termo VA quadrático não apresentou efeito significativo a 95% de confiança. Observa-se que a concentração de glicerol e de ácido esteárico apresentaram efeitos negativos, similarmente ao comportamento demonstrado na Tabela 20, para a tensão de ruptura. FAIRLEY et al. (1996) constataram que em diferentes tipos de filmes comestíveis, ao aumentar a concentração de plasticizante ocorreu uma diminuição significativa na tensão de ruptura e no módulo de young, paralelamente a um aumento da elongação, comportamento que é semelhante ao observado neste trabalho.

A velocidade de agitação também apresentou efeito negativo sobre o módulo de Young, contrariando o que foi observado para a maioria das demais propriedades estudadas, o que pode ser atribuído ao fato de que esta propriedade é obtida na região linear da curva de tensão versus deformação, enquanto as demais são obtidas no ponto de ruptura da amostra de filme. Somado a isto, na presença de concentrações de glicerol acima de 30%, a determinação da região linear na curva de tensão versus deformação foi dificultada, em função da formação de estruturas altamente plastificadas e menos

resistentes nesta condição, havendo a diminuição da região linear da deformação em função da tensão. Este comportamento pode ser observado nas figuras A1 e A2, colocadas em anexo, para os resultados obtidos no teste de tração dos biofilmes correspondentes aos ensaios 4 (33% de glicerol e 13% de ácido esteárico) e 12 (35% de glicerol e 10% de ácido esteárico).

Na Tabela 26, observa-se que o efeito do glicerol é preponderante sobre o módulo de Young, assim como observado para o efeito desta variável sobre a elongação de ruptura. Além disso, os efeitos de interação entre as variáveis também deve ser considerado.

Tabela 26 - Efeitos dos fatores estudados para a resposta de Módulo de Young (MPa).

	Fatores	*Efeito* [a]	*Desvio Padrão*	*p (95% confiança)*
	Média	17,78	0,116	0,0000*
	C.AE	-1,67	0,109	0,0042*
Linear	C.Gli	-14,95	0,109	0,0000*
	VA	-6,43	0,109	0,0003*
	C.AE	-7,58	0,120	0,0002*
Quadrático	C.Gli	5,36	0,120	0,0005*
	VA	-0,38	0,120	0,0862
	C.AE x C.Gli	4,00	0,142	0,0012*
Interações	C.AE x VA	3,23	0,142	0,0019*
	C.Gli x VA	-3,79	0,142	0,0014*

*Fatores significativos ao nível de significância (p) menor que 0,05.
[a] Os efeitos são apresentados em MPa.

Analisando-se o valor dos efeitos das variáveis, verifica-se que o aumento da concentração de ácido esteárico, de 7 para 13% de farinha resulta em uma diminuição de, em média, 1,67 MPa no módulo de Young, que é um efeito baixo se comparado ao efeito do glicerol. O aumento na concentração deste componente, de 27 para 33%, levou a uma diminuição do módulo de Young de, em média, 14,95 MPa. Para a velocidade de agitação, um aumento de 8000 para 12000rpm causou um decréscimo de, em média, 6,43 MPa.

Os coeficientes de regressão significativos ($p<0,05$) para o modelo de predição do módulo de Young, representado pela Equação 5.7, estão apresentados na Tabela 27.

Tabela 27 - Coeficientes de regressão do modelo para o Módulo de Young (MPa).

	Fatores	*Coef. de Regressão*	*Desvio Padrão*	*p (95% confiança)*
	Média	17,54	0,087	0,0000*
Linear	C.AE	-0,83	0,054	0,0042*
	C.Gli	-7,47	0,054	0,0000*
	VA	-3,21	0,054	0,0003*
Quadrático	C.AE	-3,73	0,057	0,0002*
	C.Gli	2,73	0,057	0,0004*
	C.AE x C.Gli	2,02	0,071	0,0013*
Interações	C.AE x VA	1,61	0,071	0,0019*
	C.Gli x VA	-1,89	0,071	0,0014*

*Coeficientes estatisticamente significativos para p<0,05.

$$M.Y = 17,54 - 0,83x_1 - 7,47x_2 - 3,21x_3 - 3,73x_1^2 + 2,73x_2^2 + 2,02x_1x_2 + 1,61x_1x_3 - 1,89\,x_2x_3 \quad [5.7]$$

Onde: x_1= C.AE; x_2= C.Gli; x_3= VA.

A análise de variância (Tabela 28) mostra que o modelo obtido para o módulo de Young não é estatisticamente válido, uma vez que $F_{calculado} < F_{tabelado}$. Além disso, a falta de ajuste é elevada. Portanto, não foram geradas superfícies de resposta para o módulo de Young, ficando a análise estatística, restrita à análise dos efeitos das variáveis.

Tabela 28 - ANOVA do modelo estatístico obtido para o Módulo de Young dos biofilmes.

Fonte de Variação	*Soma Quadrática (SQ)*	*Graus de Liberdade (GL)*	*Média Quadrática (SQ/GL)*	$F_{calculado}$	$F_{tabelado}$
Regressão	1334,90	8	166,90	3,17	3,44
Resíduos	421,42	8	52,68		
Falta de Ajuste	421,34	6	70,22		
Erro Puro	0,08	2	0,04		
Total	1756,30	16			
R^2= 0,71					

5.2.6.4 DISCUSSÃO GLOBAL E ANÁLISE DAS SUPERFÍCIES DE RESPOSTA PARA A TENSÃO E ELONGAÇÃO DE RUPTURA

GONTARD et al. (1994) citam que a adição de lipídeos em filmes a base de proteínas diminui significativamente ambos valores de tensão e elongação de ruptura. Neste trabalho, a adição de ácido esteárico teve efeito negativo sobre a tensão de ruptura, mas positivo sobre a elongação, contrariando parte das observações deste autor. Este comportamento pode ser confirmado pelas superfícies de resposta representadas pelas Figuras 22 e 23, para a tensão de ruptura e, 25 e 26 para a elongação.

PHAN THE et al. (2002) e PEREZ-CAGO e KROCHTA (2000) reportaram a redução da tensão de ruptura de biofilmes quando componentes lipídicos foram adicionados às formulações. Os primeiros relataram uma diminuição de 25 MPa para aproximadamente 10 MPa, quando filmes a base de arabinoxilana sofreram adição de 30% de óleo hidrogenado de palma. O segundo grupo de autores observou uma redução de 12 para aproximadamente 4 MPa, para biofilmes produzidos com proteínas do soro de leite adicionados de 40% de cera de abelha.

PÉROVAL et al. (2002), trabalhando com biofilmes de arabinoxilana, observaram que a tensão de ruptura diminuiu significativamente com a adição de 27% de ácido esteárico, passando de aproximadamente 27 MPa para 7,8 MPa. O mesmo comportamento foi observado para a elongação de ruptura, que caiu de 7,5% para 1,7%, frente à adição do ácido graxo.

Contrariamente, a adição de ácido oléico levou ao aumento da elongação de ruptura de filmes a base de proteína de soja, zeína de milho e albumina de ovo (HANDA et al., 1999). Resultado similar foi encontrado por GALLO et al. (2000), que citam que a trioleína, um triglicerídeo de ácido oléico, por ser líquida a temperatura ambiente, apresenta efeito lubrificante sobre as cadeias de metilcelulose, base dos filmes elaborados por estes autores.

SHELLHAMMER e KROCHTA (1997) observaram um aumento na elongação de filmes a base de proteína de glúten adicionados de uma fração industrial de gorduras do leite, explicando que os triglicerídeos insaturados de baixo peso molecular presentes nesta gordura foram os responsáveis pelo efeito plastificante.

A substituição dos plasticizantes convencionais por ácidos graxos saturados foi estudada por POMMET et al. (2003). Os autores citam que a substituição do glicerol por plasticizantes hidrofóbicos levou a uma estruturação diferente da matriz polimérica de glúten de trigo.

Uma análise mais detalhada da superfície de resposta da Figura 25 indica o efeito plastificante do ácido esteárico sobre os biofilmes deste trabalho; pode-se observar que no nível inferior de concentração de glicerol, há uma tendência de aumento da elongação quando as concentrações mais altas de ácido esteárico foram utilizadas. Fixando-se a concentração de glicerol em 35%, há uma diminuição da elongação com o aumento da concentração de ácido esteárico, até 10%, a partir da qual os seus valores começam a aumentar. Isto confirma que nas maiores concentrações de ácido esteárico e de glicerol, obtiveram-se os maiores percentuais de elongação.

TAPIA BLÁCIDO (2003) obteve resultados semelhantes aos obtidos neste trabalho para o efeito da concentração de glicerol sobre as propriedades mecânicas, indicando um efeito positivo da concentração de glicerol sobre a elongação de ruptura, mas negativo sobre a tensão, para biofilmes de farinha de amaranto não adicionados de lipídeos. Este comportamento é similar ao obtido neste trabalho, o que pode ser confirmado nas Figuras 22 e 24, para a tensão de ruptura, e 25 e 27 para a elongação. Este resultado pode ser explicado em função de que o glicerol atua diminuindo as forças intermoleculares entre as cadeias de macromoléculas adjacentes, provocando a redução da temperatura de transição vítrea. Como resultado, ocorre um aumento da flexibilidade, ao mesmo tempo em que há uma diminuição da resistência do material (MALI et al., 2002).

A diminuição da tensão de ruptura paralelamente ao aumento da elongação, frente ao aumento da concentração de glicerol, também foi indicada por outros autores para filmes de isolado protéico de soro de leite (FANG et al. 2002); em filmes de caseína (CHICK e USTUNOL, 1998); em filmes de isolado protéico de sementes de girassol (AHYLLON-MEIXUEIRO et al., 2000); em filmes de gelana (YANG e PAULSON, 2000); em filmes combinados de caseinato de sódio e amido (ARVANITOYANNIS e BILIADERIS, 1999) e em filmes de amilose e amilopectina (MYLLÄRINEN et al., 2002).

Para a velocidade de agitação, pode-se observar através das Figuras 23, 24, 26 e 27, que os maiores níveis desta variável levaram a formação de filmes mais resistentes quanto a tensão de ruptura e elongação. DEBEAUFORT e VOILLEY (1995), e PEREZ-CAGO e KROCHTA (2001) citam que quanto menor o tamanho dos glóbulos de lipídeo

obtidos e mais homogênea a sua distribuição, melhores são as propriedades dos filmes obtidos. ANKER et al. (2002), observaram um aumento da elongação de ruptura com o aumento da velocidade de incorporação de um monoglicerídeo acetilado em filmes a base de proteínas do soro de leite; estes autores explicam que este comportamento ocorre em função da maior habilidade dos pequenos e mais numerosos glóbulos de gordura formados, para dissipar a energia de quebra e prevenir a propagação das fissuras, portanto, retardando a quebra. O lipídeo funciona então, como agente plasticizante, aumentando a elongação de filmes emulsionados. Este efeito aumenta com a homogeneização.

A relação entre a velocidade de agitação e a concentração de ácido esteárico pode ser visualizada na Figura 23 para a tensão e, na Figura 26 para a elongação. Na Figura 23 pode-se observar que a interação entre a velocidade de agitação e a concentração de ácido esteárico não apresentou efeito significativo sobre a tensão de ruptura. Em ambos extremos dos níveis de velocidade de agitação, na presença de baixas concentrações de ácido esteárico, foram obtidos resultados semelhantes para a tensão; este comportamento também pode ser explicado em função de que a velocidade de agitação não apresentou efeito significativo sobre a tensão de ruptura (Tabela 20).

Por sua vez, o efeito de interação entre a concentração de glicerol e a velocidade de agitação mostrou-se significativo sobre a tensão, o que pode ser confirmado pela Figura 24. Fixando-se a concentração de glicerol em 25%, o aumento da velocidade de agitação causa um aumento da tensão de ruptura, no entanto, quando a concentração de glicerol é fixada em 35%, o aumento da velocidade leva à diminuição da tensão de ruptura. Este comportamento pode ter sido resultado do excesso de plastificação do filme, o que pode ter prejudicado as propriedades mecânicas. Desta forma, a combinação de alta concentração de glicerol com velocidades de agitação elevadas pode ter prejudicado ainda mais a estrutura do filme.

Para a elongação de ruptura observou-se efeito contrário, ou seja, as maiores elongações foram obtidas frente aos níveis mais elevados de concentração de glicerol e velocidade de agitação (Figura 27). É interessante destacar que o efeito do glicerol sobre a deformação de ruptura (Tabela 15) foi semelhante ao observado para a elongação (Tabela 23), ou seja, foi positivo, o que já era de se esperar visto que estes dois parâmetros são uma medida da flexibilidade do filme.

Para finalizar podemos concluir que a melhor formulação para a tensão de ruptura (Figuras 22, 23 e 24) consistiu em concentrações de ácido esteárico e glicerol inferiores a aproximadamente 8% e 28%, respectivamente, sob velocidade de agitação de 10000-13360rpm. Para a elongação de ruptura (Figuras 25, 26 e 27), os melhores resultados foram observados para velocidade de agitação de 10000-13360rpm, concentração de glicerol de 30-35% e de ácido esteárico, na faixa de 13-15%.

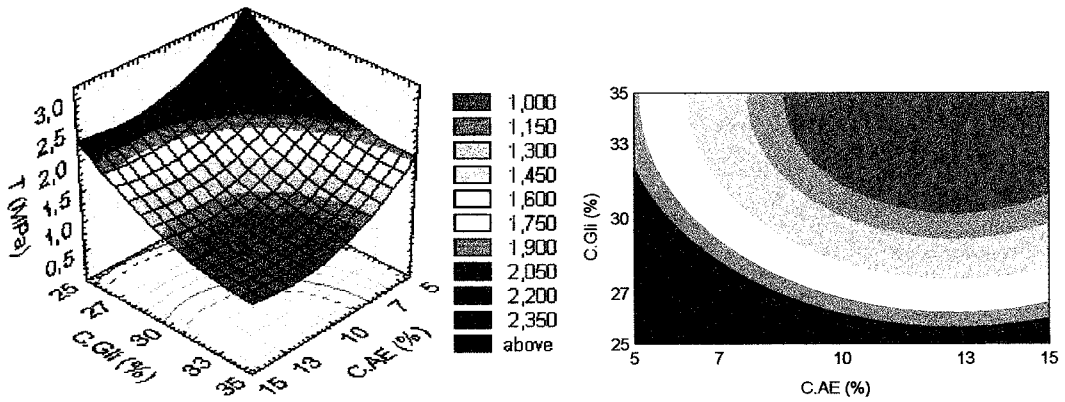


Figura 22 - Superfície de resposta e respectiva curva de contorno para a tensão de ruptura (MPa) em função da concentração de glicerol (C.Gli) (%) e de ácido esteárico (C.AE) (%), com o valor de velocidade de agitação fixo em 10000rpm.

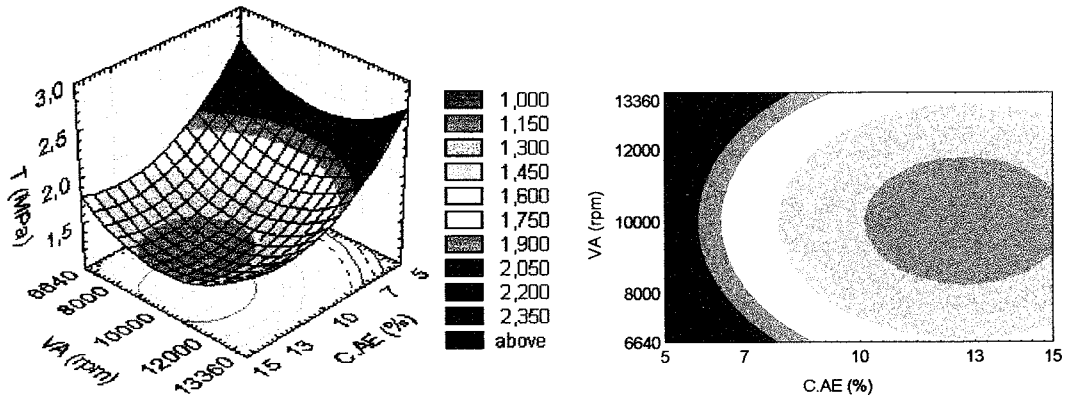


Figura 23 - Superfície de resposta e respectiva curva de contorno para a tensão de ruptura (MPa) em função da concentração de ácido esteárico (C.AE) (%) e velocidade de agitação (VA) (rpm), com o valor de concentração de glicerol fixo em 30%.

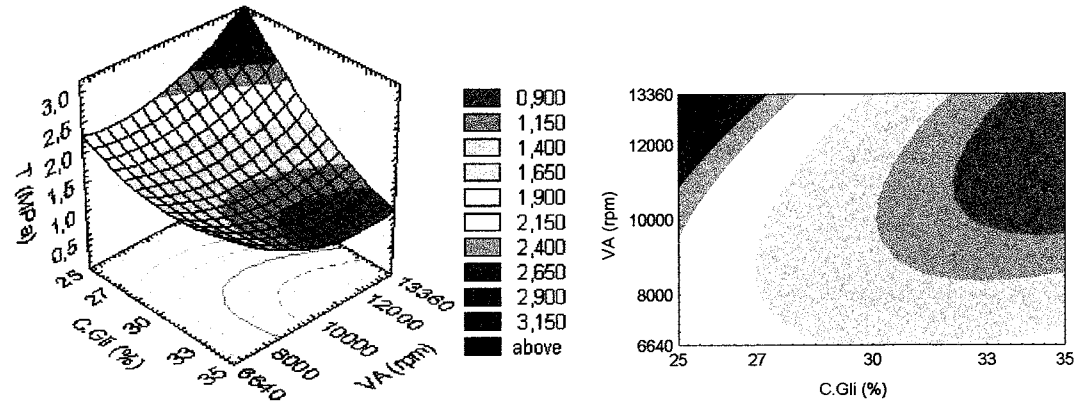


Figura 24 - Superfície de resposta e respectiva curva de contorno para a tensão de ruptura (MPa) em função da velocidade de agitação (VA) (rpm) e da concentração de glicerol (C.Gli) (%), com o valor de concentração de ácido esteárico fixo em 10%.

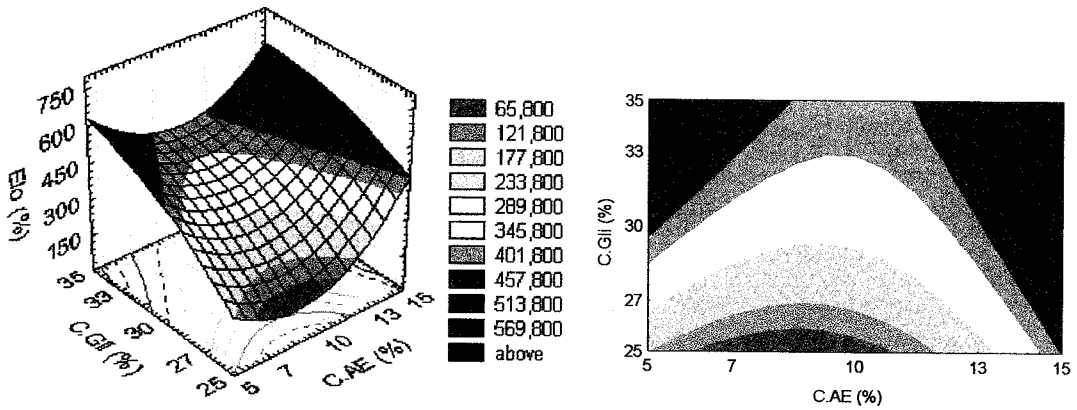


Figura 25 - Superfície de resposta e respectiva curva de contorno para a elongação de ruptura (%) em função da concentração de glicerol (C.Gli) (%) e de ácido esteárico (C.AE) (%), fixando o valor da velocidade de agitação em 10000rpm.

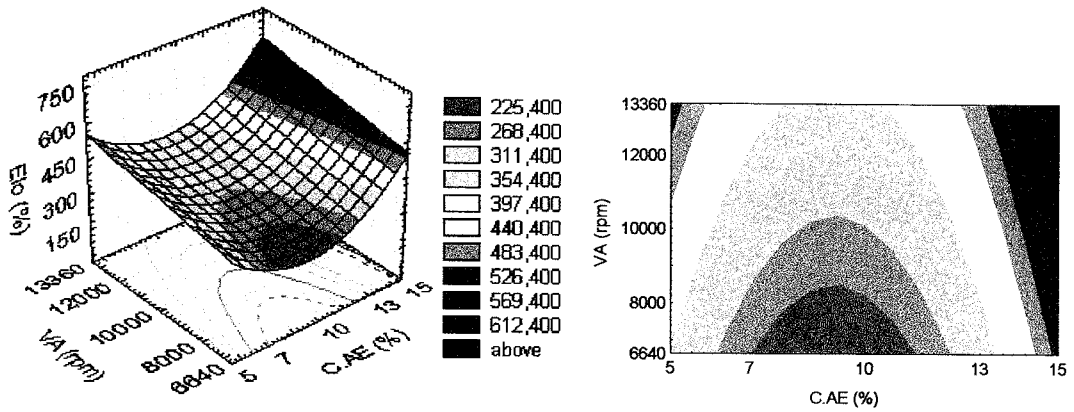


Figura 26 - Superfície de resposta e respectiva curva de contorno para a elongação de ruptura (%) em função da concentração de ácido esteárico (C.AE) (%) e velocidade de agitação (VA) (rpm), com o valor de concentração de glicerol fixo em 30%.

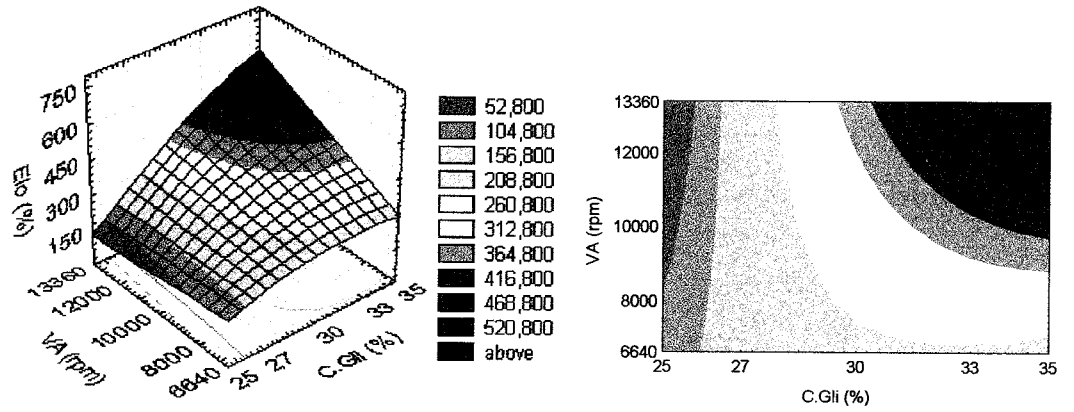


Figura 27 - Superfície de resposta e respectiva curva de contorno para a elongação de ruptura (%) em função da velocidade de agitação (VA) (rpm) e da concentração de glicerol (C.Gli) (%), com o valor da concentração de ácido esteárico fixo em 10%.

5.2.7 DEFINIÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DA FORMULAÇÃO OTIMIZADA

Após a análise individual de todas as respostas obtidas no planejamento fatorial completo, definiu-se uma formulação ótima que atendesse os requisitos de baixa solubilidade, resistência mecânica aceitável (força e tensão de ruptura), boa flexibilidade e, especialmente, baixa permeabilidade ao vapor de água, visto que o objetivo principal da adição do ácido esteárico aos biofilmes estudados neste trabalho foi o de aumentar a barreira ao vapor de água. Para melhor entendimento a respeito da definição da formulação otimizada, é apresentado a seguir um resumo dos melhores valores ou faixas das variáveis estudadas, que resultaram nas melhores respostas para as propriedades dos biofilmes:

- PVA: C.AE= 11,5%; C.Gli= 28,5%; VA= 11000rpm (ou a faixa: C.AE= 10-13%; C.Gli= 27- 32%; VA= 9000-13000rpm).
- Solubilidade: C.AE= 10-15%; C.Gli= 25-28%; VA=qualquer valor na faixa estudada.
- Força de ruptura: C.AE= 5-10%; C.Gli= 25-28%; VA= 11000-13360rpm.
- Deformação: C.AE= 5-10%; C.Gli= 30-35%; VA= qualquer valor na faixa estudada.
- Tensão de ruptura: C.AE= < 8%; C.Gli= < 28%; VA= 10000-13360rpm.
- Elongação: C.AE= 13-15%; C.Gli= 30-35%; VA= 10000-13360rpm

A análise dos dados apresentados permitiu a definição de uma formulação otimizada, intermediária entre as condições ótimas para a menor permeabilidade ao vapor de água, mas que atendesse também as condições para a obtenção de boas propriedades mecânicas. Essa formulação consistiu em:

Concentração de ácido esteárico: 10%
Concentração de glicerol: 26%
Velocidade de agitação: 12000rpm.

Amostras de biofilmes foram elaboradas de acordo com esta formulação e caracterizadas através dos mesmos testes realizados para os biofilmes do planejamento experimental, efetuando-se também a medida da permeabilidade ao oxigênio em aparelho OX-Tran. Os resultados desta caracterização estão apresentados na Tabela 29.

Tabela 29 - Caracterização do biofilme composto de farinha de amaranto e ácido esteárico obtido de acordo com a formulação otimizada.

	PVA		*Permeabilidade ao O_2*		*RUPTURA*		*TRAÇÃO*		
S (%)	(g.mm/ m^2.h. kPa)	(g/m.s.Pa)	(cm^3.µm/ m^2.dia. kPa)	cm^3/m.s.Pa	F (N)	D (%)	T (MPa)	Elo (%)	M.Y (MPa)
15,20	0,32	$8,9x10^{-11}$	20,40	$2,36x10^{-13}$	2,53	4,20	2,60	148,0	25,0

Pode-se sugerir que os filmes elaborados a partir da formulação otimizada apresentaram boas propriedades mecânicas, baixa solubilidade e ótimas propriedades de barreira, quando comparados a outros biofilmes indicados na literatura, destacando-se a elongação. Mesmo sendo inferior ao máximo resultado obtido na etapa de planejamento experimental (620%), o resultado de 150% para a elongação de ruptura é superior ao obtido por outros autores em biofilmes adicionados de lipídeos (2,5% para biofilmes a base de soro de leite com 20% de cera de abelha, segundo SHELLHAMMER e KROCHTA (1997); ~6% para biofilmes de arabinoxilana emulsificados com 30% de óleo de palma hidrogenado, segundo PHAN THE et al. (2002)).

Os valores relatados na Tabela 29 encontram-se dentro das faixas esperadas, indicadas pelas superfícies de resposta, nos valores definidos para a formulação otimizada (exceção feita a permeabilidade ao O_2, pois não foi estudada na etapa de planejamento). O valor da permeabilidade ao vapor de água ficou um pouco abaixo do esperado, o que é um fator positivo e pode ser resultado da combinação dos fatores da formulação otimizada. Os valores esperados eram: solubilidade (S) entre 14 e 16%; PVA entre 0,44 e 0,48 g.mm/m^2.h.kPa; tensão de ruptura entre 1,45 e 2,3 MPa; elongação entre 150 e 170%; força de ruptura entre 1,8 e 2,2N; deformação entre 2,5 e 3,5%. Isto reforça os resultados obtidos na análise estatística, comprovando que os modelos gerados para as respostas e, conseqüentemente, as superfícies de resposta, são válidas para a predição das propriedades estudadas, dentro das faixas definidas pelo planejamento experimental.

A baixa solubilidade obtida, além de ser resultado da adição do ácido esteárico, também pode estar relacionada ao processo de desnaturação das proteínas presentes na farinha de amaranto, visto que utilizou-se uma temperatura de 82°C para o preparo das suspensões filmogênicas. De acordo com a literatura, a albumina, a glutelina e a globulina, três proteínas presentes nos grãos de amaranto, apresentam temperaturas de

desnaturação de 64ºC, para as duas primeiras e de 70ºC para a terceira (MARTÍNEZ et al., 1997).

Convém destacar que, embora a permeabilidade ao vapor de água expressa na Tabela 29 tenha sido inferior aos valores obtidos por outros autores, para biofilmes compostos, a mesma ainda é superior à permeabilidade de filmes sintéticos, como o celofane (8,4 x 10^{-11} g/m.s.Pa), o polietileno de baixa densidade (LDPE) (3,6 X 10^{-13} g/m.s.Pa) e o poli-cloreto de vinilideno (PVDC) (SHELLHAMMER e KROCHTA, 1997).

Em relação a permeabilidade ao oxigênio, boas propriedades de barreira a este agente externo são requeridas para que os filmes produzidos a partir de biopolímeros possam ser usados na embalagem e preservação de alimentos. A permeabilidade ao oxigênio depende fortemente da interação entre a matriz polimérica e o gás permeante, sendo que, quanto menor for o volume livre do sistema e a quantidade de água livre, menor é a permeabilidade ao oxigênio (GAUDIN et al, 2000). Materiais sintéticos apresentam baixa permeabilidade aos gases, como o polietileno de baixa densidade (LDPE), cuja permeabilidade ao O_2 é de cerca de 2,16 x 10^{-11} cm^3/m.s.Pa (GARCÍA et al., 2000).

Pode-se verificar através da Tabela 29, que o biofilme composto de farinha de amaranto e ácido esteárico, obtido a partir da formulação otimizada, mostrou-se menos permeável ao O_2 quando comparado ao polietileno de baixa densidade. Comparando-se com os resultados de outros autores, a permeabilidade ao O_2 obtida neste trabalho também foi inferior ao indicado para filmes de amido de milho plastificados com glicerol (4,61 x 10^{-10} cm^3/m.s.Pa), elaborados por GARCÍA et al. (2000). TANADA-PALMU (2003) estudou o efeito da concentração de glicerol, glúten de trigo, etanol e do pH sobre as propriedades de filmes a base de glúten de trigo, obtendo como menor permeabilidade ao O_2, 24,97 cm^3.μm/ m^2.dia.kPa. PARK e CHINNAN (1990), citados por TANADA-PALMU (2003), observaram valores de 13,0 - 44,9 cm^3.μm/m^2.dia.kPa, para filmes de zeína, e de 9,6 - 24,2 cm^3.μm/ m^2.dia.kPa, para filmes a base de glúten de trigo, a 30ºC e 0% UR.

Verifica-se portanto, que os biofilmes podem apresentar baixa permeabilidade ao O_2 e, de acordo com CUQ et al. (1995), apresentam alta seletividade entre CO_2 e O_2, ou seja, permitem a passagem de maior quantidade de CO_2 e menor de O_2. Esta característica é muito interessante para o desenvolvimento de coberturas para frutas e vegetais frescos ou minimamente processados, para o controle das trocas respiratórias.

A baixa permeabilidade ao O_2 dos filmes obtidos neste trabalho pode ser resultado da interação entre as moléculas de amido e proteína da farinha de amaranto, bem como da baixa solubilidade obtida (15,2%), havendo um pequeno volume livre no sistema, dificultando o processo de difusão. De acordo com ARVANITOYANNIS et al. (1997), as propriedades difusionais do CO_2 e O_2 dependem do volume livre do sistema, da quantidade de água livre e do grau de polaridade da matriz dos filmes. FORSSEL et al. (2002) indicam que a concentração de plasticizante também influencia a permeabilidade aos gases, por aumentar a mobilidade das cadeias. Para permear a estrutura dos filmes, o O_2 precisa dissolver-se no interior do material polimérico e difundir-se. Assim, quanto maior o conteúdo de água e de plasticizante, maior será a permeabilidade aos gases, especialmente porque as interações entre as cadeias dos polímeros diminuem, aumentando as interações com as moléculas de água. Assim, a solubilidade do O_2 aumenta no sistema (ARVANITOYANNIS et al., 1998).

A presença do ácido esteárico na concentração de 10% (formulação otimizada) também pode ter influenciado no resultado de baixa permeabilidade ao O_2 dos filmes elaborados, uma vez que diminuiu as características hidrofílicas do filme, tornando-o mais hidrofóbico. Conseqüentemente, a solubilidade do O_2 na matriz diminuiu. AYRANCI e TUNC (2001) estudaram o efeito da concentração de ácidos graxos sobre a permeabilidade ao CO_2 de filmes a base de celulose, observando uma redução de ~53 para ~15 g/dia.m^2 na taxa de transmissão de CO_2, quando os filmes sofreram a adição de 15% de ácido esteárico. Os autores estudaram três ácidos graxos (esteárico, palmítico e láurico), concluindo que o ácido esteárico foi o mais eficiente na redução da permeabilidade ao CO_2, devido ao tamanho de sua molécula, que dificulta a mobilidade e, conseqüentemente, o processo de transmissão (difusão) dos gases.

5.3 APLICAÇÃO DE COBERTURAS A BASE DE FARINHA DE AMARANTO E ÁCIDO ESTEÁRICO EM MORANGOS FRESCOS (*Fragaria ananassa*)

A aplicação da formulação otimizada definida no item 5.2.7 foi realizada em morangos frescos, na forma de coberturas, para avaliar sua influência sobre a manutenção da qualidade dos frutos. Entretanto, a concentração de farinha de amaranto utilizada na elaboração das coberturas foi de 5%, enquanto que na etapa de otimização (elaboração dos filmes), utilizou-se 4% de farinha. Esta modificação foi necessária, uma vez que para as coberturas, a suspensão elaborada com 4% de farinha mostrou-se muito fluida, dificultando a aderência na superfície dos morangos.

Outros tratamentos foram realizados para fins de comparação, especialmente a cobertura de suspensão de amido de amaranto ("Amido") e a cobertura de farinha de amaranto não adicionada de ácido esteárico ("Otimizada sem A.E"). Em ambas, utilizou-se a concentração otimizada de glicerol (26%). As demais coberturas foram a de "PVC" e a "Otimizada dupla" (dupla aplicação da formulação otimizada), havendo também um tratamento "Controle".

5.3.1 CARACTERIZAÇÃO VISUAL DAS COBERTURAS

As coberturas mostraram boa aderência na superfície dos morangos porém, verificou-se através de observação visual que a espessura final foi reduzida, o que foi atribuído a viscosidade relativamente baixa das suspensões utilizadas, embora a concentração de farinha tenha sido elevada de 4 para 5%, havendo "escorrimento" após a aplicação. Neste sentido, pode ter ocorrido que a melhor formulação para a elaboração dos filmes não tenha sido a melhor para a elaboração das coberturas, uma vez que para estas, outras características são necessárias, especialmente a alta coesividade.

A cobertura elaborada com amido puro mostrou elevada transparência e brilho, enquanto a de farinha de amaranto sem ácido esteárico ("Otimizada sem A.E") apresentou-se levemente amarelada, mas também com brilho. Para os tratamentos nos quais adicionou-se o ácido esteárico ("Otimizada" e "Otimizada dupla") observou-se opacidade, principalmente para a cobertura dupla. Comparando-se os morangos nos quais foram aplicadas as coberturas e também as frutas controle, nos tempos de 1 e 18 dias de armazenamento, observou-se que todos os morangos apresentaram

encolhimento, em menor ou maior grau, dependendo do tratamento. As frutas controle e as que foram recobertas com as coberturas de "Amido" e "Otimizada sem A.E" apresentaram maior encolhimento, observação que pode ser confirmada na Figura 35 (perda de peso em função do tempo de estocagem). Para os morangos nos quais foi aplicada a cobertura "Otimizada", o tamanho original foi mantido por um tempo maior em relação às outras coberturas, excetuando-se o PVC, para o qual foi observado o menor encolhimento. A qualidade visual foi mantida até o dia 16 para os morangos cobertos com a formulação otimizada, o que pode ser um indicativo da sua eficiência para retardar o processo de deterioração dos morangos. As Figuras 28 a 33 representam as imagens dos morangos, para os 6 tratamentos estudados, ao longo do tempo de armazenamento.

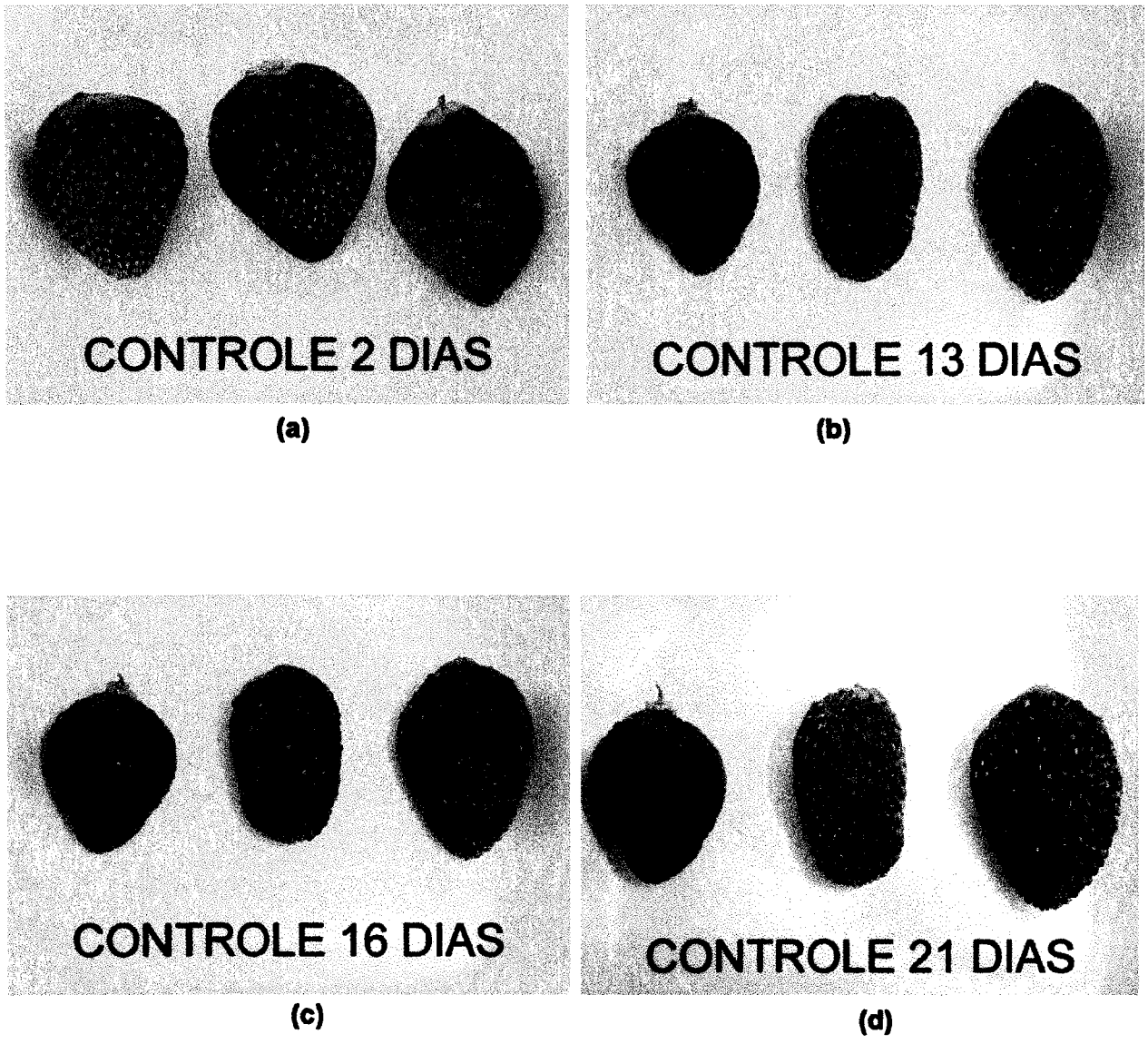


Figura 28 - Morangos não recobertos ("Controle") nos tempos de 2 (a), 13 (b), 16 (c) e 21(d) dias de armazenamento.

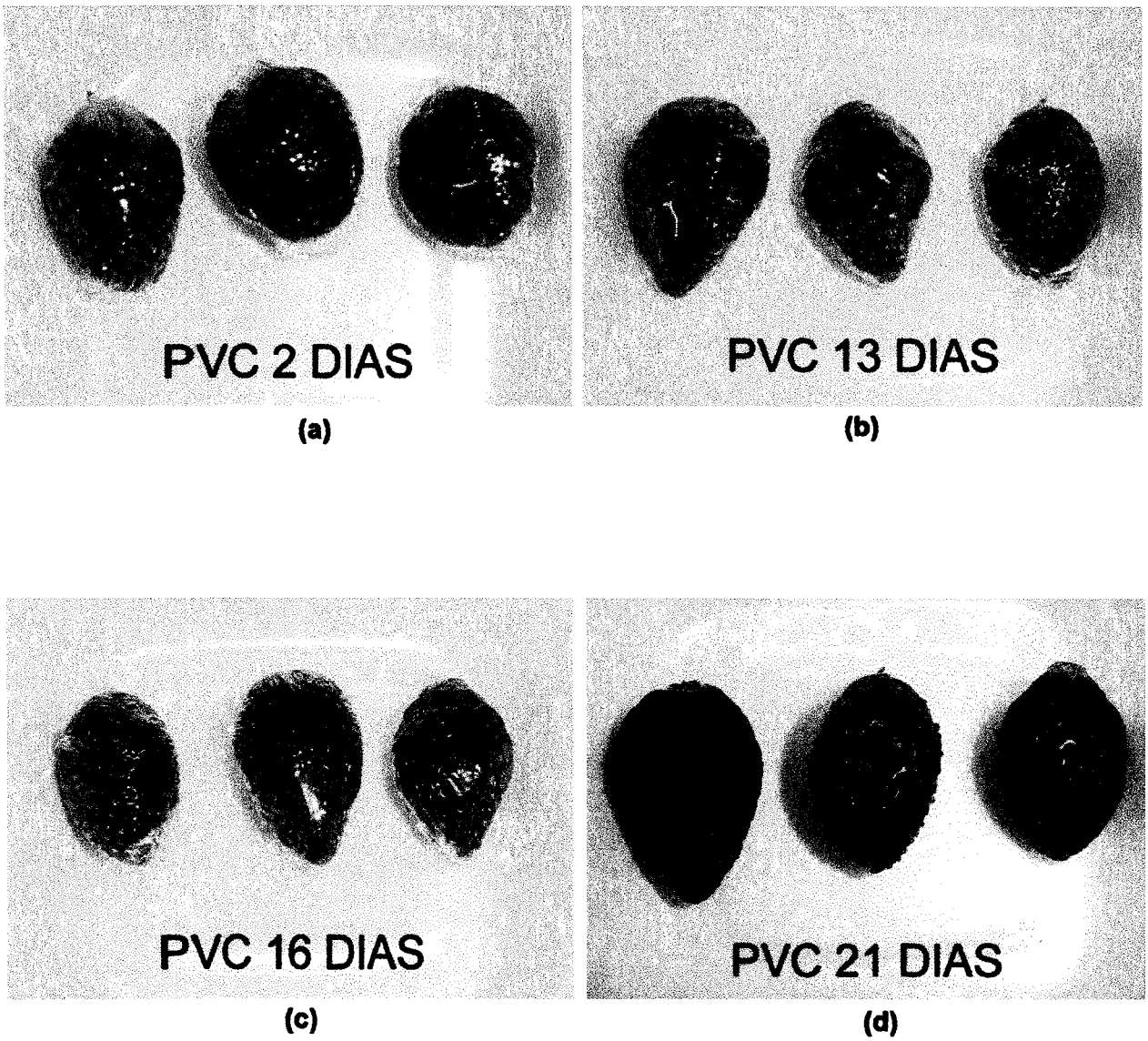


Figura 29 - Morangos cobertos com PVC nos tempos de 2 (a), 13 (b), 16 (c) e 21(d) dias de armazenamento.

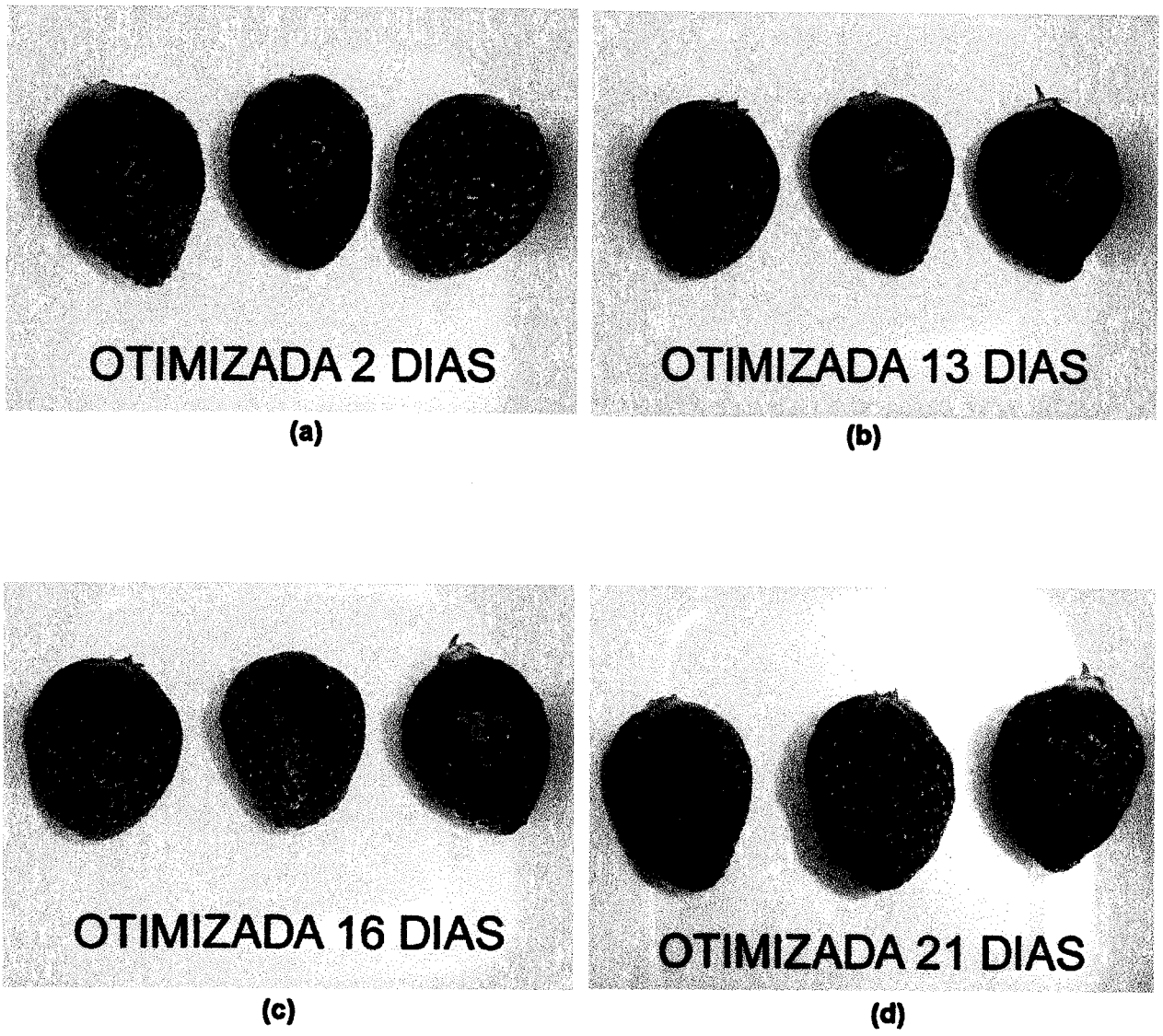


Figura 30 - Morangos cobertos com a formulação "Otimizada" nos tempos de 2 (a), 13 (b), 16 (c) e 21(d) dias de armazenamento.

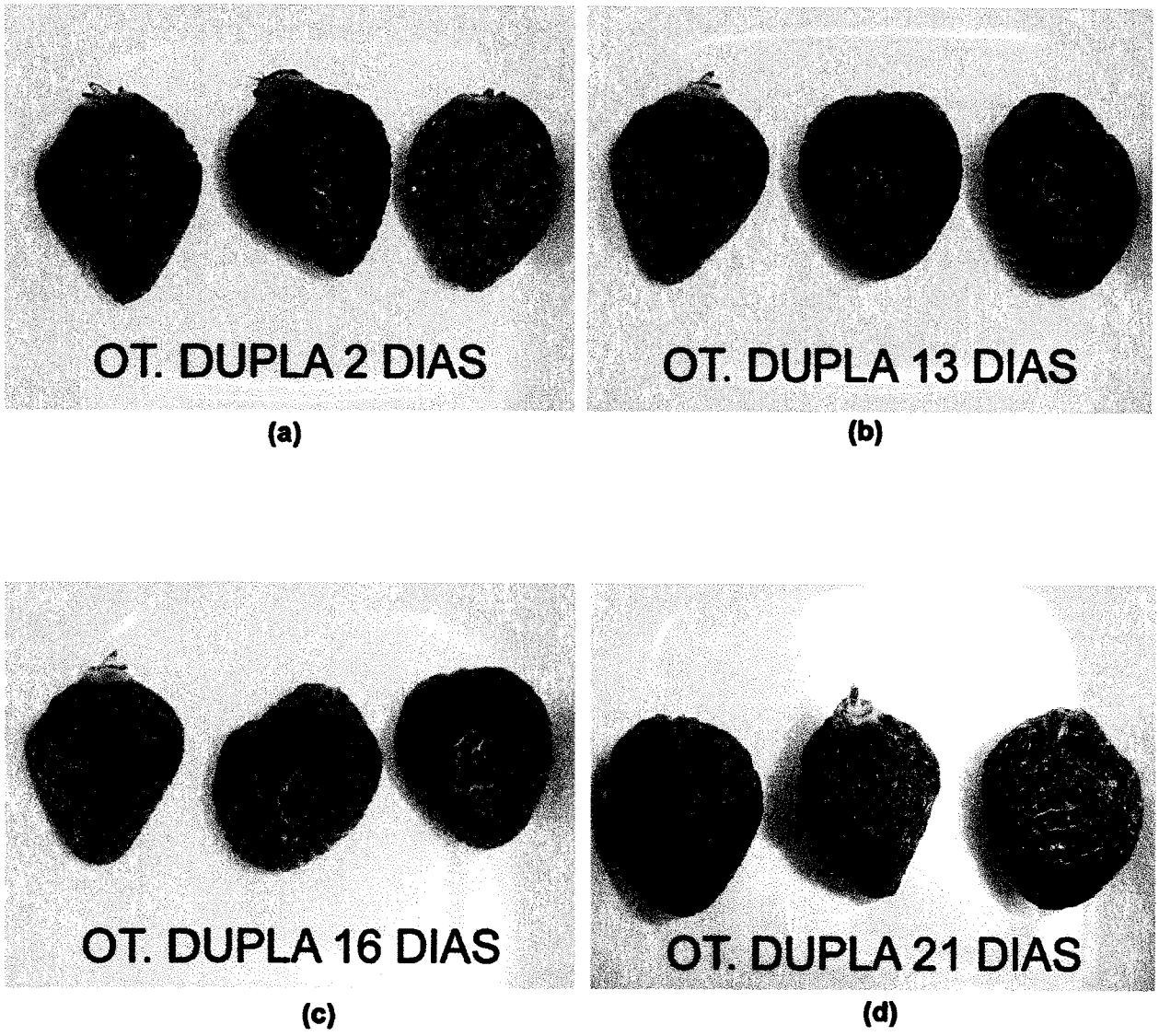


Figura 31 - Morangos com a cobertura dupla da formulação otimizada ("Otimizada dupla") nos tempos de 2 (a), 13 (b), 16 (c) e 21(d) dias de armazenamento.

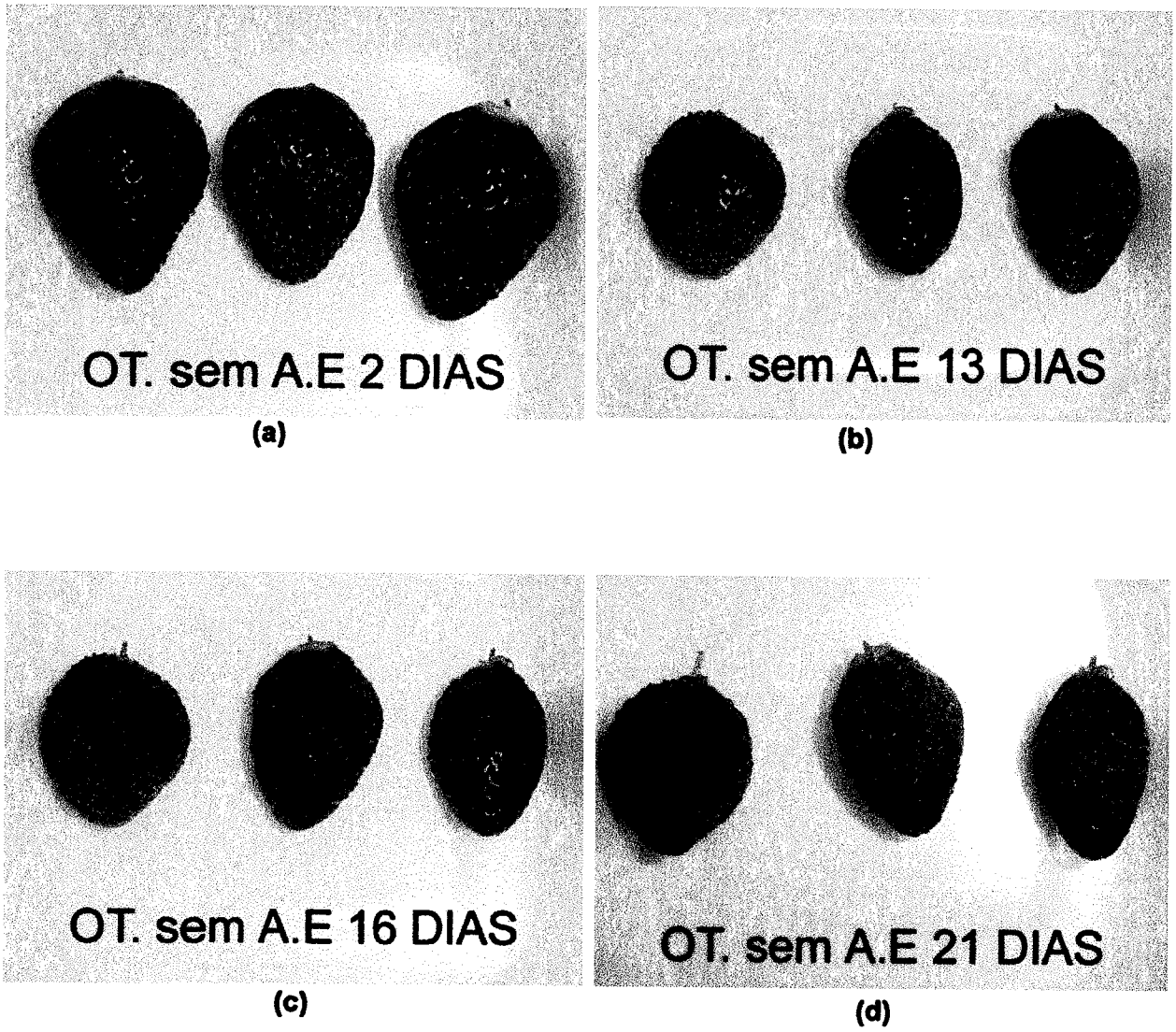


Figura 32 - Morangos com a cobertura de farinha de amaranto sem a adição de ácido esteárico ("Otimizada sem A.E") nos tempos de 2 (a), 13 (b), 16 (c) e 21(d) dias de armazenamento.

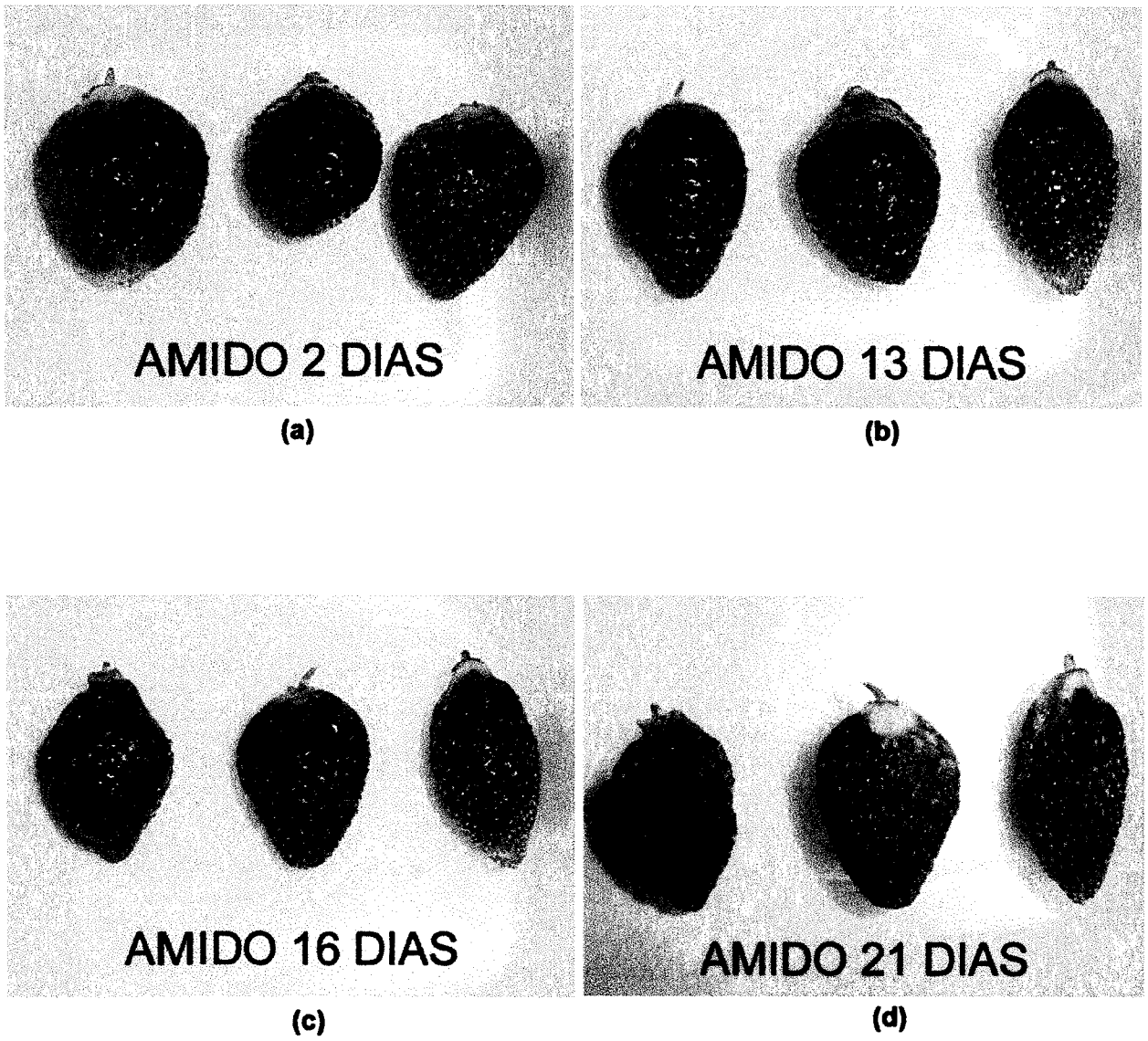


Figura 33 - Morangos com a cobertura de amido de amaranto ("Amido") nos tempos de 2 (a), 13 (b), 16 (c) e 21(d) dias de armazenamento.

5.3.2 DECAIMENTO MICROBIOLÓGICO

A Figura 34 representa os resultados para o decaimento microbiológico dos morangos submetidos aos tratamentos estudados. Os morangos são frutas altamente perecíveis, apresentando curto tempo de vida útil após a colheita, devido ao ataque fúngico, que promove o aparecimento de pontos escuros e perda da textura (amolecimento) nas zonas atacadas (EL-GHOUTH et al., 1991).

Para o tempo de 3 dias de armazenamento, apenas as frutas controle apresentaram sinais de contaminação microbiológica, com 20% dos frutos infectados (Figura 34). Porém, no final do tempo de armazenamento, apenas a cobertura elaborada com a formulação otimizada promoveu a redução do ataque fúngico, em relação às frutas controle. No tempo de 18 dias de armazenamento, as coberturas de "Amido" e a "Otimizada sem A.E" tiveram 50% das frutas infectadas, assim como o grupo das frutas não cobertas (controle). O grupo de frutas cobertas com a formulação "Otimizada", por sua vez, apresentou 44% de frutas infectadas, enquanto o tratamento "Otimizada dupla" teve 66% de frutas contaminadas. Verifica-se portanto, que a formulação otimizada aplicada como cobertura nos morangos levou a redução da contaminação, se comparada aos demais tratamentos, provavelmente devido a sua baixa permeabilidade ao O_2.

De acordo com BALDWIN et al. (1995), as coberturas podem afetar o processo respiratório das frutas e a perda de água, sendo que as que são capazes de reduzir a permeabilidade ao O_2 e CO_2 levam a formação de uma atmosfera interna nas frutas, resultando no aumento da concentração de CO_2 e na diminuição da concentração de O_2. Assim, a alta taxa de respiração e produção de etileno de frutas como os morangos, pode ser reduzida pela aplicação de coberturas semi-permeáveis. A semi-permeabilidade é uma característica importante para que não ocorra a formação de condições anaeróbias, com o desenvolvimento de microrganismos capazes de se desenvolver nestas condições e também de odores desagradáveis.

A aplicação da cobertura dupla da formulação otimizada pode ter resultado na formação de atmosfera anaeróbia, o que explicaria o fato de que as frutas cobertas nestas condições apresentaram maior decaimento microbiológico do que as frutas controle.

Em relação aos resultados obtidos por outros pesquisadores, a citar os de TANADA PALMU (2003), que também estudou a cobertura de morangos com biofilmes,

os percentuais de decaimento microbiológico observados neste trabalho ao final do tempo de armazenamento foram, de maneira geral, superiores, o que pode ser atribuído ao fato de que os morangos utilizados foram coletados em período final de cultura, quando normalmente exibem menor tempo de conservação, em função do "stress" da planta produtora.

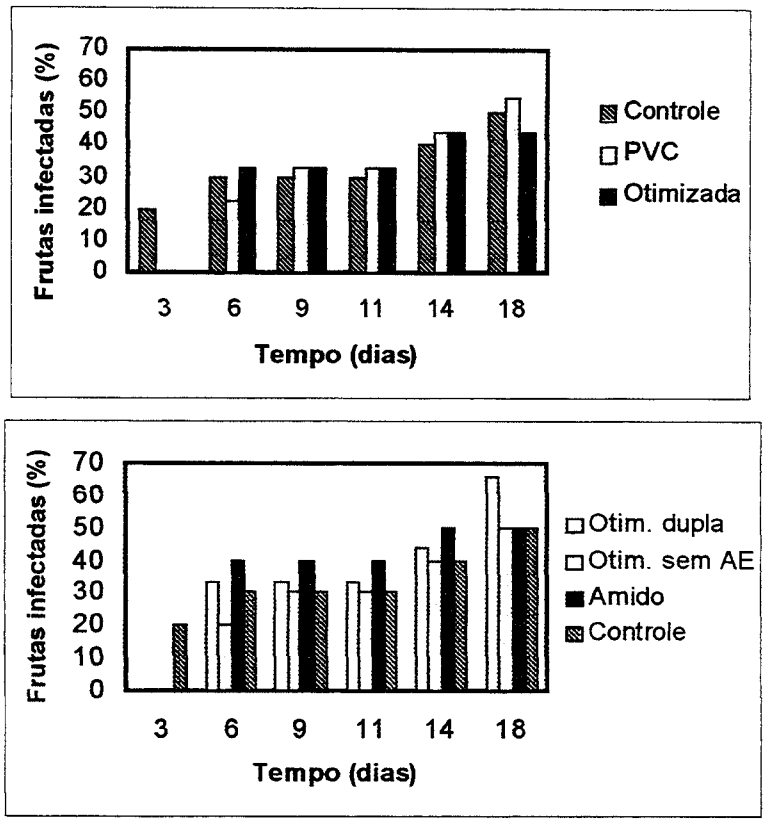


Figura 34 – Decaimento microbiológico dos morangos (% frutas infectadas) para os seis tratamentos realizados em função do tempo de armazenamento (dias).

5.3.3 PERDA DE PESO

A perda de peso ocorre durante a estocagem em virtude do processo respiratório das frutas, da transferência de umidade e dos processos de oxidação (AYRANCI e TUNC, 2003). Pode-se observar na Figura 35 que a perda de peso aumentou com o tempo de armazenamento, para todos os tratamentos, porém em menor grau para os frutos cobertos com PVC e com a formulação otimizada. Pode-se atribuir estes resultados à baixa permeabilidade ao vapor de água da cobertura elaborada a partir da formulação

otimizada dos filmes, bem como à boa propriedade de barreira ao O_2. A máxima perda de peso observada para os morangos com esta cobertura foi de ~23%, no tempo de 18 dias de armazenamento. Este resultado é similar ao obtido por GARCÍA et al. (1998), que indicaram perda de peso de ~21% para morangos tratados com uma cobertura de amido de milho de alto teor de amilose, após 30 dias de armazenamento a 0ºC. TANADA-PALMU (2003) observou a perda de ~35% no peso de morangos, nos quais foi aplicada uma cobertura a base de glúten de trigo adicionada de cera de abelha e uma blenda de ácido esteárico e palmítico, após 16 dias de armazenamento nas mesmas condições utilizadas neste trabalho.

O tratamento "Otimizada dupla" resultou em maior perda de peso em comparação às frutas cobertas com uma camada. Este resultado foi inesperado, mas pode-se atribuí-lo a possível formação de rachaduras na cobertura, através das quais pode ter ocorrido a transferência de umidade, em virtude da má distribuição da cobertura sobre os frutos. Neste aspecto também influem as condições de secagem, assunto que sugere um estudo mais profundo para a obtenção dos melhores parâmetros para o tipo de cobertura estudada.

Os tratamentos "Amido" e "Otimizada sem A.E" resultaram em perdas de peso semelhantes às observadas para as frutas controle (~35% após 18 dias de armazenamento). Em função dos resultados para o tratamento "Otimizada sem A.E", pode-se dizer que o ácido esteárico teve importante função na formulação, melhorando as propriedades de barreira, o que é confirmado pelos resultados obtidos com a cobertura elaborada a partir da formulação otimizada (~23% de perda após 18 dias de armazenamento).

Para a cobertura elaborada somente com o amido de amaranto, o comportamento observado pode ser justificado pela característica hidrofílica do amido, que resulta em alta solubilidade e permeabilidade ao vapor de água, levando ao aumento da perda de peso dos morangos. Além disso, a condição de umidade relativa utilizada neste trabalho (80%) pode ter acentuado os processos difusionais de vapor de água e de O_2 através da cobertura, visto que a água exerce efeito plastificante, aumentando a mobilidade das cadeias do polímero (FORSSEL et al., 2002). A concentração de glicerol de 26%, utilizada na formulação desta cobertura, também pode ter contribuído neste processo.

De acordo com a caracterização físico-química realizada, o amido de amaranto utilizado neste trabalho apresentou 13,9% de amilose (Tabela 3), sendo portanto, rico

em amilopectina. De acordo com RINDLAV-WESTLING et al. (1998), filmes elaborados com amido de alto teor de amilopectina são menos resistentes ao vapor de água e ao oxigênio, se comparados a filmes de amido de alto teor de amilose, o que se deve às características de cristalinidade dos filmes resultantes. A amilopectina resulta em filmes com zonas amorfas, sendo que a cristalinidade aumenta com o aumento da umidade relativa durante a formação do filme, e também depende da presença de plasticizante (MYLLÄRINEN et al., 2002). Por sua vez, a amilose resulta em filmes de maior cristalinidade, com melhores propriedades mecânicas e de barreira. Assim, dado o teor relativamente baixo de amilose presente no amido de amaranto, justifica-se a alta perda de peso dos morangos tratados com a cobertura de amido, em função das prováveis altas permeabilidades ao O_2 e ao vapor de água da mesma.

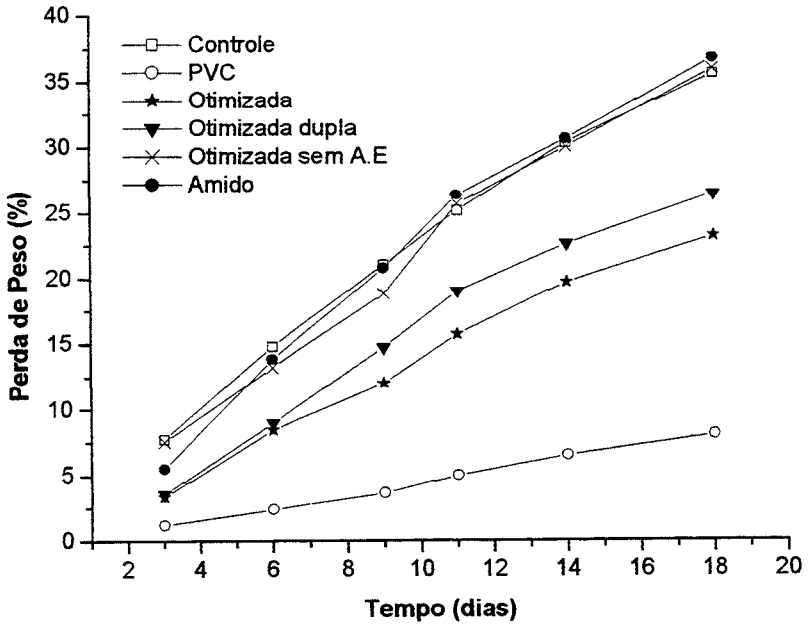


Figura 35 - Efeito das coberturas de farinha de amaranto e amido sobre a perda de peso (%) em função do tempo de armazenamento (dias).

5.3.4 FORÇA DE RUPTURA (FIRMEZA)

A força de ruptura (firmeza) dos frutos diminuiu em função do tempo de armazenamento para todos os tratamentos, mas em maior grau para os tratamentos "Amido" e "Otimizada sem A.E", e para as frutas controle, tal como pode ser observado na Figura 36. As coberturas "Otimizada" e "Otimizada dupla" promoveram a retenção da firmeza dos morangos durante o armazenamento, e os melhores resultados foram obtidos com o PVC, seguido da formulação otimizada.

Segundo GARCÍA et al. (1998), a extensão da perda de firmeza durante o amadurecimento de frutas sensíveis como os morangos é fator determinante na qualidade pós-colheita. As perdas de textura ocorrem devido a degradação dos componentes da parede celular estrutural dos frutos, principalmente a pectina, pela atividade de enzimas específicas e pelas mudanças no metabolismo e no conteúdo de água.

Assim como demonstrado para a perda de peso (Figura 35), os morangos tratados com as coberturas "Amido" e "Otimizada sem A.E" não tiveram a perda de firmeza reduzida, quando comparados às frutas controle, o que pode ser visualizado na Figura 36. Este comportamento já era esperado, uma vez que quanto maior a perda de peso, o que é um indicativo da perda de água da fruta, maiores são as modificações na textura.

Os morangos cobertos com PVC apresentaram as maiores forças de ruptura e a textura sofreu pequenas modificações até o 16º dia de armazenamento. A cobertura "Otimizada", assim como observado para os resultados da perda de peso, mostrou-se a mais eficiente na retenção da firmeza dos morangos, entre as coberturas estudadas.

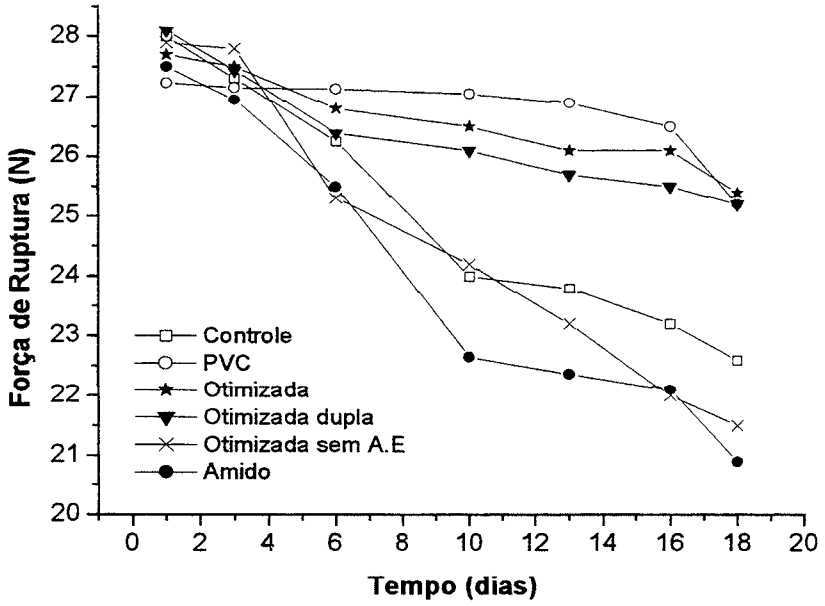


Figura 36 - Efeito das coberturas de farinha de amaranto e amido sobre a firmeza (força de ruptura em N) em função do tempo de armazenamento (dias).

5.3.5 DESENVOLVIMENTO SUPERFICIAL DE COR

A modificação da cor ocorre durante a vida pós-colheita dos morangos como evidência de amadurecimento, que é acompanhado pela diminuição da luminosidade (*L*), acréscimo da cor vermelha (*a*) e decréscimo da coloração amarela (*b*) (GARCÍA et al., 1998). As modificações de cor dos morangos cobertos e das frutas controle foram acompanhadas pela razão entre os parâmetros de cromaticidade (a/b). Quando as coberturas são capazes de retardar o aumento desta razão, em função do tempo de armazenamento, tem-se um indicativo de que as mesmas reduzem a velocidade de amadurecimento dos morangos, retardando a senescência e aumentando a vida pós-colheita.

Através da Figura 37 pode-se verificar que as frutas controle apresentaram os maiores valores de a/b, em comparação às frutas cobertas. A cobertura "Otimizada" foi a mais eficiente na redução da velocidade de amadurecimento, em relação ao parâmetro de cor, entre as coberturas comestíveis estudadas, o que é evidenciado pelo decréscimo na modificação da cor das frutas, em comparação ao grupo controle.

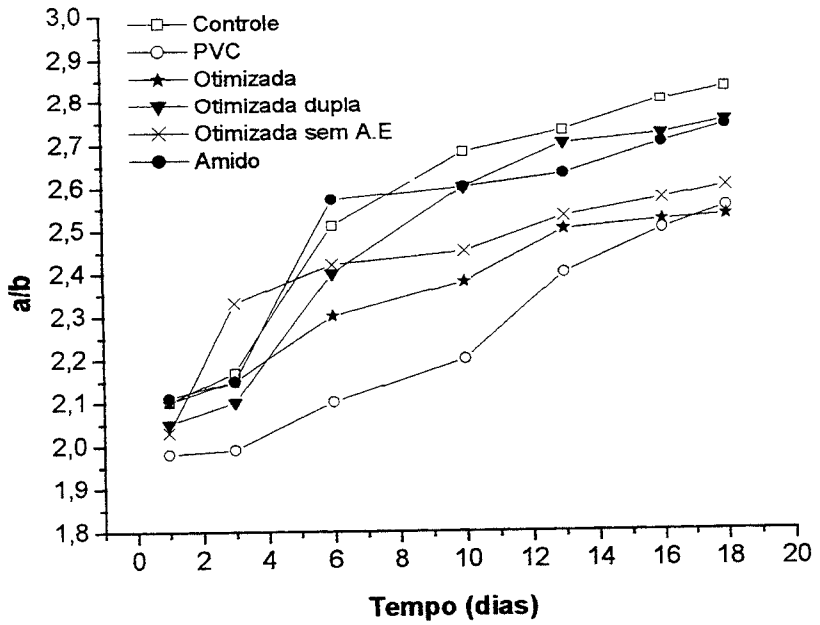


Figura 37 - Desenvolvimento superficial de cor dos morangos (razão de cromaticidade: a/b) em função do tempo de armazenamento (dias).

6 CONCLUSÕES

- A farinha de *Amaranthus cruentus* constitui-se em uma matéria prima interessante para a elaboração de biofilmes, dada a sua composição em amido, proteínas e lipídeos, e a tendência atual de utilização de misturas destes biopolímeros para se alcançar as propriedades desejadas nos biofilmes; somado a isto, o pequeno tamanho dos grânulos do amido presente na farinha de amaranto, comprovado por análise de microscopia, é uma característica importante, uma vez que facilita a dispersão e a obtenção de filmes com boas propriedades mecânicas;

- Em relação às propriedades físico-químicas do amido e da farinha de amaranto, foi demonstrado neste trabalho que ambos apresentam índices de inchamento e solubilidade superiores aos do amido de milho, o que pode ser atribuído, para o índice de inchamento, à maior fração em amilopectina do amido de amaranto, sendo a maior solubilidade, função do seu reduzido tamanho granular. As temperaturas de gelatinização de ambos produtos mostraram-se dependentes da concentração utilizada no preparo das suspensões, sendo que as suspensões com menor concentração de soluto tiveram um intervalo de gelatinização mais curto, devido ao efeito plastificante da água. A farinha de amaranto é composta por grânulos de amido complexados com moléculas de proteínas e lipídeos, o que foi revelado através de microscopia eletrônica de varredura da farinha isolada dos grãos;

- A máxima quantidade de ácido esteárico suportada pela matriz polimérica dos biofilmes estudados foi de 15% em relação a matéria seca. Nestas condições não foram observados problemas como deformações, formação de poros e furos durante a secagem, freqüentemente encontrados na formação de filmes compostos, obtendo-se filmes homogêneos e de superfície lisa;

- Melhores propriedades mecânicas e de barreira foram obtidas com a utilização de hidróxido de sódio como ajustador de pH da suspensão filmogênica, para a solubilização das proteínas da farinha, em comparação ao hidróxido de amônio; atribuiu-se este comportamento ao íon sódio, que é mais forte e menor em relação ao íon amônio, interpondo-se facilmente entre as cadeias protéicas e criando pontes que estabilizam e fortalecem a rede;

- Na etapa de otimização da formulação dos biofilmes, a concentração de ácido esteárico apresentou efeito marcante na propriedade de permeabilidade ao vapor de água, a qual decresceu a medida em que foi aumentada a concentração do lipídeo, em função do seu caráter hidrofóbico. A concentração de glicerol apresentou efeito positivo sobre esta propriedade, de modo que aumentando-se a sua concentração a barreira ao vapor de água tornou-se mais fraca, devido ao seu caráter hidrofílico. Os valores mais elevados da velocidade de agitação levaram a melhores resultados para a permeabilidade ao vapor de água, devido a distribuição mais homogênea e menor tamanho dos glóbulos de ácido esteárico. Velocidades acima de 12000rpm resultaram em uma possível injúria da matriz estrutural, visto que, para tais valores, a barreira ao vapor de água diminuiu;

- As propriedades mecânicas foram fortemente afetadas pela presença do ácido esteárico na matriz polimérica dos biofilmes estudados, obtendo-se filmes de menor resistência mecânica com o aumento da concentração do lipídeo, excetuando-se a elongação de ruptura, para a qual o ácido esteárico teve efeito positivo, exercendo efeito plastificante;

- Dentre as variáveis estudadas, a concentração de glicerol exerceu maior efeito sobre as propriedades mecânicas dos filmes obtidos. O acréscimo dos níveis de adição deste componente resultou no aumento da fragilidade dos filmes, diminuindo os valores de força de ruptura no teste de perfuração, e de tensão no teste de tração; porém, este acréscimo levou ao aumento da flexibilidade, obtendo-se filmes de maior percentual de deformação e de elongação de ruptura;

- De maneira geral, o aumento da velocidade de agitação até aproximadamente 12000rpm resultou em melhores propriedades mecânicas, devido a melhor distribuição dos componentes na matriz polimérica, especialmente do ácido esteárico, evitando a formação de poros e de regiões com acúmulo do ácido graxo;

- Através da metodologia de superfície de resposta definiu-se uma formulação otimizada, visando atender os requisitos de baixa solubilidade, resistência mecânica aceitável (força e tensão de ruptura), boa flexibilidade e, especialmente, baixa permeabilidade ao vapor de água. Esta formulação foi definida em 10% de ácido esteárico e 26% de glicerol, sob condições de agitação de 12000rpm;

- Os filmes elaborados com os valores otimizados das variáveis estudadas apresentaram baixa permeabilidade ao O_2, comparável a indicada para o polietileno de baixa densidade, bem como baixa permeabilidade ao vapor de água, o que foi atribuído ao baixo volume livre da rede polimérica final dos filmes, resultado das interações entre as moléculas de proteína, amido e lipídeos e da baixa solubilidade obtida, fatores que dificultam os processos de difusão do O_2 e do vapor de água. As propriedades mecânicas relativamente boas obtidas, bem como a baixa solubilidade, encontraram-se dentro das faixas esperadas, indicadas através dos modelos estatísticos e das superfícies de resposta geradas.

- Dentre os tratamentos realizados na etapa de aplicação de coberturas a base de farinha de amaranto em morangos frescos, a formulação otimizada foi a mais eficiente, retardando o processo de senescência e proporcionando a retenção da textura e a diminuição da perda de peso das frutas.

7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AHAMED, N.T.; SINGHAL, R.S.; KULKARNI, P.R.; KALE, D.D.; PAL, M. Studies on *Chenopodium quinoa* and *Amaranthus paniculatas* starch as biodegradable fillers in LDPE films. **Carbohydrate Polymers**, v. 31, p. 157-160, 1996.

ANKER, M.; BERNTSEN, J.; HERMANSSON, A.; STADING, M. Improved water vapor barrier of whey protein films by addition of an acetylated monoglyceride. **Innovate Food Science & Emerging Technologies**, v. 3, p. 254-260, 2002.

AOAC. **Association of Official Analytical Chemists.** Official methods of analysis of the Association of Official Analytical Chemists. 16th Edition. Gaithersberg, Maryland, USA, 1997.

ARVANITOYANNIS, I.; BILIADERIS, C.G. Physical properties of polyol-plasticized edible blends made of methyl cellulose and soluble starch. **Carboydrate Polymers**, v. 38, p. 47-58, 1999.

ARVANITOYANNIS, I.; NAKAYAMA, S.A.; AIBA, S. Edible films made from hydroxypropyl starch and gelatin and plasticized by polyols and water. **Carboydrate Polymers**, v. 36, p. 105-119, 1998.

ARVANITOYANNIS, I.; PSOMIADOU, E.; NAKAYAMA, S.A.; YAMAMOTO, N. Edible films made from gelatin, soluble starch and polyols, part3. **Food Chemistry**, v. 60, n. 4, p. 593-604, 1997.

ASTM. Standard test methods for tensile properties of thin plastic sheeting. Method D 882-91. In **Annual Book of ASTM Standards**. American Society for Testing and Materials. Philadelphia, PA, p. 316, 1993.

ASTM. Standard test methods for water vapor transmission of materials. Method E-96-90. In **Annual Book of ASTM Standards**. American Society for Testing and Materials. Philadelphia, PA, p. 834-841, 1990.

ASTM. Standard test methods for gas transmission rate of plastic film and sheeting. Method D 3985-81. In **Annual Book of ASTM Standards**. American Society for Testing and Materials. Conshohocken, PA, 1980.

AVENA-BUSTILLOS, R.J.; KROCHTA, J.M. Water vapor permeability of caseinate-based edible films as affected by pH, calcium, cross-linking and lipid content. **Journal of Food Science**, v. 58, p. 904-907, 1993.

AYHLLON-MEIXUEIRO, F.; VACA-GARCIA, C.; SILVESTRE, F. Biodegradable films from isolate of sunflower (*Helianthus annuus*) proteins. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 48, p. 3032-3036, 2000.

AYRANCI, E.; TUNC, S. A method for the measurement of the oxygen permeability and the development of edible films to reduce the rate of oxidative reactions in fresh foods. **Food Chemistry**, v. 80, p. 423-431, 2003.

AYRANCI, E.; TUNC, S. The effect of fatty acid content on water vapour and carbon dioxide transmissions of cellulose-based edible films. **Food Chemistry**, v. 72, p. 231-236, 2001.

BALDWIN, E. A.; NISPEROS, M.O.; BAKER, R.A. Use of edible coatings to preserve quality of lightly (and slightly) processed produtcts. Critical Reviews in Food Science and Nutrition, v. 35, n. 6, p. 509-524, 1995.

BALDWIN, E.A.; NISPEROS, M.O.; HAGENMAIER, R.D.; BAKER, R.A. Use of lipids in coatings for food products. **Food Technology**, v. 51, n. 6, p. 56-62, 1997.

BECKER, R.; WHEELER, L.E.; LORENZ, K.; STARFFORD, A.E.; GROSJEAN, O.K.; BETSCHART, A.A.; SAUNDERS, R.M. A compositional study of Amaranth grain. **Journal of Food Science**, v. 46, n. 4, p. 1175-1180, 1981.

BENDER, R.J.; BRECHT, S.A.; SARGENT, J.C.; NAVARRO, J.C.; CAMPBEL, C.A. Ripening initiation and storage performance of avocados treated with and edible-film coating. **Acta Hort.**, v. 343, p. 184-186, 1993.

BLIGH, E.G.; DYER, W.J. A rapid method of total lipid extraction and purification. **Can. J. Physiol.**, v. 37, p. 911- 917, 1959.

BREENE, W.M. Food uses of grain amaranth. **Cereal Food World**, v. 36, n. 5, p. 426-429, 1991.

CALZETTA, R.; AGUERRE, R.J.; SUÁREZ, C. Analysis of the sorptional characteristics of amaranth starch. **Journal of food engineering**, v. 42, p. 51-57, 1999.

CHICK, J.; USTUNOL, Z. Mechanical and barrier properties of latic acid and rennet precipited casein-based edible films. **Journal of Food Science**, v. 63, n. 6, p. 1024-1027, 1998.

CORREA, A.D.; JOKL, L.; CARLSSON, R. Amino acid composition of some *Amaranthus sp.* grain proteins and of its fractions. **Archivo Latinoamericano de Nutrición**, v. 36, p. 466, 1986.

CUQ, B.; GONTARD, N.; CUQ, J.L.; GUILBERT, S. Selected functional properties of fish myofibrilar protein-based films as affected by hydrophilic plasticizers. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 45, p. 622-626, 1997.

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

DEBEAUFORT, F.; GALLO, J.Q.; DELPORTE, B.; VOILLEY, A. Lipid hydrophobicity and physical state effects on the properties of bilayer edible films. **Journal of Membrane Science**, v. 180, p. 47-55, 2000.

DEBEAUFORT, F.; QUEZADA-GALLO, J.A.; VOILLEY, A. Edible films and coatings: tomorrow´s packagings: a review. **Critical Reviews in Food Science**, v. 38, n. 4, p. 299-313, 1998.

DEBEAUFORT, F.; VOILLEY, A. Effect of surfactants and drying rate on barrier properties of emulsified films. **International Journal of Food Science and Technology**, v. 30, p. 183-190, 1995.

DIAB, T.; BILIADERIS, C.G.; GERASOPOULOS, D.; SFAKIOTAKIS, E. Physicochemical properties and application of pullulan edible films and coatings in fruit preservation. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 81, p. 988-1000, 2001.

EL-GHOUTH, A.; ARUL, J.; PONNAMPALAM, R.; BOULET, M. Chitosan coating effect on storability and quality of fresh strawberries. **Journal of Food Science**, v. 56, p.1618-1631, 1991.

EVANS, I.D.; HAISMAN, D.R. The effect of solutes on the gelatinisation temperature range of potato starch. **Starch/Stärke**, v. 34, p. 224-231, 1982.

FAIRLEY, P.; MONAHAN, F.J.; GERMAN, B.B.; KROCHTA, J.M. Mechanical properties and water vapor permeability of edible films from whey protein isolate and N-ethylmaleimide or cysteine. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 44, n. 12, p. 3789-3792, 1996.

FANG, Y.; TUNG, M.A.; BRITT, I.J.; YADA, S.; DALGLEISH, D.G. Tensile and barrier properties of edible films made form whey proteins. **Food Engineering and Physical Properties**, v. 67, n. 1, p. 188-193, 2002.

FENNEMA, O.; DONHOWE, I.G.; KESTER, J.J. Lipid type and location of the relative humidity gradient influence on the barrier properties of lipids to water vapor. **Journal of Food Engineering**, v. 22, p. 225-239, 1994.

FORSSEL, P.; LAHTINEN, R.; LAHELIN, M.; MYLLÄRINEN, P. Oxygen permeability of amylose and amylopectin films. **Carboydrate Polymers**, v. 47, p. 125-129, 2002.

GALLO, J.Q.; DEBEAUFORT, F.; CALLEGARIN, F.; VOILLEY, A. Lipid hydrophobicity, physical state and distribution effects on the properties of emulsion-based edible films. **Journal of Membrane Science**, v. 180, p. 37-46, 2000.

GARCÍA, M.A.; MARTINO, M.N.; ZARITZKY, N.E. Lipid addition to improve barrier properties of edible starch-based films and coatings. **Journal of Food Science**, v. 65, n. 6, p. 941-947, 2000.

GARCÍA, M.A.; MARTINO, M.N.; ZARITZKY, N.E. Plasticized starch-based coatings to improve strawberry (*Fragaria ananassa*) quality and stability. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 46, p. 3758-3767, 1998.

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

GENNADIOS, A.; HANNA, M.A.; KURTH, L.B. Application of edible coatings on meats, poultry and seafoods: a review. **Lebensm.-Wiss. u.-Technol**, v. 30, p. 337-350, 1997.

GENNADIOS, A.; WELLER, C.L. Edible films and coatings from wheat and corn proteins. **Food Technology**, v. 44, p. 63-69, 1990.

GONTARD, N.; DUCHEZ, C.; CUQ, J.; GUILBERT, S. Edible composite films of wheat gluten and lipids: water vapor permeability and other physical properties. **International Journal of Food Science and Technology**, v. 29, p. 39-50, 1994.

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

GONTARD, N.; MARCHESSEAU, S.; CUQ, J.; GUILBERT, S. Water vapor permeability of edible bilayer films of wheat gluten and lipids. **International Journal of Food Science and Technology**, v. 30, p. 49-56, 1995.

HAGENMAIER, R.D.; SHAW, P.E. Moisture permeability of edible films made with fatty acid and (hydroxypropyl) methilcellulose. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 38, p. 1799-1803, 1990.

HANDA, A.; GENNADIOS, A.; HANNA, M.A.; SÉLLER, C.L.; KURODA, N. Physical and molecular properties of egg-white lipid films. **Journal of Food Science**, v. 64, p. 860-864, 1999.

HENRIQUE, C.M.; CEREDA, M.P. Utilização de biofilmes na conservação pós-colheita de morangos (*Fragaria ananassa*). **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 19, n. 2, p. 231-233, 1999.

HOAGLAND, P.D.; PARRIS, N. Chitosan/pectin laminated films. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 44, p. 1915-1919, 1996.

HOOVER, R.; SINNOTT, A.W.; PERERA, C. Physicochemical characterization of starches from *Amaranthus cruentus* grains. **Starch/Stärke**, v. 50, n. 11-12, p. 456-463, 1998.

JENG-YUNE, L.; AN-I, Y. Relationships between thermal, rheological characteristics and swelling power for various starches. **Journal of Food Engineering**, v. 50, p. 141-148, 2001.

KAMPER, S.L.; FENNEMA, O. Water vapor permeability of an edible, fatty acid, bilayer film. **Journal of Food Science**, v. 49, p. 1482-1485, 1984.

KESTER, J.J.; FENEMMA, O.R. Edible films and coatings: a review. **Food Technology**, v. 40, n. 12, p. 47-59, 1986.

KHURI, A.I.; CORNELL, J.A. **Response surface design and analyses**. Marcel Dekker Inc. New York, 1987.

KIM, S-J.; USTUNOL, Z. Solubility and moisture sorption isotherms of whey-protein-based edible films as influenced by lipid and plasticizer incorporation. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 49, p. 4388-4391, 2001.

KO, S.; JANES, M.E.; HETTIARACHCHY, N.S.; JOHNSON, M.G. Physical and chemical properties of edible films containing nisin and their action against *Listeria monocytogenes*. **Food Microbiology and Safety**, v. 66, n. 7, p. 1006-1011, 2001.

KOELSCH, C. Edible water vapor barriers: properties and promise. **Trends in Food Science and Technology**, v. 5, n. 3, p. 76-81, 1994.

KOELSCH, C. M.; LABUZA, T.P. Functional, physical and morphological properties of methyl cellulose and fatty acid-based edible barriers. **Lebensm. Wiss. Technol**, v. 25, p. 404-411, 1992.

KROCHTA, J.M.; MULDER-JOHNSTON, C. Edible and biodegradable polymer films: Challenges and opportunities. **Food Technology**, v. 51, n. 2, p. 60-74, 1997.

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

MARTINEZ, C.; CUEVAS, F. Evaluación de la calidad culinaria y molinera del arroz. **Guia de estudo**, Cali, CIAT, 75 p., 1989.

MARTÍNEZ, E.N.; CASTELLANI, O.F.; AÑÓN, C.M. Common molecular features among amaranth storage proteins. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 45, p. 3832-3839, 1997.

MORILLON, V.; DEBEAUFORT, F.; BLOND, G.; CAPELLE, M.; VOILLEY, A. Factors affecting the moisture permeability of lipid-based edible films: a review. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v. 2, n. 1, p. 67-89, 2002.

MYERS, D.J.; FOX, S.R. Alkali wet-milling characteristics of pearled and unpearled amaranth seed. **Cereal Chemists**, v. 71, p. 96-99, 1994.

MYLLÄRINEN, P.; BULEON, A.; LAHTINEN, R.; FORSSEL, P. The crystallinity of amylose and amylopectin films. **Carbohydrate Polymers**, v. 48, p. 41-48, 2002.

OLESZEK, W.; JUNKUSZEW, M.; STOCHMAL, A. Determination and toxicity of Saponins from *Amaranthus cruentus* seeds. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 47, p. 3685-3687, 1999.

PAMPA QUISPE, N.B. **Estudo do comportamento reológico em cisalhamento estacionário e oscilatório de suspensões de amido de amaranto (*Amaranthus cruentus*)**. 2003. Dissertação (Mestre em Engenharia de Alimentos) - Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2003.

PAREDES-LÓPEZ, O.; CARÁBEZ-TREJO, A.; PÉREZ-HERRERA, A.; GONZÁLEZ-CASTAÑEDA, J. Influence of germination on physico-chemical properties of amaranth flour and starch - microscopic structure. **Starch/Stärke**, v. 40, p. 290-294, 1988.

PAREDES-LÓPEZ, O.; SCHEVENIN, M.L.; HERNÁNDEZ-LOPEZ, D.; CÁRABEZ-TREJO, A. Amaranth starch-isolation and partial characterization. **Starch/Stärke**, v. 41, p. 205-207, 1989.

PARK, H.J. Development of advanced edible coatings for fruits. **Trends in Food Science and Technology**, v. 10, p. 254-260, 1999.

SHEWFELT, R.L. Edible com-zein film coating to extend storage life of tomatoes. **Journal of Food Science**, v. 59, p. 568-570, 1994.

PARKER, R.; RING, S.G. Aspects of the physical chemistry of starch. **Journal of Cereal Science**, v. 34, p. 1-17, 2001.

PARRIS, N.; DICKEY, L.C.; KURANTZ, R.O.M.; CRAIG, J.C. Water vapor permeability and solubility of zein/starch hydrophilic films prepared from dry milled corn extract. **Journal of Food Engineering**, v. 32, p. 199-207, 1997.

PEREZ, E.; BAHNASSEY, Y.A.; BREENE, W. M. A simple laboratory scale method for isolation of amaranth starch. **Starch/Stärke**, v. 45, n. 6, p. 211-214, 1993.

PEREZ-CAGO, M.B.; KROCHTA, J. Drying temperature effect on water vapor permeability and mechanical properties of whey protein-lipid emulsion films. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.48, p. 2687-2692, 2000.

PEREZ-CAGO, M.B.; KROCHTA, J. Lipid particle size effect on the water vapor permeability and mechanical properties of whey protein/ beeswax emulsion films. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 49, p. 996-1002, 2001.

PÉROVAL, C.; DEBEAUFORT, F.; DESPRÉ, D.; VOILLEY, A. Edible arabinoxylan-based films. 1. Effects of lipid type on water vapor permeability, film structure, and other physical characteristics. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 50, p. 3977-3983, 2002.

PHAN THE, D.; DEBEAUFORT, F.; PÉROVAL, C.; DESPRÉ, D.; COURTHAUDON, J.L.; VOILLEY, A. Arabinoxylan-lipid-based edible films and coatings. 3. Influence of drying temperature on film structure and functional properties. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 50, p. 2423-2428, 2002.

POMMET, M.; REDL, A.; MOREL, M.; GUILBERT, S. Study of wheat gluten plasticization with fatty acids. **Polymer**, v. 44, p. 115-122, 2003.

RADOSAVLJEVIC, M.; JANE, J.; JOHNSON, L.A. Isolation of amaranth starch by diluted alkaline-protease treatment. **Cereal Chemistry**, v. 75, p. 212-216, 1998.

RAYAS, L.M.; HERNANDEZ, R.J. Development and characterization of biodegradable/edible wheat protein films. **Journal of Food Science**, v. 62, n. 1, p. 160-164, 1997.

RESIO, A.N.C.; TOLABA, M. P.; SUAREZ, C. Some physical and thermal characteristics of amaranth starch. **Food Sci Tech Int,** v. 6, p. 371-378, 2000.

RINDLAV-WESTLING, A.; STADING, M.; HERMANSSON, A.; GATENHOLM, P. Structure, mechanical and barrier properties of amylose and amylopectin films. **Carbohydrate Polymers**, v. 36, p. 217-224, 1998.

ROSA, D.S.; FRANCO, B.L.M.; CALIL, M.R. Biodegradabilidade e propriedades mecânicas de novas misturas poliméricas. **Polímeros: Ciência e Tecnologia**, v. 61, n. 2, p. 82-88, 2001.

SALCEDO-CHÁVEZ, B.; OSUNA-CASTRO, J.A.; GUEVARA-LARA, F.; DOMÍNGUEZ-DOMÍNGUEZ, J.; PAREDEZ-LÓPEZ, O. Optimization of the isoelectric precipitation method to obtain protein isolates from Amaranth (*Amaranthus cruentus*) seeds. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 50, p. 6515-6520, 2002.

SAPRU, V.; LABUZA, T.P. Dispersed phase concentration effects on water vapor permeability in composite methyl cellulose-stearic acid edible films. **Journal of Food Process and Preservation**, v. 18, p. 359-368, 1994.

SARMENTO, A.L.S.C. **Elaboração e caracterização de biofilmes a partir de gelatina reticulada**. 1999. 145 p. Dissertação (Mestre em Engenharia de Alimentos) - Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 1999.

SAUNDERS, R.M.; BECKER, R. *Amaranthus*: a potential food and feed resource. **Advances Cereal Science**, v. 6, p. 357-396, 1984.

SHELLHAMMER, T.H.; KROCHTA, J.M. Whey protein emulsion film performance as affected by lipid type and amount. **Journal of Food Science**, v. 62, n. 2, p. 390-394, 1997.

SLADE, L.; LEVINE, H. The effect of sugars on the gelatinisation of starch. **Carbohydrate Polymers**, v. 49, p. 155-165, 2002.

SOBRAL, P.J.A.; MENEGALLI, F.C.; HUBINGER, M.D.; ROQUES, M.A. Mechanical, water vapor barrier and thermal properties of gelatin based edible films. **Food Hydrocolloids**, v. 15, p. 423-432, 2001.

SOUZA, S.M.A. **Elaboração e caracterização de filmes comestíveis biodegradáveis a base de proteínas miofibrilares de origem bovina**. 2001. 207 p. Tese (Doutor em Engenharia de Alimentos) - Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2001.

SPEHAR, C.R., SANTOS, R.L.B., TEIXEIRA, D.L. Adaptação de pseudocereais ao cultivo no Brasil. Disponível em: http://www.cpac.embrapa.br/produtos.htm. Acesso em: 25 set. 2002.

STADING, M.; RINDLAV-WESTLING, A.; GATENHOLM, P. Humidity-induced structural transitions in amylose and amylopectin films. **Carbohydrate Polymers**, v. 45, p. 209-217, 2001.

SUGIMOTO, Y.; YAMADA, K.; SAKAMOTO, S. Some properties of normal and waxy-type starches of *Amaranthus Hypochondriacus*. **Starch/Stärke**, v. 33, p. 112-116, 1981.

TANADA-PALMU, P.S. **Preparação, propriedades e aplicação de biofilmes comestíveis a base de glúten de trigo**. 2003. 190 p. Tese (Doutor em Alimentos e Nutrição) - Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2003.

TAPIA BLÁCIDO, D.R.T. **Elaboração e caracterização de biofilmes a base de farinha de amaranto**. 2003. 142 p. Dissertação (Mestre em Engenharia de Alimentos) - Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2003.

TOSI, E.A.; RÉ, E.; LUCERO, H.; MASCIARELLI, R. Dietary fiber obtained from amaranth (*Amaranthus cruentus*) grain by differential milling. **Food Chemistry**, v. 73, p. 441-443, 2001.

URIYAPONGSON, J.; RAYAS-DUARTE, P. Comparison of yield and properties of amaranth starches using wet and dry-milling process. **Cereal Chemistry**, v. 71, p. 571-577, 1994.

WELLER, C.L.; GENNADIOS, A.; SARAIVA, R.A. Edible bilayer films from zein and grain sorghum wax or carnauba wax. **Lebensm.-Wiss. u.-Technol**, v. 31, p. 279-285, 1998.

WU, H.; CORKE, H. Genetic Diversity in physical properties of starch from a world collection of *Amaranthus*. **Cereal Chemists**, v. 76, n. 6, p. 877-883, 1999.

YANEZ, G.A.; MESSINGER, J.K.; WALKER, C.E.; RUPNOW, J.H. *Amaranthus hypochondriacus*: starch isolation and partial characterization. **Cereal Chemistry**, v. 63, p. 273-276, 1986.

YANG, L.; PAULSON, A.T. Effects of lipids on mechanical and moisture barrier properties of edible gellan film. **Food Research International**, v. 33, p. 571-578, 2000.

ZHAO, J.; WHISTLER, R.L. Isolation and characterization of starch from amaranth flour. **Cereal Chemistry**, v. 71, p. 392-393, 1994.

ANEXOS

Exemplos de curvas obtidas no teste de tração (tensão (MPa) em função da deformação (%)) para os filmes elaborados na etapa de planejamento experimental

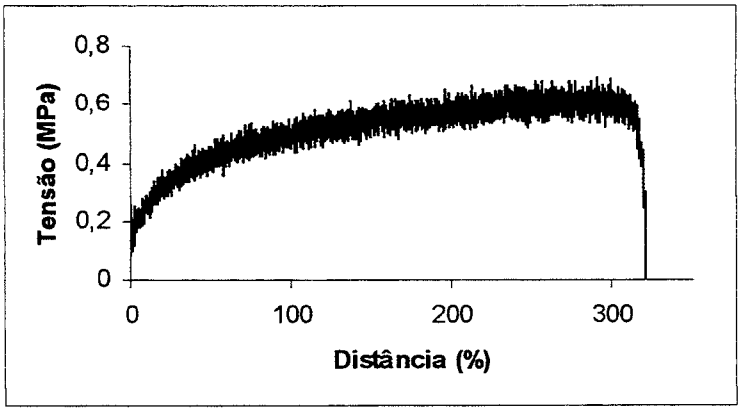


Figura A1 - Variação da tensão (MPa) com a deformação do biofilme (%) correspondente ao ensaio 4 do planejamento fatorial completo 2^3.

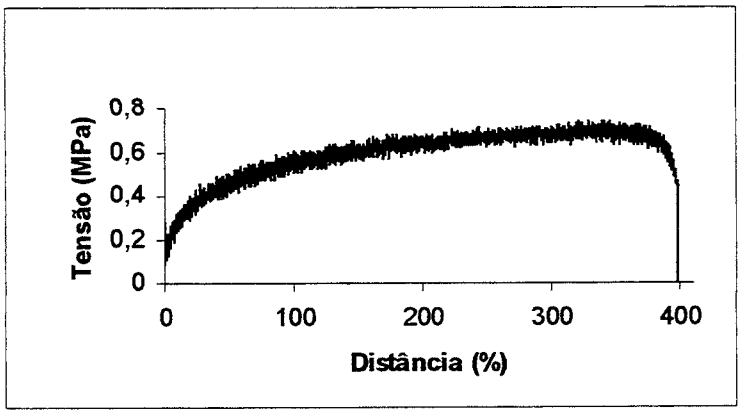


Figura A2 - Variação da tensão (MPa) com a deformação do biofilme (%) correspondente ao ensaio 12 do planejamento fatorial completo 2^3.

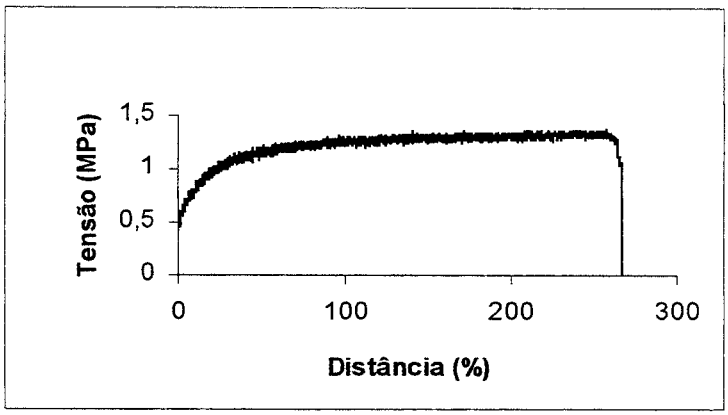


Figura A3 - Variação da tensão (MPa) com a deformação do biofilme (%) correspondente ao ensaio 1 do planejamento fatorial completo 2^3.

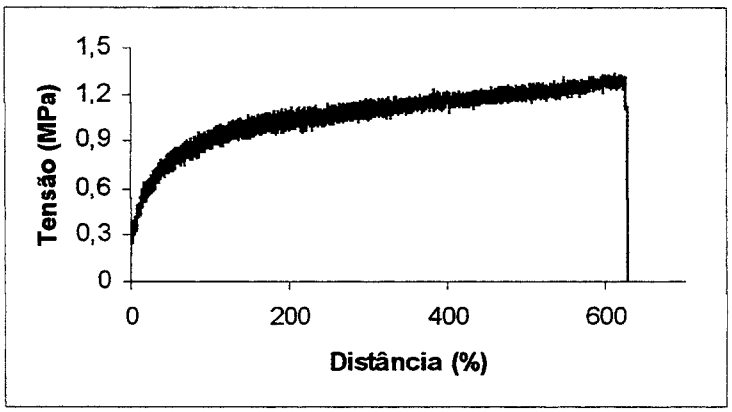


Figura A4 - Variação da tensão (MPa) com a deformação do biofilme (%) correspondente ao ensaio 9 do planejamento fatorial completo 2^3.

Exemplos de curvas obtidas no teste de perfuração (força (N) em função da deformação (mm)) para os filmes elaborados na etapa de planejamento experimental

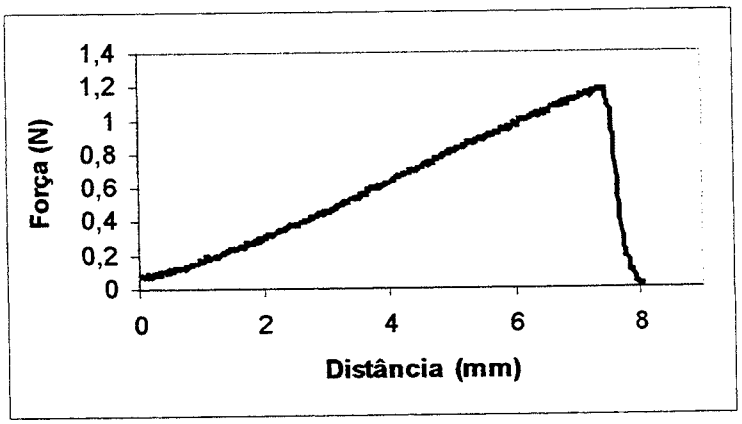


Figura A5 - Variação da força (N) com a deformação do biofilme (mm) correspondente ao ensaio 4 do planejamento fatorial completo 2^3.

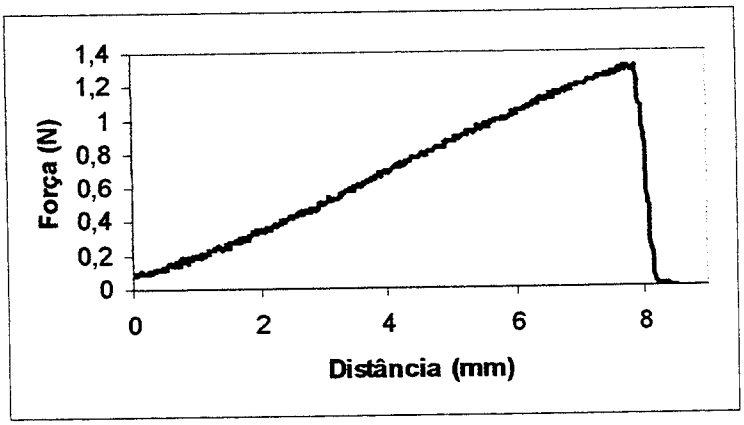


Figura A6 - Variação da força (N) com a deformação do biofilme (mm) correspondente ao ensaio 12 do planejamento fatorial completo 2^3.

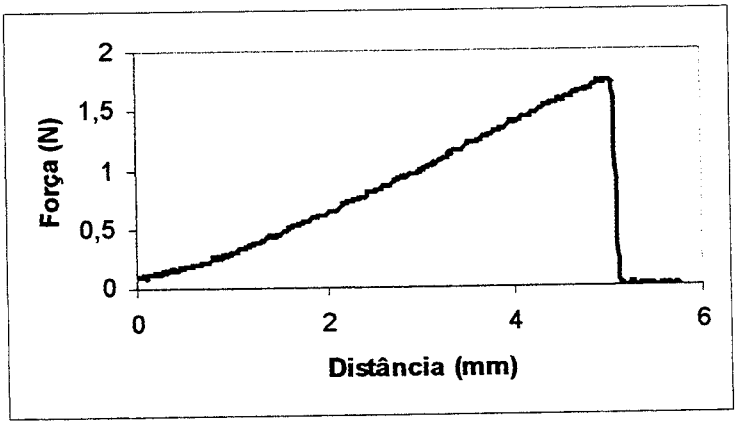


Figura A7 - Variação da força (N) com a deformação do biofilme (mm) correspondente ao ensaio 1 do planejamento fatorial completo 2^3.

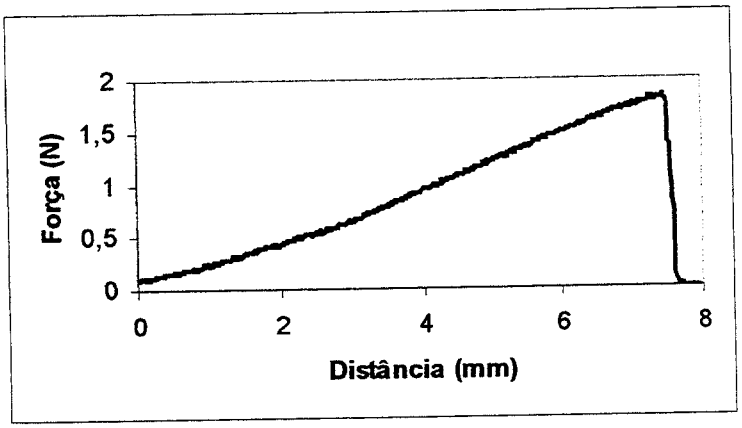


Figura A8 - Variação da força (N) com a deformação do biofilme (mm) correspondente ao ensaio 9 do planejamento fatorial completo 2^3.