



UNICAMP

VIVIAN BOESSO ORIANI

**“DESENVOLVIMENTO E CARACTERIZAÇÃO DE
COBERTURAS COMESTÍVEIS À BASE DE FÉCULA
DE MANDIOCA ADICIONADAS DE ÓLEOS
ESSENCIAIS”**

**CAMPINAS
2013**



UNICAMP

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS

FACULDADE DE ENGENHARIA DE ALIMENTOS

VIVIAN BOESSO ORIANI

**“DESENVOLVIMENTO E CARACTERIZAÇÃO DE COBERTURAS
COMESTÍVEIS À BASE DE FÉCULA DE MANDIOCA ADICIONADAS DE
ÓLEOS ESSENCIAIS”**

Orientadora: Profa. Dra. Miriam Dupas Hubinger

Dissertação de Mestrado Apresentada ao Programa de Pós Graduação
em Engenharia de Alimentos da Faculdade de Engenharia de Alimentos da Universidade
Estadual de Campinas para obtenção do título de Mestre em Engenharia de Alimentos.

ESTE EXEMPLAR CORRESPONDE À VERSÃO FINAL DA
DISSERTAÇÃO DEFENDIDA PELA ALUNA VIVIAN BOESSO ORIANI,
E ORIENTADA PELA PROF^a DR^a MIRIAM DUPAS HUBINGER.

Assinatura do Orientador

**CAMPINAS
2013**

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA POR
CLAUDIA AP. ROMANO DE SOUZA – CRB8/5816 - BIBLIOTECA DA
FACULDADE DE ENGENHARIA DE ALIMENTOS – UNICAMP

Or4d Oriani, Vivian Boesso, 1986-
Desenvolvimento e caracterização de coberturas
comestíveis à base de fécula de mandioca adicionadas de
óleos essenciais / Vivian Boesso Oriani. -- Campinas, SP:
[s.n.], 2013.

Orientador: Miriam Dupas Hubinger.
Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual de
Campinas, Faculdade de Engenharia de Alimentos.

1. Coberturas comestíveis. 2. Óleos essenciais.
3. Propriedade antimicrobiana. 4. Atividade antioxidante.
I. Hubinger, Miriam Dupas. II. Universidade Estadual de
Campinas. Faculdade de Engenharia de Alimentos. III.
Título.

Informações para Biblioteca Digital

Título em inglês: Development and characterization of cassava starch-based
edible coating added essential oils

Palavras-chave em Inglês:

Edible coatings

Essential oils

Antimicrobial properties

Antioxidant activity

Área de concentração: Engenharia de Alimentos

Titulação: Mestra em Engenharia de Alimentos

Banca examinadora:

Miriam Dupas Hubinger [Orientador]

Benedito Carlos Benedetti

Caroline Joy Steel

Data da defesa: 12-04-2013

Programa de Pós Graduação: Engenharia de Alimentos

BANCA EXAMINADORA

Profª Drª Miriam Dupas Hubinger
Orientadora

Prof. Dr. Benedito Carlos Benedetti
Membro Titular
UNICAMP – FEAGRI

Profª. Drª Caroline Joy Steel
Membro Titular
UNICAMP – FEA/ DTA

Drª Cristhiane Caroline Ferrari
Membro Suplente
ITAL – Pós-Doutorado/Fruthotec

Profª Drª Florência Cecília Menegalli
Membro Suplente
UNICAMP – FEA/ DEA

**“A tarefa não é tanto ver aquilo
que ninguém viu, mas pensar o
que ninguém ainda pensou
sobre aquilo que todo mundo vê”**

Arthur Schopenhauer

DEDICATÓRIA

*Aos meus pais, Mario e Neide,
Obrigada por tudo,
Amo vocês!!!!*

AGRADECIMENTOS

À Deus, que sempre me ilumina e está presente em todos os momentos de minha vida.

Aos meus pais, Mario e Neide, que me apoiam, incentivam, dão forças para seguir em frente e principalmente pelo carinho e ternura que têm por mim.

Aos meus irmãos, Leandro e Andressa, pela verdadeira amizade e sempre dispostos a me alegrar e ajudar.

Ao meu namorado, Eduardo, pela paciência, conselhos, ajudas, companheirismo e carinho.

À professora Dr^a Miriam Dupas Hubinger, pela oportunidade de aprendizado, orientação, paciência e dedicação a mim.

Ao Laboratório de Bioaromas, principalmente ao doutorando Gustavo Molina.

Ao laboratório LAMULT do Instituto de Física “Gleb Wataghin”, pela análise de microscopia de força atômica, principalmente à técnica Rosane Palissari.

À Marcela Chiumarelli, pela paciência, sugestões e principalmente pela atenção em responder aos meus e-mails com dúvidas.

À banca examinadora, prof. Dr. Carlos Benedito Benedetti, prof^a Dr^a Caroline Joy Steel, Dr^a Cristhiane Caroline Ferrari e a prof^a Dr^a Florência Cecília Menegalli, pelas correções e sugestões deste trabalho.

Ao meu tio, Luis Roberto de Lucena Moreira, que fez parte da minha formação.

As minhas amigas, Julia, Ana Gabriela e Ana Carolina, por fazerem parte do início dessa caminhada.

Aos amigos de laboratório, Glaucia, Mariana e Vanessa, por me ajudarem nos experimentos, com ideias e auxílio nas análises. A Kaliana e Emílio, pelos momentos de descontração.

À Patricia e Zildene pelos auxílios.

À Capes e à FAPESP pelo auxílio financeiro.

Ao Cosme e ao Marcos, por sempre auxiliar nas dúvidas referentes à pós-graduação. E ao Reinaldo, Mauro e Frederico, por estarem disponíveis em nos ajudar sempre que preciso.

À UNICAMP e a FEA pela contribuição na minha formação.

E a todos aqueles que de certa forma contribuíram para este trabalho,

Muito Obrigada !!!!

SUMÁRIO

LISTA DE FIGURAS.....	xvii
LISTA DE TABELAS	xxi
RESUMO.....	xxiii
ABSTRACT	xxv
 I. INTRODUÇÃO.....	 1
 II. OBJETIVOS	 3
2.1. Objetivo Geral	3
2.2. Objetivos Específicos	3
 III. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	 5
3.1. Coberturas e Filmes Comestíveis	5
3.1.1. Coberturas e Filmes à Base de Fécula de Mandioca.....	6
3.1.2. Coberturas e Filmes Comestíveis Emulsionadas	8
3.2. Adição de Aditivos em Filmes e Coberturas Comestíveis	9
3.2.1. Coberturas e Filmes Adicionados de Plasticizantes	10
3.2.2. Coberturas e Filmes Adicionados de Óleo Essencial	11
3.3. Propriedades de Coberturas Comestíveis Aplicadas em Frutas e Hortaliças Minimamente Processadas	14
3.3.1. Tendência de Mercado para Frutas e Hortaliças Minimamente Processadas..	17
 IV. MATERIAL E MÉTODOS.....	 19
4.1. Material.....	19
4.2. Experimento	21
4.3. Métodos	23
4.3.1. Elaboração de Coberturas	23
4.3.2. Elaboração de Filmes.....	23

ETAPA I: Definição da Concentração de Glicerol	24
4.3.3. <i>Definição da Concentração de Glicerol</i>	24
4.3.3.1. Propriedades Mecânicas dos Filmes Comestíveis	25
4.3.3.2. Resistência ao vapor de água das Coberturas Comestíveis	26
ETAPA II: Caracterização e Avaliação das Propriedades de Barreira das Coberturas Comestíveis e Caracterização dos Filmes Comestíveis	28
4.3.4. <i>Caracterização das Coberturas Comestíveis</i>	30
4.3.4.1. Avaliação da Estabilidade Física das Coberturas Comestíveis	30
4.3.4.2. Tamanho de Gota das Coberturas Comestíveis.....	30
4.3.5. <i>Avaliação das Propriedades de Barreira das Coberturas Comestíveis</i>	31
4.3.5.1. Taxa respiratória.....	31
4.3.6. <i>Caracterização dos Filmes Comestíveis</i>	32
4.3.6.1. Espessura	33
4.3.6.2. Cor dos Filmes Comestíveis	33
4.3.6.3. Solubilidade em Água e Umidade dos Filmes	33
ETAPA III - Estudo das Formulações Otimizadas.....	34
4.3.7. <i>Seleção das Formulações Otimizadas</i>	34
4.3.7.1. Comportamento Reológico.....	35
4.3.7.2. Microscopia de Força Atômica.....	36
4.3.7.3. Propriedades Antioxidantes das Coberturas Adicionadas de Óleos Essenciais.	36
Polifenóis Totais das Coberturas com Óleos Essenciais	36
Capacidade Antioxidante das Coberturas adicionadas de Óleo Essencial - DPPH e FRAP	37
Verificação do Escurecimento Enzimático através da Cor de Fatias de Maçãs com Coberturas adicionadas de Óleo Essencial	38
4.3.7.4. Atividade Antimicrobiana	39
4.4. Caracterização: Fécula de Mandioca e Maçã	39
4.5. Análise Estatística	40
V. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	41
ETAPA I – Definição da Concentração de Glicerol.....	41
5.1. Propriedades Mecânicas dos Filmes Comestíveis para Definição da Concentração de Glicerol	41
5.2. Resistência ao Vapor de Água das Coberturas para Definição da Concentração de Glicerol	46
5.3. Escolha da Concentração do Glicerol.....	48

ETAPA II – Caracterização e Avaliação das Propriedades de Barreira das Coberturas e Caracterização dos Filmes Comestíveis	49
5.4. Caracterização das Coberturas Comestíveis.....	49
5.4.1. Avaliação da Estabilidade Física das Coberturas Comestíveis.....	49
5.4.2. Tamanho de Gota das Coberturas Comestíveis	55
5.5. Avaliação das Propriedades de Barreira das Coberturas Comestíveis	62
5.5.1. Resistência ao Vapor de Água das Coberturas.....	62
5.5.2. Taxa respiratória.....	67
5.6. Caracterização dos Filmes Comestíveis	70
5.6.1. Propriedades Mecânicas.....	70
5.6.2. Cor dos Filmes	76
5.6.3. Solubilidade e Umidade dos Filmes	81
5.7. Conclusões da Etapa II	84
ETAPA III – Seleção e Estudos das Formulações Otimizadas	85
5.8. Seleção das Formulações Otimizadas.....	85
5.9. Estudo das Formulações Otimizadas	86
5.9.1. Comportamento Reológico.....	86
5.9.2. Microscopia de Força Atômica	91
5.9.3. Propriedades Antioxidantes das Coberturas Adicionadas de Óleos Essenciais 94	
5.9.3.1 Polifenóis Totais das Coberturas com Óleo Essencial	94
5.9.3.2. Capacidade Antioxidante das Coberturas Adicionadas de Óleo Essencial - DPPH e FRAP	95
5.9.3.3. Verificação do Escurecimento Enzimático através da Cor de Fatias de Maças com Coberturas Adicionadas de Óleo Essencial.....	97
5.9.4. Atividade Antimicrobiana.....	100
VI. CONCLUSÕES	105
VII. SUGESTÕES DE TRABALHOS FUTUROS.....	107
VIII. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	109
ANEXO A.....	123
ANEXO B.....	125

LISTA DE FIGURAS

Figura 3.1 (a) Filmes e Coberturas Emulsionadas: Gotas lipídicas dispersas sobre a fase hidrofílica. (b) Coberturas e Filmes em Bicamada: Lipídeos sobre filme/cobertura hidrofílico.	9
Figura 3.2. Estrutura química do glicerol.....	11
Figura 3.3. Composto ativo predominante dos óleos essenciais de erva doce.....	12
Figura 3.4. Composto ativo predominante em óleo essencial de casca de canela.	13
Figura 3.5. Potenciais propriedades de coberturas comestíveis em frutas e hortaliças minimamente processadas. (Fonte: Rojas-Graü, Garner e Martín-Belloso, 2010).	16
Figura 4.1. Diagrama de fluxo das etapas seguidas no experimento.	22
Figura 4.2. Dimensões dos corpos de prova utilizados nos testes de tração.....	26
Figura 4.3. Ensaio de resistência ao vapor de água: (a) cilindros de maçã utilizados para aplicação das coberturas; (b) acondicionamento das amostras em dessecadores contendo solução 0,6 M NaCl; e (c) acondicionamento das amostras sobre suportes em dessecadores contendo solução saturada de $MgCl_2 \cdot 6H_2O$ (Fonte: Chiumarelli, 2011).	27
Figura 4.4. Recipiente hermético utilizado para o acondicionamento das amostras para determinação da taxa respiratória (Fonte: Chiumarelli, 2011).	32
Figura 4.5. Escala CIEL*a*b* utilizada para análise dos parâmetros L^* , a^* e b^*	33
Figura 4.6. Fatias de maçãs utilizadas para a análise de cor. (Fonte: Chiumarelli, 2011).....	38
Figura 5.1. Filmes pegajosos.....	43
Figura 5.2. Filmes homogêneos	43
Figura 5.3. Filmes quebradiços	43
Figura 5.4. Resposta de resistência ao vapor de água (RVA) obtida para os ensaios com 0,3% de óleo essencial de casca de canela e erva doce com 2% e 3% de fécula de mandioca (FM), cuja variável foi porcentagem de glicerol (GLI). Médias seguidas de mesma letra não diferem significativamente pelo teste Tukey a 5%.	46
Figura 5.5. Estabilidade física das emulsões com óleo essencial de casca de canela e 2% de fécula de mandioca. A seta indica a estabilidade do sistema emulsionado. 1C: 2%	

Fécula de mandioca e 0,05% óleo essencial. 2C: 2% Fécula de mandioca e 0,10% óleo essencial. 3C: 2% Fécula de mandioca e 0,20% óleo essencial. 4C: 2% Fécula de mandioca e 0,30% óleo essencial..... 53

Figura 5.6. Estabilidade física das emulsões com óleo essencial de casca de canela e 3% de fécula de mandioca. A seta indica a separação da água sem a presença do óleo essencial. 5C: 3% Fécula de mandioca e 0,05% óleo essencial. 6C: 3% Fécula de mandioca e 0,10% óleo essencial. 7C: 3% Fécula de mandioca e 0,20% óleo essencial. 8C: 3% Fécula de mandioca e 0,30% óleo essencial. 53

Figura 5.7. Estabilidade física das emulsões com óleo essencial de erva doce e 2% de fécula de mandioca. 4ED: Instabilidade do óleo essencial no sistema emulsionado no 3º dia de avaliação. A seta indica a estabilidade do sistema emulsionado. 1ED: 2% Fécula de mandioca e 0,05% óleo essencial. 2ED: 2% Fécula de mandioca e 0,10% óleo essencial. 3ED: 2% Fécula de mandioca e 0,20% óleo essencial. 4ED: 2% Fécula de mandioca e 0,30% óleo essencial..... 54

Figura 5.8. Estabilidade física das emulsões com óleo essencial de erva doce e 3% de fécula de mandioca. A seta indica a separação da água sem a presença do óleo essencial. 5ED: 3% Fécula de mandioca e 0,05% óleo essencial. 6ED: 3% Fécula de mandioca e 0,10% óleo essencial. 7ED: 3% Fécula de mandioca e 0,20% óleo essencial. 8ED: 3% Fécula de mandioca e 0,30% óleo essencial..... 54

Figura 5. 9. Distribuição do tamanho de partícula da suspensão de fécula de mandioca após a agitação..... 58

Figura 5.10. Distribuição do tamanho de gota das formulações com óleo essencial de casca de canela. Cada gráfico representa uma concentração de óleo essencial para as concentrações de 2% e 3% (p/v) de fécula de mandioca. (a) 0,05% (v/v) óleo essencial de casca de canela; (b) 0,10% (v/v) óleo essencial de casca de canela; (c) 0,20% (v/v) óleo essencial de casca de canela; (d) 0,30% (v/v) óleo essencial de casca de canela. FM: Fécula de Mandioca. 59

Figura 5.11. Distribuição do tamanho de gota das formulações com óleo essencial de erva doce. Cada gráfico representa uma concentração de óleo essencial para as concentrações de 2% e 3% (p/v) de fécula de mandioca. (a) 0,05% (v/v) óleo essencial de

erva doce; (b) 0,10% (v/v) óleo essencial de erva doce; (c) 0,20% (v/v) óleo essencial de erva doce; (d) 0,30% (v/v) óleo essencial de erva doce. FM: Fécula de Mandioca. 60

Figura 5.12. Microscopia eletrônica óptica (100x) mostrando a distribuição das gotas sobre o sistema. (a) 0,05% (v/v) óleo essencial; (b) 0,10% (v/v) óleo essencial; (c) 0,20% (v/v) óleo essencial; (d) 0,30% (v/v) óleo essencial. As setas indicam as gotas formadas, observando nas figuras com diferentes tamanhos de gotas (c) e (d). 61

Figura 5.13. Respostas da RVA das coberturas com óleo essencial de casca de canela. Controle: Amostra sem cobertura. Sem OE: Cobertura sem a presença de óleo essencial. 0,05%: Coberturas com 0,05% (v/v) de óleo essencial de casca de canela. 0,10%: Coberturas com 0,10% (v/v) de óleo essencial de casca de canela. 0,20%: Coberturas com 0,20% (v/v) de óleo essencial de casca de canela. 0,30%: Coberturas com 0,30% (v/v) de óleo essencial de casca de canela. Médias seguidas de mesma letra não diferem significativamente pelo teste Tukey a 5%. Letras maiúsculas: Efeito entre as concentrações de óleo essencial para uma concentração fixa de fécula de mandioca. Letras minúsculas: Efeito entre as concentrações de fécula de mandioca..... 63

Figura 5.14. Respostas da RVA das coberturas com óleo essencial de erva doce. Controle: Amostra sem cobertura. Sem OE: Cobertura sem a presença de óleo essencial. 0,05%: Coberturas com 0,05% (v/v) de óleo essencial de erva doce. 0,10%: Coberturas com 0,10% (v/v) de óleo essencial de erva doce. 0,20%: Coberturas com 0,20% (v/v) de óleo essencial de erva doce. 0,30%: Coberturas com 0,30% (v/v) de óleo essencial de erva doce. Médias seguidas de mesma letra não diferem significativamente pelo teste Tukey a 5%. Letras maiúsculas: Efeito entre as concentrações de óleo essencial para uma concentração fixa de fécula de mandioca. Letras minúsculas: Efeito entre as concentrações de fécula de mandioca..... 64

Figura 5.15. Aparência dos filmes somente a base de fécula de mandioca, elaborados conforme Tabela 4.5. 77

Figura 5.16. Aparência dos filmes com óleo essencial de casca de canela, elaborados conforme Tabela 4.6. 77

Figura 5.17. Aparência dos filmes com óleo essencial de casca de erva doce, elaborados conforme Tabela 4.7..... 77

Figura 5.18. Comportamento reológico das coberturas emulsionadas e da cobertura somente com fécula de mandioca sem agitação (2% p/v).	86
Figura 5.19. Viscosidade das coberturas comestíveis através das medidas reológicas.	88
Figura 5.20. Microscopia de força atômica dos filmes comestíveis.	93
Figura 5.21. Teste de sensibilidade antimicrobiana. (a) Filmes comestíveis sem inibição antimicrobiana. (b) Filmes comestíveis com inibição antimicrobiana. (c) Óleo essencial de erva doce com inibição antimicrobiana.	103

LISTA DE TABELAS

Tabela 4.1. Composição química centesimal da fécula de mandioca.	19
Tabela 4.2. Composição química centesimal de maçã <i>in natura</i> , variedade ‘Fuji’. ...	20
Tabela 4.3. Caracterização físico-química das maçã <i>in natura</i> , variedade ‘Fuji’	20
Tabela 4.4. Ensaio realizado para definição da concentração de glicerol.....	25
Tabela 4.5. Ensaio realizado para elaboração de coberturas e filmes comestíveis sem adição de óleos essenciais	28
Tabela 4.6. Ensaio realizado para elaboração de coberturas e filmes comestíveis com adição de óleo essencial de casca de canela	29
Tabela 4.7. Ensaio realizado para elaboração de coberturas e filmes comestíveis com adição de óleo essencial de erva doce.....	29
Tabela 5.1. Composição dos filmes e sua classificação em relação à aparência.	42
Tabela 5.2. Respostas tensão (T), alongação na ruptura (Elo) e módulo de elasticidade (ME), obtidas para os ensaios com 0,3% de óleo essencial (OE) de casca de canela e 2% e 3% de fécula de mandioca (FM), cuja variável foi porcentagem de glicerol (GLI).....	44
Tabela 5.3. Respostas tensão (T), alongação na ruptura (Elo) e módulo de elasticidade (ME) obtidas para os ensaios com 0,3% de óleo essencial (OE) de erva doce e 2% e 3% de fécula de mandioca (FM), cuja variável foi porcentagem de glicerol (GLI).....	44
Tabela 5.4. Classificação da estabilidade das emulsões com óleo essencial de casca de canela.	50
Tabela 5.5. Classificação da estabilidade das emulsões com óleo essencial de erva doce.....	51
Tabela 5.6. Tamanho médio das gotas ($D_{3,2}$) das emulsões com óleo essencial de casca de canela.....	56
Tabela 5.7. Tamanho médio das gotas ($D_{3,2}$) das emulsões com óleo essencial de erva doce.....	56
Tabela 5. 8. Tamanho de partícula da suspensão de fécula de mandioca	58
Tabela 5.9. Taxa respiratória para os ensaios com óleo essencial de casca de canela.	68
Tabela 5.10. Taxa respiratória para os ensaios com óleo essencial de erva doce.	69

Tabela 5.11. Respostas para tensão na ruptura (T), alongação na ruptura (Elo) e módulo de elasticidade (ME) obtidas para os filmes com óleo essencial de casca de canela.	71
Tabela 5.12. Respostas para tensão na ruptura (T), alongação na ruptura (Elo) e módulo de elasticidade (ME) obtidas para os filmes com óleo essencial de erva doce.	72
Tabela 5.13. Resposta da opacidade (<i>haze</i>), luminosidade (L^*), coordenadas cromáticas a^* e b^* obtidas através dos filmes com óleo essencial de casca de canela.	79
Tabela 5.14. Resposta da opacidade (<i>haze</i>), luminosidade (L^*), coordenadas cromáticas a^* e b^* obtidas através dos filmes com óleo essencial de erva doce.	80
Tabela 5. 15. Solubilidade e umidade dos filmes com óleo essencial de casca de canela.	82
Tabela 5.16. Solubilidade e umidade dos filmes com óleo essencial de erva doce. ...	83
Tabela 5. 17. Ensaio otimizados.....	85
Tabela 5. 18. Parâmetros de ajuste do Modelo da Lei da Potência e do Modelo Newtoniano aos dados experimentais das formulações de coberturas a base de fécula de mandioca.....	87
Tabela 5.19. Viscosidade aparente das coberturas comestíveis.....	89
Tabela 5.20. Parâmetros de rugosidade obtidos da imagem microscopia de força atômica.	92
Tabela 5.21. Polifenóis totais quantificados nas coberturas comestíveis composta de óleo essencial de casca de canela ou erva doce.	95
Tabela 5.22. Atividade antioxidante de coberturas comestíveis com óleo essencial de casca de canela e erva doce medidas sobre dois diferentes métodos.	97
Tabela 5.23. Mudanças nos parâmetros de cor de fatias de maçã submetidas a diferentes tratamentos durante 4 dias de estocagem a 5 °C.....	98
Tabela 5.24. Atividade antimicrobiana dos óleos essenciais e dos filmes de fécula de mandioca adicionados de óleo essencial de casca de canela ou erva doce.....	102

RESUMO

Coberturas comestíveis foram desenvolvidas e caracterizadas pela combinação de fécula de mandioca (2 e 3% p/v) com óleos essenciais de casca de canela (*Cinnamomum zeylanicum*) (0,05 a 0,30% v / v) ou de erva doce (*Foeniculum vulgare L.*) (0,05-0,30 % v / v). A adição do óleo teve como propósito desenvolver uma cobertura com propriedades antimicrobianas, antioxidantes e com capacidade de barreira ao vapor de água, já que os óleos essenciais têm característica hidrofóbica. Foram avaliados estabilidade física, tamanho de gota e viscosidade das coberturas comestíveis emulsionadas e os filmes foram caracterizados através das propriedades mecânicas, solubilidade e microscopia de força atômica. As coberturas emulsionadas com 2% de fécula de mandioca mostraram-se estáveis e as de 3% de fécula apresentaram separação da água do sistema emulsionado. A cobertura foi feita em fatias de maçãs para o teste de resistência ao vapor de água e medida da taxa de respiração. A formulação com a concentração máxima dos dois óleos essenciais, em ambas as concentrações de fécula de mandioca, resultou em aumento da resistência ao vapor de água. A taxa respiratória das fatias de maçãs com cobertura mostrou efeito de barreira ao CO₂ em relação aos frutos sem cobertura. As análises de propriedades mecânicas e microscopia de força atômica dos filmes mostraram que as películas com óleo essencial de casca de canela podem ter apresentado descontinuidade da matriz formadora de filmes. As coberturas com óleo essencial de casca de canela apresentaram efeito significativo para a atividade antioxidante. O teste de halo de inibição dos microrganismos mostrou que a formulação com 0,3% de óleo essencial de casca de canela apresenta uma pequena inibição para *Staphylococcus aureus* e *Salmonella choleraesius*.

Palavras-chave: Cobertura comestível, óleos essenciais, barreira ao vapor de água, propriedade antimicrobiana, atividade antioxidante.

ABSTRACT

Edible coatings formed by a combination of cassava starch (2 and 3% w / v) with essential oil of cinnamon bark (*Cinnamomum zeylanicum*) (0.05 to 0.30% v / v) or fennel (*Foeniculum vulgare* L.) (0.05 to 0.30% v / v) were developed and characterized. The addition of oil had the objective of developing a coating with antimicrobial and antioxidant properties and capacity to form a better water vapor barrier, due to the aggregation of the hydrophobic characteristics of essential oil. Physical stability, particle size and viscosity of the edible coatings were analyzed and films were characterized by mechanical properties, solubility and atomic force microscopy measures. Coatings emulsified with 2% cassava starch were stable and the 3% starch concentration with added essential oil showed water separation from the emulsified system. The coatings were applied to apple slices for water vapor resistance and respiration rate tests. The formulation with maximum concentration of both essential oils, at both concentrations of cassava starch, resulted in increased water vapor resistance, and respiration rates of coated apple slices showed a CO₂ barrier effect in relation to fruit without coating. Mechanical properties analysis and atomic force microscopy showed that films added with cinnamon bark essential oil presented discontinuity on its matrix-forming capacity. Coating with cinnamon bark essential oil had significant antioxidant capacity. Inhibition of microorganisms tests proved that the formulation with 0.3% essential oil of cinnamon bark had a small inhibiting activity against *Staphylococcus aureus* and *Salmonella choleraesius*.

Keywords: Edible coating, essential oils, water vapor resistance, antimicrobial properties, antioxidant activity.

I. INTRODUÇÃO

A conservação dos alimentos é fundamental para manter a oferta global de alimentos seguros e disponíveis para os consumidores. Estudos científicos na área de alimentos buscam desenvolver novas tecnologias de produção e processamento que melhorem a qualidade e quantidade de produtos alimentícios saudáveis, com o objetivo principal de aumentar a produção de alimentos sem afetar a qualidade e o meio ambiente, assim satisfazendo as expectativas dos consumidores. Hoje em dia os consumidores querem que os alimentos sejam frescos, nutritivos, seguros e atraentes, de baixo preço e prontos para comer (GONZÁLEZ-AGUILAR et al., 2010).

Filmes e coberturas comestíveis são finas camadas de materiais comestíveis aplicadas em produtos alimentícios e desempenham um papel importante na sua conservação, distribuição e marketing. Algumas de suas funções são para proteger o produto contra danos físicos, químicos e atividades microbiológicas. A aplicação em produtos alimentícios altamente perecíveis, especialmente as hortaliças e frutas, é baseada em algumas propriedades particulares que a película pode agregar ao produto, tais como maior disponibilidade, atributos funcionais, propriedades mecânicas, propriedades óticas (brilho e opacidade), efeito barreira contra fluxos de gases, resistência estrutural à água e microrganismos e aceitação sensorial (FALGUERA et al., 2011).

A fécula de mandioca apresenta baixo custo de produção, é um polissacarídeo natural reconhecido como substância segura (GRAS¹), abundante no Brasil, biodegradável, incolor, atóxico, comestível e possui boa barreira para os gases sendo uma opção para coberturas e filmes comestíveis.

Estabilidade, qualidade, segurança e funcionalidade dos produtos com filmes ou coberturas comestíveis podem ser preservadas mediante a incorporação de antioxidantes, antimicrobianos e ingredientes ativos (ROJAS-GRAÜ et al., 2010).

A principal razão para promover a aplicação de aditivos naturais em produtos alimentícios é a demanda do consumidor por métodos naturais para preservar os alimentos.

¹ GRAS: Generally recognized as safe (produto geralmente reconhecido como sem perigo)

Óleos essenciais apresentam-se como bons agentes antimicrobianos, sendo que alguns possuem propriedades antioxidantes (GONZÁLEZ-AGUILAR et al., 2010).

Óleos essenciais não só representam uma alternativa para proteção contra crescimento microbiano e atuação como antioxidante, mas também a presença dos óleos essenciais em cobertura comestíveis podem agir como barreira ao vapor de água, devido a característica hidrofóbica (SÁNCHEZ-GONZÁLEZ et al., 2011).

Coberturas com adição de óleos essenciais podem melhorar a barreira para gases, porém pouca informação foi encontrada na literatura. Rojas-Graü et al. (2007a) relataram uma ligeira diminuição na permeabilidade ao oxigênio nos filmes com alginato e purê de maçã adicionado de óleo essencial de capim cidreira.

Em geral, as propriedades das coberturas comestíveis dependem da natureza do material formador da película. Polissacarídeos são materiais hidrofílicos, bons formadores de cobertura e com excelente barreira a gases e aromas, porém apresentam baixa barreira a umidade. Os lipídeos possuem característica hidrofóbica e oferecem melhores propriedades de barreira para vapor de água do que os polissacarídeos. Para melhorar a funcionalidade das coberturas, as combinações de materiais lipídicos com polissacarídeos apresentam-se como uma opção interessante. O polissacarídeo promove a integridade da cobertura enquanto atua como uma matriz suporte para os lipídeos (PÉREZ-GAGO; KROCHTA, 2005).

O estudo da aplicação de fécula de mandioca incrementado com óleo essencial é interessante, pois, além de analisar as propriedades da combinação polissacarídeo+óleo essencial para promover melhor barreira à umidade e gases, os compostos ativos dos óleos essenciais podem atuar como antioxidante e antimicrobiano quando inseridos nas coberturas e aplicados nos alimentos. Este estudo apresenta atributos diferenciados, pois permite o desenvolvimento e avaliação das propriedades das coberturas e algumas propriedades dos filmes que não são possíveis de ser realizados na cobertura no estado líquido, já que na literatura encontra-se pouca informação referente à caracterização de filmes e coberturas à base de fécula de mandioca com óleo essencial para aplicação em produtos minimamente processados.

II. OBJETIVOS

2.1. Objetivo Geral

Produzir e caracterizar coberturas e filmes à base de fécula de mandioca adicionados com óleo essencial de casca de canela (*Cinnamomum zeylanicum*) ou erva doce (*Foeniculum vulgare L.*) para aplicação em produtos minimamente processados.

2.2. Objetivos Específicos

- Avaliar a estabilidade física das coberturas à base de fécula de mandioca e óleo essencial, através da determinação do tamanho médio de gota e classificação da estabilidade dos sistemas emulsionados;
- Analisar as propriedades de barreira das coberturas emulsionadas através da avaliação da taxa respiratória e resistência ao vapor de água de fatias de maçãs com coberturas;
- Caracterizar os filmes quanto às propriedades mecânicas, solubilidade, umidade e cor;
- Selecionar formulações e analisar o efeito antimicrobiano (halo de inibição) dos filmes, capacidade antioxidante e comportamento reológico das coberturas selecionadas e a rugosidade dos filmes através da análise de microscopia de força atômica.

III. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1. Coberturas e Filmes Comestíveis

Coberturas e filmes comestíveis são caracterizados como matrizes contínuas preparadas a partir de materiais comestíveis à base de proteínas, polissacarídeos e/ou lipídeos. A diferença entre coberturas e filmes comestíveis está na forma de aplicação. As coberturas são dispostas sobre os alimentos na forma líquida, geralmente por imersão do produto em uma solução com compostos de polissacarídeos, proteínas e/ou lipídeos. Já os filmes comestíveis são primeiramente moldados, como folhas sólidas, e depois são aplicados como uma embalagem no produto alimentar (FALGUERA et al., 2011).

As formulações das coberturas e filmes comestíveis devem conter alguns requisitos, tais como: terem permeabilidade e seletividade aos gases, vapor de água, compostos voláteis e solutos. Além disso, as substâncias utilizadas para elaboração de coberturas comestíveis devem ser de grau alimentício (VARGAS et al., 2008).

A aplicação conjunta de materiais à base de proteínas, polissacarídeos e lipídeos pode melhorar a funcionalidade e a eficiência da cobertura (LIN; ZHAO, 2007).

Os polissacarídeos e proteínas usados na elaboração de coberturas geralmente são boas barreiras para gases, compostos voláteis e aderem bem nas superfícies dos produtos. Mas devido à natureza hidrofílica desses compostos, a cobertura tem característica de formar barreira pobre ao vapor de água; a adição de lipídeos, compostos com característica hidrofóbica, contribui para a melhoria da barreira ao vapor de água desta cobertura (OLIVAS; BARBOSA-CÁNOVAS, 2005; PERERA, 2007).

Dentre os polissacarídeos mais estudados para formulações de coberturas estão o alginato, a pectina, a carragena, a quitosana, o amido e seus derivados e a celulose e seus derivados (VARGAS et al., 2008).

As fontes de coberturas e filmes à base de proteínas são de origem animal ou vegetal; as principais proteínas estudadas são as proteínas de soja, zeínas (proteína do milho) e proteínas do leite (LIN; ZHAO, 2007).

Devido às propriedades de barreira das coberturas comestíveis, o produto pode apresentar maior vida útil e melhor aparência. Estabilidade, qualidade, segurança e

funcionalidade do produto que está recebendo a película podem ser melhoradas mediante a incorporação de antioxidantes, antimicrobianos e melhoradores de textura (ROJAS-GRAÜ; GARNER; MARTÍN-BELLOSO, 2010).

A adição de cobertura à base de gelana (0,5%), pectina (2%) ou alginato (2%) em fatias de pêra minimamente processadas aumentou a resistência ao vapor de água e reduziu a produção de etileno. As coberturas com alginato ou pectina mantiveram os atributos sensoriais (odor, cor, firmeza e sabor) por 14 dias (OMS-OLIU; SOLIVA-FORTUNY; MARTÍN-BELLOSO, 2008).

Segundo Sothornvit e Rodsamran (2008) a utilização de purê de manga para formação de filmes comestíveis e aplicação dos mesmos em fatias de mangas mostraram boa barreira ao oxigênio e redução significativa da perda de peso. As mangas minimamente processadas tiveram vida de prateleira de 5 e 6 dias, quando armazenadas a 30°C e 5 °C, respectivamente.

Olivas; Mattinson; Barbosa-Cánovas (2007) utilizaram solução de cloreto de cálcio (10%) e cobertura com 1% de alginato de sódio em fatias de maçã e observaram que este tratamento proporcionou brilho e aparência de fresco ao produto. As coberturas de alginato de sódio atuaram como barreiras ao vapor de água, diminuindo a perda de água nas fatias de maçã, além da preservação da textura e redução do escurecimento das mesmas.

3.1.1. Coberturas e Filmes à Base de Fécula de Mandioca

O amido é um dos polissacarídeos naturais mais abundantes e utilizado largamente pelas indústrias alimentícias por ser barato, biodegradável e fácil de usar. O amido é disponível a partir de diferentes fontes, incluindo trigo, milho, arroz, batata, mandioca, inhame e cevada. Coberturas feitas a partir de amido são transparentes ou translúcidas, inodoras, sem sabor, atóxicas, podem ser ingeridas juntamente com o produto e possuem baixa permeabilidade ao oxigênio (BERTOLINI, 2009; ROJAS-GRAÜ; GARNER; MARTÍN-BELLOSO, 2010).

O Brasil é o segundo maior produtor mundial de mandioca (*Manihot esculenta crantz*), com uma produção superior a 24 milhões de toneladas em 2010 (FAOSTAT,

2012). Devido ao baixo custo da matéria-prima, a fécula de mandioca apresenta menor preço quando comparado ao amido de milho e batata.

Os grânulos da fécula de mandioca apresentam diâmetros semelhantes aos do amido de milho e trigo, mas são morfológicamente diferentes destes. A fécula apresenta menor teor de amilose e temperatura de gelatinização mais baixa quando comparada aos amidos de milho, trigo e batata. Assim, o amido de mandioca apresenta géis mais fracos, pouco consistentes, porém muito viscosos e transparentes (FRANCO et al., 2002).

As películas de amido são utilizados em diversas aplicações da área alimentícia e farmacêutica (PARETA; EDIRISINGHE, 2006).

A obtenção da película de fécula de mandioca baseia-se no princípio de gelatinização do amido, que envolve a fusão dos grânulos em meio aquoso sob aquecimento. Quando a suspensão aquosa de amido atinge a temperatura de 60-70°C há aumento da viscosidade devido à transferência de massa de água da suspensão para os grânulos de amido, resultando na solubilização. Nessa temperatura, a amilose difunde para fora do grânulo de amido e ligam-se umas às outras, produzindo uma rede, dentro da qual é mantida uma grande quantidade de água e o produto torna-se mais viscoso (gelatinização). Após aquecimento seguido de gelatinização, durante a fase de resfriamento, a solução sofre retrogradação, que consiste no processo de associação das cadeias de amido em estrutura ordenada, ocorrendo novamente o aumento da viscosidade (ROSA; GUEDES; PEDROSO, 2004).

Filmes e coberturas de polissacarídeos são barreiras deficientes à umidade, pois constituem um material hidrofílico.

Bierhals, Chiumarelli e Hubinger (2011) verificaram que a aplicação de coberturas elaboradas com 2% de fécula de mandioca em rodela de abacaxis ‘Pérola’ tratadas com ácido cítrico e ascórbico, contendo ou não lactato de cálcio, foram eficientes na redução da perda de peso e de suco, além de manter as propriedades mecânicas durante 7 dias de estocagem a 5°C.

Coberturas e filmes comestíveis com 3,0 % (p/p) fécula de mandioca, 1,5% (p/p) de glicerol, 0,2 % (p/p) cera de carnaúba e 0,8 % (p/p) ácido esteárico apresentaram melhores propriedades de barreira ao vapor de água e gases para as coberturas aplicadas em fatias de

maças e melhores propriedades mecânicas e solubilidade nos filmes (CHIUMARELLI; HUBINGER, 2012).

3.1.2. Coberturas e Filmes Comestíveis Emulsionadas

As propriedades das coberturas comestíveis dependem da natureza do material formador da película. Polissacarídeos são materiais hidrofílicos, bons formadores de cobertura e com excelente barreira a gases e aromas, porém apresentam baixa barreira a umidade. Os lipídeos possuem característica hidrofóbica e oferecem melhores propriedades de barreira para vapor de água do que os polissacarídeos. Para melhorar a funcionalidade das coberturas, as combinações de materiais lipídicos com polissacarídeos apresentam ser uma opção interessante. O polissacarídeo promove a integridade da cobertura enquanto atua como uma matriz suporte para os lipídeos (PÉREZ-GAGO; KROCHTA, 2005).

Uma emulsão é constituída por dois líquidos imiscíveis com um dos líquidos a ser dispersos como pequenas gotículas esféricas no outro líquido. Na indústria alimentícia, os dois líquidos imiscíveis são geralmente óleo e água (MCCLEMENTS, 2007).

Os lipídeos nas coberturas ou filmes emulsionados encontram-se dispersos e aprisionados na matriz de proteína ou polissacarídeo (LIN; ZHAO, 2007). As coberturas e filmes emulsionados têm a vantagem de serem aplicadas apenas uma vez sobre o alimento, enquanto para coberturas em bicamadas, primeiramente se aplica a cobertura de polissacarídeo ou proteína e, em seguida, os lipídeos (Figura 3.1) . A melhora nas propriedades de barreira à umidade de coberturas emulsionadas tornaram-nas uma opção interessante para aplicação em frutas e hortaliças minimamente processadas (ROJAS-GRAÜ; SOLIVA-FORTUNY; MARTÍN-BELLOSO, 2010).



Figura 3. 1 (a) Filmes e Coberturas Emulsionadas: Gotas lipídicas dispersas sobre a fase hidrofílica. (b) Coberturas e Filmes em Bicamada: Lipídeos sobre filme/cobertura hidrofílico.

3.2. Adição de Aditivos em Filmes e Coberturas Comestíveis

Aditivos químicos sintéticos, quando adicionados em produtos alimentícios, podem reduzir a taxa de decomposição, mas os consumidores estão preocupados com os resíduos químicos que estes aditivos podem deixar no produto, podendo acarretar danos futuros à saúde. Assim, hoje no mercado de aditivos alimentícios observa-se a necessidade de desenvolver métodos alternativos para controlar a senescência dos produtos (WHITE; MCFADDEN, 2008).

Uma das principais tecnologias emergentes para preservar alimentos é a aplicação de aditivos naturais, como antioxidantes, antimicrobianos, nutracêuticos, etc. Neste sentido, os óleos essenciais, em combinação com os polímeros dos filmes e coberturas comestíveis, podem ser uma fonte promissora para aplicação em produtos minimamente processados, pois óleos essenciais possuem propriedades antioxidantes e antimicrobianas que podem proporcionar melhor conservação para o alimento (FALGUERA et al., 2011).

Coberturas comestíveis podem conter compostos ativos ou nutrientes que apresentem um efeito positivo sobre a saúde, como por exemplo a aplicação de técnicas de microencapsulação ou nanoencapsulação; assim, os materiais da cobertura atuarão como portadores desses compostos bioativos para serem transportados para locais alvo, tais como o intestino, sem perder a sua atividade, estando dentro de uma matriz durante a sua passagem através do trato gastrointestinal (KORHONEN, 2005).

3.2.1. Coberturas e Filmes Adicionados de Plasticizantes

Uma das funções de filmes e coberturas comestíveis é a capacidade de incorporar ingredientes na matriz para melhorar a funcionalidade do filme ou da cobertura. Isso pode incluir a adição de plastificantes para melhorar as propriedades mecânicas ou emulsificantes para maior estabilidade e melhor aderência no produto (AVENA-BUSTILLOS; MCHUGH, 2011).

Os plastificantes são componentes importantes na formulação de filmes e coberturas comestíveis. Estes compostos de baixo peso molecular podem ser adicionados a uma solução de um polissacarídeo/proteína para melhorar a flexibilidade, elasticidade, propriedades de barreira e mecânicas atuando na matriz da película. O plasticizante deve ser compatível com os polímeros formadores dos filmes, reduzindo as forças intermoleculares e aumentando a mobilidade das cadeias de polímero. Embora os plasticizantes possam melhorar a flexibilidade e alongamento dos filmes hidrofílicos, podem também afetar a permeabilidade de filmes e coberturas comestíveis (ROJAS-GRAÜ; SOLIVA-FORTUNY; MARTÍN-BELLOSO, 2009).

Os plasticizantes mais utilizados em filmes e coberturas comestíveis são o glicerol, o sorbitol e a sacarose (HAN; GENNADIOS, 2005; COLLA, 2004; KROCHTA, 2002). Segundo Müller, Yamashida e Laurindo (2008), o tipo e a concentração de plasticizante afetam as propriedades de barreira ao vapor de água de filmes à base de amido.

O glicerol ou propano-1,2,3-triol, é um composto orgânico pertencente ao grupo álcool. É líquido à temperatura ambiente (25 °C), higroscópico, inodoro, viscoso, de sabor adocicado e completamente solúvel em água e álcool. A Figura 3.2 representa a estrutura química do glicerol. É reconhecido como seguro para consumo humano (GRAS) desde 1959 e pela legislação brasileira (ANVISA) é considerado um aditivo alimentício autorizado para uso, segundo as Boas Práticas de Fabricação, e pertencente à classe dos espessantes, estabilizadores, gelificantes, umectante e emulsificantes (APPLEBY, 2005; MORRISON, 2007; ANVISA, 2013). É um dos compostos mais usados como plasticizante em filmes e cobertura.

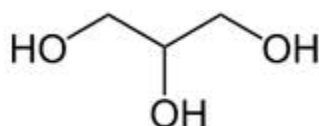


Figura 3.2. Estrutura química do glicerol

Coberturas à base de alginato (2% [p/vol]) e gelana (0,5% [p/vol]) foram estudadas para verificar a concentração ótima de glicerol em relação à resistência ao vapor de água quando aplicadas em fatias de maçãs. As melhores concentrações foram de 1,5% e 0,63% para coberturas à base de alginato e gelana, respectivamente (ROJAS-GRAÜ et al., 2007b).

3.2.2. Coberturas e Filmes Adicionados de Óleo Essencial

Óleos essenciais são líquidos aromáticos oleosos obtidos a partir de material vegetal (flores, brotos, sementes, folhas, galhos, cascas, ervas, madeira, frutos e raízes). Eles podem ser obtidos por destilação a vapor ou extração supercrítica, prensagem ou extração com solvente (BURT, 2004).

A constituição dos óleos essenciais apresenta-se como uma mistura de ésteres, aldeídos, cetonas, terpenos e compostos fenólicos que conferem odor, sabor e aroma de especiarias ou ervas.

A principal razão para promover a aplicação de produtos naturais em produtos alimentícios é a demanda do consumidor por métodos naturais para preservação. Óleos essenciais representam a fração mais importante de plantas aromáticas e são produtos considerados naturais. Óleos essenciais vegetais têm mostrado atividade antimicrobiana variada, agindo contra diferentes bactérias, leveduras e bolores, devido à presença de compostos ativos com estrutura fenólica (eugenol, carvacrol, 1,8 cineol) que podem desintegrar a membrana celular de bactérias. Porém, nem todos os compostos ativos são capazes de romper a membrana, como o cinamaldeído que inibe a atividade de enzimas envolvidas nas vias metabólicas celulares das bactérias, além de ser o principal composto

encontrado nos óleos essenciais de casca de canela, Figura 3.4 (MAYER, 2002; USTUNOL, 2009; SÁNCHEZ-GONZÁLEZ et. al, 2011).

Compostos fenólicos apresentam propriedades antioxidantes devido à capacidade em doar um hidrogênio para radicais livres mais reativos, formando um radical estabilizado por ressonância, menos reativo (MUCHUWETI et al., 2007). Óleos essenciais podem conter compostos de estruturas fenólicas que apresentam atividade antioxidante.

O anetol, principal componente dos óleos essenciais extraídos da erva doce, é um composto classificado como éster fenólico (Figura 3.3). O anetol pode atuar como antioxidante e antimicrobiano.

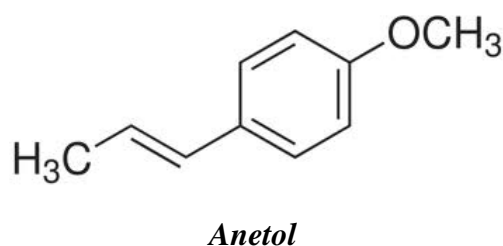
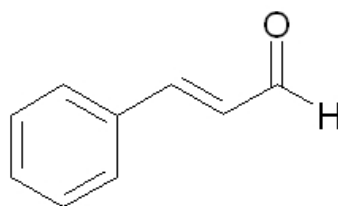


Figura 3.3. Composto ativo predominante dos óleos essenciais de erva doce.

Compostos fenólicos, como carvacrol, timol e eugenol, apresentam melhores propriedades antibacterianas contra patógenos de origem alimentar. A classificação aproximada (em ordem decrescente) dos componentes dos óleos essenciais que possuem atividade antibacteriana é a seguinte: eugenol (orégano / cravo / coentro / canela) > carvacrol/ácido cinâmico (orégano/tomilho) > metil chavicol (hortelã) > cinamaldeído (folha de canela/casca de canela) (BURT, 2004). Com base na capacidade antioxidante, alguns óleos essenciais também podem ser classificados em ordem decrescente: cravo (*Syzygium aromaticum* L.) > manjerição (*Ocimum basilicum* L.) > pimenta preta (*Piper nigrum* L.) > hortelã (*Mentha piperita* L.) > canela (*Cinnamomum zeylanicum*) > erva doce (*Foeniculum vulgare* Muller) (POLITEO; JUKIĆ; MILOŠ, 2006).



Cinamaldeído

Figura 3.4. Composto ativo predominante em óleo essencial de casca de canela.

De acordo com a Food and Drug Administration (FDA), alguns óleos essenciais são reconhecidos como GRAS e entre eles estão os óleos essenciais da casca de canela e erva doce (FDA, 2012).

A incorporação de óleo essencial nas matrizes poliméricas de coberturas ou filmes comestíveis pode diminuir a permeabilidade ao vapor de água de produtos minimamente processados, pois óleos essenciais possuem compostos com características hidrofóbicas, que quando aplicados às coberturas proporcionam melhor barreira aos vapores de água (SANCHÉZ-GONZÁLEZ et al., 2011).

Segundo Rojas-Graü et al. (2007a), a adição de óleo essencial de orégano (0,1 e 0,5%), capim cidreira (1 e 1,5%) e o composto ativo vanilina (0,3 e 0,6%) em coberturas comestíveis à base de purê de maçã com alginato, aplicadas em fatias de maçãs, inibiu o crescimento de bolores e leveduras. Significativa redução na taxa de respiração foi observada nas amostras contendo alta concentração de óleo essencial e a produção de etileno permaneceu abaixo de 50 $\mu\text{L/L}$, enquanto que maçãs sem coberturas apresentaram aumento contínuo durante o armazenamento. Os tratamentos com o composto ativo vanilina apresentaram melhor aceitação sensorial que os demais.

Fatias de maçãs ‘Fuji’ com cobertura de alginato adicionada de óleos essenciais de casca de canela, cravo e capim cidreira, na concentração de 0,7%, apresentaram menor crescimento de microrganismos e a aplicação de 0,3% dos óleos essenciais nas coberturas preservou as características físico-químicas do produto. Baixa taxa respiratória foi observada em fatias com coberturas adicionadas de óleos essenciais, efeito esse atribuído à

atmosfera modificada criada pela cobertura comestível, que reduziu as trocas gasosas entre as fatias de maçãs e o ambiente (RAYBAUDI-MASSILIA et al., 2008).

Cobertura de quitosana (1% [p/v]) acrescida de óleo essencial de bergamota (2% [p/v]) foi aplicada em uvas de mesa e analisadas durante 22 dias. A cobertura resultou em menor perda de peso e menores taxas respiratórias comparadas aos tratamentos com quitosana e hidroxipropilmetilcelulose (HPMC) com e sem óleo essencial de bergamota (SANCHÉZ-GONZÁLEZ et al., 2010).

Adição de óleo essencial de canela ou gengibre (0,2 – 0,8 % [p/p]) em filmes à base de proteína isolada de soja (8 % [p/p]) para aplicação em nozes mostrou que o tipo de óleo afeta as propriedades mecânicas dos filmes, sendo que filmes com óleo essencial de gengibre pode ter apresentado uma matriz descontínua, pois verificou-se menor resistência mecânica e menor elasticidade que filmes com óleo essencial de canela (ATARÉS et al., 2010).

3.3. Propriedades de Coberturas Comestíveis Aplicadas em Frutas e Hortaliças Minimamente Processadas

Atualmente, as frutas e hortaliças minimamente processadas estão ganhando importância no mercado devido à sua conveniência e frescor, conforme as exigências dos consumidores. Durante as etapas do processamento mínimo, como descascar, cortar, ralar e picar causam danos aos tecidos de frutas e hortaliças que afetam a viabilidade e qualidade do produto e podem fornecer oportunidades para a contaminação microbiana. Consequentemente, em comparação com vegetais *in natura*, frutas e hortaliças minimamente processadas geralmente têm uma vida útil mais curta (OLIVAS et al., 2007; BRECHT et al., 2007).

A tecnologia do processamento mínimo das frutas está em constante pesquisa, com o objetivo de aumentar o período de conservação, visto que em poucos segundos após a remoção da casca e corte do vegetal, sinais de diferentes naturezas (elétrica, química e hormonal) são enviados para os tecidos e inicia-se a resposta do vegetal através de defesas que promovem a cicatrização do corte, protegem contra o ataque de bactérias e resguardam

as células do estresse. Além disso, a mistura de substratos e enzimas devido ao corte faz com que se iniciem reações que normalmente não ocorrem na fruta ou hortaliça intactas. Estas alterações fisiológicas causam aumento da taxa de respiração induzida pelo etileno, bem como perda de componentes celulares. Essas mudanças são acompanhadas de perda de firmeza e sabor, descoloração da superfície de corte, possível diminuição de vitaminas e perda de água. Além disso, as superfícies de frutas cortadas proporcionam um ambiente favorável para o crescimento microbiano, devido ao aumento da umidade e vazamento de açúcares das células rompidas (DEA et al., 2011).

Observando as consequências negativas provocadas pelo processamento mínimo, é importante buscar meios para aumentar a vida útil desses produtos. Entre as estratégias mais comuns utilizadas para prolongar a vida útil de frutas minimamente processadas estão o controle da temperatura, embalagem com atmosfera modificada e adição de agentes conservantes. Outros benefícios podem ser encontrados com a aplicação de coberturas comestíveis.

As coberturas comestíveis usadas para preservar a qualidade dos produtos minimamente processados servem como uma barreira semipermeável que ajuda a reduzir as taxas de respiração, melhora a textura e ajuda reter a compostos voláteis. Aditivos, tais como antimicrobianos, antioxidantes e nutrientes são adicionados à formulação das coberturas para ajudar a preservar a qualidade dos produtos minimamente processados (Figura 3.5) (GARCIA; BARRETT, 2005; OLIVAS; BARBOSA-CANOVAS, 2005; AYALA-ZAVALA et al., 2008).

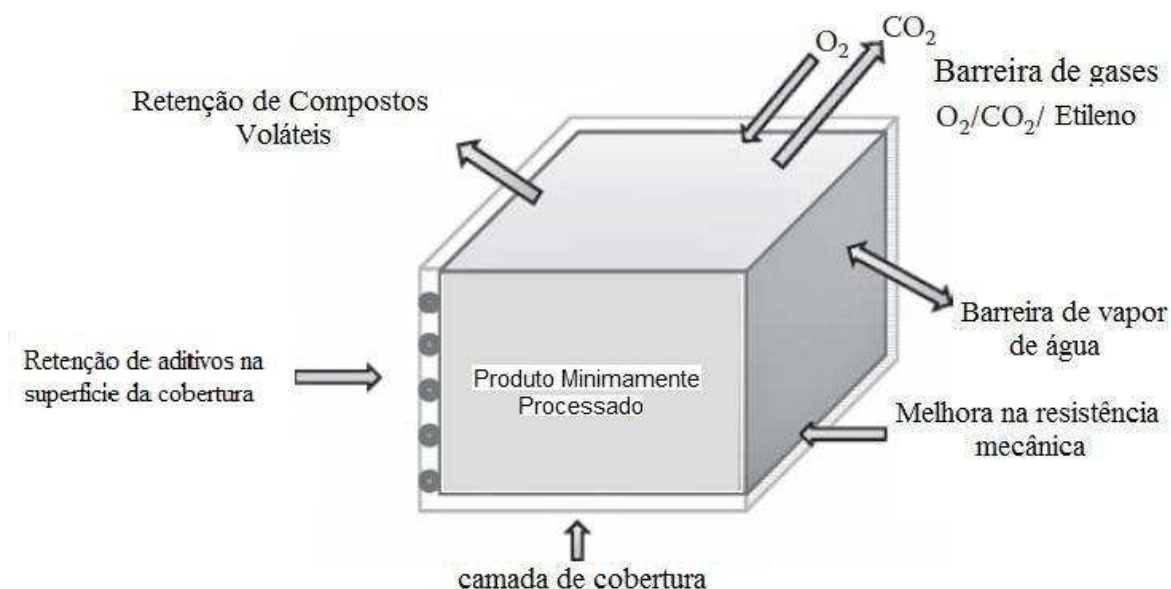


Figura 3.5. Potenciais propriedades de coberturas comestíveis em frutas e hortaliças minimamente processadas. (Fonte: Rojas-Graü, Garner e Martín-Belloso, 2010).

A capacidade das coberturas para atuarem como barreira ao vapor de água depende de condições externas, incluindo temperatura e umidade relativa, características do produto, tais como variedade, maturidade e as características da cobertura, como composição, estrutura, viscosidade, concentração de sólidos, morfologia do polímero e o tipo de plasticizante utilizado (OLIVAS; BARBOSA-CÁNOVAS, 2005).

Por exemplo, coberturas à base de proteína com adição de cera de abelha mostraram ser mais eficazes no retardamento do escurecimento enzimático de fatias de maçãs "Golden Delicious" (PEREZ-GAGO et al., 2005).

Coberturas comestíveis à base de alginato e goma gelana com adição de agentes antioxidantes promoveram manutenção das características de qualidade desejáveis de fatias de maçãs 'Fuji' (ROJAS-GRAÜ et al., 2007b).

3.3.1. Tendência de Mercado para Frutas e Hortaliças Minimamente Processadas

Nos últimos anos, tem sido observada grande procura por produtos minimamente processados em todo o mundo, especialmente em muitos países da América. No entanto, a principal produção e consumo está concentrada na América do Norte, com os Estados Unidos como o líder (ROJAS-GRAÜ; GARNER; MARTÍN-BELLOSO, 2010).

O mercado de frutas e hortaliças minimamente processadas tem aumentado devido à procura dos consumidores por uma alimentação mais saudável, mais prática, entre outros fatores.

Esta tendência tem levado a indústria de processamento mínimo a aumentar o investimento em pesquisa e desenvolvimento para tratar de questões relacionadas com a oferta de matéria-prima, tecnologia de embalagem, equipamentos de processamento e refrigeração (ROJAS-GRAÜ; GARNER; MARTÍN-BELLOSO, 2010).

A popularidade dos produtos minimamente processados no setor de *fast food* é evidente, como o exemplo da rede McDonald's, que utiliza alfaces minimamente processados para a produção de seus lanches e maçãs cortadas que acompanham o lanche infantil.

A produção e comercialização de frutas minimamente processadas têm crescido rapidamente nos últimos anos, mas as hortaliças prontas para o consumo dominam este setor. De acordo com Mayen e Marshall (2005), a emergência do setor de frutas minimamente processadas provavelmente irá ofuscar as vendas de salada no futuro, devido à sua maior atratividade para os consumidores e, em geral, são mais susceptíveis para serem consumidas como lanches (snacks). Além disso, as frutas minimamente processadas em média, têm margens de lucro maiores do que as saladas ensacadas do varejo (ROJAS-GRAÜ; GARNER; MARTÍN-BELLOSO, 2010).

IV. MATERIAL E MÉTODOS

4.1. Material

O polímero utilizado para formação das coberturas e filmes foi a fécula de mandioca, Anexo A, fornecida pela empresa DSI Ltda. (Guaíra, Brasil). A composição química da fécula de mandioca está apresentada na Tabela 4.1.

Tabela 4.1. Composição química centesimal da fécula de mandioca.

Determinações	Valores obtidos (%)
Umidade	11,13 ± 0,10
Cinzas	0,12 ± 0,01
Proteínas	0,19 ± 0,02
Lipídeos	0,04 ± 0,03
Carboidratos*	88,52 ± 0,04

*Carboidratos obtidos por diferença

Os óleos essenciais adicionados nas coberturas e filmes comestíveis à base de fécula de mandioca foram: óleo essencial de casca de canela (*Cinnamomum zeylanicum*) e óleo essencial de erva doce (*Foeniculum vulgare L.*) fornecidos pela NATUREX (São Paulo, Brasil). A especificação do produto encontra-se no Anexo B. Esses óleos foram selecionados com base em sua compatibilidade com a maçã, em termos de sabor e odor, além de poderem contribuir como compostos ativos, atuando como antimicrobiano e antioxidante, em coberturas e filmes comestíveis.

O glicerol (ECIBRA – Reagentes Analíticos, São Paulo, Brasil) foi utilizado como agente plasticizante na produção dos filmes e coberturas.

A matéria-prima utilizada para avaliar algumas propriedades das coberturas foi a maçã (*Malus domestica* Borkh) da variedade ‘Fuji’. Essa fruta foi adotada como sistema modelo biológico devido à estrutura apresentar maior homogeneidade. As frutas foram adquiridas na Rede Oba de Hortifruti Ltda. (Campinas, Brasil). As maçãs selecionadas apresentavam selo da marca SANJO-DÁDIVA sendo provenientes da cidade de São Joaquim – Santa Catarina. A composição química e caracterização física das maçãs estão apresentadas na Tabela 4.2 e Tabela 4.3, respectivamente.

Tabela 4.2. Composição química centesimal das maçã *in natura* sem casca e caroço da variedade ‘Fuji’.

Determinações	Valores obtidos (%)
Umidade	82,91 ± 0,66
Cinzas	0,16 ± 0,01
Proteínas	0,31 ± 0,02
Lipídeos	0,12 ± 0,03
Carboidratos *	16,50 ± 0,18

*Carboidratos obtidos por diferença

Tabela 4.3. Caracterização físico-química das maçãs *in natura*, variedade ‘Fuji’.

Determinações	Valores obtidos
Massa (g)	164,44 ± 10,72
Diâmetro Médio (mm)	72,40 ± 2,89
Comprimento (mm)	60,65 ± 3,65
pH	3,91 ± 0,12
Sólidos Solúveis (°Brix)	14,18 ± 0,34
Atividade de água	0,986 ± 0,004

Os métodos utilizados para a caracterização das maçãs e fécula de mandioca encontram-se no item 4.4.

4.2. Experimento

As concentrações dos materiais utilizados para a formação das coberturas e filmes foram baseadas em dados da literatura:

O valor do intervalo da concentração de fécula de mandioca foi baseado em resultados obtidos por Garcia (2009), Bierhals (2010) e Chiumarelli (2011), nos quais as concentrações de 2% e 3% (p/v) de fécula de mandioca apresentaram melhores resultados quando as coberturas à base de fécula de mandioca foram aplicadas em frutas minimamente processadas.

Para a variável óleo essencial, optou-se pela faixa de 0,05% a 0,30% (v/v), sendo que concentrações maiores podem interferir em relação ao gosto e sabor, quando as coberturas forem aplicadas em frutas minimamente processadas, conforme trabalhos relatados por Raybaudi-Massilia, Mosqueda-Melgar e Martín-Belloso (2008) e Rojas-Graü et al. (2007a).

Além disso, foi necessário fazer um estudo da concentração de glicerol a ser adicionado em coberturas e filmes, item 4.3.3.

A elaboração deste trabalho foi feito em três Etapas, conforme exemplificado abaixo:

A ETAPA I teve como objetivo definir as concentrações de glicerol para serem adicionadas nas coberturas e filmes comestíveis. Esse composto pode interferir da seguinte forma em coberturas e filmes comestíveis:

Para as análises com coberturas, o glicerol pode influenciar nas propriedades de barreira devido à característica hidrofílica, então foi avaliada a resistência ao vapor de água das coberturas inseridas com glicerol. Em filmes, o glicerol atua na flexibilidade, caso se fixasse uma concentração de glicerol, poderia observar-se diferença nas propriedades mecânicas dos filmes com diferentes concentrações do polímero, não sendo interessante para o presente trabalho. Para verificação da atuação do glicerol nos filmes foram analisadas as propriedades mecânicas. Nessa etapa fixou-se a concentração do óleo essencial (0,30% p/v) e analisaram-se as duas concentrações de fécula de mandioca (2% e 3% p/v) diante as variações do glicerol.

Na ETAPA II, as análises realizadas tiveram como objetivo avaliar a influência de diferentes concentrações dos óleos essenciais nas coberturas com 2% e 3% de fécula de mandioca, não sendo interessante a influência do glicerol nas respostas dos testes da ETAPA II.

A ETAPA III consistiu em otimizar as concentrações de fécula e óleo essencial das formulações de coberturas e filmes e verificar algumas propriedades específicas das coberturas adicionadas de óleos essenciais, tais como propriedades antioxidantes e antimicrobianas, além de conhecer a viscosidade das coberturas e a característica da superfície dos filmes comestíveis através da microscopia de força atômica.

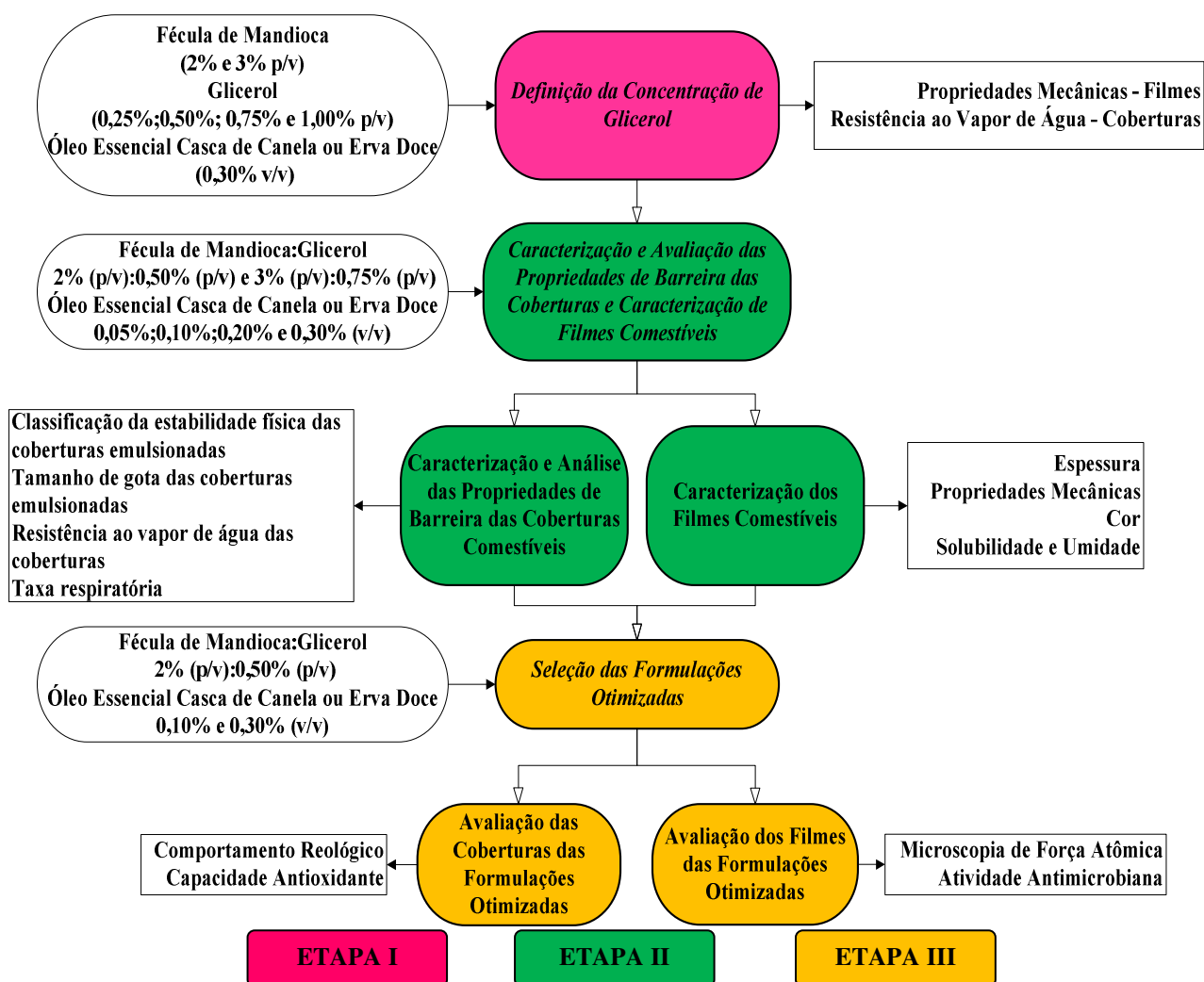


Figura 4.1. Diagrama de fluxo das etapas seguidas no experimento.

4.3. Métodos

A elaboração das coberturas e filmes é apresentada nos itens 4.3.1 e 4.3.2, respectivamente.

4.3.1. Elaboração de Coberturas

A fase rica em polissacarídeo foi preparada com fécula de mandioca (2% e 3% p/v) dispersa em água destilada. A solução foi aquecida até a temperatura de 70 °C sob agitação constante, ao atingir a temperatura deixou-se a agitação e o aquecimento - à 70°C - por 15 minutos. O glicerol foi adicionado após a gelatinização da fécula. As coberturas que foram adicionadas de óleo essencial foram homogeneizadas através de um homogeneizador modelo MA 102 (Marconi Equipamentos para Laboratórios Ltda., Piracicaba, Brasil), com velocidade de 16.000 rpm durante 5 minutos, para garantir a completa homogeneização das formulações.

4.3.2. Elaboração de Filmes

Para a elaboração dos filmes, a cobertura descrita no item 4.3.1 foi colocada em placa retangular de teflon (180 x 210 mm). Adicionou-se o equivalente a 345g de suspensão para as formulações com 2% de fécula de mandioca e 235g para 3% de fécula de mandioca, o que correspondeu a uma gramatura de peso seco de 0,02 g/cm².

As suspensões filmogênicas foram submetidas à desidratação em câmara climática (modelo MA-415UR, Marconi Equipamentos para Laboratório Ltda., Piracicaba, Brasil) com sistema de controle de temperatura e umidade relativa a 40°C e 60% de UR, por 24 horas para as formulações com 3% de fécula de mandioca e para 2% de fécula de mandioca por 36 horas, quando o equilíbrio de umidade foi atingido. Após a secagem determinou-se a espessura dos filmes através de um micrômetro, medindo 15 posições diferentes de cada filme. Em seguida, os filmes foram cortados em formatos adequados para cada tipo de análise e acondicionados a 25°C e 58% UR em dessecadores contendo solução saturada de NaBr, por 3 dias, sendo então submetidos aos testes (COLLA, 2004).

ETAPA I: Definição da Concentração de Glicerol

A ETAPA I teve como finalidade verificar as concentrações de glicerol que não interferissem nas propriedades mecânicas dos filmes, item 4.3.3.1, e nas propriedades de barreira ao vapor de água das coberturas, item 4.3.3.2, para as películas com 2% e 3% de fécula de mandioca. Além de verificar a concentração de glicerol que proporcionasse a formação de filmes homogêneos e sem ruptura após a secagem.

4.3.3. Definição da Concentração de Glicerol

O glicerol possui propriedade de atuar como plasticizante, assim foi indispensável estudar a concentração na qual a cobertura pudesse ser analisada como filme.

Fixou-se a máxima concentração de óleo essencial de casca de canela ou erva doce (0,30% v/v solução) e trabalhando com as concentrações de fécula de mandioca com 2% e 3 % (p/v solução), variou-se o glicerol nas proporções 0,25; 0,50; 0,63; 0,75 e 1,00% (p/v solução). As coberturas e filmes foram elaborados conforme descrito nos itens 4.3.1 e 4.3.2, respectivamente. A partir deste ponto, foram analisadas as propriedades mecânicas dos filmes homogêneos e sem ruptura após a secagem. Para a análise de resistência ao vapor de água das coberturas, utilizaram-se as concentrações de glicerol que puderam ser avaliadas nos filmes. A Tabela 4.4 ilustra os ensaios realizados.

Tabela 4.4. Ensaios realizados para definição da concentração de glicerol

Ensaios	Fécula de Mandioca (% p/v)	Glicerol (% p/v)	Óleo Essencial (% v/v)
1	2	0,25	0,30
2	2	0,50	0,30
3	2	0,63	0,30
4	2	0,75	0,30
5	2	1,00	0,30
6	3	0,25	0,30
7	3	0,50	0,30
8	3	0,63	0,30
9	3	0,75	0,30
10	3	1,00	0,30

4.3.3.1. Propriedades Mecânicas dos Filmes Comestíveis

A determinação de propriedades mecânicas foi realizada através da avaliação da tensão na ruptura em teste de tração, com o auxílio do texturômetro tipo Universal Testing Machine (modelo TA-TX plus, Stable Micro Systems, Surrey, Inglaterra). As análises foram realizadas em quintuplicata, obedecendo à norma da ASTM D 882-02 (2005). Os corpos de prova (Figura 4.2) foram submetidos à tração com velocidade de $1,0 \text{ mm s}^{-1}$ e uma separação inicial de 80 mm. A tensão e a elongação na ruptura foram determinadas diretamente da curva de tensão em função da elongação. O módulo de elasticidade foi obtido através da tangente da região linear da curva. Os filmes foram elaborados conforme descrito no item 4.3.2.

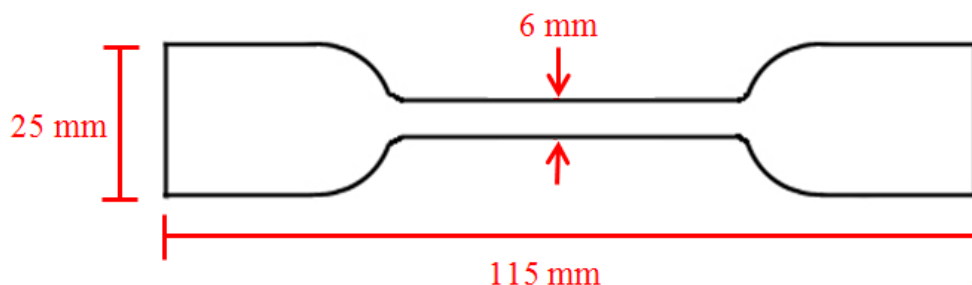


Figura 4.2. Dimensões dos corpos de prova utilizados nos testes de tração.

4.3.3.2. Resistência ao vapor de água das Coberturas Comestíveis

A determinação da resistência ao vapor de água das coberturas foi realizada segundo a metodologia utilizada por Avena-Bustillos et al. (1994), baseada em uma modificação da equação da primeira lei de Fick, proposta por Ben-Yehoshua, Burg e Young (1985). Cilindros de maçã de aproximadamente 25 mm de diâmetro e 10 mm de espessura foram utilizados para aplicação das coberturas preparadas conforme descrito no item 4.3.1. Os cilindros de maçãs foram imersos na cobertura durante 2 minutos, após, foram retirados e drenados a temperatura ambiente, em seguida acondicionados.

Este método consiste em se determinar o fluxo de vapor de água (FV) pela perda de água das amostras em função do tempo por unidade de área. Assim, as amostras foram acondicionadas por 24 horas em dessecadores contendo solução 0,6M NaCl, o que proporcionou um ambiente com umidade relativa de $98\% \pm 1$ à temperatura de 25 ± 1 °C. Após 24 horas, os cilindros com cobertura foram colocados sobre suportes, pesados e transferidos para outro dessecador com solução saturada de $MgCl_2 \cdot 6H_2O$, a uma umidade relativa de aproximadamente 33,6% e temperatura de 25 ± 1 °C. Nesta etapa as amostras foram pesadas em intervalos regulares de tempo, permitindo a determinação do fluxo de vapor de água através da Equação 4.1.

$$FV = \left(\frac{dP}{dt} \right) \cdot \left(\frac{1}{A} \right) \quad (g \, s^{-1} \, cm^{-2}) \quad [4.1]$$

Onde:

(dP/ dt): perda de água em função do tempo (g s^{-1})

A: área exposta (cm^2)

Foi calculada então a resistência ao vapor de água, de acordo com a Equação 4.2:

$$RVA = \left[\left(\frac{a_w - \frac{UR}{100}}{R \cdot T} \right) \cdot P_{va} \right] \cdot \left(\frac{1}{FV} \right) \quad [4.2]$$

Onde:

RVA: Resistência ao vapor de água (s cm^{-1})

a_w : atividade de água das maçãs

P_{va} : pressão de vapor da água a 25 °C (23,76 mmHg)

R: constante universal dos gases ($3464,63 \text{ mmHg cm}^3 \text{ K}^{-1} \text{ g}^{-1}$)

T: temperatura (298,15 K)

A atividade de água das amostras foi medida em equipamento Aqualab (modelo Series 3TE, Decagon Devices Inc, Pullman, EUA).

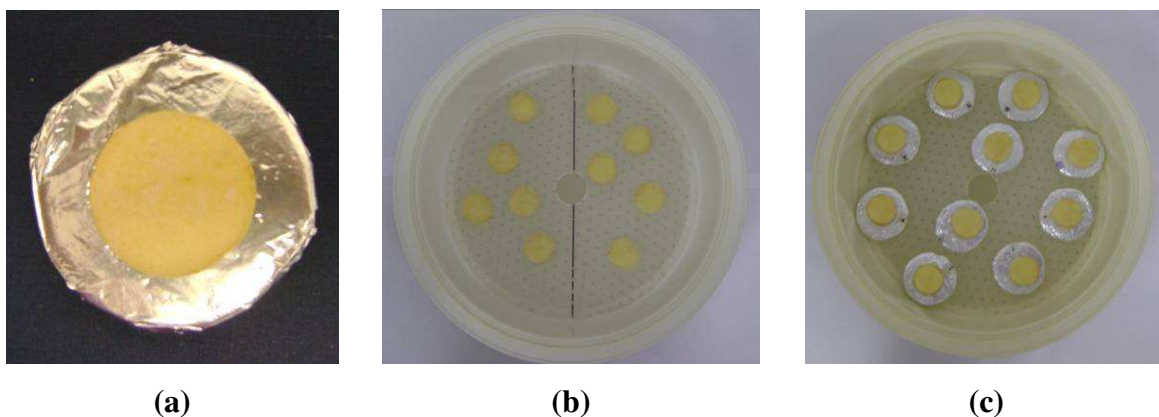


Figura 4.3. Ensaio de resistência ao vapor de água: **(a)** cilindros de maçã utilizados para aplicação das coberturas; **(b)** acondicionamento das amostras em dessecadores contendo solução 0,6 M NaCl; e **(c)** acondicionamento das amostras sobre suportes em dessecadores contendo solução saturada de $\text{MgCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ (Fonte: Chiumarelli, 2011).

ETAPA II: Caracterização e Avaliação das Propriedades de Barreira das Coberturas Comestíveis e Caracterização dos Filmes Comestíveis

Na Etapa II, as variáveis estudadas foram a concentração de fécula de mandioca e a concentração de óleo essencial de casca de canela ou erva doce. O glicerol foi fixado conforme a concentração de fécula de mandioca adicionada, de acordo com o estudo realizado no item 4.3.3. Assim foi possível estudar o efeito da concentração de fécula e de óleo essencial, uma vez que a concentração de glicerol foi fixada.

A Tabela 4.5 mostra as formulações para coberturas e filmes elaborados sem a adição de óleo essencial.

As Tabelas 4.6 e 4.7 apresentam os ensaios realizados para as coberturas e filmes com óleo essencial de casca de canela ou erva doce, respectivamente.

Tabela 4.5. Ensaios realizados para elaboração de coberturas e filmes comestíveis sem adição de óleos essenciais

Ensaios	Fécula de Mandioca	Glicerol
	(% p/v)	(% p/v)
A	2	0,50
B	3	0,75

Tabela 4.6. Ensaios realizados para elaboração de coberturas e filmes comestíveis com adição de óleo essencial de casca de canela

Ensaios	Fécula de Mandioca (% p/v)	Glicerol (% p/v)	Óleo Essencial (% v/v)
1C	2	0,50	0,05
2C	2	0,50	0,10
3C	2	0,50	0,20
4C	2	0,50	0,30
5C	3	0,75	0,05
6C	3	0,75	0,10
7C	3	0,75	0,20
8C	3	0,75	0,30

Tabela 4.7. Ensaios realizados para elaboração de coberturas e filmes comestíveis com adição de óleo essencial de erva doce

Ensaios	Fécula de Mandioca (% p/v)	Glicerol (% p/v)	Óleo Essencial (% v/v)
1ED	2	0,50	0,05
2ED	2	0,50	0,10
3ED	2	0,50	0,20
4ED	2	0,50	0,30
5ED	3	0,75	0,05
6ED	3	0,75	0,10
7ED	3	0,75	0,20
8ED	3	0,75	0,30

4.3.4. Caracterização das Coberturas Comestíveis

As coberturas foram elaboradas conforme descrito no item 4.3.1. As coberturas adicionadas de óleo essencial podem ser classificadas como emulsões. A caracterização das coberturas foi feita através da Avaliação da Estabilidade Física das Coberturas Comestíveis, item 4.3.4.1, classificando a emulsão em estável ou instável, através da observação visual. Para o teste de estabilidade física das coberturas foram utilizadas as formulações somente com óleo essencial, Tabelas 4.6 e 4.7. O teste para o tamanho de gota formada pelas emulsões foi elaborado de acordo com o item 4.3.4.2.

4.3.4.1. Avaliação da Estabilidade Física das Coberturas Comestíveis

Após o preparo das soluções das coberturas, conforme descrito no item 4.3.1, alíquotas de 25 mL de cada amostra foram transferidas para provetas de vidro graduadas e seladas a temperatura ambiente. O tempo de estocagem foi estimado em 7 dias, pois é interessante que a cobertura apresente estabilidade por um período de tempo.

Como a concentração do óleo essencial era baixa, foi feita uma classificação visual da estabilidade física do sistema em estável ou instável de acordo com Atarés et al. (2012) e Aben et al. (2012), com modificações.

Para facilitar a visualização da separação de fases das emulsões, o corante Sudan III, de coloração avermelhada, foi adicionado ao óleo essencial de erva doce e casca de canela (SANTANA, 2009).

4.3.4.2. Tamanho de Gota das Coberturas Comestíveis

O tamanho médio de gota das soluções emulsionadas, preparadas conforme descrito no item 4.3.1, foi avaliado através da utilização da técnica de espalhamento de luz de laser com o equipamento Mastersizer 2000 (Malvern Instruments Ltd, Malvern, Reino Unido). Essas medidas foram realizadas a 25°C, logo após a homogeneização da emulsão. O diâmetro médio foi determinado com base na relação área superficial-volume, diâmetro média de Sauter $D_{3,2}$, apresentado na Equação 4.3:

$$D_{3,2} = \frac{\sum n_i \cdot d_i^3}{\sum n_i \cdot d_i^2} \quad [4.3]$$

Onde:

d_i : diâmetro das partículas

n_i : número de partículas

As amostras foram analisadas em triplicata, por via úmida, com dispersão em água destilada. Também foi analisado o tamanho da partícula da fécula de mandioca $D_{3,2}$.

4.3.5. Avaliação das Propriedades de Barreira das Coberturas Comestíveis

As coberturas foram elaboradas conforme item 4.3.1 e aplicadas no mesmo dia da preparação em fatias de maçãs para estudo do efeito da cobertura como barreira ao vapor de água e aos gases. Assim foi analisada a resistência ao vapor de água - já descrita no item 4.3.3.2, e a taxa respiratória do fruto quando adicionado de cobertura, item 4.3.5.1. As diferentes formulações realizadas estão nas Tabelas 4.5, 4.6 e 4.7.

4.3.5.1. Taxa respiratória

O método para determinação da taxa respiratória foi feito através da aplicação da cobertura em fatias de maçãs. Em seguida foi acondicionado, aproximadamente, 50 g de amostra em um recipiente hermético de 180 mL, com septo de silicone na tampa. Para retirada de alíquotas de gás do espaço livre do frasco, foi utilizada a agulha acoplada ao equipamento O_2/CO_2 Dual Space Analyser, modelo PAC CHECK 325 (Mocon, Minneapolis, EUA). A coleta foi realizada após os recipientes permanecerem 1 hora a 5 °C, sendo medidos a produção de CO_2 e o consumo de O_2 , sendo que o cálculo para a taxa de respiração é fornecido pela Equação 4.4 (CHIUMARELLI, 2008; GARCIA, 2009; FERRARI, 2009).

$$TR = \frac{[CO_2] \times (v_1 - v_2)}{M \times t} \quad [4.4]$$

Onde:

TR: Taxa respiratória referente ao volume de CO₂ liberado pela amostra (mL CO₂ kg⁻¹h⁻¹)

[CO₂]: concentração de CO₂

v₁: volume do recipiente (mL)

v₂: volume da amostra (mL)

M: massa da amostra (kg)

t: tempo, permanência amostra no recipiente hermético



Figura 4.4. Recipiente hermético utilizado para o acondicionamento das amostras para determinação da taxa respiratória (Fonte: Chiumarelli, 2011).

4.3.6. Caracterização dos Filmes Comestíveis

A caracterização das coberturas como filmes comestíveis foi realizada para conhecer algumas propriedades que não são possíveis de verificar com a cobertura no estado líquido, tais como propriedades mecânicas, cuja metodologia foi descrita no item 4.3.3.1 e de solubilidade no item 4.3.6.3.

As análises de Cor, descrita no item 4.3.6.2 e de umidade no item 4.3.6.3 foram realizadas para complementação dos estudos. A espessura dos filmes, descrita no item 4.3.6.1 foi determinada pois pode interferir nas análises realizadas.

4.3.6.1. Espessura

A espessura dos filmes foi determinada pela medida de 15 pontos aleatórios, para cada filme, através de um micrômetro (modelo FOW72-229-001, Fowler, E.U.A.).

4.3.6.2. Cor dos Filmes Comestíveis

A cor das amostras acondicionadas a 25°C e 58% UR foi analisada por transmitância total, através de colorímetro Ultra Scan Vis 1043 (Hunter Lab, Reston, EUA), utilizando escala CIEL*a*b*. As análises foram realizadas à 25 °C, utilizando o iluminante D-65 e um ângulo de observação de 10° (modo RSEX). As medidas realizadas em triplicata foram expressas em termos dos parâmetros L* (Luminosidade), a* (+a*=vermelho e -a*=verde) e b* (+b*=amarelo e -b*=azul) para avaliação da influência da adição de óleo essencial na coloração das coberturas. Foi verificada também a opacidade (*haze*) das amostras.

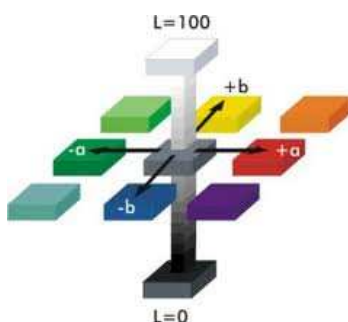


Figura 4.5. Escala CIEL*a*b* utilizada para análise dos parâmetros L*, a* e b*.

4.3.6.3. Solubilidade em Água e Umidade dos Filmes

Três discos de cada película, com 2 cm de diâmetro, foram cortados com auxílio de um molde cilíndrico e submetidos a um controle de umidade (58% UR com solução saturada de NaBr) por 3 dias, sendo posteriormente pesados. As amostras foram imersas em 50 mL de água destilada à 25°C contendo azida sódica (0,02% p/v) para prevenir o crescimento microbiano, onde foram mantidas por 24 horas sob agitação esporádica. O conteúdo de matéria seca não solubilizada foi determinado através da filtração com auxílio de papel filtro qualitativo e consequentemente submetido a secagem por 100°C durante 24 horas (COLLA, 2004). A solubilidade foi calculada como a relação entre a matéria seca

final e a matéria seca inicial, através da equação 4.5.

$$\%M.S. = \frac{(m_i - m_f)}{m_i} \cdot 100 \quad [4.5]$$

Onde:

% M.S.: percentual de material solubilizado

m_i : massa inicial da amostra [g]; m_f : massa final da amostra [g]

A umidade das amostras foi determinada por gravimetria pelo método da ASTM D 644-99 R02 (2005) em base úmida, sendo o material disposto em estufa a 105°C até peso constante.

ETAPA III - Estudo das Formulações Otimizadas

A Etapa III consistiu na verificação de algumas propriedades específicas das coberturas adicionadas de óleos essenciais, tais como propriedades antioxidantes (item 4.3.7.3) e antimicrobianas (item 4.3.7.4). Analisou-se também o comportamento reológico das emulsões (item 4.3.7.1) e verificou-se a microestrutura dos filmes comestíveis através da análise de microscopia de força atômica (item 4.3.7.2).

4.3.7. Seleção das Formulações Otimizadas

Para definir as formulações otimizadas, foram considerados os testes para resistência ao vapor de água, taxa respiratória, a classificação da estabilidade das coberturas emulsionadas e propriedades mecânicas dos filmes.

4.3.7.1. Comportamento Reológico

O comportamento reológico das coberturas otimizadas foi medido através da determinação das curvas de escoamento com o auxílio do reômetro de tensão controlada Physica MCR301 (Anton Paar, Graz, Áustria). As medidas foram feitas em triplicata, em geometria de placa lisa de 75 mm de diâmetro, com temperatura controlada através do sistema Peltier a 25 °C e Gap de 0,5 mm.

A tensão de cisalhamento (σ) foi medida em função da taxa de cisalhamento ($\dot{\gamma}$) de 0 até 512 s⁻¹, conforme utilizado por Atares, Bonilla e Chiralt (2010b) e Perdonés, Sánchez-González e Vargas (2012). Os reogramas obtidos foram avaliados de acordo com os modelos matemáticos empíricos, sendo eles: Modelo da Lei de Potência, Equação 4.6, aplicada para determinar o índice de consistência (K) e o índice de comportamento (n).

$$\sigma = K \times (\dot{\gamma})^n \quad [4.6]$$

Também foi analisado o comportamento do fluido supondo ser Newtoniano, Equação 4.7:

$$\sigma = \mu \times \dot{\gamma} \quad [4.7]$$

Foram feitas 3 corridas, sendo uma subida, uma descida e novamente uma subida, utilizando os valores da última subida a fim de eliminar possíveis efeitos de tixotropia. Os ensaios foram realizados em triplicata.

Onde:

$\dot{\gamma}$: Taxa de cisalhamento (1/s⁻¹)

n: Índice de comportamento

σ : Tensão de cisalhamento (Pa)

K: Índice de consistência (Pa.sⁿ).

μ : Viscosidade (Pa.s)

4.3.7.2. Microscopia de Força Atômica

A análise da morfologia da superfície dos filmes elaborados a partir das coberturas emulsionadas foi baseada no trabalho de Atarés et al. (2010), com modificações, no qual os filmes foram armazenados em ambiente com controle de umidade (58 % UR com solução saturada de NaBr) e analisados em triplicata utilizando microscópio de força atômica (modelo EasyScan2 Flex, marca NanoSurf) localizado no laboratório LAMULT do Instituto de Física “Gleb Wataghin” (Unicamp, Brasil). A leitura foi feita por toda a área da superfície do filme (50 μm x 50 μm) usando *tapping mode* (leitura pela superfície do filme, sem contato direto). Através das imagens obtidas, dois parâmetros estatísticos relacionados com a rugosidade da amostra (método ASME B46.1, 1995) foram calculados pelo programa Nanosurf EasyScan 2 Demo, que forneceu a rugosidade média (R_a) e raiz quadrada média da rugosidade (R_q). As imagens obtidas no microscópio foram transformadas em imagem de 3D pelo programa Gwyddion 2.29 (<http://gwyddion.net/>).

4.3.7.3. Propriedades Antioxidantes das Coberturas Adicionadas de Óleos Essenciais.

Polifenóis Totais das Coberturas com Óleos Essenciais

A determinação de polifenóis totais nas coberturas foi feita pelo método colorimétrico de Folin Ciocalteu, que se baseia no princípio da reação de redução dos ácidos fosfotúngstico e fosfomolibdico, em meio alcalino a óxidos de tungstênio e molibdênio pelos compostos fenólicos, formando um complexo de cor azul.

O conteúdo fenólico total das amostras foi analisada usando o método colorimétrico descrito por Singleton, Orthofer e Lamuela-Raventos (1999) e modificado por Dewanto et al. (2002). A metodologia iniciou-se com a adição de 125 μL da amostra juntamente com 0,5 mL de água e 125 μL do reagente Folin-Ciocalteu. As amostras foram deixadas em repouso por 6 minutos; em seguida, 1,25 mL de uma solução aquosa a 7% de carbonato de sódio foi adicionado. A água foi adicionada no final para ajustar o volume total de 3 mL. As amostras foram deixadas em repouso por 90 minutos à temperatura ambiente antes da

medição a 760 nm usando um espectrofotômetro (modelo SP-220, marca Biospecto, Merse, São Paulo, Brasil). Para a quantificação de substâncias fenólicas presentes na cobertura foi utilizada uma curva padrão de ácido gálico (10 a 200 µmol). O resultado foi expresso em µmol ácido gálico/mL cobertura. A análise foi feita em triplicata.

Capacidade Antioxidante das Coberturas adicionadas de Óleo Essencial - DPPH e FRAP

O DPPH é um radical livre estável que aceita um elétron ou um radical hidrogênio podendo ser reduzido na presença de um antioxidante. O método baseia-se na redução do DPPH (que tem coloração púrpura) pela ação de antioxidantes presentes na amostra, formando difenilpicril-hidrazina, de coloração amarela, com consequente desaparecimento da sua coloração original e redução da absorção, podendo a mesma ser monitorada pela leitura em espectrofotômetro a 517 nm. A partir das leituras de absorção obtidas, determina-se a porcentagem de atividade antioxidante ou sequestradora de radicais livres e/ou a porcentagem de DPPH remanescente no meio reacional (RUFINO et al., 2007).

A metodologia utilizada foi descrita por Rufino et al. (2007) com leitura das absorbâncias das amostras em espectrofotômetro (modelo SP-220, marca Biospecto, Merse, São Paulo, Brasil) a 517 nm. Uma alíquota de 0,3 mL da amostra foi adicionada a 0,3 mL de solução DPPH com concentração de 0,5 mmol/L, e 2,4 mL de etanol (99,5%). Após 1 hora de reação, sob abrigo de luz, as amostras foram centrifugadas e realizadas as leituras da absorbância do sobrenadante. As amostras foram realizadas em triplicata.

A capacidade de sequestrar radicais livres foi expressa como percentual de inibição de oxidação do radical e calculado conforme a Equação 4.9:

$$PI(\%inibição) = \frac{A(0) - A(t)}{A(0)} \times 100 \quad [4.9]$$

Onde:

A(0) = Absorbância do controle (solução de DPPH sem antioxidante)

A(t) = Absorbância da amostra em solução

Para a análise de FRAP foi utilizada a metodologia descrita por Rufino et al. (2006). Este método é baseado na habilidade de redução do ferro. Em meio ácido, o complexo férrico tripiridiltiazina é reduzido à sua forma ferrosa de intensa cor azul na presença de antioxidantes, causando um aumento na absorbância a 595 nm. Uma alíquota de 100 µL de cada amostra foi transferida para tubos de ensaio, juntamente com 3 mL do reagente FRAP recém preparado. Esta mistura foi homogeneizada e mantida em banho-maria a 37 °C. Decorridos 30 minutos, foi realizada a leitura a 595 nm em espectrofotômetro (modelo SP-220, marca Biospecto, Merse, São Paulo, Brasil). Para a quantificação da atividade antioxidante foi construída uma curva padrão de Trolox, expressando o resultado em µmol de Trolox/mL de cobertura. A análise foi realizada em triplicata.

Verificação do Escurecimento Enzimático através da Cor de Fatias de Maçãs com Coberturas adicionadas de Óleo Essencial

A cor das amostras com e sem cobertura foi determinada em colorímetro Ultra Scan Vis 1043 (Hunter Lab, Reston, EUA), com escala CIEL*a*b*. As análises foram realizadas a 25 °C, utilizando o iluminante D-65 e um ângulo de observação de 10° (modo RSEX). As medidas de coloração foram expressas em termos da luminosidade L* (L*=0 preto e L*=100 branco), e da cromaticidade definida por a* (+a*=vermelho e -a*=verde) e b* (+b*=amarelo e -b*=azul). Cinco fatias de cada tratamento foram avaliadas para verificar a atuação da cobertura como inibidora do escurecimento enzimático em fatias de maçãs devido à presença dos óleos essenciais. As análises foram realizadas no dia zero e no dia 4, as fatias foram armazenadas sob refrigeração à temperatura de 5°C durante todo o período de análise.

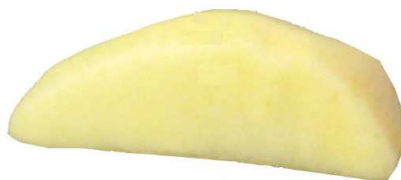


Figura 4.6. Fatias de maçãs utilizadas para a análise de cor. (Fonte: Chiumarelli, 2011)

4.3.7.4. Atividade Antimicrobiana

Os ensaios de halo de inibição foram realizados como um teste qualitativo para a atividade antimicrobiana dos filmes de acordo com Rojas-Graü et al. (2006) e Pelissari et al. (2009) com modificações.

Papel filtro cortado em discos com aproximadamente 12 mm de diâmetro foram imersos nas coberturas com e sem óleo essencial. Em seguida, os discos foram mantidos em condições ambientes (25°C) para formação de filmes. Essa alternativa foi necessária devido aos filmes apresentarem grande solubilidade no meio de cultura. Em seguida, os filmes formados nos papéis filtros foram colocados em agar Mueller-Hinton (MHA), que previamente foi espalhado com 100 µL dos inóculos de *Staphylococcus aureus* ATCC 6538, *Salmonella choleraesius* ATCC 10708 e *Escherichia. coli* CAT 0547, obtidos a partir da Coleção de Culturas do Laboratório de BIOAROMAS (Unicamp, Brasil). Cada inóculo com 10⁸ UFC/mL das culturas das bactérias previamente padronizadas usando a escala McFarland 0,5. As placas foram incubadas a 35 °C por 18 horas. O diâmetro do halo formado ao redor do papel filtro foi medido usando um paquímetro digital. Os testes foram realizados em triplicata.

Como método de comparação dos resultados de formação do halo obtido a partir dos filmes, foi utilizada a mesma metodologia para analisar a ação somente dos óleos essenciais de casca de canela e erva doce.

4.4. Caracterização: Fécula de Mandioca e Maçã

A fécula de mandioca foi caracterizada em relação ao teor de proteína pelo método de Kjeldhal (960.52, AOAC, 1998), umidade por gravimetria (925.10, AOAC, 1998), teor de lipídeos pelo método de Bligh e Dyer segundo metodologia descrita em Cecchi (2003) e cinzas segundo método 923.03 da AOAC (1998).

As características físico-químicas das maçãs frescas, sem casca e sem caroço, foram avaliadas pelas medidas de massa, diâmetro, comprimento, pH (através de um pHmetro),

sólidos solúveis (932.12, AOAC,1998), umidade (934.06, AOAC, 1998), proteínas pelo método de Kjeldhal (960.52, AOAC, 1998), cinzas (940.26, AOAC, 1998), lipídeos pelo método de Bligh e Dyer (CECCHI, 2003) e atividade de água através de leitura direta à temperatura de 25 °C, em equipamento Aqualab (modelo Series 3, Decagon Devices Inc, Pullman, EUA).

As análises foram feitas, no mínimo, em triplicata.

4.5. Análise Estatística

Os resultados obtidos foram avaliados estatisticamente através da Análise de Variância (ANOVA) e do Teste de Tukey ao nível de 5% de significância, com o auxílio do programa Statistica® 7 (StatSoft, Inc., Tulsa, EUA).

V. RESULTADOS E DISCUSSÃO

ETAPA I – Definição da Concentração de Glicerol

A ETAPA I foi necessária para definir a concentração de glicerol na qual as coberturas poderiam ser analisadas como filmes.

A realização do teste de resistência ao vapor de água para definição da concentração de glicerol foi feito devido a esse composto apresentar característica hidrofílica e quando adicionado em coberturas pode interferir nas propriedades de barreira (AVENA-BUSTILLOS; MCHUGH, 2011), porém a adição de glicerol em coberturas é favorável, pois o mesmo pode proporcionar melhor aderência da cobertura no alimento (GARCÍA et al., 2009).

Nos filmes, o glicerol tem como função diminuir as forças intermoleculares entre as cadeias do polímero, aumentando assim a flexibilidade dos filmes (AVENA-BUSTILLOS; H. MCHUGH, 2011). Como neste estudo foram utilizadas diferentes concentrações de polímero, foi necessário encontrar concentrações de glicerol que promovessem as mesmas propriedades mecânicas nos filmes, para que esse composto não interferisse nas respostas dos testes da ETAPA II.

5.1. Propriedades Mecânicas dos Filmes Comestíveis para Definição da Concentração de Glicerol

Coberturas com 2% fécula, 0,75% e 1,00% de glicerol e 3% fécula e 1,00% de glicerol apresentaram filmes com aspecto pegajoso, como pode ser observado na Figura 5.1. Os filmes com 2% de fécula, 0,25% de glicerol e 3% fécula, 0,25% e 0,50% de glicerol resultaram em filmes quebradiços (Figura 5.3). As concentrações de 0,50% e 0,75% de glicerol para 2% e 3% de fécula, respectivamente, mostraram filmes de aspecto homogêneo, sem rupturas após a secagem, além dos filmes com 0,63% de glicerol e 2% ou 3% de fécula de mandioca (Figura 5.2). A Tabela 5.1 mostra a classificação das películas formadas, de acordo com as características apresentadas: Quebradiças - filmes com ruptura durante a secagem ou na retirada da película da placa. Homogêneas - aspecto contínuo dos filmes, sem ruptura e fácil de ser retirado da placa. Pegajosas - não foi possível retirar o

filme da placa, apresentando aspecto elástico e pegajoso.

Foram analisados somente os filmes que apresentaram aspecto homogêneo sem rupturas após a secagem. A quantidade de suspensão nas placas foi controlada em balança semi-analítica, para a obtenção de filmes de espessura constante. A espessura média dos filmes adicionados de óleo essencial de casca de canela foi de $134 \pm 5 \mu\text{m}$ e para os filmes com óleo essencial de erva doce $140 \pm 6 \mu\text{m}$.

Tabela 5.1. Composição dos filmes e sua classificação em relação à aparência.

Ensaio	Fécula de Mandioca (%)	Glicerol (%)	Óleo Essencial* (%)	Classificação das películas
1	2	0,25	0,3	Quebradiças
2	2	0,50	0,3	Homogêneas
3	2	0,63	0,3	Homogêneas
4	2	0,75	0,3	Pegajosas
5	2	1,00	0,3	Pegajosas
6	3	0,25	0,3	Quebradiças
7	3	0,50	0,3	Quebradiças
8	3	0,63	0,3	Homogêneas
9	3	0,75	0,3	Homogêneas
10	3	1,00	0,3	Pegajosas

* Classificação apresentada para ambos os óleos essenciais (casca de canela e erva doce).

Os resultados obtidos para as propriedades mecânicas dos filmes com óleo essencial de casca de canela ou erva doce são apresentados nas Tabelas 5.2 e 5.3, respectivamente.



Figura 5.1. Filmes pegajosos



Figura 5.2. Filmes homogêneos



Figura 5.3. Filmes quebradiços

Tabela 5.2. Respostas tensão (T), elongação na ruptura (Elo) e módulo de elasticidade (ME), obtidas para os ensaios com 0,3% de óleo essencial (OE) de casca de canela e 2% e 3% de fécula de mandioca (FM), cuja variável foi porcentagem de glicerol (GLI).

FM (%)	GLI (%)	T (MPa)	Elo (%)	ME (MPa)
2	0,50	1,40±0,24 ^b	44,41±2,21 ^b	54,53±6,54 ^b
2	0,63	0,37±0,02 ^c	151,74±11,11 ^a	5,27±1,41 ^b
3	0,63	6,48±0,42 ^a	5,79±0,12 ^c	551,40±46,60 ^a
3	0,75	1,49±0,15 ^b	33,81±4,30 ^b	49,10±3,76 ^b

Médias seguidas de mesma letra na coluna não diferem significativamente pelo teste Tukey a 5%.

Tabela 5.3. Respostas tensão (T), elongação na ruptura (Elo) e módulo de elasticidade (ME) obtidas para os ensaios com 0,3% de óleo essencial (OE) de erva doce e 2% e 3% de fécula de mandioca (FM), cuja variável foi porcentagem de glicerol (GLI).

FM (%)	GLI (%)	T (MPa)	Elo (%)	ME (MPa)
2	0,50	1,59±0,61 ^b	46,74±6,80 ^b	47,77±4,50 ^b
2	0,63	0,42±0,15 ^c	154,03±10,36 ^a	9,03±0,78 ^b
3	0,63	6,16±2,03 ^a	9,81±0,18 ^c	442,27±40,43 ^a
3	0,75	1,51±0,67 ^b	45,38±5,37 ^b	52,67±6,59 ^b

Médias seguidas de mesma letra na coluna não diferem significativamente pelo teste Tukey a 5%.

O teste de tensão na ruptura expressa a tensão máxima aplicada ao filme para ocorrer o rompimento e quanto maior a tensão, mais rígido é o filme (GOUNGA et al., 2010). As concentrações de 3% de fécula de mandioca e 0,63% de glicerol apresentaram maiores valores de tensão nos filmes com óleo essencial de casca de canela e erva doce, mostrando ser um filme mais rígido do que os demais analisados. Nas concentrações de 3% de fécula de mandioca e 0,75% de glicerol e 2% de fécula de mandioca e 0,50% de glicerol, resultados semelhantes para tensão foram observados em ambos os óleos essenciais; a concentração de 2% de fécula de mandioca e 0,63% de glicerol mostrou-se com o menor valor da tensão. De acordo com a Cho e Rhee (2002), o glicerol é um plastificante hidrofílico que enfraquece as estruturas da película comestível, e a sua adição na formulação de filmes aumenta a hidrofiliabilidade de películas à base de proteínas e

polissacarídeos, expondo os grupos hidroxilas. A diminuição da tensão com o aumento da concentração de glicerol é característica dos filmes comestíveis à base de fécula de mandioca e de proteínas (MALI et al., 2008; BOURTOOM; CHINNAN, 2008).

A análise de elongação de um material indica a porcentagem na qual há o aumento máximo do comprimento do filme antes da ruptura (SPERLING, 2006).

Verificou-se alta elongação para os filmes com concentração de 2% de fécula de mandioca e 0,63% de glicerol, para ambos os óleos essenciais. Essa concentração de glicerol presente em 2 % de fécula de mandioca promoveu um filme bastante flexível com elongação de 151,74% e 154,03% para os filmes com óleo essencial de casca de canela e erva doce, respectivamente. Berco et al. (2008) observaram que a adição de 0,60 % (p/p) de glicerol em filmes à base de fécula de mandioca (2% p/p) resultou em películas com elongação superiores a 100% e, conforme a diminuição da concentração de glicerol, a elongação também diminuiu. O aumento da concentração de glicerol em filmes à base de fécula de mandioca faz com que a interação polímero-polímero diminua, provocando aumento na mobilidade das cadeias de amilose e amilopectina (BERCO et al., 2008) e uma das consequências é o aumento da elongação das películas.

No presente estudo, a elongação do filme aumentou em função da concentração de glicerol, não se observando diferenças nos ensaios com ambos os óleos essenciais para as concentrações de 2% de fécula e 0,50% de glicerol e 3% de fécula e 0,75% de glicerol.

O módulo de elasticidade, ou módulo de Young, é a razão entre a tensão e a deformação de uma amostra, sendo calculado através da inclinação da curva tensão deformação obtida em um ensaio de tração. O módulo de elasticidade, para os filmes com óleo essencial de casca de canela ou erva doce, apresentou valores estatisticamente diferentes somente para os filmes com 3% de fécula de mandioca e 0,63% de glicerol. Essa formulação apresentou o maior valor para o módulo da elasticidade, ou seja, esse filme apresentou características de ser mais rígido que os demais, resultado que pode estar associado à baixa concentração de glicerol adicionada ao filme, já que o glicerol tem como característica dar mobilidade para os filmes.

A influência de diferentes concentrações de glicerol nos filmes à base de fécula de mandioca adicionada de óleos essenciais foi bastante evidente. A concentração de 0,63%

(p/v) de glicerol nos filmes com 2% e 3% de fécula de mandioca resultou em diferentes características dos mesmos, baixa tensão e alta elongação ou alta tensão e baixa elongação.

Mali et al. (2005) estudaram diferentes tipos de plasticizantes em filmes à base de fécula de mandioca e verificaram o mesmo comportamento observado neste trabalho, ou seja, a adição de plastificantes resultou em filmes com menor módulo de elasticidade e mais flexíveis.

5.2. Resistência ao Vapor de Água das Coberturas para Definição da Concentração de Glicerol

A incorporação de glicerol em coberturas é interessante, pois o mesmo promove maior flexibilidade e melhora as propriedades estruturais das películas. No entanto, a adição do glicerol em coberturas pode provocar aumento na permeabilidade ao vapor de água. Então, o objetivo desta análise na ETAPA I foi verificar se as concentrações de glicerol utilizadas para a formação dos filmes influenciaram nas propriedades de barreira das coberturas comestíveis.

Para as análises de resistência ao vapor de água das coberturas, avaliaram-se os tratamentos que proporcionaram a formação de filmes de aspecto homogêneo. Os resultados podem ser vistos na Figura 5.4.

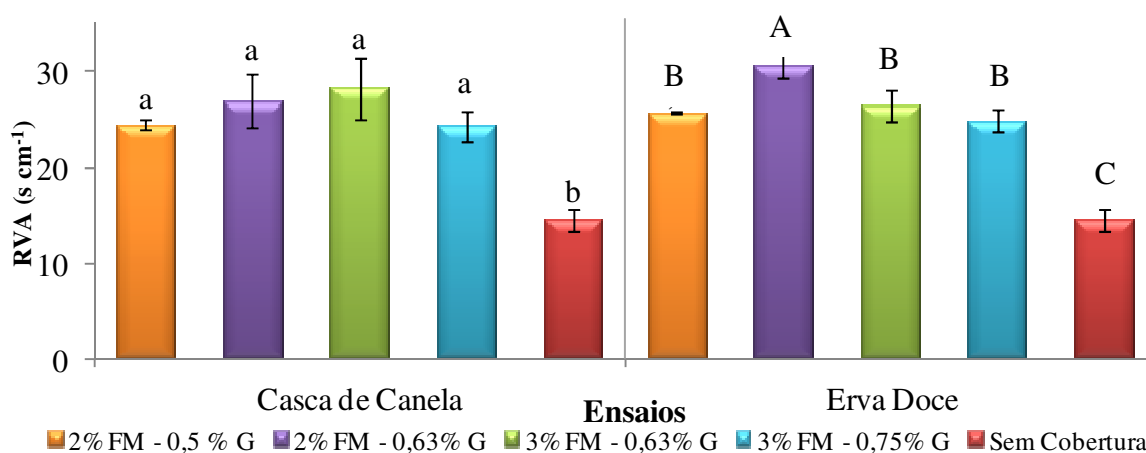


Figura 5.4. Resposta de resistência ao vapor de água (RVA) obtida para os ensaios com 0,3% de óleo essencial de casca de canela e erva doce com 2% e 3% de fécula de mandioca (FM), cuja variável foi porcentagem de glicerol (G). Médias seguidas de mesma letra não diferem significativamente pelo teste Tukey a 5%.

Para as coberturas com 3% de fécula de mandioca adicionadas de óleo essencial de erva doce não houve diferença estatística ($p>0,05$). Porém, observou-se que as coberturas com 2% de fécula de mandioca e com óleo essencial de erva doce apresentaram resistência ao vapor de água estatisticamente diferentes ($p<0,05$). De forma geral, as coberturas com óleo essencial de erva doce com 0,50% de glicerol e 2% de fécula de mandioca e 0,63% e 0,75% de glicerol e 3% de fécula não apresentaram diferença estatística ($p>0,05$).

Em relação à resistência ao vapor de água das coberturas contendo óleo essencial de casca de canela, não houve diferença estatística ($p>0,05$) entre os ensaios. Para o ensaio controle, sem cobertura, houve diferença estatística com todas as outras formulações, tanto para as coberturas com óleo essencial de casca de canela quanto para as com óleo essencial de erva doce.

Tapia et al. (2008) avaliaram o efeito de diferentes concentrações de glicerol em coberturas à base de gelana e alginato aplicadas em mamão papaia: as concentrações de glicerol abaixo de 0,63% (p/v) promoveram pouco ou nenhum efeito sobre a resistência ao vapor de água para as coberturas à base de gelana; já concentrações de até 1,00% (p/v) de glicerol resultaram em aumento progressivo da RVA para essa mesma cobertura. O aumento da resistência ao vapor de água foi observado para as coberturas com alginato nas concentrações de glicerol acima de 1,50% (p/v).

Rojas-Graü et al. (2007b) aplicaram coberturas de alginato e gelana em fatias de maçãs e avaliaram que a resistência ao vapor de água aumentou quando a concentração de glicerol foi aumentada até 1,75% (v/v) para coberturas de alginato; concentrações mais elevadas de glicerol conduziram a uma diminuição da resistência ao vapor de água das coberturas de alginato. Para as coberturas de gelana, o valor máximo de resistência ao vapor de água foi obtido quando a concentração de glicerol foi até 0,63% (v/v) e as concentrações superiores conduziram a uma diminuição na resistência ao vapor de água das coberturas à base de gelana. A aplicação das mesmas coberturas em mamão e maçãs mostraram comportamentos distintos quando se adicionou o glicerol; Tapia et al. (2008) atribuíram esse efeito as matrizes vegetais serem diferentes, o que provavelmente interferiu nas respostas para a resistência ao vapor de água.

5.3. Escolha da Concentração do Glicerol

Pelos ensaios realizados na ETAPA I do trabalho conclui-se que:

- De forma geral, a concentração de glicerol afetou na formação dos filmes à base de fécula de mandioca, pois conforme a diminuição da concentração de glicerol o filme tornou-se mais quebradiço e com o aumento apresentou-se pegajoso.

- Este estudo mostrou que as concentrações de glicerol 0,50% e 0,75% nas formulações com 2% e 3% de fécula de mandioca, respectivamente, adicionadas de 0,30% de óleo essencial de erva doce ou casca de canela, não mostraram diferenças estatísticas ($p > 0,05$) nas análises das propriedades mecânicas dos filmes.

- A análise de resistência ao vapor de água das coberturas com diferentes concentrações de glicerol, de modo geral, não apresentou interferência do composto hidrofílico nas respostas obtidas para ambos os óleos essenciais.

- Verificou-se que as coberturas apresentaram resistência ao vapor de água maior que a própria resistência natural que a fruta já oferece.

- Devido ao glicerol mostrar grande influência nas propriedades mecânicas dos filmes e não apresentar interferência para as coberturas optou-se por utilizar as concentrações de 0,50% e 0,75% de glicerol para 2% e 3% de fécula de mandioca, respectivamente. Assim, a cobertura pode ser analisada como filme.

- Com as concentrações de glicerol definidas nessa Etapa foram analisadas as coberturas e filmes na ETAPA II, sem que houvesse a interferência desse composto nas respostas.

Trabalhos recentes mostram que concentrações similares de glicerol selecionadas na ETAPA I foram adicionadas a películas à base de amido para análise de filmes e coberturas contendo algum tipo de lipídeo:

- * Jiménez et al. (2012) trabalharam com 2% (p/p) de amido de milho e 0,50% (p/p) de glicerol para formação de filmes. Esses autores adicionaram ao filme os ácidos graxos oleico, esteárico e palmítico (0,3% p/p).

- * No estudo de coberturas à base de amido de tapioca (1,7% p/p) foi adicionado óleo essencial de canela (0,2% p/p) com a adição de 0,3% (p/p) de glicerol (PAN; CHEN; LAI, 2012).

ETAPA II – Caracterização e Avaliação das Propriedades de Barreira das Coberturas e Caracterização dos Filmes Comestíveis

Após a definição das seguintes condições de estudo para as concentrações de glicerol: 0,50% de glicerol para 2% de fécula de mandioca e 0,75% de glicerol para 3% de fécula de mandioca, passou-se a analisar os resultados da Etapa II como seguem:

5.4. Caracterização das Coberturas Comestíveis

As coberturas adicionadas de óleo essencial podem ser classificadas como emulsões. Emulsão é definida por dois líquidos imiscíveis (usualmente óleo e água), os quais não se dissolvem um no outro, mas quando são mantidos em suspensão por homogeneização formam uma mistura estável. A fécula de mandioca é caracterizada como um polissacarídeo. A atuação dos polissacarídeos em uma emulsão é oferecer estabilidade física a longo prazo para a emulsão. Os polissacarídeos atuam através de dois possíveis mecanismos: via modificação da viscosidade ou gelificação da fase contínua aquosa (DICKINSON, 2003).

A caracterização de uma emulsão pode ser feita através de análises de microscopia, tamanho de gota, reologia, estabilidade da emulsão, entre outros (MCCLEMENTS, 2007). Dessa forma, as coberturas foram caracterizadas através das análises de estabilidade física (item 5.4.1) e tamanho de gota (item 5.4.2).

5.4.1. Avaliação da Estabilidade Física das Coberturas Comestíveis

Uma emulsão deve se manter estável até a aplicação. No entanto, é importante que durante a sua vida útil, ela não mostre sinais de separação ou de instabilidade de fase (APPELQVIST et al., 2007).

As observações visuais sobre as emulsões estão descritas nas Tabelas 5.4 e 5.5, onde é possível verificar a classificação das emulsões, de acordo com a estabilidade do sistema, as quais foram observadas durante 7 dias. A coloração avermelhada das emulsões

é devido ao composto Sudan III que foi adicionado nas formulações, conforme descrito no item 4.3.4.1.

Neste estudo, a instabilidade do óleo essencial do sistema emulsionado provocou acentuação da coloração vermelha na superfície da proveta, conforme verificado na Figura 5.7.

O termo “emulsão estável” é atribuído ao fato da emulsão resistir a mudanças em suas propriedades físico-químicas. As emulsões aplicadas aos alimentos podem apresentar instabilidade por diferentes mecanismos; o mais comum é a separação gravitacional, no qual a densidade das gotas da emulsão é diferente daquela do líquido que as rodeia (MCCLEMENTS, 2007).

Tabela 5.4. Classificação da estabilidade das emulsões com óleo essencial de casca de canela.

Ensaio	FM (%)	G (%)	OE (%)	Classificação da Estabilidade das Emulsões
1C	2	0,50	0,05	Estável
2C	2	0,50	0,10	Estável
3C	2	0,50	0,20	Estável
4C	2	0,50	0,30	Estável
5C	3	0,75	0,05	Estável com separação da água
6C	3	0,75	0,10	Estável com separação da água
7C	3	0,75	0,20	Estável com separação da água
8C	3	0,75	0,30	Estável com separação da água

FM: Fécula de mandioca; **G:** Glicerol; **OE:** Óleo Essencial.

Tabela 5.5. Classificação da estabilidade das emulsões com óleo essencial de erva doce.

Ensaio	FM (%)	G (%)	OE (%)	Classificação da Estabilidade das Emulsões
1ED	2	0,50	0,05	Estável
2ED	2	0,50	0,10	Estável
3ED	2	0,50	0,20	Estável
4ED	2	0,50	0,30	Instável
5ED	3	0,50	0,05	Estável com separação da água
6ED	3	0,50	0,10	Estável com separação da água
7ED	3	0,50	0,20	Estável com separação da água
8ED	3	0,50	0,30	Estável com separação da água

FM: Fécula de mandioca; **G:** Glicerol; **OE:** Óleo Essencial.

De modo geral, as emulsões com óleo essencial de casca de canela ou erva doce mostraram-se estáveis para as formulações com 2% de fécula de mandioca (Figuras 5.5 e 5.7); apenas a formulação 4ED apresentou instabilidade com a separação do óleo no 3º dia de avaliação. Os ensaios com 3% de fécula de mandioca ocasionaram a precipitação da suspensão, observando-se 2 fases; a fase superior foi composta somente de água e a inferior com suspensão de fécula de mandioca, conforme verificado nas Figuras 5.6 e 5.8, porém não se observou a instabilidade dos óleos essenciais.

Neste estudo, notou-se que a cobertura com 2% de fécula de mandioca não apresentou separação da suspensão, porém as coberturas com 3% de fécula de mandioca mostraram separação de fase. Algumas suposições podem ser feitas:

(1ª) Este resultado pode estar relacionado ao que Che et al. (2008) relataram, onde a precipitação da fécula de mandioca pode ser atribuída à recristalização da amilose e Kislenko et al. (2006) complementam que a quantidade de amido precipitado é proporcional à concentração de amido adicionado na solução. Assim, pode-se supor que as formulações com 3% de fécula de mandioca, por conter maiores quantidades de amilose que as formulações com 2% de fécula de mandioca, apresentaram a precipitação da suspensão.

(2ª) Pode existir uma faixa da concentração de amido adicionado ao sistema na qual não há sedimentação da suspensão de fécula de mandioca, sendo a concentração de 2% de fécula de mandioca a faixa de concentração que mantém o sistema (fécula+óleo essencial) estável.

(3ª) O amido é uma substância morfológicamente complexo, constituído por regiões amorfas que são intercaladas com regiões cristalinas altamente regulares, resultando na formação de ligações de hidrogênio entre as moléculas de amido. A adição de água no grão de amido formam ligações de hidrogênio entre a amilose e amilopectina. Após o aquecimento da solução, seguida pelo resfriamento, as moléculas de amido vão perdendo energia e as ligações de hidrogênio tornam-se mais fortes, como consequência há o aumento da viscosidade da solução (DENARDIN; DA SILVA, 2009; HUANG et al., 2007). A cobertura à base de fécula de mandioca foi incorporada com o óleo essencial e submetida a uma agitação. Durante o processo mecânico de homogeneização da suspensão fécula+óleo, as ligações de hidrogênio associadas com moléculas de água e moléculas do grão de amido podem ter sido danificadas, reduzindo a oportunidade das moléculas ligarem entre si, como consequência maior volume de água livre ficou presente na solução. Como uma das conclusões, pode estar associada ao fato da formulação com 3% de fécula de mandioca possuir maiores concentrações de grãos amido, assim a quantidade de água liberada foi maior para essa formulação.

Observou-se através das Figuras 5.5, 5.6, 5.7 e 5.8 que o aumento de óleo essencial na suspensão de fécula aumentou a opacidade do sistema. Segundo McClements (2005b), a intensidade da cor das emulsões depende da concentração de gotas presente, de modo que tanto a cor como a opacidade são fortemente influenciadas pela concentração de lipídeos.

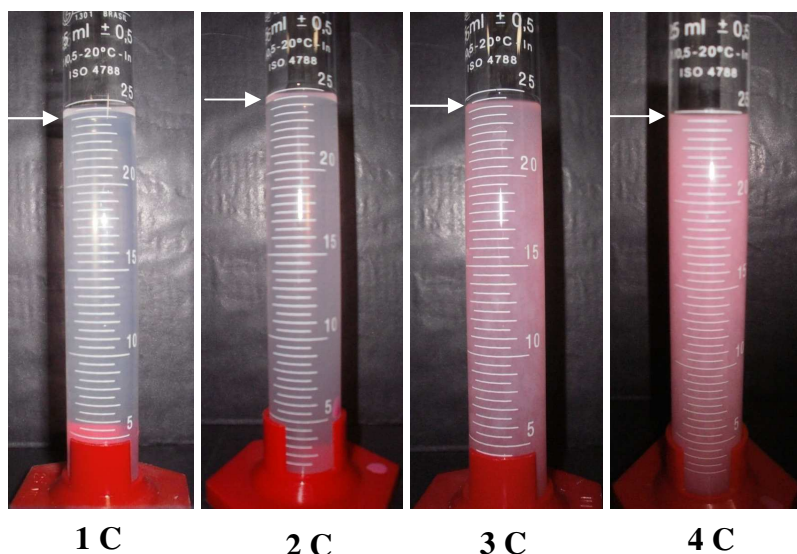


Figura 5.5. Estabilidade física das emulsões com óleo essencial de casca de canela e 2% de fécula de mandioca. A seta indica a estabilidade do sistema emulsionado. **1C:** 2% Fécula de mandioca e 0,05% óleo essencial. **2C:** 2% Fécula de mandioca e 0,10% óleo essencial. **3C:** 2% Fécula de mandioca e 0,20% óleo essencial. **4C:** 2% Fécula de mandioca e 0,30% óleo essencial.

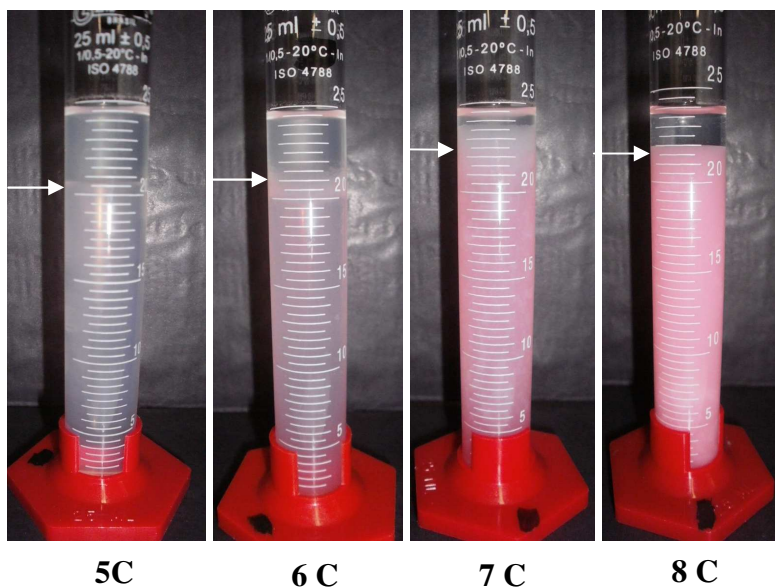


Figura 5.6. Estabilidade física das emulsões com óleo essencial de casca de canela e 3% de fécula de mandioca. A seta indica a separação da água sem a presença do óleo essencial. **5C:** 3% Fécula de mandioca e 0,05% óleo essencial. **6C:** 3% Fécula de mandioca e 0,10% óleo essencial. **7C:** 3% Fécula de mandioca e 0,20% óleo essencial. **8C:** 3% Fécula de mandioca e 0,30% óleo essencial.

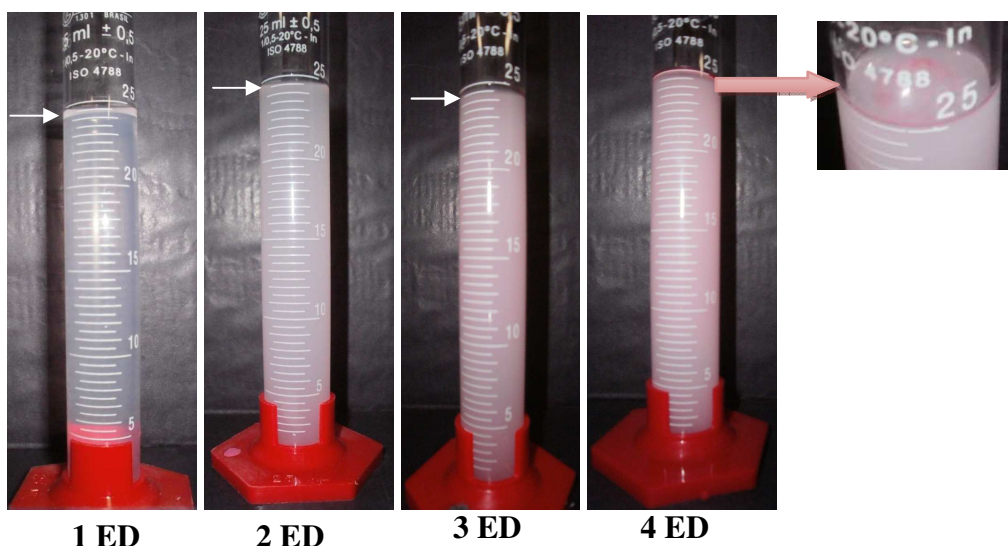


Figura 5.7. Estabilidade física das emulsões com óleo essencial de erva doce e 2% de fécula de mandioca. **4ED:** Instabilidade do óleo essencial no sistema emulsionado no 3º dia de avaliação. A seta indica a estabilidade do sistema emulsionado. **1ED:** 2% Fécula de mandioca e 0,05% óleo essencial. **2ED:** 2% Fécula de mandioca e 0,10% óleo essencial. **3ED:** 2% Fécula de mandioca e 0,20% óleo essencial. **4ED:** 2% Fécula de mandioca e 0,30% óleo essencial.

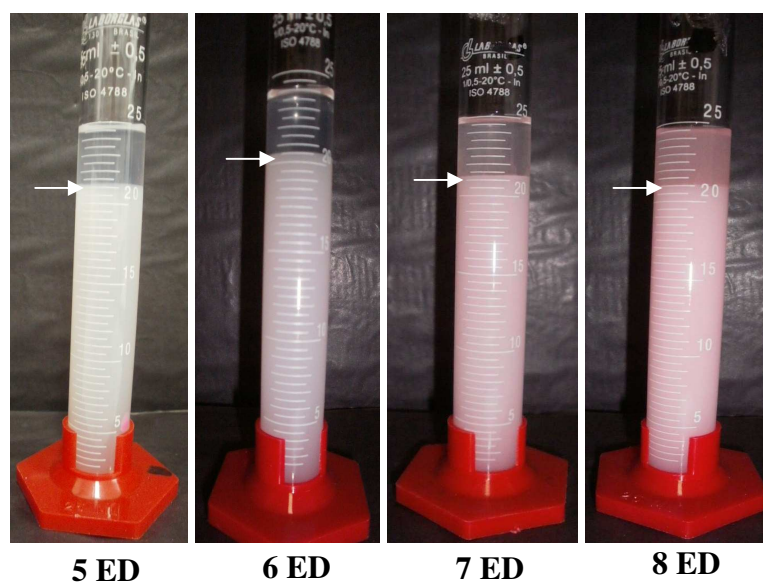


Figura 5.8. Estabilidade física das emulsões com óleo essencial de erva doce e 3% de fécula de mandioca. A seta indica a separação da água sem a presença do óleo essencial. **5ED:** 3% Fécula de mandioca e 0,05% óleo essencial. **6ED:** 3% Fécula de mandioca e 0,10% óleo essencial. **7ED:** 3% Fécula de mandioca e 0,20% óleo essencial. **8ED:** 3% Fécula de mandioca e 0,30% óleo essencial.

5.4.2. Tamanho de Gota das Coberturas Comestíveis

O tamanho de gota em uma emulsão e sua distribuição têm um grande impacto nas propriedades físico-químicas, sensoriais (aparência, flavor e textura) e principalmente na estabilidade da emulsão (MCCLEMENTS, 2007; OLIVEIRA, 2010).

Analizando estatisticamente o diâmetro $D_{3,2}$, considerando que o equipamento fez a leitura das gotas de óleo, observou-se que para as formulações contendo óleo essencial de casca de canela variou de 1,59 μm a 2,74 μm , conforme a Tabela 5.6. O ensaio com 3% de fécula de mandioca e 0,30% de óleo essencial de casca de canela (8C) apresentou o maior diâmetro e foi estatisticamente diferente dos demais ensaios. Já os tratamentos com 2% de fécula de mandioca e 0,05% de óleo essencial de casca de canela (1C) e 3% de fécula de mandioca e 0,05% e 0,10% de óleo essencial de casca de canela (5C e 6C), não apresentaram diferenças estatísticas ($p>0,05$) entre si, sendo que estes são os ensaios com menores concentrações de óleo essencial. O tamanho de gota para as formulações com óleo essencial de casca de canela não interferiu na estabilidade da emulsão, visto que nenhum ensaio apresentou a presença de óleo na superfície das provetas.

Para as formulações com óleo essencial de erva doce, o tamanho de gota variou de 1,56 μm a 3,76 μm , de acordo com a Tabela 5.7. Verificou-se que para o ensaio 4ED (2% de fécula de mandioca e 0,30% de óleo essencial) houve instabilidade do óleo do sistema emulsionado; essa formulação também apresentou maior diâmetro de gota, diferindo estatisticamente dos demais tratamentos. Conforme relatado por McClements (2007) o tamanho das gotas dos sistemas emulsionados interfere na estabilidade do sistema; gotas maiores podem mover-se mais rapidamente para a superfície, enquanto que gotas menores podem permanecer dispersas. No ensaio relatado anteriormente (4ED), a separação do óleo da suspensão pode estar relacionada ao fato dessa formulação apresentar maior tamanho de gota.

Os ensaios com 2% de fécula de mandioca e 0,05% e 0,10% de óleo essencial de erva doce (1ED e 2ED) e 3% de fécula de mandioca e 0,10% de óleo essencial de erva doce (6ED) não apresentaram diferenças estatísticas entre si ($p>0,05$), registrando os menores diâmetros de gota, sendo essas formulações as que continham menores concentrações de óleo essencial.

Tabela 5.6. Tamanho médio das gotas ($D_{3,2}$) das emulsões com óleo essencial de casca de canela.

Ensaio	FM (%)	G (%)	OE (%)	$D_{3,2}$ (μm)
1C	2	0,50	0,05	$1,77 \pm 0,15^e$
2C	2	0,50	0,10	$2,12 \pm 0,21^d$
3C	2	0,50	0,20	$2,39 \pm 0,12^b$
4C	2	0,50	0,30	$2,33 \pm 0,11^{bc}$
5C	3	0,75	0,05	$1,66 \pm 0,16^e$
6C	3	0,75	0,10	$1,59 \pm 0,06^e$
7C	3	0,75	0,20	$2,16 \pm 0,03^{cd}$
8C	3	0,75	0,30	$2,74 \pm 0,03^a$

FM: Fécula de mandioca; **G:** Glicerol; **OE:** Óleo Essencial. Médias seguidas de mesma letra não diferem significativamente pelo teste Tukey a 5%.

Tabela 5.7. Tamanho médio das gotas ($D_{3,2}$) das emulsões com óleo essencial de erva doce.

Ensaio	FM (%)	G (%)	OE (%)	$D_{3,2}$ (μm)
1ED	2	0,50	0,05	$2,02 \pm 0,03^e$
2ED	2	0,50	0,10	$2,05 \pm 0,07^e$
3ED	2	0,50	0,20	$3,26 \pm 0,18^c$
4ED	2	0,50	0,30	$3,76 \pm 0,05^a$
5ED	3	0,50	0,05	$1,56 \pm 0,01^f$
6ED	3	0,50	0,10	$2,12 \pm 0,14^e$
7ED	3	0,50	0,20	$3,04 \pm 0,07^d$
8ED	3	0,50	0,30	$3,62 \pm 0,03^b$

FM: Fécula de mandioca; **G:** Glicerol; **OE:** Óleo Essencial. Médias seguidas de mesma letra não diferem significativamente pelo teste Tukey a 5%.

Para determinação do tamanho de gota, utilizou-se um equipamento de difração a laser. Outro método que pode ser usado baseia-se na medida do diâmetro das gotas da emulsão usando imagem de microscopia ótica.

Através da microscopia ótica (Figura 5.12) não foi possível verificar o diâmetro das

gotas das formulações com as menores concentrações de óleo e a distribuição do tamanho de gota mostrou-se duvidosa (Figuras 5.10 e 5.11) devido à presença de picos mais elevados.

Para tentar esclarecer a dúvida se o equipamento de difração a laser fez a leitura da gota de óleo ou da partícula de fécula, foi realizada a leitura do tamanho de partícula da suspensão de fécula de mandioca sem adição do óleo essencial, pois conforme relatado por Chung, Degner e McClements (2012), emulsões à base de amido adicionadas de óleo de canola apresentaram a distribuição do diâmetro de partículas sendo bimodal (presença de dois picos) e o maior pico representava as partículas de amido e o segundo pico menor seriam as gotas da emulsão. Os autores atribuíram o fato aos grânulos de amido apresentarem contraste mais elevado do índice de refração e, por consequência, a dispersão da luz no equipamento utilizado para leitura foi mais forte, apresentando como leitura o diâmetro do amido.

Para este trabalho, supôs-se que alguns resultados das Tabelas 5.6 e 5.7, que apresentaram a leitura do diâmetro 3,2 ($D_{3,2}$) para as coberturas emulsionadas, podem de fato estar estimando o tamanho do grânulo amido e não o diâmetro da gota de óleo, já que em alguns ensaios havia pouco óleo essencial na formulação.

A Tabela 5.8 mostra o tamanho da partícula através do diâmetro ($D_{3,2}$) do amido. Foram analisadas as suspensões de fécula com agitação de 16.000 rpm por 5 minutos e a suspensão de fécula sem agitação. Verificou-se que a agitação reduz o tamanho de partícula do amido. Considerando a agitação da suspensão de fécula de mandioca, observou que o diâmetro expressado pelo $D_{3,2}$ tem as mesmas proporções apresentadas para os diâmetros das suspensões com óleo essencial de casca de canela ou erva doce, conforme as apresentado nas Tabelas 5.6 e 5.7.

Diante desses resultados, para responder se o equipamento de dispersão a laser fez a leitura de partícula de amido ou a leitura de gota da suspensão, foi analisada a distribuição do tamanho de gota tanto da formulação somente com fécula (Figura 5.9) como das formulações com óleos essenciais (Figuras 5.10 e 5.11).

Comparando a distribuição do tamanho de gota da Figura 5.9 e confrontando com as Figuras 5.10 e 5.11, verificou-se semelhança nos histogramas onde haviam as concentrações de 0,05% e 0,10% do óleo essencial, tanto de canela como o de erva doce, e

conforme relatado anteriormente, as formulações com menores concentrações de óleo essencial não mostraram diferenças estatísticas ($p>0,05$) para o diâmetro $D_{3,2}$. Isso comprovou que o equipamento fez a leitura do tamanho do grânulo de amido e não do óleo disperso na solução.

Tabela 5. 8. Tamanho de partícula da suspensão de fécula de mandioca

Ensaio	FM (%)	Agitação	$D_{3,2}$ (μm)
1	2	COM	$2,07\pm0,04$
2	2	SEM	$21,45\pm1,68$

FM: Fécula de Mandioca

De modo geral, a distribuição das partículas nos histogramas das concentrações de 0,20% e 0,30% de óleo essencial mostrou-se diferente da Figura 5.9, podendo ter ocorrido a leitura tanto das partículas de amido quanto das gotas de óleo, já que se verificam picos distintos perto do tamanho de partícula de 1 μm . Essas formulações mostraram leitura do diâmetro $D_{3,2}$ diferentes estatisticamente ($p<0,05$) dos tratamentos com 0,05% e 0,10% de óleo essencial. A microscopia óptica mostrou tamanho de gota das formulações com 0,20% e 0,30% de óleo entre 1 - 2 μm , conforme Figura 5.12.

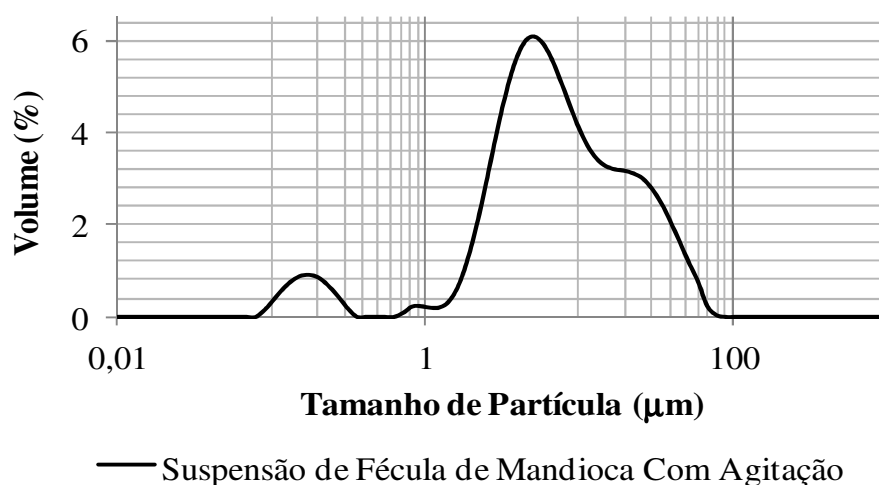


Figura 5. 9. Distribuição do tamanho de partícula da suspensão de fécula de mandioca após a agitação.

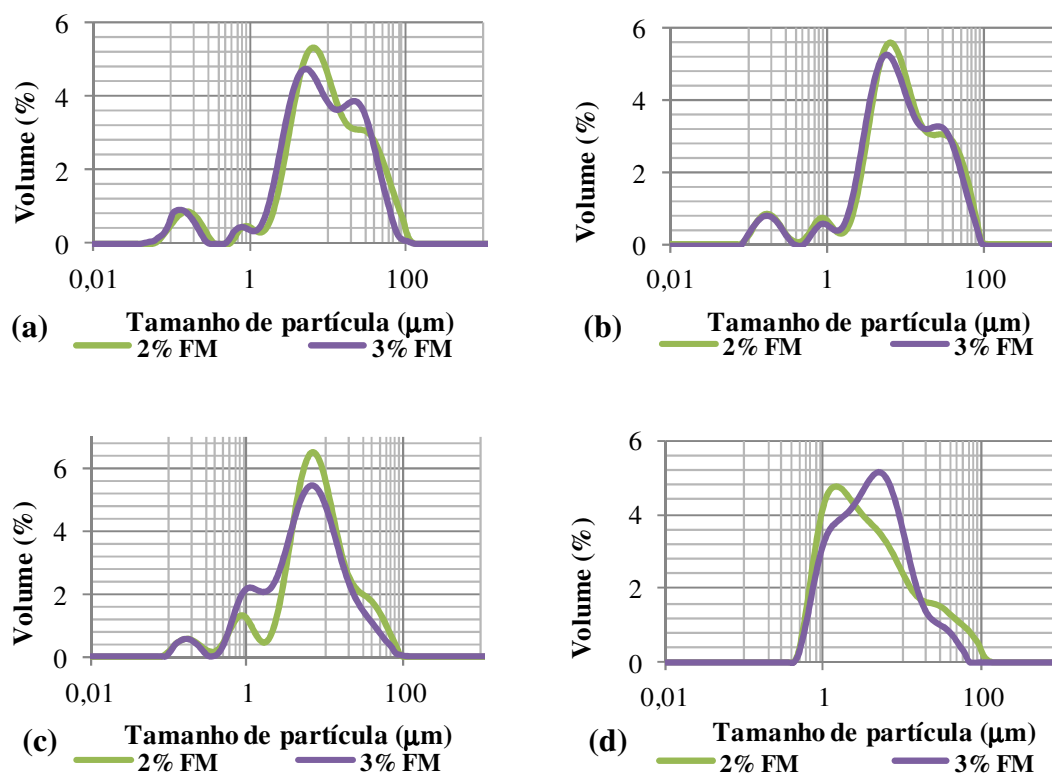


Figura 5.10. Distribuição do tamanho de gota das formulações com óleo essencial de casca de canela. Cada gráfico representa uma concentração de óleo essencial para as concentrações de 2% e 3% (p/v) de fécula de mandioca. (a) 0,05% (v/v) óleo essencial de casca de canela; (b) 0,10% (v/v) óleo essencial de casca de canela; (c) 0,20% (v/v) óleo essencial de casca de canela; (d) 0,30% (v/v) óleo essencial de casca de canela. FM: Fécula de Mandioca.

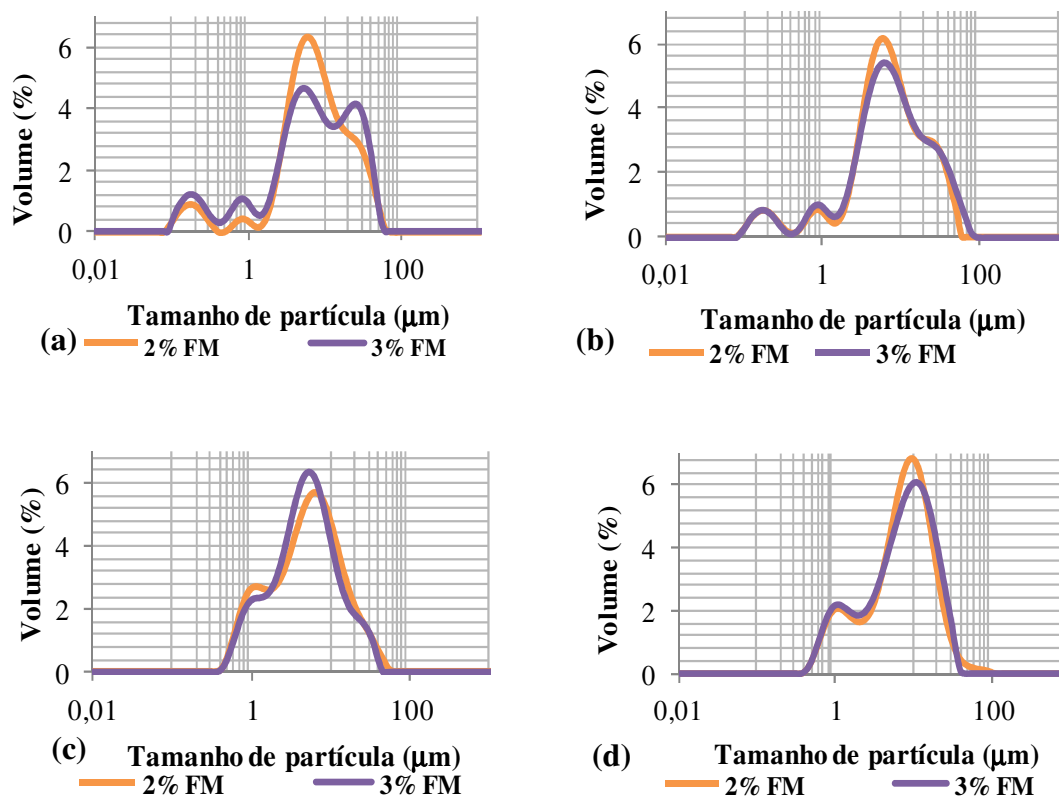


Figura 5.11. Distribuição do tamanho de gota das formulações com óleo essencial de erva doce. Cada gráfico representa uma concentração de óleo essencial para as concentrações de 2% e 3% (p/v) de fécula de mandioca. (a) 0,05% (v/v) óleo essencial de erva doce; (b) 0,10% (v/v) óleo essencial de erva doce; (c) 0,20% (v/v) óleo essencial de erva doce; (d) 0,30% (v/v) óleo essencial de erva doce. FM: Fécula de Mandioca.

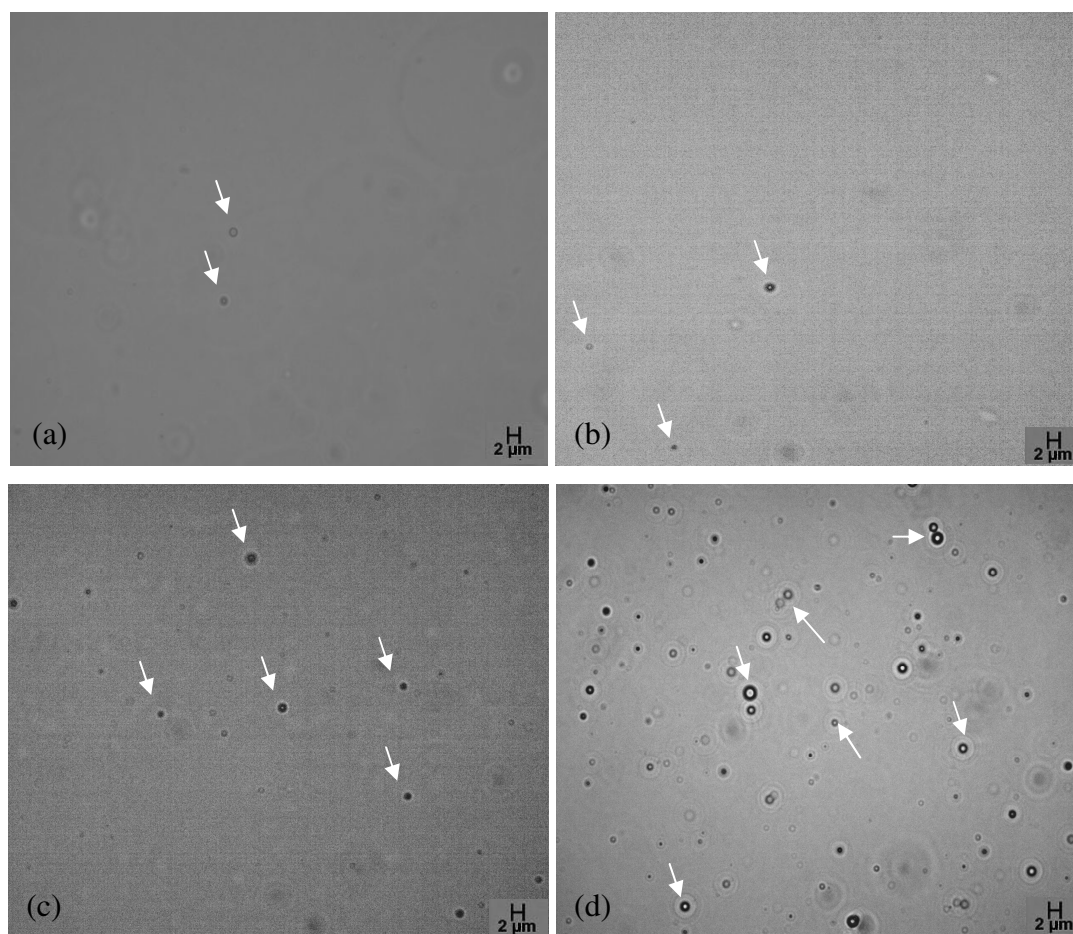


Figura 5.12. Microscopia eletrônica óptica (100x) mostrando a distribuição das gotas sobre o sistema. **(a)** 0,05% (v/v) óleo essencial; **(b)** 0,10% (v/v) óleo essencial; **(c)** 0,20% (v/v) óleo essencial; **(d)** 0,30% (v/v) óleo essencial. As setas indicam as gotas formadas, observando nas figuras com diferentes tamanhos de gotas **(c)** e **(d)**.

Os histogramas apresentados por Atares, Bonilla e Chiralt (2010) para as emulsões de filmes a base de caseinato de sódio e adicionados de óleos essenciais (0,2% a 0,8%) mostraram ser do tipo multimodal; o pico maior foi atribuído à leitura do caseinato de sódio junto com as gotas de óleo essencial de canela ou gengibre, semelhante a esse trabalho.

Emulsões compostas de quitosana com óleos essenciais de manjerição ou tomilho (0,5% e 1,0%) apresentaram distribuição do tamanho de gota de modo multimodal, onde se atribuiu a presença dos picos com maiores tamanhos de partícula a coalescência das gotas (BONILLA et al., 2012).

5.5. Avaliação das Propriedades de Barreira das Coberturas Comestíveis

A aplicação de coberturas comestíveis em produtos minimamente processados se torna interessante para conhecer as propriedades de barreira das coberturas, que podem ser determinadas através da medida da taxa respiratória dos produtos recobertos com a cobertura e também com a avaliação da resistência ao vapor de água que a cobertura pode oferecer ao produto.

O desenvolvimento de revestimentos à base de polissacarídeos pode proporcionar aumento significativo na vida de prateleira de frutas e hortaliças, devido à permeabilidade seletiva destes polímeros aos gases O_2 e CO_2 e à diminuição da permeabilidade ao vapor de água (FALGUERA et al., 2011).

5.5.1. Resistência ao Vapor de Água das Coberturas

Uma das finalidades do uso de filmes e coberturas comestíveis para frutas e hortaliças é retardar a transferência de gás, vapor e voláteis, proporcionando alimentos com atmosfera modificada que diminui a respiração e como consequência a senescência do fruto, reduzindo também a perda de aroma, permitindo reter umidade durante o armazenamento, entre outros (OLIVAS; BARBOSA-CÁNOVAS, 2009).

A resistência ao vapor de água dos ensaios contendo diferentes concentrações de óleos essenciais e de fécula de mandioca está apresentada nas Figuras 5.13 e 5.14, onde a primeira representa os ensaios com óleo essencial de casca de canela e na segunda figuram os ensaios com óleo essencial de erva doce. É desejável que as coberturas aumentem a resistência ao vapor de água da matriz vegetal, para que a desidratação do produto seja reduzida (GARCIA, 2009).

A resistência ao vapor de água da amostra controle (sem cobertura) apresentou o menor valor, com $14,55 \text{ s cm}^{-1}$, Rojas-Graü et al. (2007b) trabalhando com maçãs ‘Fuji’ encontraram valor semelhantes ao apresentado neste trabalho para as fatias de maçãs sem coberturas, $12,50 \text{ s cm}^{-1}$. A amostra controle não apresentou diferença estatística em relação aos tratamentos com 0,05%, 0,10% e 0,20% de óleo essencial de casca de canela ou erva doce para ambas as concentrações de fécula de mandioca (2% e 3%). De acordo com

Garcia et al. (2010), estes resultados confirmam que estas coberturas não ofereceram resistência ao vapor de água adicional à resistência já oferecida pela matriz vegetal.

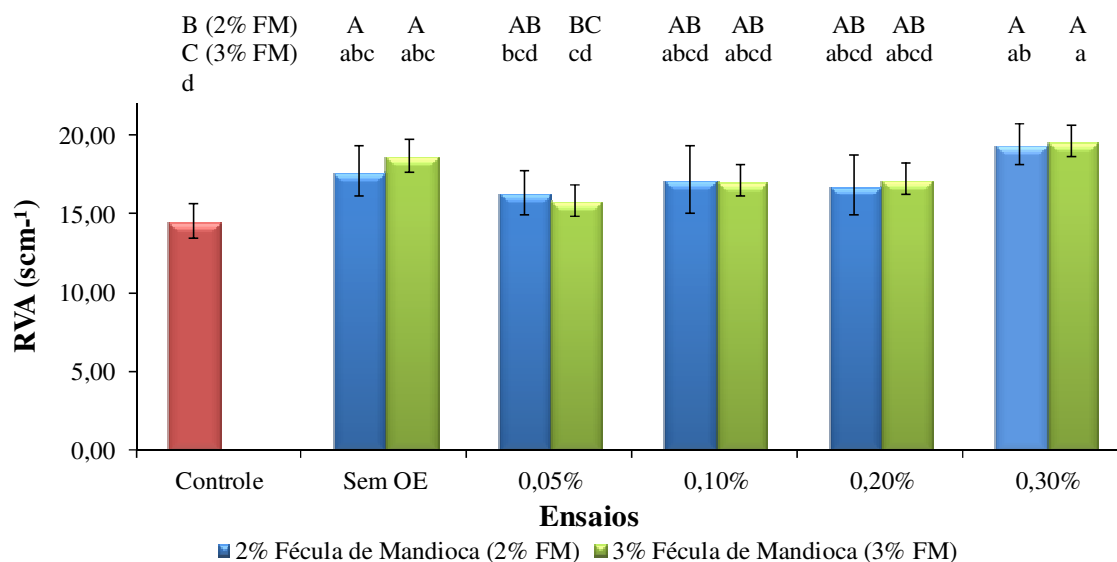


Figura 5.13. Respostas da RVA das coberturas com óleo essencial de casca de canela. **Controle:** Amostra sem cobertura. **Sem OE:** Cobertura sem a presença de óleo essencial. **0,05%:** Coberturas com 0,05% (v/v) de óleo essencial de casca de canela. **0,10%:** Coberturas com 0,10% (v/v) de óleo essencial de casca de canela. **0,20%:** Coberturas com 0,20% (v/v) de óleo essencial de casca de canela. **0,30%:** Coberturas com 0,30% (v/v) de óleo essencial de casca de canela. Médias seguidas de mesma letra não diferem significativamente pelo teste Tukey a 5%. Letras maiúsculas: Efeito entre as concentrações de óleo essencial para uma concentração fixa de fécula de mandioca. Letras minúsculas: Efeito entre as concentrações de fécula de mandioca e óleo essencial.

Considerando somente os ensaios que tiveram adição de óleo essencial de casca de canela ou erva doce, a formulação com 0,30% de óleo foi o único ensaio que não apresentou semelhança com a amostra controle, o que pode ser um indício da influência do óleo nas propriedades de barreira ao vapor de água. Esse resultado foi mais discutido no item 5.8.1, que estudou a viscosidade das coberturas.

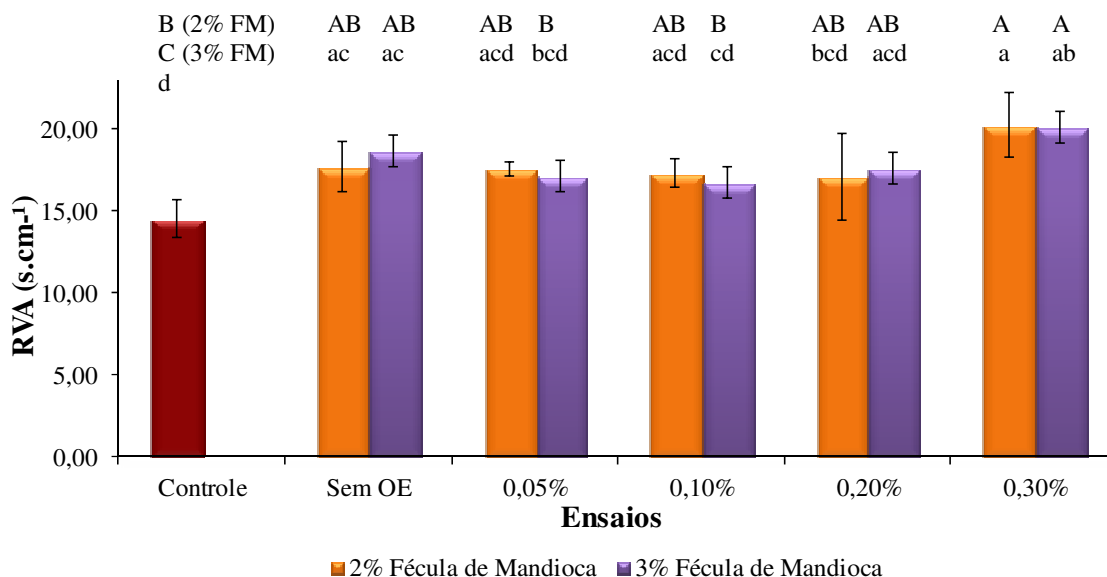


Figura 5.14. Respostas da RVA das coberturas com óleo essencial de erva doce. **Controle:** Amostra sem cobertura. **Sem OE:** Cobertura sem a presença de óleo essencial. **0,05%:** Coberturas com 0,05% (v/v) de óleo essencial de erva doce. **0,10%:** Coberturas com 0,10% (v/v) de óleo essencial de erva doce. **0,20%:** Coberturas com 0,20% (v/v) de óleo essencial de erva doce. **0,30%:** Coberturas com 0,30% (v/v) de óleo essencial de erva doce. Médias seguidas de mesma letra não diferem significativamente pelo teste Tukey a 5%. Letras maiúsculas: Efeito entre as concentrações de óleo essencial para uma concentração fixa de fécula de mandioca. Letras minúsculas: Efeito entre as concentrações de fécula de mandioca e óleo essencial.

A faixa de variação da resistência ao vapor de água foi de 15,83 s cm⁻¹ a 19,62 s cm⁻¹ para as formulações com óleo essencial de casca de canela e 16,78 s cm⁻¹ a 20,28 s cm⁻¹ nos ensaios com óleo essencial de erva doce. Observou-se que os ensaios com óleo essencial de erva doce apresentaram resistência ao vapor de água ligeiramente maiores que os ensaios com óleo essencial de casca de canela.

As formulações compostas somente por fécula de mandioca proporcionaram valores para resistência ao vapor de água de 17,74 s cm⁻¹ e 18,69 s cm⁻¹, para 2% e 3% de fécula, respectivamente, e estatisticamente não apresentaram diferença ($p > 0,05$) entre si. Porém, em relação ao ensaio sem cobertura, ambas as concentrações de fécula apresentaram diferenças estatísticas significativas ($p < 0,05$). Garcia et al. (2010) aplicaram coberturas à base de fécula de mandioca em rodela de cenouras e verificaram que a resistência ao vapor de água para as concentrações de 1% e 2% de amido não apresentou diferença estatística

($p > 0,05$) em comparação ao tratamento sem coberturas, apenas 3% de fécula proporcionou aumento significativo na resistência ao vapor de água.

Aplicação de coberturas à base de fécula de mandioca em abacaxi minimamente processado resultou que 1% e 2% de fécula proporcionaram os mesmos efeitos de barreira ao vapor de água, porém 3% de amido apresentou resultado similar ao tratamento sem cobertura (BIERHALS; CHIUMARELLI; HUBINGER, 2011). Alguns autores justificam grande influência da matriz vegetal e a interação da matriz com o polímero da cobertura para a resposta de resistência ao vapor de água (TAPIA et al., 2007).

Aplicação de cobertura à base de gelana (0,5% p/v) e alginato (2% p/v) adicionados de óleo de girassol foram feitas em maçãs ‘Fuji’ minimamente processadas para análise da resistência ao vapor de água. A adição de 0,125% de óleo de girassol aumentou significativamente a resistência ao vapor de água das amostras comparadas com as fatias de maçãs somente com cobertura (ROJAS-GRAÜ et al., 2007b).

Oms-Oliu, Soliva-Fortuny e Martín-Belloso (2008) utilizaram melão como produto minimamente processado e analisaram a resistência ao vapor de água de coberturas à base de polissacarídeos (gelana (0,5% p/v), alginato (2% p/v) e pectina (2% p/v)) adicionados de óleo de girassol (0,025% p/v). Verificaram em todas as formulações o aumento significativo da resistência ao vapor de água quando comparado ao fruto sem cobertura, sendo $23,35 \text{ s cm}^{-1}$ para as coberturas com gelana, $20,60 \text{ s cm}^{-1}$ para alginato e $19,3 \text{ s cm}^{-1}$ para a pectina.

Chiumarelli (2011) trabalhou com coberturas comestíveis à base de fécula de mandioca adicionada de ácidos graxos e cera de carnaúba com aplicação em maçãs ‘Gala’, e observou que as formulações com menor instabilidade, menor diâmetro de gota e maior densidade superficial de sólidos apresentaram maiores resistências ao vapor de água.

Neste trabalho, a cobertura somente com fécula de mandioca (2% e 3%) proporcionou aumento da resistência ao vapor de água em comparação ao fruto sem cobertura, já a adição de óleo nas coberturas à base de fécula somente mostrou interferência nas coberturas em que havia 0,30 % de óleo essencial, tanto para o óleo de casca de canela quanto para o de erva doce. Estatisticamente, a resistência ao vapor de água proporcionada pelas coberturas com maiores concentrações de óleos essenciais foi igual à resistência fornecida pela cobertura somente com fécula de mandioca. Algumas respostas podem ter

contribuído para esse resultado:

(1º) Óleos essenciais são compostos formados por cadeias curtas quando comparados aos ácidos graxos que possuem cadeias longas. Isso torna os ácidos graxos uma barreira mais eficiente à transferência de vapor de água, pois a molécula apresenta apenas uma parte hidrofílica muito pequena que não interage facilmente com a água (RHIM; SHELLHAMMER, 2005).

(2º) A concentração de óleo essencial adicionada ao sistema não foi suficiente para promover redução da perda de água em comparação ao tratamento somente com fécula, visto que os óleos essenciais são classificados como lipídeos, sendo os lipídeos caracterizados por sua hidrofobicidade, que quando inseridos em coberturas podem contribuir para formação de barreira ao vapor de água. Porém a aplicação de concentrações maiores que 0,30% de óleos essenciais em coberturas à base de fécula de mandioca pode influenciar nas características sensoriais do produto, como odor e sabor, conforme relatado por Raybaudi-Massilia; Mosqueda-Melgar; Martín-Belloso (2008) na qual a adição de óleo essencial de palmarosa em coberturas aplicadas em melões promoveu melhor aceitação sensorial na concentração de 0,3% (v/v). A concentração de 0,7% (v/v) não obteve aceitação. Rojas-Graü et al. (2007a) observaram a mesma resposta, onde 0,3% (p/p) de composto ativo de vanila obteve melhor aceitação sensorial em coberturas aplicadas em fatias de maçãs.

(3º) As coberturas com 2% e 3% de fécula podem ter apresentado a mesma resistência ao vapor de água devido ao que Lin e Zhao (2007) comentam a respeito da aplicação de coberturas na superfície de frutas e hortaliças minimamente processadas: Vegetais com superfície úmida podem dissolver e absorver as coberturas, ao invés de secar e formar uma camada.

De modo geral, coberturas à base de fécula de mandioca proporcionam um aumento significativo na resistência ao vapor de água de frutos minimamente processados em comparação ao fruto sem cobertura, conforme relatos dos trabalhos feitos por Chiumarelli e Hubinger (2012) em maçãs 'Gala', Bierhals; Chiumarelli e Hubinger (2011) em abacaxis e Garcia et al. (2010) em morangos.

5.5.2. Taxa respiratória

O processamento mínimo em qualquer vegetal faz com que os tecidos sofram danos físicos que os tornam muito mais perecíveis comparados aos produtos *in natura*. Além disso, a atividade respiratória e a emissão de etileno são geralmente maiores, especialmente durante as primeiras horas depois de terem sido processados (ARTES; GOMEZ; ARTES-HERNANDEZ, 2007). O uso de coberturas comestíveis à base de polissacarídeos é um meio eficiente de reduzir a taxa de respiração de tecidos vegetais, já que as mesmas possuem permeabilidade seletiva ao O_2 e ao CO_2 , o que permite a formação de uma atmosfera modificada entre a cobertura e o fruto, resultando em redução na taxa de respiração (VARGAS et al., 2008).

Nas Tabelas 5.9 e 5.10 estão apresentadas as taxas respiratórias das fatias de maçãs com e sem coberturas com óleo essencial de casca de canela e erva doce, respectivamente.

Os tratamentos com óleo essencial de casca de canela ou erva doce e as coberturas somente com fécula de mandioca (2% e 3%) não apresentaram diferença estatística ($p>0,05$), porém as coberturas estudadas apresentaram redução estatisticamente significativa ($p<0,05$) na taxa respiratória das maçãs cortadas sem coberturas (Controle).

A taxa respiratória das maçãs sem coberturas foi de $4,09 \text{ mL } CO_2 \text{ kg}^{-1} \text{ h}^{-1}$, valor similar ao encontrado por Pan, Chen e Lai (2012), $4,11 \text{ mL } CO_2 \text{ kg}^{-1} \text{ h}^{-1}$, que trabalharam com maçãs ‘Fuji’ minimamente processadas. Os autores compararam a respiração do fruto sem cobertura com os frutos cobertos com amido de tapioca e não encontraram diferença estatística, porém a incorporação de óleo essencial de canela (0,2%) na cobertura resultou na redução de 32% da atividade respiratória dos frutos.

Chiumarelli e Hubinger (2012) aplicaram coberturas à base de fécula de mandioca adicionados de cera de carnaúba e ácido esteárico em fatias de maçãs ‘Gala’ e essas coberturas mostraram redução de até 52% na taxa de respiração dos frutos, porém as formulações com maiores concentrações de cera apresentaram aumento na taxa de respiração, indicando que esse composto lipídico afetou a continuidade da matriz, facilitando as trocas gasosas entre a amostra e o ambiente.

A incorporação de lipídeos em coberturas comestíveis à base de polissacarídeos pode não favorecer a formação de uma barreira para os gases. Vargas et al. (2006) verificaram que a aplicação de coberturas em morangos à base de quitosana contendo

maiores concentrações de ácido oléico promoveram taxas respiratórias maiores que o esperando quando comparadas a tratamentos contendo menores concentrações do ácido graxo. Isto pode ser devido à influência da microestrutura desenvolvida pela cobertura em interação com ácido graxo (tamanho e distribuição das gotículas), que influenciou na permeabilidade dos gases.

Tabela 5.9. Taxa respiratória para os ensaios com óleo essencial de casca de canela.

Ensaio	FM (%)	G (%)	OE (%)	Taxa Respiratória (mL CO ₂ kg ⁻¹ h ⁻¹)
Controle	-	-	-	4,09±0,09 ^{Aa}
A	2	0,50	-	2,73±0,52 ^{Bb}
1C	2	0,50	0,05	2,52±0,26 ^{Bb}
2C	2	0,50	0,10	2,26±0,55 ^{Bb}
3C	2	0,50	0,20	2,36±0,40 ^{Bb}
4C	2	0,50	0,30	2,33±0,39 ^{Bb}
B	3	0,75	-	2,87±0,26 ^{Bb}
5C	3	0,75	0,05	2,44±0,23 ^{Bb}
6C	3	0,75	0,10	2,48±0,38 ^{Bb}
7C	3	0,75	0,20	2,14±0,28 ^{Bb}
8C	3	0,75	0,30	2,32±0,70 ^{Bb}

FM: Fécula de mandioca; **G:** Glicerol; **OE:** Óleo Essencial. Médias seguidas de mesma letra não diferem significativamente pelo teste Tukey a 5%. Letras maiúsculas: Efeito entre as concentrações de óleo essencial para uma concentração fixa de fécula de mandioca. Letras minúsculas: Efeito entre as concentrações de fécula de mandioca.

Tabela 5.10. Taxa respiratória para os ensaios com óleo essencial de erva doce.

Ensaio	FM (%)	G (%)	OE (%)	Taxa Respiratória (mL CO ₂ kg ⁻¹ h ⁻¹)
Controle	-	-	-	4,09±0,09 ^{Aa}
A	2	0,50	-	2,73±0,52 ^{Bb}
1ED	2	0,50	0,05	2,27±0,50 ^{Bb}
2ED	2	0,50	0,10	2,24±0,46 ^{Bb}
3ED	2	0,50	0,20	2,40±0,49 ^{Bb}
4ED	2	0,50	0,30	2,25±0,47 ^{Bb}
B	3	0,75	-	2,87±0,26 ^{Bb}
5ED	3	0,75	0,05	2,79±0,26 ^{Bb}
6ED	3	0,75	0,10	2,83±0,06 ^{Bb}
7ED	3	0,75	0,20	2,33±0,55 ^{Bb}
8ED	3	0,75	0,30	2,48±0,41 ^{Bb}

FM: Fécula de mandioca; **G:** Glicerol; **OE:** Óleo Essencial. Médias seguidas de mesma letra não diferem significativamente pelo teste Tukey a 5%. Letras maiúsculas: Efeito entre as concentrações de óleo essencial para uma concentração fixa de fécula de mandioca. Letras minúsculas: Efeito entre as concentrações de fécula de mandioca.

O componente lipídico pode não ter interferido na resposta da taxa de respiração, uma vez que não se observou diferença estatística ($p > 0,05$) para as amostras com coberturas somente de fécula de mandioca. Mas ficou evidente que a incorporação de coberturas à base de fécula de mandioca promoveu redução considerável na taxa de respiração de maçãs minimamente processadas, para 2% e 3% de concentração.

5.6. Caracterização dos Filmes Comestíveis

A caracterização dos filmes comestíveis se torna interessante para entender o comportamento dos materiais envolvidos na formação das películas, tanto diante da ação de forças mecânicas para análise de tensão e elongação, quanto da possibilidade de conhecer as propriedades físicas e ópticas, como solubilidade e cor.

As propriedades mecânicas dos filmes que apresentam tensão na ruptura com valores maiores que o módulo de elasticidade podem oferecer coberturas mais apropriadas para proteção mecânica do produto (JOSHI; KRAL; TOPP, 1989).

A solubilidade em água dos filmes comestíveis indica a sua resistência à água quando aplicados, por exemplo, em alimentos ricos em água tais como frutas minimamente processadas (CERQUEIRA et al., 2012).

5.6.1. Propriedades Mecânicas

Testes mecânicos padronizados são utilizados em filmes comerciais e também são aplicados a filmes comestíveis. Tais testes podem incluir a resistência à tração, módulo de elongação na ruptura, módulo de elasticidade, entre outros. Filmes comestíveis têm baixo valor para as propriedades mecânicas comparados com filmes plásticos comuns, enquanto a elongação na ruptura varia amplamente. Alguns filmes comestíveis têm valores de elongação comparáveis aos filmes plásticos comuns (HAN; GENNADIOS, 2005).

As Tabelas 5.11 e 5.12 apresentam as propriedades mecânicas (tensão máxima na ruptura, elongação e módulo de elasticidade) de filmes elaborados conforme incluídas nas Tabelas 4.5, 4.6 e 4.7. Para esta análise foram utilizados filmes com espessura média de 137 ± 11 μm para os filmes com óleo essencial de erva doce e 138 ± 9 μm para os filmes com óleo essencial de casca de canela. Como pode ser visto nas Tabelas 5.11 e 5.12, não houve diferença significativa ($p > 0,05$) para as espessuras dos filmes, assim as diferentes formulações puderam ser comparadas.

Tabela 5.11. Respostas para tensão na ruptura (T), alongação na ruptura (Elo) e módulo de elasticidade (ME) obtidas para os filmes com óleo essencial de casca de canela.

Ensaio	FM (%)	G (%)	OE (%)	Espessura (μm)	T (MPa)	Elo (%)	ME (MPa)
A	2	0,50	-	132 $\pm$ 4 ^{Aa}	2,599 $\pm$ 0,148 ^{Ab}	68,20 $\pm$ 2,71 ^{Aa}	69,40 $\pm$ 5,65 ^{Aa}
1C	2	0,50	0,05	148 $\pm$ 8 ^{Aa}	1,562 $\pm$ 0,074 ^{Bc}	49,27 $\pm$ 4,82 ^{Bb}	57,38 $\pm$ 5,26 ^{Ba}
2C	2	0,50	0,10	142 $\pm$ 11 ^{Aa}	1,459 $\pm$ 0,118 ^{Bcd}	46,22 $\pm$ 3,74 ^{BCbc}	58,48 $\pm$ 2,57 ^{Ba}
3C	2	0,50	0,20	136 $\pm$ 9 ^{Aa}	1,479 $\pm$ 0,106 ^{Bcd}	39,09 $\pm$ 3,84 ^{CDbd}	52,50 $\pm$ 7,96 ^{Bb}
4C	2	0,50	0,30	137 $\pm$ 8 ^{Aa}	1,392 $\pm$ 0,125 ^{Bcd}	38,18 $\pm$ 4,40 ^{Dbcd}	53,06 $\pm$ 5,52 ^{Bb}
B	3	0,75	-	143 $\pm$ 9 ^{Aa}	3,380 $\pm$ 0,164 ^{Aa}	76,50 $\pm$ 3,60 ^{Aa}	69,80 $\pm$ 10,04 ^{Aa}
5C	3	0,75	0,05	135 $\pm$ 8 ^{Aa}	1,419 $\pm$ 0,209 ^{Bcd}	35,35 $\pm$ 6,58 ^{Bcd}	54,85 $\pm$ 4,89 ^{Bb}
6C	3	0,75	0,10	137 $\pm$ 8 ^{Aa}	1,359 $\pm$ 0,261 ^{Bcd}	36,74 $\pm$ 8,93 ^{Bcd}	58,54 $\pm$ 3,72 ^{Aa}
7C	3	0,75	0,20	136 $\pm$ 12 ^{Aa}	1,272 $\pm$ 0,112 ^{Bcd}	36,07 $\pm$ 8,81 ^{Bcd}	55,30 $\pm$ 6,09 ^{Bb}
8C	3	0,75	0,30	133 $\pm$ 5 ^{Aa}	1,224 $\pm$ 0,122 ^{Bd}	34,01 $\pm$ 6,19 ^{Bd}	54,34 $\pm$ 7,96 ^{Bb}

FM: Fécula de mandioca; **G:** Glicerol; **OE:** Óleo Essencial. Médias seguidas de mesma letra não diferem significativamente pelo teste Tukey a 5%. Letras maiúsculas: Efeito entre as concentrações de óleo essencial para uma concentração fixa de fécula de mandioca. Letras minúsculas: Efeito entre as concentrações de fécula de mandioca.

Tabela 5.12. Respostas para tensão na ruptura (T), alongação na ruptura (Elo) e módulo de elasticidade (ME) obtidas para os filmes com óleo essencial de erva doce.

Ensaio	FM (%)	G (%)	OE (%)	Espessura (μm)	T (MPa)	Elo (%)	ME (MPa)
A	2	0,50	-	132 $\pm$ 4 ^{Aa}	2,599 $\pm$ 0,148 ^{Ab}	68,20 $\pm$ 2,71 ^{Aa}	69,40 $\pm$ 5,65 ^{Aa}
1ED	2	0,50	0,05	132 $\pm$ 8 ^{Aa}	1,839 $\pm$ 0,136 ^{Bc}	43,91 $\pm$ 2,98 ^{Bbc}	49,12 $\pm$ 3,09 ^{Bb}
2ED	2	0,50	0,10	137 $\pm$ 11 ^{Aa}	1,602 $\pm$ 0,269 ^{BCcd}	44,80 $\pm$ 5,97 ^{Bbc}	48,46 $\pm$ 7,98 ^{Bb}
3ED	2	0,50	0,20	138 $\pm$ 9 ^{Aa}	1,396 $\pm$ 0,230 ^{Ccd}	45,25 $\pm$ 4,87 ^{Bbc}	45,96 $\pm$ 6,12 ^{Bb}
4ED	2	0,50	0,30	134 $\pm$ 9 ^{Aa}	1,461 $\pm$ 0,233 ^{BCcd}	49,67 $\pm$ 6,50 ^{Bb}	46,86 $\pm$ 5,39 ^{Bb}
B	3	0,75	-	143 $\pm$ 9 ^{Aa}	3,380 $\pm$ 0,164 ^{Aa}	76,50 $\pm$ 3,60 ^{Aa}	69,80 $\pm$ 10,04 ^{Aa}
5ED	3	0,75	0,05	144 $\pm$ 16 ^{Aa}	1,417 $\pm$ 0,235 ^{Bcd}	38,59 $\pm$ 5,28 ^{Bc}	48,84 $\pm$ 7,13 ^{Bb}
6ED	3	0,75	0,10	141 $\pm$ 14 ^{Aa}	1,464 $\pm$ 0,267 ^{Bcd}	38,56 $\pm$ 6,55 ^{Bc}	47,60 $\pm$ 3,94 ^{Bb}
7ED	3	0,75	0,20	137 $\pm$ 7 ^{Aa}	1,330 $\pm$ 0,081 ^{Bd}	43,06 $\pm$ 4,81 ^{Bbc}	47,82 $\pm$ 7,34 ^{Bb}
8ED	3	0,75	0,30	136 $\pm$ 11 ^{Aa}	1,669 $\pm$ 0,294 ^{Bcd}	42,92 $\pm$ 5,94 ^{Bbc}	43,24 $\pm$ 5,36 ^{Bb}

FM: Fécula de mandioca; **G:** Glicerol; **OE:** Óleo Essencial. Médias seguidas de mesma letra não diferem significativamente pelo teste Tukey a 5%. Letras maiúsculas: Efeito entre as concentrações de óleo essencial para uma concentração fixa de fécula de mandioca. Letras minúsculas: Efeito entre as concentrações de fécula de mandioca.

De modo geral, os filmes adicionados de óleo essencial, tanto de erva doce quanto de casca de canela, em ambas as concentrações de fécula, não apresentaram diferença significativa ($p > 0,05$) entre os resultados de tensão, alongação e módulo de elasticidade; entretanto, esses filmes foram menos resistentes e menos deformáveis do que os filmes somente com fécula de mandioca, apresentando diferença significativa ($p < 0,05$) entre essas últimas formulações.

Diferentes concentrações de óleo essencial não ocasionaram diferenças entre os ensaios de tração para os filmes, o que pode estar relacionado às baixas variações nas concentrações dos óleos essenciais.

Verificou-se que o óleo essencial de erva doce promoveu maiores valores para tensão na ruptura para os filmes, com variação de 1,330 MPa a 1,839 MPa. Para os filmes com óleo essencial de casca de canela os valores ficaram entre 1,224 MPa a 1,562 MPa.

Atares et al. (2010) verificaram que a adição de óleo essencial de gengibre (0,2% a 0,8% p/p) em filmes à base de proteína isolada de soja promoveu menores valores para tensão quando comparado aos filmes com óleo essencial de canela; os autores justificaram que a descontinuidade na matriz de proteína pode implicar em diminuição da tensão em filmes com óleo de gengibre, pois os lipídeos foram incapazes de formar uma matriz coesa e contínua.

A adição de óleo essencial de canela, cravo e pimenta da Jamaica em filmes à base de purê de maçã proporcionaram variação da tensão na ruptura quando se adicionaram concentrações de óleo essencial maiores que 1,5% (p/p). Já concentrações menores (0,5% e 1,0%) não apresentaram diferença estatística nas amostras (DU et al., 2009).

A alongação dos filmes adicionados de óleo essencial de erva doce, com 2% e 3% de fécula de mandioca, apresentou diferença estatística ($p < 0,05$) entre os ensaios 4 ED e 5ED e 4ED e 6ED. Nos ensaios com 2% de fécula de mandioca, os valores apresentados mostraram que com o aumento da concentração de óleo essencial nos filmes a alongação também aumentou. Os filmes com 2% de fécula de mandioca e óleo essencial de casca de canela mostrou que à medida que aumentou a concentração de óleo essencial no filme a alongação diminuiu.

Sánchez-González et al. (2009) observaram que a adição de óleo essencial de melaleuca (0,5; 1,0 e 2,0%) em filmes à base de hidroxipropilmetilcelulose provocou diminuição da elongação, mesmo comportamento em relação aos filmes com 2% de fécula de mandioca e óleo essencial de canela do presente trabalho. Os autores associaram tal redução ao fato da matriz do filme apresentar descontinuidade e a incorporação do óleo aumentar esse efeito, resultando em menor flexibilidade dos filmes.

Para os filmes adicionados de óleo essencial de erva doce ou casca de canela e 3% de fécula de mandioca verificou-se que os valores apresentados para elongação foram menores quando comparados com os filmes com 2% de fécula de mandioca.

Os filmes à base de fécula de mandioca (2% e 3%) apresentaram os maiores valores para a elongação, sendo estatisticamente diferentes ($p < 0,05$) dos filmes adicionados com óleo essencial, que apresentaram valores menores para elongação. Broumand et al. (2011) trabalharam com filmes à base de caseinato (5%p/p) que apresentaram elongação de 322%. A adição de óleo essencial de *Zataria multiflora* Boiss diminuiu a elongação (212%), os autores associaram o decréscimo da elongação devido ao enfraquecimento das ligações entre as proteínas devido à incorporação do óleo.

O módulo de elasticidade (ME) está relacionado à rigidez do material, ou seja, filmes com maior ME são mais rígidos. Os ensaios somente com fécula de mandioca apresentaram filmes com os maiores resultados para ME e foram estatisticamente diferentes ($p < 0,05$) das formulações com óleo essencial, resposta essa que pode ser devida à agitação necessária para homogeneização da fécula com o óleo essencial que por consequência rompeu as estruturas do amido resultando em filmes com menores valores de tensão na ruptura e também módulo de elasticidade, quando comparado aos filmes somente com fécula.

Os filmes adicionados de óleo essencial de casca de canela apresentaram resultados de tensão na ruptura e elongação menores em relação aos filmes com óleo essencial de erva doce. Estatisticamente, eles não foram comparados, porém os valores obtidos mostram que há uma diferença entre essas duas propriedades. Atares et al. (2010) obtiveram resultados que sugeriam a influência do tipo de óleo essencial no comportamento das propriedades mecânicas. Os autores trabalharam com baixas concentrações de óleos essenciais (0,2 a

0,8%) e colocaram como hipótese que os componentes do óleo essencial de canela podem interagir melhor com a matriz do filme de proteína isolada de soja do que o óleo de gengibre, resultando em filmes com estruturas mais contínuas, partindo do princípio da polaridade dos componentes principais dos óleos em interagir com a proteína, onde a canela por conter compostos de aldeídos e alcoóis (trans-cinamaldeído, eugenol) apresenta mais polaridade que os compostos em maior quantidade no óleo essencial de gengibre (zingibereno, β -bisaboleno curcumeno).

A análise da microscopia de força atômica dos filmes, realizada nos estudos de otimização, mostra resultados que podem ser um indício de que os filmes de casca de canela podem apresentar descontinuidade, item 5.8.2.

De modo geral, os resultados obtidos para o teste de propriedades mecânicas das películas comestíveis apresentaram valores para tensão na ruptura menores que o módulo de elasticidade. Joshi, Kral e Topp (1989) propuseram que maiores valores da razão tensão na ruptura e o módulo de elasticidade dos filmes apresentem coberturas mais apropriadas para proteção mecânica do produto. As películas desenvolvidas nesse trabalho apresentam propriedades mecânicas que podem não promover um efeito protetor eficaz da cobertura no alimento, pois apresentaram a razão tensão na ruptura/módulo de elasticidade com valores em torno de 0,030. Chiumarelli (2011) apresentou valores para a razão das propriedades dos filmes produzidos variando de 2 a 12.

5.6.2. Cor dos Filmes

A análise de cor é uma propriedade relevante em filmes, pois caso sejam destinados a atuar como embalagens, tem um impacto direto sobre a aparência do produto revestido.

As Figuras 5.15, 5.16 e 5.17 mostram a aparência dos filmes à base de fécula de mandioca e adicionados de óleo essencial. Não se observou diferença visual entre os filmes adicionados de óleo essencial. Os filmes sem o óleo exibiram maior rigidez e foram um pouco mais opacos quando comparado aos filmes com óleo essencial.

As Tabelas 5.13 e 5.14 mostram os resultados obtidos para os parâmetros L^* , a^* e b^* e para a opacidade (*haze*) dos filmes sem e com óleo essencial.

Abrangendo de forma geral o parâmetro L^* , que está relacionado à luminosidade dos filmes, observou-se que todos os ensaios propostos mostraram resultados de acordo com a escala CIEL*a*b* voltados para luminosidade branca, ou seja, o parâmetro L^* apresentou valores próximos a 100, resultando em filmes claros. Du et al. (2009) analisaram filmes à base de purê de maçã e adicionados de óleos essenciais; a adição dos óleos de canela, cravo ou pimenta da Jamaica ocasionou aumento no valor do parâmetro L^* ; neste estudo ocorreu a interferência do óleo sobre a luminosidade dos filmes, que mostraram valores para L^* entre 59 a 85.

Valores positivos do parâmetro a^* indicam que o filme apresentou coloração voltada para o vermelho e valores negativos para o verde. Nos filmes somente com fécula de mandioca foi verificado o maior valor para o parâmetro a^* (-0,02) e conforme a adição de óleo essencial nos filmes, esse parâmetro decresceu, apresentando diferença significativa entre os ensaios ($p < 0,05$). Nos filmes com óleo essencial de casca de canela ou erva doce, o parâmetro a^* apresentou-se negativo, ou seja, os filmes tenderam a uma coloração esverdeada. Os filmes com óleo essencial de casca de canela mostraram valores de a^* entre -0,08 a -0,25 e os filmes adicionados de óleo essencial de erva doce -0,02 a -0,11.

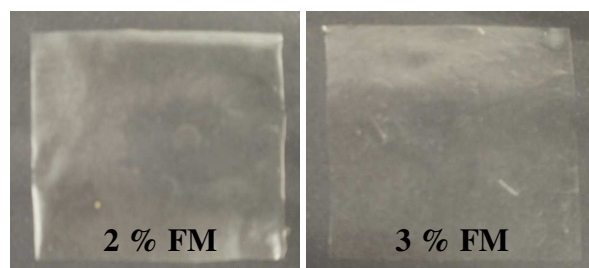


Figura 5.15. Aparência dos filmes somente a base de fécula de mandioca, elaborados conforme Tabela 4.5.

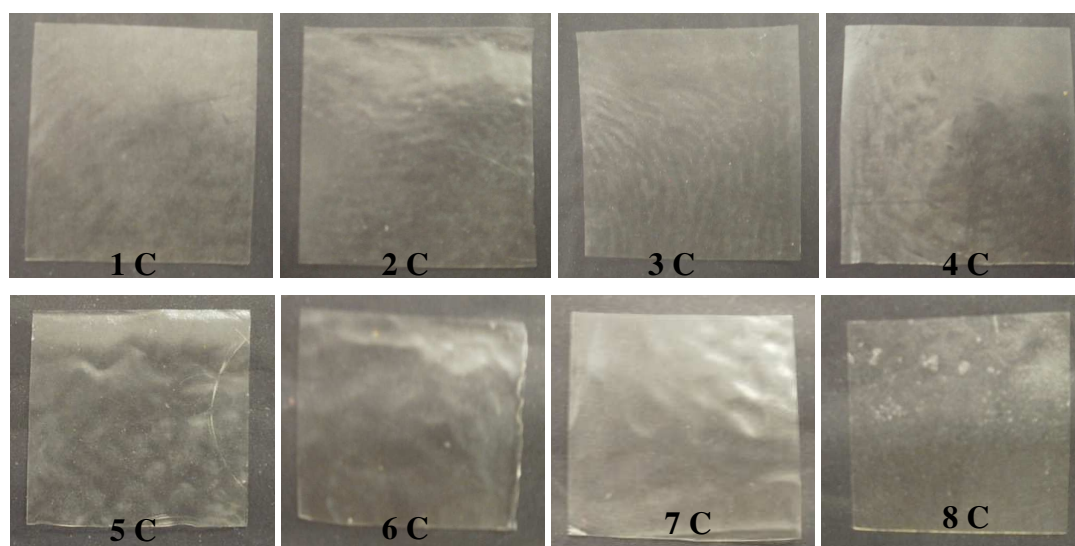


Figura 5.16. Aparência dos filmes com óleo essencial de casca de canela, elaborados conforme Tabela 4.6.

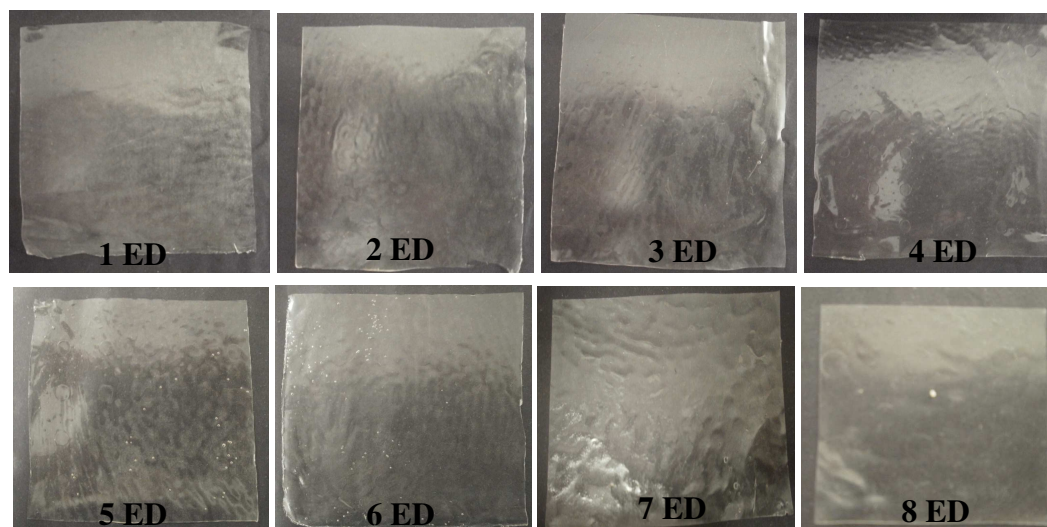


Figura 5.17. Aparência dos filmes com óleo essencial de casca de erva doce, elaborados conforme Tabela 4.7.

Estatisticamente o parâmetro b^* apresentou diferença ($p < 0,05$) para os ensaios propostos. Filmes sem óleo essencial mostraram o menor valor e à medida que se aumentava o teor de óleo no filme, o parâmetro também aumentou. Esse parâmetro relaciona os valores positivos como sendo a coloração amarela e os negativos a coloração azul. Para os filmes com óleo de casca de canela o parâmetro b^* variou de 1,24 a 2,33 e os de erva doce 1,09 a 1,70, esses filmes tiveram tendência para a coloração amarelada, com maiores valores para os filmes com óleo essencial de casca de canela.

Ambos os resultados dos parâmetros a^* e b^* mostraram a influência da coloração do óleo essencial sobre as películas. O fornecedor do óleo de casca de canela expõe a coloração como sendo amarela e para o óleo de erva doce de incolor a amarelo pálido (Anexo A).

A opacidade (*haze*) dos filmes com óleo essencial de casca de canela não apresentou diferença estatística ($p > 0,05$) exceto para as formulações com 3% de fécula de mandioca e 0,20% e 0,30% de óleo essencial de casca de canela (7C e 8C). Para os filmes com óleo essencial de erva doce, a opacidade aumentou conforme se acrescentou o óleo nos filmes, sendo que todos os ensaios apresentaram diferença estatística ($p < 0,05$) entre as amostras. Verificou-se que as emulsões das formulações com óleo essencial de erva doce eram mais opacas que as de casca de canela, o que pode ter influenciado na opacidade dos filmes, já que nas formulações com casca de canela a opacidade variou de 28,77% a 38,60% e os filmes com erva doce de 27,27% a 43,20%.

A adição de azeite de oliva em filmes de gelatina aumentou a opacidade dos filmes quando comparados com a película de controle (filmes de gelatina), indicando que os filmes foram menos transparentes devido à inclusão do azeite (MA et al., 2012).

Tabela 5.13. Resposta da opacidade (*haze*), luminosidade (L^*), coordenadas cromáticas a^* e b^* obtidas através dos filmes com óleo essencial de casca de canela.

Ensaio	FM (%)	G (%)	OE (%)	L^*	a^*	b^*	<i>haze</i> (%)
A	2	0,50	-	95,65±0,02 ^{Bb}	-0,02±0,01 ^{Aa}	0,93±0,07 ^{Cg}	30,20±2,40 ^{Ab}
1C	2	0,50	0,05	95,48±0,01 ^{Cc}	-0,08±0,01 ^{Bb}	1,42±0,06 ^{Bcd}	28,80±1,50 ^{Ab}
2C	2	0,50	0,10	95,34±0,04 ^{Dd}	-0,13±0,01 ^{Cc}	1,54±0,01 ^{Bbc}	29,07±0,15 ^{Ab}
3C	2	0,50	0,20	95,82±0,02 ^{Aa}	-0,15±0,01 ^{Dd}	1,59±0,05 ^{Bb}	30,30±0,44 ^{Ab}
4C	2	0,50	0,30	95,27±0,03 ^{Ddef}	-0,25±0,01 ^{Ef}	2,33±0,09 ^{Aa}	31,63±1,68 ^{Ab}
B	3	0,75	-	95,58±0,02 ^{Ab}	-0,02±0,01 ^{Aa}	0,92±0,02 ^{Dg}	32,27±0,90 ^{Bb}
5C	3	0,75	0,05	95,22±0,04 ^{BCef}	-0,12±0,01 ^{Bc}	1,24±0,04 ^{Cf}	28,77±2,06 ^{Cb}
6C	3	0,75	0,10	95,31±0,07 ^{Bde}	-0,13±0,01 ^{Bcd}	1,28±0,03 ^{Cef}	30,47±0,67 ^{BCb}
7C	3	0,75	0,20	95,19±0,01 ^{Cf}	-0,14±0,01 ^{Bcd}	1,39±0,01 ^{Bde}	36,80±1,10 ^{Aa}
8C	3	0,75	0,30	95,19±0,02 ^{Cf}	-0,19±0,01 ^{Ce}	1,57±0,05 ^{Ab}	38,60±0,66 ^{Aa}

FM: Fécula de mandioca; **G:** Glicerol; **OE:** Óleo Essencial. Médias seguidas de mesma letra não diferem significativamente pelo teste Tukey a 5%. Letras maiúsculas: Efeito entre as concentrações de óleo essencial para uma concentração fixa de fécula de mandioca. Letras minúsculas: Efeito entre as concentrações de fécula de mandioca.

Tabela 5.14. Resposta da opacidade (*haze*), luminosidade (L^*), coordenadas cromáticas a^* e b^* obtidas através dos filmes com óleo essencial de erva doce.

Ensaio	FM (%)	G (%)	OE (%)	L^*	a^*	b^*	<i>haze</i> (%)
A	2	0,50	-	95,65±0,02 ^{Aa}	-0,02±0,01 ^{Aa}	0,93±0,07 ^{Df}	30,20±2,40 ^{Bcd}
1ED	2	0,50	0,05	95,15±0,01 ^{Bd}	-0,04±0,01 ^{Bb}	1,31±0,01 ^{Cc}	31,77±0,67 ^{Bbc}
2ED	2	0,50	0,10	94,82±0,01 ^{Ce}	-0,11±0,01 ^{De}	1,59±0,03 ^{Bb}	32,83±1,72 ^{Bbc}
3ED	2	0,50	0,20	94,88±0,05 ^{Ce}	-0,09±0,01 ^{Cd}	1,70±0,04 ^{Aa}	32,83±0,42 ^{Bbc}
4ED	2	0,50	0,30	95,63±0,07 ^{Aa}	-0,07±0,01 ^{Ccd}	0,94±0,02 ^{Df}	43,20±1,21 ^{Aa}
B	3	0,75	-	95,58±0,02 ^{Aab}	-0,02±0,01 ^{Aa}	0,92±0,02 ^{Df}	32,27±0,90 ^{Cbc}
5ED	3	0,75	0,05	95,52±0,02 ^{Bb}	-0,02±0,01 ^{Aa}	1,23±0,02 ^{Bcd}	27,27±0,38 ^{Dd}
6ED	3	0,75	0,10	95,34±0,01 ^{Cc}	-0,05±0,01 ^{Bb}	1,14±0,01 ^{Ae}	32,37±0,49 ^{Cbc}
7ED	3	0,75	0,20	95,33±0,02 ^{Cc}	-0,06±0,01 ^{Ba}	1,09±0,01 ^{Ce}	34,20±0,53 ^{Bb}
8ED	3	0,75	0,30	95,14±0,01 ^{Dd}	-0,09±0,01 ^{Cd}	1,14±0,01 ^{Ade}	42,07±0,38 ^{Aa}

FM: Fécula de mandioca; **G:** Glicerol; **OE:** Óleo Essencial. Médias seguidas de mesma letra não diferem significativamente pelo teste Tukey a 5%. Letras maiúsculas: Efeito entre as concentrações de óleo essencial para uma concentração fixa de fécula de mandioca. Letras minúsculas: Efeito entre as concentrações de fécula de mandioca.

5.6.3. Solubilidade e Umidade dos Filmes

A solubilidade de filmes comestíveis indica a sua integridade num ambiente aquoso. Alta solubilidade poder indicar que os filmes apresentam baixa resistência à água. A solubilidade dos filmes é um fator importante que determina a biodegradabilidade quando usados como embalagem. Embora uma menor solubilidade dos filmes comestíveis seja necessária considerando o destino para embalagem. A alta solubilidade dos filmes comestíveis é vantajosa quando se deseja cozinhar um alimento e o mesmo se encontra revestido com filmes comestíveis (MAIZURA et al., 2007).

As Tabelas 5.15 e 5.16 apresentam a solubilidade e umidade dos filmes à base de fécula de mandioca sem e com adição de óleo essencial.

A solubilidade em água das películas sem adição de óleo essencial apresentou valores de 15,34% e 16,78% para 2% e 3% de fécula de mandioca, respectivamente, não apresentando diferença estatística ($p > 0,05$) entre essas amostras. Chiumarelli e Hubinger (2012) encontraram solubilidade para películas à base de fécula de mandioca (3%), sem adição de lipídeos, de 42,85%, valor bem diferente do obtido neste trabalho para as películas somente com fécula, porém vários fatores podem ter interferido, como por exemplo, a concentração do glicerol adicionado. Os autores trabalharam nessa formulação com 2% de glicerol, este composto tem como característica grande afinidade com a água, sendo que este presente trabalho usou concentrações de 0,50% e 0,75% de glicerol para 2% e 3% de fécula de mandioca, respectivamente.

Os filmes adicionados dos óleos essenciais de casca de canela ou erva doce mostraram alta solubilidade em comparação aos filmes à base de polissacarídeos, com resultados acima de 57% até 68%. A alta solubilidade apresentada pelos filmes com óleo essencial pode ter relação com a estrutura dos filmes, já que a homogeneização da fécula com o óleo causou rompimento das ligações de hidrogênio entre a água e as moléculas de amilose e amilopectina, reduzindo as oportunidades para que as moléculas combinem entre si e por consequência causando baixa coesão da matriz. Conforme relatado por Tongdeesoontorn et al. (2011), filmes com 5% de fécula de mandioca mostraram solubilidade de 73%, a adição de carboximetil celulose nos filmes diminuiu a solubilidade

devido à formação de ligações de hidrogênio com o grupamento hidroxila do amido, melhorando assim as interações entre as moléculas, aumentando a coesão da matriz e diminuindo a solubilidade em água.

Tabela 5. 15. Solubilidade e umidade dos filmes com óleo essencial de casca de canela.

Ensaio	FM (%)	G (%)	OE (%)	Solubilidade (%)	Umidade (%) Base Úmida
A	2	0,50	-	15,34±0,74 ^{Bb}	13,07±0,55 ^{Aa}
1C	2	0,50	0,05	60,56±4,10 ^{Aa}	13,67±0,80 ^{Aa}
2C	2	0,50	0,10	61,12±0,32 ^{Aa}	13,83±0,54 ^{Aa}
3C	2	0,50	0,20	60,48±2,63 ^{Aa}	13,02±0,48 ^{Aa}
4C	2	0,50	0,30	57,34±9,89 ^{Aa}	13,41±0,56 ^{Aa}
B	3	0,75	-	16,78±1,18 ^{Bb}	13,29±1,31 ^{Aa}
5C	3	0,75	0,05	61,45±6,38 ^{Aa}	14,12±0,41 ^{Aa}
6C	3	0,75	0,10	60,99±2,58 ^{Aa}	14,23±0,52 ^{Aa}
7C	3	0,75	0,20	60,31±9,72 ^{Aa}	13,81±0,31 ^{Aa}
8C	3	0,75	0,30	62,25±5,62 ^{Aa}	13,76±0,38 ^{Aa}

FM: Fécula de mandioca; **G:** Glicerol; **OE:** Óleo Essencial. Médias seguidas de mesma letra não diferem significativamente pelo teste Tukey a 5%. Letras maiúsculas: Efeito entre as concentrações de óleo essencial para uma concentração fixa de fécula de mandioca. Letras minúsculas: Efeito entre as concentrações de fécula de mandioca.

A determinação do teor de umidade nos filmes informa a quantidade de água presente nas películas (CERQUEIRA et al., 2012).

Filmes sem ou com a adição dos óleos essenciais mostraram não possuir diferença estatística entre as umidades medidas ($p>0,05$), apresentando valores na faixa de 13% a 14% de umidade. A concentração de glicerol adicionado nas películas pode ter favorecido esse resultado, pois a adição de glicerol em filmes, devido à sua natureza hidrofílica, colabora na retenção de água na matriz, aumentando a umidade da película (CERQUEIRA et al., 2012). Os filmes elaborados neste estudo apresentaram umidades consideradas dentro da faixa dos resultados encontrados na literatura para filmes à base de

polissacarídeos e com concentrações de glicerol similares à que foi usada nesse trabalho (GHANBARZADEH; ALMASI, 2011; THAKHIEW; DEVAHASTIN; SOPONRONNARIT, 2010).

Chiumarelli (2011) obteve filmes à base de fécula de mandioca com umidade que variou de 25% a 47%; a alta umidade foi influenciada pelo glicerol presente nas soluções.

Cerqueira et al. (2012), utilizando filmes de quitosana adicionados de óleo de milho, verificaram que a incorporação do óleo diminuiu a umidade comparado com o filme somente com quitosana, de 30% para 27%, aproximadamente, porém não apresentaram diferença estatisticamente significativa ($p>0,05$).

Tabela 5.16. Solubilidade e umidade dos filmes com óleo essencial de erva doce.

Ensaio	FM (%)	G (%)	OE (%)	Solubilidade (%)	Umidade (%) Base Úmida
A	2	0,50	-	15,34±0,74 ^{Bb}	13,07±0,55 ^{Aa}
1ED	2	0,50	0,05	57,25±5,18 ^{Aa}	12,82±0,33 ^{Aa}
2ED	2	0,50	0,10	68,22±3,25 ^{Aa}	12,89±0,17 ^{Aa}
3ED	2	0,50	0,20	61,37±4,43 ^{Aa}	13,39±0,64 ^{Aa}
4ED	2	0,50	0,30	65,65±7,43 ^{Aa}	13,64±0,64 ^{Aa}
B	3	0,75	-	16,78±1,18 ^{Bb}	13,29±1,31 ^{Aa}
5ED	3	0,75	0,05	67,43±1,40 ^{Aa}	13,95±0,37 ^{Aa}
6ED	3	0,75	0,10	62,76±4,26 ^{Aa}	12,85±0,10 ^{Aa}
7ED	3	0,75	0,20	63,85±3,25 ^{Aa}	13,21±0,07 ^{Aa}
8ED	3	0,75	0,30	67,61±3,15 ^{Aa}	13,56±0,17 ^{Aa}

FM: Fécula de mandioca; **G:** Glicerol; **OE:** Óleo Essencial. Médias seguidas de mesma letra não diferem significativamente pelo teste Tukey a 5%. Letras maiúsculas: Efeito entre as concentrações de óleo essencial para uma concentração fixa de fécula de mandioca. Letras minúsculas: Efeito entre as concentrações de fécula de mandioca.

5.7. Conclusões da Etapa II

Na Etapa II foi possível conhecer algumas das propriedades e característica da cobertura comestível de fécula de mandioca inserida com óleo essencial.

A estabilidade das coberturas adicionadas de óleo essencial mostrou as formulações com 3% de fécula de mandioca com separação da água para ambos os óleos essenciais, o que não garantiu um sistema homogêneo, isso poderia afetar as propriedades de barreira, porém não foi observado alteração nessa propriedade.

Em relação à propriedade de barreira, verificou-se que a resistência ao vapor de água das coberturas inseridas de óleo essencial não apresentaram diferença em comparação as coberturas somente com fécula de mandioca, tanto para as coberturas com 2% e 3% de amido. Para a atuação da cobertura como barreira a gases, também não se observou diferença entre a cobertura sem e com o óleo essencial. Uma das respostas para o óleo essencial não ter contribuído nas propriedades de barreira, principalmente em relação à resistência ao vapor de água, pode ser a baixa quantidade de óleo essencial adicionada às coberturas.

As propriedades mecânicas dos filmes comestíveis mostraram que as películas com óleo essencial de casca de canela podem apresentar descontinuidade na sua matriz, pois apresentaram valores para a tensão e elongação um pouco menores em comparação aos filmes com óleo essencial de erva doce.

De modo geral, os filmes com 2% e 3% de fécula de mandioca adicionados de óleo essencial de casca de canela ou erva doce apresentaram resultados semelhantes para as propriedades mecânicas e solubilidade, porém os filmes somente com fécula de mandioca mostraram resultados estatisticamente diferentes dos filmes adicionados de óleo essencial.

ETAPA III – Seleção e Estudos das Formulações Otimizadas

5.8. Seleção das Formulações Otimizadas

Com base nas respostas para a resistência ao vapor de água e taxa respiratória dos ensaios analisados na ETAPA II, verificou-se que as concentrações de 2% e 3% de fécula de mandioca não apresentaram diferenças entre os ensaios, com distintas concentrações de ambos os óleos essenciais. Assim, optou-se para dar sequência aos estudos de otimização com a menor concentração de fécula de mandioca (2% p/v), visto que quando utilizada em grande escala a redução na quantidade de matéria-prima é favorável ao custo do processo. Outra observação a ser feita é a estabilidade das emulsões; nas formulações com 2% de fécula de mandioca, a solução se manteve estável durante os 7 dias de análise, com 3% de fécula de mandioca apresentou separação da água.

Os testes de propriedades mecânicas dos filmes não apresentaram influência da concentração de amido adicionado, sendo mais uma justificativa para utilizar 2% de fécula de mandioca nos estudos de otimização.

A otimização na concentração de óleo essencial também foi necessária, já que estes não apresentaram efeito significativo das concentrações estudadas, optando por se trabalhar com a máxima concentração de óleo (0,30% v/v) e uma concentração intermediária (0,10% v/v). A Tabela 5.17 mostra os ensaios otimizados.

Tabela 5. 17. Ensaios otimizados

Ensaios	FM (%)	G (%)	OE (%)	OE utilizado
1	2	0,50	-	-
2	2	0,50	0,10	Casca de Canela
3	2	0,50	0,30	Casca de Canela
4	2	0,50	0,10	Erva Doce
5	2	0,50	0,30	Erva Doce

FM: Fécula de Mandioca; **G:** Glicerol; **OE:** Óleo Essencial

5.9. Estudo das Formulações Otimizadas

5.9.1. Comportamento Reológico

Medidas reológicas em estado estacionário foram realizadas para as formulações da Tabela 4.5. A Figura 5.18 apresenta, como exemplo, as curvas referentes ao comportamento das emulsões com óleo essencial e a suspensão de fécula de mandioca (2% p/v).

A formulação somente com fécula de mandioca mostrou comportamento típico de um fluido com propriedades pseudoplásticas ($n < 1$), que tem como característica diminuir a viscosidade aparente com o aumento da taxa de deformação (Figura 5.19), provavelmente devido ao alinhamento de partículas não-esféricas, remoção de moléculas de solvente ligadas às partículas, entre outros efeitos (MCCLEMENTS, 2005a; NEWSTEIN *et al.*, 1999).

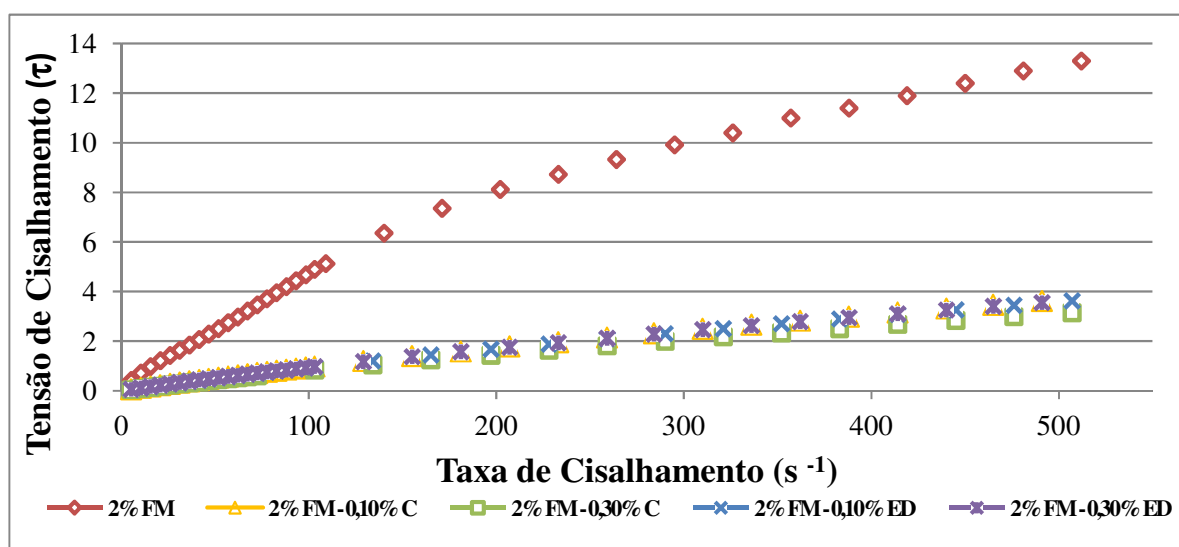


Figura 5.18. Comportamento reológico das coberturas emulsionadas e da cobertura somente com fécula de mandioca sem agitação (2% p/v).

As coberturas emulsionadas apresentaram visualmente comportamento de fluidos com características Newtonianas (Figura 5.18), onde a tensão de cisalhamento é

proporcional à taxa de cisalhamento, porém a Tabela 5.18 apresenta através dos modelos matemáticos que os fluidos possuíam comportamento pseudoplástico, sendo justificado esse comportamento por três motivos:

(1°) O adimensional n foi menor que 1, o que caracterizou o fluido como pseudoplástico (STEFFE; DAUBERT, 2006).

(2°) O coeficiente de regressão linear apresentado no modelo matemático para a Lei da Potência mostrou maior proximidade a 100%, ao contrário do modelo matemático para Fluidos Newtonianos, que apresentou o coeficiente com variação abaixo de 99,2% para as formulações emulsionadas.

(3°) A análise da Figura 5.19 também justificou as coberturas emulsionadas como pseudoplásticas, já que a viscosidade diminuiu com o acréscimo da taxa de cisalhamento. Fluido Newtoniano apresenta viscosidade constante (STEFFE; DAUBERT, 2006).

Tabela 5. 18. Parâmetros de ajuste do Modelo da Lei da Potência e do Modelo Newtoniano aos dados experimentais das formulações de coberturas a base de fécula de mandioca.

Modelos Matemáticos	Lei da Potência			Fluidos Newtonianos	
Ensaio	K (Pa.s ⁿ)	N (adimensional)	R ² (%)	η (Pa.s)	R ² (%)
2% FM	0,093±0,015	0,802±0,025	99,882±0,016	0,029±0,000	98,587±0,418
2%FM/0,10% C	0,021±0,001	0,833±0,000	99,990±0,001	0,008±0,000	99,154±0,006
2%FM /0,30% C	0,017±0,000	0,834±0,002	99,990±0,001	0,007±0,000	99,197±0,023
2%FM/0,10% ED	0,021±0,001	0,827±0,003	99,990±0,001	0,008±0,000	99,081±0,036
2%FM/0,30% ED	0,021±0,002	0,834±0,003	99,991±0,002	0,008±0,000	99,166±0,031

K: índice de consistência. **n:** índice de escoamento. **R²:** Coeficiente de Regressão Linear
2% FM: 2% de fécula de mandioca sem óleo essencial; **2%FM/0,10% C:** 2% de fécula de mandioca e 0,10% (v/v) de óleo essencial de casca de canela; **2%FM/0,30% C:** 2% de fécula de mandioca e 0,30% (v/v) de óleo essencial de casca de canela; **2%FM/0,10% ED:** 2% de fécula de mandioca e 0,10% (v/v) de óleo essencial de erva doce; **2%FM/0,30% ED:** 2% de fécula de mandioca e 0,30% (v/v) de óleo essencial de erva doce.

O comportamento reológico de um alimento depende do tipo e concentração dos ingredientes que ela contém, assim como o tratamento e as condições de armazenagem que tenha experimentado (MCCLEMENTS, 2005a). Ficou evidente que a agitação mecânica do

sistema emulsionado (fécula+óleo essencial) ocasionou redução na viscosidade da cobertura (Figura 5.19), devido ao rompimento da interação água com as cadeias de amilopectina e amilose, tornando o movimento das macromoléculas mais flexíveis e com mais volume de solução aquosa livre. Como consequência, há o declínio do efeito pseudoplástico (HUANG et al., 2007).

Propriedades reológicas das emulsões formadoras de filmes à base de hidroxipropilmetilcelulose (5% p/p) e óleo essencial de melaleuca (0; 0,5; 1 e 2% p/p) foram classificados como fluidos pseudoplásticos. A única concentração que apresentou diferença estatística para a viscosidade foi a formulação em que havia maior concentração de óleo essencial. Os autores justificaram esse resultado devido ao ensaio ter maior volume de fase dispersa e o menor tamanho de gota, o que pode contribuir para o aumento da viscosidade (SÁNCHEZ-GONZÁLEZ et al., 2009).

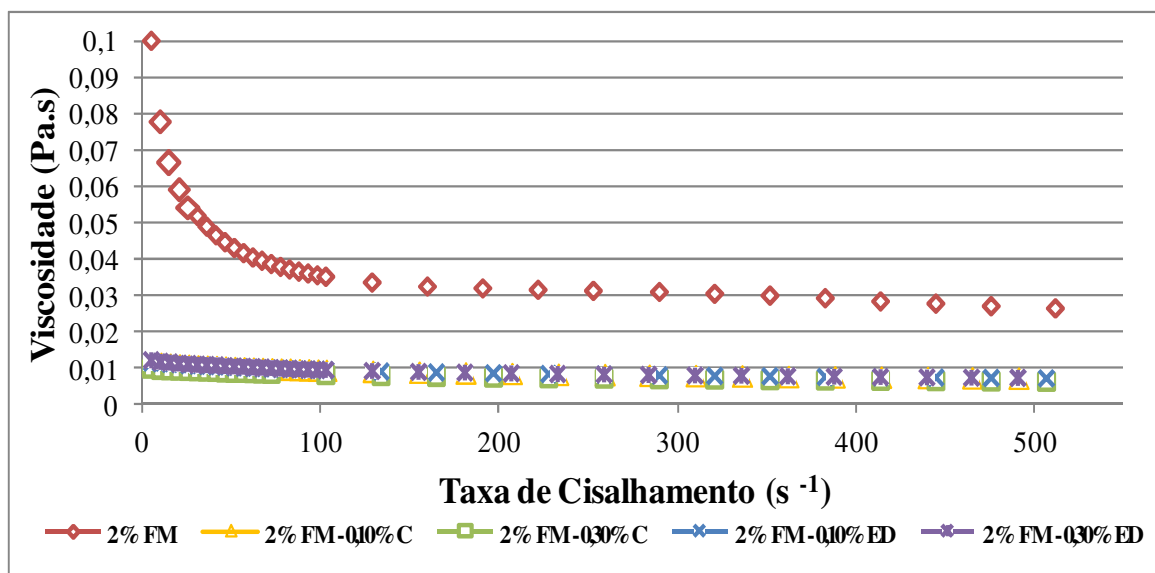


Figura 5.19. Viscosidade das coberturas comestíveis através das medidas reológicas.

2% FM: 2% de fécula de mandioca sem óleo essencial; **2% FM -0,10% C:** 2% de fécula de mandioca e 0,10% (v/v) de óleo essencial de casca de canela; **2% FM -0,30% C:** 2% de fécula de mandioca e 0,30% (v/v) de óleo essencial de casca de canela; **2% FM-0,10% ED:** 2% de fécula de mandioca e 0,10% (v/v) de óleo essencial de erva doce; **2% FM -0,30% ED:** 2% de fécula de mandioca e 0,30% (v/v) de óleo essencial de erva doce.

A viscosidade aparente das formulações, Tabela 5.19, foi avaliada para a taxa de cisalhamento de $100 s^{-1}$, visto que pode ser um gradiente típico gerado durante o processo

de aplicação da cobertura comestível sobre a amostra (PERDONES; SÁNCHEZ-GONZÁLEZ; VARGAS, 2012). A viscosidade aparente das formulações como cobertura emulsionada apresentou efeito similar ($p < 0,05$), mostrando que a adição de óleo essencial de casca de canela ou erva doce em diferentes concentrações não causou efeitos sobre a viscosidade da cobertura. Atares et al. (2010) não observaram mudanças na viscosidade aparente com o aumento da concentração de óleo essencial de canela ou gengibre (0,2 a 0,8%) em coberturas à base de proteína isolada de soja (8% p/p), porém a cobertura sem óleo essencial apresentou diferença estatística, exibindo a maior viscosidade, provavelmente devido à incorporação dos óleos sobre a suspensão de proteína que modificou a interação entre proteína e água e quantidades maiores de solventes ficaram dispersas no sistema.

Tabela 5.19. Viscosidade aparente das coberturas comestíveis.

Ensaio	η_{ap} (Pa.s)
2% FM	0,0357±0,0012 ^a
2% FM /0,10 % C	0,0094±0,0002 ^b
2% FM/0,30 % C	0,0082±0,0004 ^b
2% FM/0,10 % ED	0,0095±0,0003 ^b
2% FM/0,30 % ED	0,0095±0,0003 ^b

2% FM: 2% de fécula de mandioca sem óleo essencial; **2% FM/0,10% C:** 2% de fécula de mandioca e 0,10% (v/v) de óleo essencial de casca de canela; **2% FM/0,30% C:** 2% de fécula de mandioca e 0,30% (v/v) de óleo essencial de casca de canela; **2% FM/0,10% ED:** 2% de fécula de mandioca e 0,10% (v/v) de óleo essencial de erva doce; **2% FM/0,30% ED:** 2% de fécula de mandioca e 0,30% (v/v) de óleo essencial de erva doce. Médias seguidas de mesma letra não diferem significativamente pelo teste Tukey ($p < 0,05$).

As formulações otimizadas apresentaram valores para viscosidade aparente variando entre 0,0082 Pa.s e 0,0357 Pa.s. Verificou-se uma diminuição de 77% na viscosidade das coberturas quando adicionado óleo essencial e submetido à agitação.

A viscosidade das coberturas pode ser relacionada com o efeito de barreira ao vapor de água oferecido pelas películas (item 5.5.1), pois coberturas comestíveis mais viscosas

podem ser distribuídas mais uniformemente sobre a superfície do produto, formando películas mais espessas, o que pode melhorar a barreira à umidade.

Os ensaios com 0,1% de óleo essencial apresentaram baixa viscosidade e ofereceram barreira ao vapor de água similar ao ensaio sem cobertura, evidenciando que a baixa viscosidade não ocasionou efeito de barreira ao vapor de água. A concentração de 0,30% de óleo essencial (com 2 e 3% de fécula de mandioca) atribuiu efeito de barreira similar à cobertura somente com fécula de mandioca, ou seja, por mais que a cobertura adicionada de 0,3% de óleo apresentou baixa viscosidade, a incorporação dos lipídeos na cobertura pode ter contribuído para formação de barreira, porém esse efeito não foi superior ao efeito que a cobertura mais viscosa (somente com fécula de mandioca) apresentou.

A viscosidade das coberturas pode ter ocasionado interferência nos efeitos de barreira ao vapor de água.

5.9.2. Microscopia de Força Atômica

Microscopia de força atômica é uma ferramenta para estudo de superfícies e tem sido utilizada para proporcionar informações qualitativas e quantitativas sobre a superfície de biopolímeros em escala nanométrica, que são geralmente inacessíveis por qualquer outra técnica experimental. Tem sido usada para estudar filmes comestíveis (GHASEMLOU; KHODAIYAN; OROMIEHIE, 2011).

A Tabela 5.20 apresenta as informações quantitativas para os parâmetros da rugosidade dos filmes comestíveis. Verificou-se que os parâmetros da rugosidade da formulação somente com fécula de mandioca apresentaram os maiores valores e estatisticamente foram diferentes ($p < 0,05$) das demais formulações, que pode estar associado à recristalização da amilose durante a secagem do filme, conforme foi relatado por Jiménez et al. (2012), que observaram a rugosidade dos filmes à base de amido de milho sem ácidos graxos com maiores valores, atribuindo o fato à recristalização da amilose durante a secagem da película. A amilose pode formar grandes agregados cristalinos na superfície e no interior do filme, devido à redução da temperatura e à redução do teor de água durante a formação dos filmes (SINGH et al., 2002).

A incorporação dos óleos essenciais nas coberturas à base de fécula de mandioca não resultou em diferença estatística entre essas amostras ($p > 0,05$), sendo observado que o incremento de diferentes concentrações de óleo essencial em filmes comestíveis não afetou os parâmetros de rugosidade, R_a e R_q .

Conforme verificado na Tabela 5.20 e comparando com a Figura 5.20, observou-se que os filmes com 2% de fécula de mandioca têm maior rugosidade, confirmando os valores dos parâmetros de rugosidade obtidos. Os filmes com óleo essencial de casca de canela mostraram-se mais rugosos comparados aos filmes com erva doce. Relacionando a rugosidade com as propriedades mecânicas dos filmes, verificou-se que as películas com óleo essencial de casca de canela apresentaram menores valores para a propriedade de tensão na ruptura e maior rugosidade em comparação aos filmes adicionados de óleo essencial de erva doce, que apresentaram maior tensão na ruptura e menor rugosidade. Isto pode acontecer pelo fato dos filmes com óleo essencial de casca de canela serem

descontínuos, porém melhores estudos sobre a microestrutura dos filmes são necessários para afirmações conclusivas.

Atarés et al. (2010) observaram que filmes à base de proteína isolada de soja adicionados de óleos essenciais apresentaram superfície mais regular para os filmes com óleo essencial de canela e os filmes com óleo essencial de gengibre mostraram superfície um pouco mais rugosa, fato atribuído à agregação das partículas do óleo, causando irregularidades nas superfícies dos filmes.

A adição de diferentes concentrações de azeite (5%, 10%, 15% e 20% p/p) em filmes de gelatina mostrou aumento da rugosidade dos filmes comparado ao filme sem azeite, resultado oposto ao encontrado neste trabalho e por Atarés et al.(2010), onde o aumento da rugosidade da superfície foi devido à coalescência das gotas de azeite durante a secagem dos filmes (MA et al., 2012).

Tabela 5.20. Parâmetros de rugosidade obtidos da imagem de microscopia de força atômica.

Ensaio	R _a (nm)	R _q (nm)
2%FM	163,80±25,33 ^a	202,81±40,72 ^a
0,10% C	110,84±4,01 ^b	133,73±7,85 ^b
0,30% C	106,50±8,37 ^b	130,12±11,78 ^b
0,10% ED	89,98±9,01 ^b	112,98±11,53 ^b
0,30% ED	94,85±11,12 ^b	121,81±28,20 ^b

2% FM: Filme comestível com 2% de fécula de mandioca sem óleo essencial; **0,10% C:** Filme comestível com 0,10% (v/v) de óleo essencial de casca de canela; **0,30% C:** Filme comestível com 0,30% (v/v) de óleo essencial de casca de canela; **0,10% ED:** Filme comestível com 0,10% (v/v) de óleo essencial de erva doce; **0,30% ED:** Filme comestível com 0,30% (v/v) de óleo essencial de erva doce. Médias seguidas de mesma letra não diferem significativamente pelo teste Tukey a 5%.

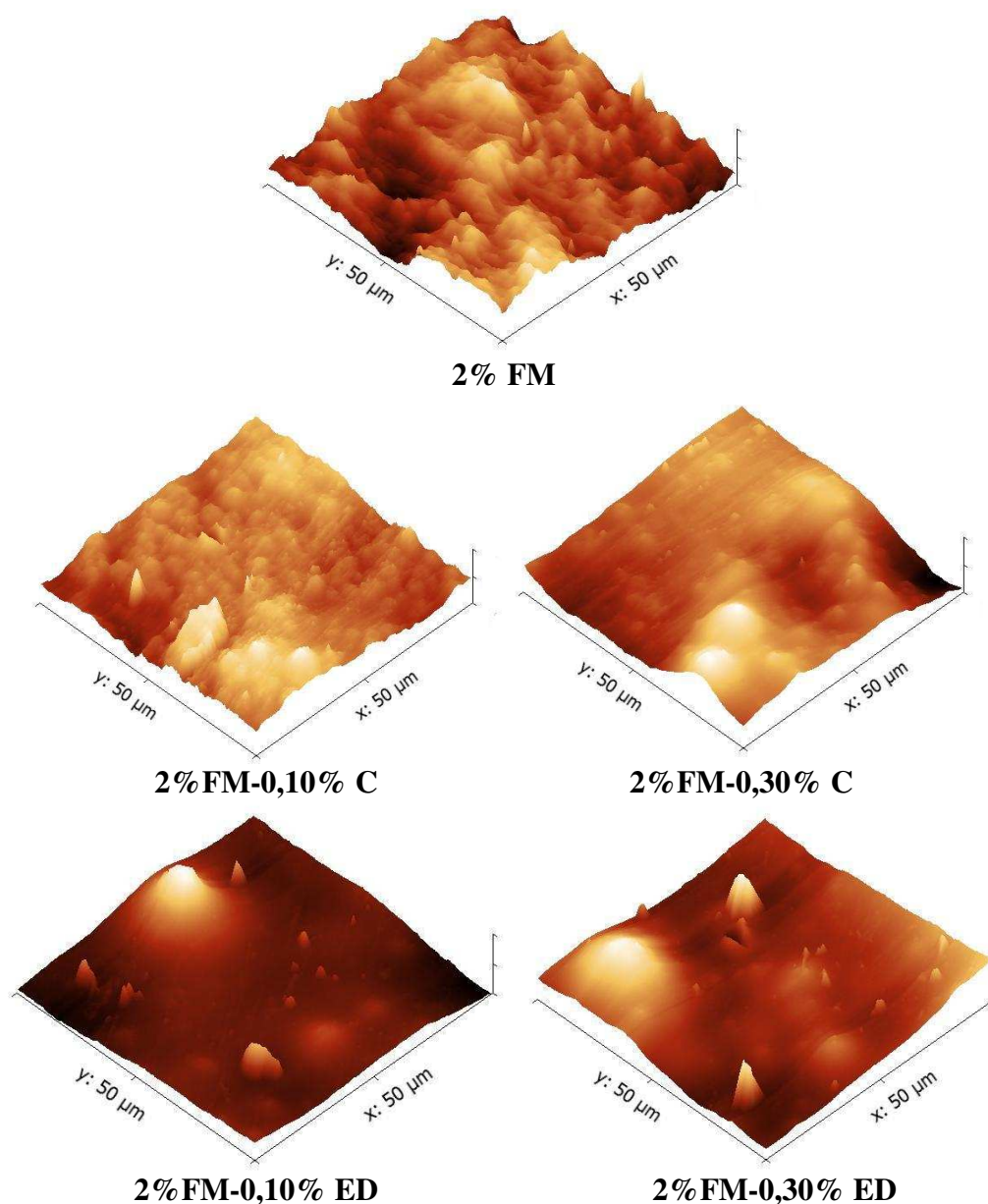


Figura 5.20. Microscopia de força atômica dos filmes comestíveis.

2% FM: Filme comestível com 2% de fécula de mandioca sem óleo essencial; **2% FM/0,10% C:** Filme comestível com 0,10% (v/v) de óleo essencial de casca de canela; **2% FM/0,30% C:** Filme comestível com 0,30% (v/v) de óleo essencial de casca de canela; **2% FM/0,10% ED:** Filme comestível com 0,10% (v/v) de óleo essencial de erva doce; **2% FM/0,30% ED:** Filme comestível com 0,30% (v/v) de óleo essencial de erva doce.

5.9.3. Propriedades Antioxidantes das Coberturas Adicionadas de Óleos Essenciais

Antioxidante é um composto que inibe ou retarda a oxidação de substratos, mesmo que o composto estiver presente em uma concentração significativamente baixa (MATKOWSKI, 2008). Alguns óleos essenciais possuem propriedades anti radicais livres (WEN et al., 2009).

5.9.3.1 Polifenóis Totais das Coberturas com Óleo Essencial

Os compostos fenólicos presentes em vegetais possuem atividade antioxidante e podem ajudar a proteger contra os danos oxidativos causados por radicais livres (KAHKONEN et al., 1999). Existem vários sub-grupos formados pelos compostos fenólicos presentes em óleos essenciais e que contribuem na ação antioxidante, entre eles estão os ácidos fenólicos, fenilpropanóides e alguns compostos voláteis.

Nos óleos essenciais de casca de canela e erva doce, segundo Brewer (2011) e Shahat et al. (2011), foi possível identificar os ácidos fenólicos e os fenilpropanóides; neste último sub-grupo se enquadram o cinamaldeído e o anetol, que são os compostos de maior quantidade presentes no óleo essencial de casca de canela e erva doce, respectivamente. Alguns compostos voláteis também contribuem para a ação antioxidante dos óleos essenciais (BREWER, 2011).

A quantificação dos polifenóis presentes nas coberturas comestíveis pode ser vista na Tabela 5.21. Ficou evidente que o aumento da concentração de óleo essencial na cobertura comestível aumentou a concentração de compostos fenólicos na solução. A cobertura com óleo essencial de casca de canela foi a que mostrou maior concentração de compostos fenólicos. Conforme relatado por Wen et al. (2009), óleos essenciais de casca de canela, orégano e tomilho são os que apresentam maior quantidade de compostos fenólicos e, por consequência, maior atividade antioxidante. Os autores quantificaram polifenóis em 5 mL de óleo essencial de casca de canela e obtiveram 630 µg ácido gálico/5 mg óleo essencial.

Tabela 5.21. Polifenóis totais quantificados nas coberturas comestíveis compostas de óleo essencial de casca de canela ou erva doce.

Ensaio	Polifenóis totais (μmol ác. gálico/mL cobertura)
2% FM	-
2% FM/0,10% C	35,96 $\pm$ 1,11 ^b
2% FM/0,30% C	68,40 $\pm$ 2,41 ^a
2% FM/0,10% ED	11,34 $\pm$ 0,12 ^d
2% FM/0,30% ED	41,97 $\pm$ 1,75 ^c

2% FM: 2% de fécula de mandioca sem óleo essencial; **2% FM/0,10% C:** 2% de fécula de mandioca e 0,10% (v/v) de óleo essencial de casca de canela; **2% FM/0,30% C:** 2% de fécula de mandioca e 0,30% (v/v) de óleo essencial de casca de canela; **2% FM/0,10% ED:** 2% de fécula de mandioca e 0,10% (v/v) de óleo essencial de erva doce; **2% FM/0,30% ED:** 2% de fécula de mandioca e 0,30% (v/v) de óleo essencial de erva doce. Médias seguidas de mesma letra não diferem significativamente pelo teste Tukey a 5%.

A formulação com 0,3% de óleo essencial de erva doce apresentou turbidez ao ser realizada a leitura no espectrofotômetro, o que pode ter interferido no resultado de polifenóis totais. Todas as formulações apresentaram diferenças estatísticas ($p < 0,05$) e a formulação com 0,3% de óleo essencial de casca de canela foi a que apresentou a maior concentração de polifenóis totais.

Pela análise, pode se afirmar que as coberturas com óleo essencial podem ter propriedades antioxidantes, uma vez que foi possível quantificar os teores de polifenóis totais das amostras de coberturas comestíveis adicionadas de óleo essencial.

5.9.3.2. Capacidade Antioxidante das Coberturas Adicionadas de Óleo Essencial - DPPH e FRAP

Atividades antioxidantes dos óleos essenciais de plantas aromáticas são atribuídas principalmente aos compostos ativos presentes nas mesmas. Isto pode ser devido à elevada porcentagem dos componentes principais, mas também à presença de outros componentes em pequenas quantidades ou a sinergia entre eles (POLITEO; JUKIĆ; MILOŠ, 2006).

A atividade antioxidante das coberturas com óleo essencial, através da medida por DPPH, teve como finalidade analisar a capacidade da cobertura em doar elétrons ou radicais de hidrogênio.

O método FRAP é conhecido devido à quantificação da atividade antioxidante, tem como característica a redução do composto férrico.

Não há relatos na literatura de medida da capacidade antioxidante de coberturas adicionadas de óleos essenciais. Então optou-se por comparar a capacidade antioxidante das coberturas inseridas de óleos essenciais com os óleos essenciais puros.

Nanasombat e Wimuttigosol (2011) obtiveram como resultado para o FRAP que 1 mg/mL de óleo essencial de casca de canela apresentou $2190 \times 10^3 \mu\text{M}/\text{mg}$, ou seja, com 1 mL do óleo essencial foi possível reduzir 2190 mmols do composto férrico. Na Tabela 5.22, verificou-se a redução do composto férrico (FRAP) em maior concentração para a cobertura com óleo essencial de casca de canela com 808 μM de Trolox/mL de cobertura.

Os trabalhos apresentados por Nanasombat e Wimuttigosol (2011) e Shahat et al. (2011) apresentaram inibição de 50% para o DPPH nas concentrações de 0,29 mg/mL e 0,41 mg/mL para óleo essencial de casca de canela e erva doce, respectivamente.

Nas análises propostas para a atividade antioxidante das coberturas, constatou-se que as coberturas com óleo essencial de casca de canela apresentaram a maior capacidade antioxidante, podendo relacionar esse fato ao óleo conter maiores proporções de compostos fenólicos. Muchuweti et al. (2007) também relataram que a canela, entre o grupo de especiarias e ervas, apresenta a maior concentração de compostos polifenólicos.

Os valores reportados na literatura para a capacidade antioxidante de óleos essenciais eram diferentes em valores, formas de cálculo e maneiras de expressar dos resultados aqui apresentados, o que tornou mais difícil a sua comparação.

Pode-se afirmar que, para os estudos de atividade antioxidante, as coberturas com óleo essencial de casca de canela possuem maior atividade antioxidante.

Tabela 5.22. Atividade antioxidante de coberturas comestíveis com óleo essencial de casca de canela e erva doce medidas por dois diferentes métodos.

Ensaio	DPPH (% inibição)	FRAP ($\mu\text{mol Trolox/mL cobertura}$)
2% FM	-	-
2% FM/0,10% C	17,30 $\pm$ 1,49 ^a	296,60 $\pm$ 24,44 ^a
2% FM/0,30% C	40,74 $\pm$ 7,70 ^b	808,26 $\pm$ 77,67 ^b
2% FM/0,10% ED	1,45 $\pm$ 0,76 ^c	13,02 $\pm$ 1,09 ^c
2% FM/0,30% ED	2,54 $\pm$ 0,75 ^c	47,31 $\pm$ 4,31 ^c

2% FM: 2% de fécula de mandioca sem óleo essencial; **2% FM/0,10% C:** 2% de fécula de mandioca e 0,10% (v/v) de óleo essencial de casca de canela; **2% FM/0,30% C:** 2% de fécula de mandioca e 0,30% (v/v) de óleo essencial de casca de canela; **2% FM/0,10% ED:** 2% de fécula de mandioca e 0,10% (v/v) de óleo essencial de erva doce; **2% FM/0,30% ED:** 2% de fécula de mandioca e 0,30% (v/v) de óleo essencial de erva doce. Médias seguidas de mesma letra não diferem significativamente pelo teste Tukey a 5%.

5.9.3.3. Verificação do Escurecimento Enzimático através da Cor de Fatias de Maçãs com Coberturas Adicionadas de Óleo Essencial

A análise de cor em fatias de maçãs tratadas com as coberturas foi proposta para verificar o poder das coberturas com óleos essenciais em promover atividade antioxidante.

O estudo da cor em produtos minimamente processados é um importante parâmetro, pois é relacionado diretamente pelos consumidores à percepção de qualidade (OLIVAS; BARBOSA-CÁNOVAS, 2005). Os parâmetros de cor foram determinados em escala CIEL*a*b* e expressos em termos de luminosidade (L^*), coordenadas de cromaticidade a^* e b^* , Tabela 5.23.

A luminosidade indica o quão clara ou escura é uma amostra, sendo que valores de luminosidade próximos a zero representam amostras escuras ($L^* = 0$, preto) e valores próximos a cem, amostras claras ($L^* = 100$, branco), este parâmetro é um indicador do escurecimento enzimático do produto (CHIUMAREILLI, 2011). Para o dia zero e o dia 4, os diferentes tratamentos não apresentaram diferença significativa ($p > 0,05$) para o parâmetro L^* , mas notou-se que no dia 4 os valores de L^* foram menores para o tratamento sem cobertura, indicando que houve maior escurecimento enzimático neste tratamento.

As coordenadas de cromaticidade, +a* representa a coloração vermelha, -a*, a verde, + b* representa a coloração amarela e -b*, azul. O centro destas coordenadas é acromática e com o aumento dos valores de a* e b*, a saturação da cor aumenta (CHIUMARELLI, 2011).

Tabela 5.23. Mudanças nos parâmetros de cor de fatias de maçã submetidas a diferentes tratamentos durante 4 dias de estocagem a 5 °C.

Ensaio	L*		a*		b*	
	DIA 0	DIA 4	DIA 0	DIA 4	DIA 0	DIA 4
Sem Cobertura	70,00±2,40 ^a	66,15±1,47 ^a	2,20±0,32 ^a	4,16±0,82 ^a	22,47±1,56 ^a	27,20±1,09 ^a
2% FM	69,64±2,50 ^a	65,06±2,83 ^a	0,82±0,38 ^b	2,79±0,83 ^b	21,92±2,03 ^a	24,24±2,12 ^{ac}
0,10% C	73,57±2,75 ^a	69,63±2,91 ^a	1,03±0,41 ^b	2,17±0,71 ^{bc}	19,64±0,78 ^a	22,11±2,88 ^{bc}
0,30% C	73,54±2,78 ^a	70,55±1,51 ^a	0,19±0,03 ^c	1,50±0,21 ^c	15,94±0,69 ^b	21,16±0,99 ^{bc}
0,10% ED	71,55±1,16 ^a	69,88±3,46 ^a	0,55±0,15 ^{bc}	2,26±0,32 ^{bc}	20,64±2,35 ^a	23,33±1,54 ^{ac}
0,30% ED	72,39±1,97 ^a	70,22±2,36 ^a	0,17±0,07 ^c	1,79±0,46 ^{bc}	20,10±2,01 ^a	23,66±1,92 ^{ac}

2% FM: 2% de fécula de mandioca sem óleo essencial; **0,10% C:** 2% de fécula de mandioca e 0,10% (v/v) de óleo essencial de casca de canela; **0,30% C:** 2% de fécula de mandioca e 0,30% (v/v) de óleo essencial de casca de canela; **0,10% ED:** 2% de fécula de mandioca e 0,10% (v/v) de óleo essencial de erva doce; **0,30% ED:** 2% de fécula de mandioca e 0,30% (v/v) de óleo essencial de erva doce. Médias seguidas de mesma letra não diferem significativamente pelo teste Tukey (p<0,05).

No dia zero, o tratamento sem cobertura apresentou maior valor para a*, seguido dos tratamentos com cobertura somente de fécula de mandioca e para os tratamentos com menores concentrações de óleo essenciais, segundo Rojas-Graü et al. (2007a), aquelas ensaios com maiores valores de a*, quando comparado a outras formulações, indica que houve escurecimento enzimático no vegetal. Os ensaios com maiores concentrações de óleo foram estatisticamente semelhantes (p>0,05) apresentando coloração praticamente branca (a* próximo de zero). Para o dia 4, a coordenada de cromaticidade a* apresentou a mesma tendência do dia zero para o ensaio sem cobertura e os tratamentos com óleos essenciais foram estatisticamente diferentes (p<0,05) das fatias somente com a cobertura de fécula de mandioca.

O comportamento obtido para a coordenada b^* pode ser observado na Tabela 5.23. No dia zero todos os tratamentos foram estatisticamente semelhantes, exceto para o ensaio com a maior concentração de óleo essencial de casca de canela. Para o dia 4, o tratamento controle (sem cobertura) mostrou-se distinto dos demais tratamentos, porém todos os tratamentos com óleo essencial foram estatisticamente iguais ($p > 0,05$).

A adição de óleo essencial às coberturas comestíveis mostrou influência nas coordenadas de cromaticidade a^* e b^* , porém o parâmetro L^* , que relaciona o escurecimento, não apresentou diferenças entre os tratamentos.

Segundo RAYBAUDI-MASSILIA et al. (2008b) o escurecimento enzimático de pedaços de maçã com cobertura durante o armazenamento foi acompanhado por uma diminuição na luminosidade L^* a partir do 14º dia. Os autores relataram que amostras com cobertura de alginato adicionada de óleo essencial de capim cidreira (0,3 ou 0,7% p/p) e cravo (0,7% p/p) foram os ensaios que tiveram menores valores de L^* após o 14º dia e valores de L^* menor que 67,2 foram sensorialmente indesejáveis.

Coberturas comestíveis de quitosana com óleo essencial de limão (3% p/p) foram aplicadas em morangos e para o parâmetro L^* não foi observada diferença estatística entre os tratamentos sem cobertura, com cobertura e cobertura mais óleo essencial durante os 14 dias de análise (PERDONES, SÁNCHEZ-GONZÁLEZ; VARGAS, 2012).

5.9.4. Atividade Antimicrobiana

O teste de sensibilidade antimicrobiana representa uma importante ferramenta no monitoramento da evolução da resistência bacteriana. A técnica de difusão em disco é um dos métodos de sensibilidade mais simples e confiáveis. É realizado dispensando os discos de antimicrobianos sobre uma placa de ágar após a aplicação do inóculo bacteriano com aproximadamente $1 \text{ a } 2 \times 10^8$ UFC/mL. As placas são incubadas por 16 a 24 horas em ambiente a 35 ± 2 °C antes dos resultados serem determinados (ANVISA, 2012).

Vários são os estudos da atuação de óleos essenciais como antimicrobianos (HAMMER; CARSON; TILEY, 1999; ÇETION et al., 2010; BABU et al., 2011). Os óleos essenciais são utilizados em diversas áreas industriais, tais como farmacologia, microbiologia médica, fitopatologia e preservação de alimentos (HORVÁTH et al., 2010).

Muitos óleos essenciais possuem atividade antimicrobiana devido à presença de compostos ativos em sua composição; os principais responsáveis pelas propriedades antibacterianas nos óleos essenciais são os compostos fenólicos (COSENTINO et al., 1999). O óleo essencial de casca de canela possui em maior quantidade o composto cinamaldeído (>50% de sua composição), que apresenta compostos fenólicos em sua estrutura. Para o óleo essencial de erva doce, o *trans*-anetol, que também possui anel fenólico, é o composto mais abundante. Estudos mostraram que a diferença entre os óleos essenciais está nas estruturas químicas ligadas ao anel fenólico; esses compostos associados ao anel fenólico atuam sobre o microrganismo (BURT, 2004). O cinamaldeído pode inibir a atividade de enzimas envolvidas nas vias metabólicas celulares das bactérias, enquanto o *trans*-anetol pode causar alterações na morfologia dos microrganismos; ambos os compostos não conseguem atuar diretamente na ruptura da membrana celular conforme outros compostos ativos predominantes nos óleos essenciais de cravo e orégano (BURT, 2004; YUTANI et al., 2011).

A partir dos resultados coletados, de acordo com a Tabela 5.24, verificou-se que o óleo essencial de erva doce apresentou os menores halos de inibição para os microrganismos testados, sendo 2,36 mm, 4,82 mm e 1,67 mm para *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* e *Salmonella choleraesius*, respectivamente. Anwar et al. (2009)

analisaram a atividade antimicrobiana de óleo essencial de sementes de erva doce, sendo que o resultado mostrou efeito inibitório com halo de inibição de 6 mm para a *Escherichia coli*, enquanto Çetin et al. (2010) encontraram diâmetro de inibição com 8,8 mm para *Staphylococcus aureus*, utilizando o mesmo óleo.

O óleo essencial de casca de canela mostrou melhor efeito inibitório para os microrganismos com 46,71 mm, 42,53 mm e 39,96 mm para *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* e *Salmonella choleraesius*, respectivamente, (Tabela 5.4). Recentemente, Nanasombat e Wimuttigosol (2011) analisaram o poder de inibição do óleo essencial de casca de canela para *Staphylococcus aureus* e *Escherichia coli* e encontraram 24,5 mm e 42 mm de halo de inibição, respectivamente.

Observaram-se algumas diferenças nos diâmetros dos halos de inibição dos óleos estudados quando comparados a outros autores, isto pode estar relacionado à região na qual as plantas dos óleos essenciais foram disseminadas, período de colheita da espécie, forma de extração dos óleos, entre outros. Porém o efeito de inibição foi maior para o óleo essencial de canela, que está relacionado ao composto ativo predominante e aos demais compostos presentes no óleo essencial.

A quantidade de óleo essencial necessária para inibir o crescimento microbiano é maior quando são incorporados em alimentos do que em meio de cultura. Em parte, isso é devido à interação entre os compostos fenólicos e a matriz do alimento (CAMPOS; GERSCHENSON; FLORES, 2011).

Nos ensaios de atividade antimicrobiana para os filmes comestíveis foi observada a formação de um pequeno halo de inibição para *Staphylococcus aureus* e *Salmonella choleraesius*, nas formulações com maior concentração de óleo essencial de casca de canela, enquanto isso, para a formulação com a maior concentração de óleo essencial de erva doce mostrou-se a formação de um pequeno halo apenas para o microrganismo *Staphylococcus aureus*. Nas formulações com menores concentrações de ambos os óleos essenciais não foi constatada a formação de halo para nenhum dos patógenos testados. O filme controle, formulado apenas com 2% de fécula de mandioca e sem a adição de óleo essencial, comprovou a importância dos mesmos para a atividade antimicrobiana, pois não foi verificado nenhum efeito de inibição dos patógenos, conforme visualizado na Figura 5.21.

Tabela 5.24. Atividade antimicrobiana dos óleos essenciais e dos filmes de fécula de mandioca adicionados de óleo essencial de casca de canela ou erva doce.

Ensaio	<i>Staphylococcus Aureus</i>		<i>Escherichia coli</i>		<i>Salmonella choleraesius</i>	
	Halo inibição (mm)	Efeito inibitório	Halo inibição (mm)	Efeito inibitório	Halo inibição (mm)	Efeito inibitório
2%FM	0	-	0	-	0	-
0,10% C	0	-	0	-	0	-
0,30% C	0,07±0,01	+	0	-	0,12±0,03	+
0,10% ED	0	-	0	-	0	-
0,30% ED	0,04±0,01	+	0	-	0	-
OE C	46,71±1,72	++	42,53±1,59	++	39,96±2,19	++
OE ED	2,36±0,37	++	4,82±1,28	++	1,67±0,41	++

2%FM: 2% de fécula de mandioca sem óleo essencial; **0,10% C:** 2% de fécula de mandioca e 0,10% de óleo essencial de Casca de Canela; **0,30% C:** 2% de fécula de mandioca e 0,30% de óleo essencial de Casca de Canela; **0,10% ED:** 2% de fécula de mandioca e 0,10% de óleo essencial de Erva Doce; **0,30% ED:** 2% de fécula de mandioca e 0,30% de óleo essencial de Erva Doce; **OE C:** Somente óleo essencial de Casca de Canela; **OE ED:** Somente óleo essencial de Erva Doce. + : Inibição apresentada pela cobertura. ++: Inibição com óleo essencial puro. - : Não apresentou inibição.

Nenhuma das formulações de filmes apresentou efeito de inibição frente à *Escherichia coli*, uma bactéria classificada como Gram negativa. Uma das possíveis causas pelo resultado obtido é que esse tipo de bactéria apresenta uma membrana adicional ao redor da parede celular composta de lipopolissacarídeos, que pode restringir a difusão de compostos hidrofóbicos para o interior da célula (BURT, 2004).

Rojas-Graü et al. (2006) verificaram que filmes à base de purê de maçãs (26% p/p de purê e 3% p/p de pectina) com concentração de 0,1% de óleo essencial de canela ou capim cidreira apresentaram efeito inibitório com halo de inibição menor que 1 mm para *Escherichia coli*. Já para o óleo essencial de orégano, o mesmo diâmetro foi observado com 0,05% do óleo essencial, sendo que maiores concentrações dos óleos essenciais proporcionaram maiores halos de inibição.

Pelissari et al. (2009) observaram a atuação do óleo essencial de orégano em filmes à base de fécula de mandioca e quitosana. A adição de 0,1% de óleo apresentou halo de inibição com 9,99 mm para *Escherichia coli* e 13,26 mm *Staphylococcus aureus*.

Nos estudos de Rojas-Graü et al. (2006) e Pelissari et al. (2009) observou-se a influência do óleo essencial utilizado e da matriz formadora dos filmes para contribuir na atividade antimicrobiana, já que em ambos os casos foram utilizadas baixas concentrações do agente antimicrobiano. No presente estudo, além dos fatores citados anteriormente, a baixa concentração de óleo essencial de casca de canela e erva doce adicionada aos filmes à base de fécula de mandioca pode ter contribuído para não haver inibição antimicrobiana considerável, como pode ser visualizado na Figura 5.21. Apesar da atividade antimicrobiana ser potencializada pelo aumento da concentração dos óleos essenciais, este aumento pode influenciar nas características sensoriais (odor e sabor) dos produtos minimamente processados aos quais estas coberturas ou filmes à base de fécula de mandioca serão aplicados.

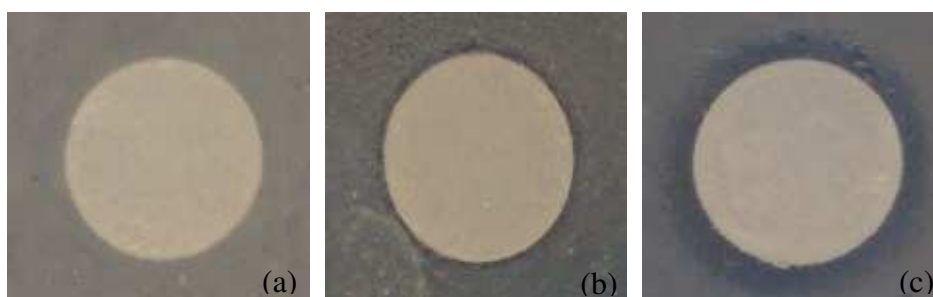


Figura 5.21. Teste de sensibilidade antimicrobiana. (a) Filmes comestíveis sem inibição antimicrobiana. (b) Filmes comestíveis com inibição antimicrobiana. (c) Óleo essencial de erva doce com inibição antimicrobiana.

Raybaudi-Massilia et al. (2008b) avaliaram a vida de prateleira microbiológica de maçãs minimamente processadas e adicionadas de coberturas comestíveis à base de alginato e de óleos essenciais de casca de canela, erva cidreira e cravo. A maior concentração de óleo essencial (0,7%) foi mais efetiva para estender a vida útil microbiológica das maçãs por mais de 30 dias e a menor concentração (0,3%) contribuiu para melhores características físico-químicas, por exemplo.

A incorporação de óleo essencial de canela, palmarosa e erva cidreira em coberturas de alginato aplicadas em fatias de melões, deu como resultado a concentração de 0,3% de

óleo essencial de palmarosa como melhor alternativa para preservação de melões minimamente processados, pois obteve boa aceitação sensorial, manteve os parâmetros de qualidade da fruta, inibiu o crescimento da flora nativa e reduziu a população de *Salmonella enteritidis* (RAYBAUDI-MASSILIA; MOSQUEDA-MELGAR; MARTIN-BELLOSO, 2008a).

VI. CONCLUSÕES

Na Etapa I desse trabalho verificou-se que diferentes concentrações de glicerol afetaram as características dos filmes comestíveis adicionados de óleos essenciais. Concentrações de 0,50% e 0,75% de glicerol proporcionaram as mesmas propriedades mecânicas para os filmes e não apresentaram influência na resistência ao vapor de água das coberturas, em concentrações de 2% e 3% de fécula de mandioca, respectivamente.

A estabilidade do sistema emulsionado, de modo geral, mostrou ser maior para as formulações com 2% de fécula de mandioca, uma vez que não ocorreu precipitação da suspensão de fécula de mandioca.

Neste trabalho, verificou-se que a cobertura somente de fécula de mandioca proporcionou aumento significativo na resistência ao vapor de água e diminuição na taxa de respiração, tanto para as concentrações de 2% e 3% de amido, e a inserção de óleo essencial não mostrou ser vantajosa para diminuir as perdas de água e as taxas de CO₂.

Coberturas mais viscosas foram obtidas nas formulações somente com fécula e ofereceram efeitos de barreira similar às coberturas com 0,3% de óleo essencial de casca de canela e erva doce, porém as coberturas adicionadas de óleo essencial apresentaram menor viscosidade.

Os filmes adicionados de óleo essencial de casca de canela podem ter apresentado características de filmes com estruturas descontínuas, em comparação aos filmes com óleo essencial de erva doce, devido às respostas obtidas nos testes de propriedades mecânicas. A microscopia de força atômica mostrou filmes com óleo essencial de casca de canela com maior rugosidade em relação aos filmes com óleo essencial de erva doce, o que pode ser um indício de filmes com estruturas descontínuas.

A coloração dos filmes mostrou influência da adição de óleo essencial para os parâmetros a^* e b^* , porém a opacidade dos filmes, de forma geral, não foi afetada com as diferentes concentrações de óleo adicionadas.

As coberturas adicionadas de óleo essencial mostraram ter propriedades antioxidantes, principalmente as coberturas com óleo essencial de casca de canela, que mostraram maior atividade. Porém a aplicação das coberturas com óleo essencial em maçãs não apresentou efeito estatístico para retardar o escurecimento enzimático em comparação à maçã sem cobertura.

A atividade antimicrobiana dos filmes adicionados de óleo essencial mostrou que a concentração de 0,3% de óleo essencial de casca de canela em coberturas teve um efeito pequeno de inibição para alguns microrganismos.

VII. SUGESTÕES DE TRABALHOS FUTUROS

→ Para complementação deste estudo é interessante realizar testes sensoriais das fatias de maçãs tratadas com as coberturas adicionadas de óleo essencial para saber se as concentrações utilizadas neste trabalho afetaram as propriedades sensoriais, além do estudo de vida útil do produto e testes antimicrobianos da cobertura inserida no alimento.

→ Durante a drenagem da cobertura sobre o fruto não foi possível realizar a análise de densidade superficial dos sólidos das coberturas sobre a maçã (espessura das coberturas), pois não houve um tempo de secagem da cobertura sobre o produto que possibilitasse a medida desta propriedade. Assim, um estudo do tempo, temperatura e umidade relativa para a drenagem e secagem da cobertura sobre o fruto pode ser interessante, possibilitando a interação dos resultados de perda de peso, resistência ao vapor de água e taxa respiratória para saber se existe um resultado ótimo que relaciona essas três variáveis.

→ Estudar a interação de diferentes materiais poliméricos, por exemplo, quitosana e alginato, para formação de coberturas. Verificar se a mistura resulta em coberturas com melhores propriedades de barreira a vapor de água e gases e também se mantém a qualidade do produto.

→ Coberturas com adição de agentes estruturantes, como o cálcio, apresentam-se como uma opção interessante, pois podem promover ligações com as cadeias do polímero, (alginato, pectina, quitosana) formando películas com melhores propriedades mecânicas e dando mais integridade à cobertura. Assim, quando inseridas nos alimentos, poderão proporcionar melhores resultados, por exemplo, manter as características de qualidade do produto.

VIII. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABEN, S.; HOLTZE, C.; TADROS, T.; SCHURTENBERGER, P. Rheological investigations on the creaming of depletion-flocculated emulsions. **Langmuir**, v.28, n.21, p. 7967-7975, 2012.

ANVISA. **Teste de Sensibilidade aos Antimicrobianos**. Disponível em: <http://www.anvisa.gov.br/servicosaude/controle/rede_rm/cursos/boas_praticas/modulo5/introducao.htm>. Acessado em 28 Out. 2012.

ANVISA. **Aditivos Alimentares e Coadjuvantes de Tecnologia**. Disponível em: <<http://portal.anvisa.gov.br/wps/content/Anvisa+Portal/Anvisa/Inicio/Alimentos/Assuntos+de+Interesse/Legislacao>>. Acessado em 22 Jan. 2013.

ANWAR, F.; ALI, M.; HUSSAIN, A.I.; SHAHID, M. Antioxidant and antimicrobial activities of essential oil and extracts of fennel (*Foeniculum vulgare* Mill.) seeds from Pakistan. **Flavour and Fragrance Journal**, v.24, n. 4, p. 170-176, 2009.

AOAC. Official Methods of Analysis of AOAC International. 16 ed., **Association of Official Analytical Chemists**, Gaithersburg, 1998. CD-ROM.

APPELQVIST, I. A. M.; GOLDING, M.; VREEKER, R.; ZUIDAM, N. J. Emulsions as Delivery Systems in Foods. In: LAKKIS, J. M. (Editores). **Encapsulation and Controlled Release Technologies in Food Systems**, 2007. Capítulo: 3, p. 41-81.

APPLEBY, D.B. Glycerol. In: KNOTHE, G.; GERPEN, J.V.; KRAHL, J. (Editores). **The Biodiesel Handbook**, AOCS Press, 2005. Capítulo 11, p. 1-13.

ATARÉS, L.; BONILLA, J.; CHIRALT, A. Characterization of sodium caseinate-based edible films incorporated with cinnamon or ginger essential oils. **Journal of Food Engineering**, v.100, n.4, p. 678-687, 2010.

ATARÉS, L.; DE JESÚS, C.; TALENS, P.; CHIRALT, A. Characterization of SPI-based edible films incorporated with cinnamon or ginger essential oils. **Journal of Food Engineering**, v. 99, n. 3, p. 384–391, 2010.

ATARÉS, L.; MARSHALL, L. J.; AKHTAR, M.; MURRAY, B. S. Structure and oxidative stability of oil in water emulsions as affected by rutin and homogenization procedure. **Food Chemistry**, v.134, n.3, p. 1418-1424, 2012.

ARTES, F.; GOMEZ, P.A.; ARTES-HERNANDEZ, F. Physical, physiological and microbial deterioration of minimally fresh processed fruits and vegetables. **Food Science and Technology International**, v.13, n.3, p. 177-188, 2007.

AVENA-BUSTILLOS, R. J., et al. Optimization of edible coating formulations on zucchini to reduce water loss. **Journal of Food Engineering, Amsterdam**, v.21, n. 2, p.197-214, 1994.

AVENA-BUSTILLOS, R.J.; MCHUGH, T.H. Role of edible film and coating additives. In: BAI, J. (Editor). **Edible Coatings and Films to Improve Food Quality**, Boca Ration: CRC Press, 2ªed., 2011. Capítulo 6, p. 157–184.

AYALA-ZAVALA, J.F.; DEL TORO-SÁNCHEZ, L.; ALVAREZ-PARRILLA, E.; SOTO-VALDEZ, H.; MARTÍN-BELLOSO, O.; RUIZ-CRUZ, S.; GONZÁLEZ-AGUILAR, G.A. Natural antimicrobial agents incorporated in active packaging to preserve the quality of fresh fruits and vegetables. **Stewart Postharvest Review**, v. 4, n.3, p.1–9, 2008.

BABU, A.J.; SUNDARI, A.R.; INDUMATHI, J.; SRUJAN, R.V.N.; SRAVANTHI, M. Study on the antimicrobial activity and minimum inhibitory concentration of essential oils of spices, **Veterinary World**, v. 4, n.7 ,p. 311-316 , 2011.

BEN-YEHOSHUA, S.; BURG, S. P.; YOUNG, R. Resistance of citrus fruit to mass transport of water vapor and other gases. **Plant Physiology**, Waterbury , v. 79, n. 4, p. 1048-1053, dez. 1985.

BERGO, P. V. A.; CARVALHO, R. A.; SOBRAL, P. J. A.; DOS SANTOS, R. M. C.; DA SILVA, F. B. R.; PRISON, J. M.; SOLORZA-FERIA, J.; HABITANTE, A. M. Q. B. Physical properties of edible films based on cassava starch as affected by the plasticizer concentration. **Packaging Technology and Science**, v.21, n.2, p. 85-89, 2008.

BERTOLINI, A.C. Trends in starch applications. In: BERTOLINI, A. C. **Starches: Characterization, Properties, and Applications**. Boca Ration: CRC Press, 2009. Capítulo 1, p. 1-19.

BIERHALS, V.S. **Estudo de vida útil de abacaxis (*Ananas Comosus L. Merrill* cv ‘Pérola’)**. 2010. 161p. Dissertação (Mestrado em Engenharia de Alimentos) – Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, 2010.

BIERHALS, V. S.; CHIUMARELLI, M.; HUBINGER, M.D. Effect of Cassava Starch Coating on Quality and Shelf Life of Fresh-Cut Pineapple (*Ananas Comosus L. Merrill* cv “Pérola”). **Journal of Food Science**, v. 76, n. 1, p. 62-72, 2011.

BRECHT, J. K. et.al. Alterações Metabólicas. In: MORETTI, C.L. (Editor). **Manual de Processamento Mínimo de Frutas e Hortaliças**. Brasília: Embrapa Hortaliças e SEBRAE, 2007. Capítulo, 2, p. 41 – 99.

BREWER, M. S. Natural Antioxidants: Sources, Compounds, Mechanisms of Action, and Potential Applications. **Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety**, v. 10, n. 4, p. 221-247, 2011.

BROUMAND, A.; EMAM-DJOMEH, Z.; HAMED, M.; RAZAVI, S.H. Antimicrobial, water vapour permeability, mechanical and thermal properties of casein based Zataria multiflora Boiss. Extract containing film. **Food Science and Technology**, v. 44, n.10, p. 2316-2323, 2011.

BONILLA, J.; ATARÉS, L.; VARGAS, M.; CHIRALT, A. Effect of essential oils and homogenization conditions on properties of chitosan-based films. **Food Hydrocolloids**, v.26, n.1, p. 9-16, 2012.

BOURTOOM, T.; CHINNAN, M.S. Preparation and properties of rice starch-chitosan blend biodegradable film. **Food Science and Technology**, v. 41, n.9, p. 1633–1641, 2008.

BURT, S. Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods: a review. **International Journal of Food Microbiology**, v.94, n.3, p. 223-253, 2004.

CAMPOS, C.A.; GERSCHENSON, L.N.; FLORES, S.K. Development of Edible Films and Coatings with Antimicrobial Activity. **Food and Bioprocess Technology**, v. 4, n.6, p.849-875, 2011.

CECCHI, H.M. **Fundamentos teóricos e práticos em análise de alimentos**. 2. ed. Campinas: Editora da Unicamp, 2003.

CERQUEIRA, M.A.; SOUZA, B.W.S.; TEIXEIRA, J.A.; VICENTE, A.A. Effect of glycerol and corn oil on physicochemical properties of polysaccharide films - A comparative study. **Food Hydrocolloids**, v. 27, n.1, p. 175-184, 2012.

ÇETİ, B.; ÖZER, H.; ÇAKIR, A.; POLAT, T.; DURSUN, A.; METE, E.; ÖZTÜRK, E.; EKINCI, M. Antimicrobial activities of essential oil and hexane extract of Florence fennel [*Foeniculum vulgare* var. *azoricum* (Mill.) Thell.] against foodborne microorganisms. **Journal of Medicinal Food**, v. 13, n.1, p. 196-204, 2010.

CHE, L.; LI, D.; WANG, L.; ÖZKAN, N.; CHEN, X.D.; MAO, Z. Rheological properties of dilute aqueous solutions of cassava starch. **Carbohydrate Polymers, Amsterdam**, v. 74, n. 3, p. 385-389, nov. 2008.

CHIUMARELLI, M. **Avaliação da vida útil de manga (*mangifera indica* cv ‘tommy atkins’) minimamente processada pré-tratada com ácido cítrico e coberturas comestíveis**. 2008. 102 p. Dissertação (Mestrado em Engenharia de Alimentos) – Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2008.

CHIUMARELLI, M. **Aplicação de coberturas comestíveis à base de fécula de mandioca e cera de carnaúba em maçãs minimamente processadas**. 2011. 281p. Tese (Doutorado em Engenharia de Alimentos) – Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2011.

CHIUMARELLI, M.; HUBINGER, M. D. Stability, solubility, mechanical and barrier properties of cassava starch e Carnauba wax edible coatings to preserve fresh-cut apples, **Food Hydrocolloids**, v. 28, n.1, p.59-67, 2012.

CHO, S.Y. & RHEE, C. Sorption characteristics of soy protein films and their relation to mechanical properties. **Food Science and Technology**, v. 35, n.2, p.151–157, 2002.

CHUNG, C.; DEGNER, B.; MCCLEMENTS, D.J. Rheology and microstructure of bimodal particulate dispersions: Model for foods containing fat droplets and starch granules. **Food Research International**, v.48, n.2, p. 641-649, 2012.

COLLA, E. **Biofilmes de Farinha de Amarantho Adicionados de Ácido Esteárico: elaboração e aplicação em morangos frescos (Fragaria ananassa)**. 2004. 118p. Dissertação (Mestrado em Engenharia de Alimentos) – Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2004.

COSENTINO, S.; TUBEROSO, C.I.G.; PISANO, B.; SATTA, M.; MASCIA, V.; ARZEDI, E.; PALMAS, F. In vitro antimicrobial activity and chemical composition of Sardinian Thymus essential oils. **Letters in Applied Microbiology** v. 29, n. 2, p. 130– 135, 1999.

DEA, S. GHIDELLI, C.; PÉREZ-GAGO, M. B.; PLOTTO, A. Coatings for minimally processed fruits and vegetables. In: BAI, J. **Edible Coatings and Films to Improve Food Quality**. CRC Press, 2011. Capítulo 8, p.243-289.

DENARDIN, C.C.; DA SILVA, L.P. Estrutura dos grânulos de amido e sua relação com propriedades físico-químicas. **Ciência Rural**. V.39, n.3, p. 945-954, 2009.

DEWANTO, V.; WU, X; ADOM, K.K.; LIU, R.H. Thermal Processing Enhances the Nutritional Value of Tomatoes by Increasing Total Antioxidant Activity. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.50, n.10, p. 3010-3014, 2002.

DICKINSON, E. Hydrocolloids at interfaces and the influence on the properties of dispersed systems. **Food Hydrocolloids**, v.17, p.25-39, 2003.

DU, W-X.; OLSEN, C .W.; AVENA-BUSTILLOS, R. J.; MCHUGH, T. H.; LEVIN, C. E.; FRIEDMAN, M. Effects of allspice, cinnamon , and clove bud essential oils in edile apple films on physical properties and antimicrobial activities. **Journal of Food Science – Food Microbiology and Safety**, v. 74, n. 7, p.M372-M378, 2009.

FDA - Food and Drug Administration. **Code of Federal Regulations Title 21**. Disponível em: <<http://www.fda.gov/Food/FoodIngredientsPackaging/>> Acessado em: 12 nov. 2012.

FALGUERA, V.; QUINTERO, J. P.; JIMÉNEZ, A.; MUÑOZ, J. A.; IBARZ, A. Edible films and coatings: Structures, active functions and trends in their use. **Trends in Food Science and Technology**, v. 22, n.6, p. 292-303, 2011.

FAOSTAT. **Cassava**. Disponível em: < <http://faostat.fao.org> >. Acesso em: 15 Out. 2012.

FERRARI, C. C. **Avaliação do emprego da desidratação osmótica e de coberturas comestíveis de pectina na estrutura celular e na qualidade de melão minimamente processado**. 2009. 170p. Tese (Doutorado em Engenharia de Alimentos) – Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2009.

FRANCO, C. M. L.; DAIUTO, E.R.; DEMIATE, I. M.; CARVALHO, L. J. C. B. LEONEL, M. CEREDA, M. P.; VILPOUX, D. F.; SARMENTO, S. B. S. **Culturas de Tuberosas Amiláceas Latino Americanas: Volume 1 - Propriedades Gerais do Amido**. São Paulo: Fundação Cargill, p.101-169, 2002.

GARCIA, E.; BARRETT, D.M. Fresh-Cut Fruit. In: BARRETT, D.M. et al. (Editor). **Processing Fruits: Science and Technology**, 2ª ed.: CRC Press, 2005, Capítulo 3.

GARCIA, L. C. **Aplicação de coberturas comestíveis em morangos minimamente processados**. 2008. 120 p. Dissertação (Mestrado em Engenharia de Alimentos) - Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2009.

GARCIA, L.C.; PEREIRA, L. M.; SARANTÓPOULOS, C. I. G. L.; HUBINGER, M. D. Selection of an Edible Starch Coating for Minimally Processed Strawberry. **Food Bioprocess Technology**, v. 3, n.6, p.834–842, 2010.

GARCÍA, M. A.; PINOTTI, A.; MARTINO, M. N.; ZARITZKY, N. E. Characterization of Starch and Composite Edible Films and Coatings. In: EMBUSCADO, M. E.; HUBER, K. C. (Editores). **Edible Films and Coatings for Food Applications**. 2009. Capítulo 6, p. 169-211.

GHASEMLOU, M.; KHODAIYAN, F.; OROMIEHIE, A. Rheological and structural characterization of film-forming solutions and biodegradable edible film made from kefir as affected by various plasticizer types. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 49, n.4, p. 814-821, 2011.

GHANBARZADEH, B.; ALMASI, H. Physical properties of edible emulsified films based on carboxymethyl cellulose and oleic acid. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 48, n.1, p. 44-49, 2011.

GONZÁLEZ-AGUILAR, G.A.; AYALA-ZAVALA, J.F.; OLIVAS, G.I.; DE LA ROSA, L.A.; ÁLVAREZ-PARRILLA, E. Preserving quality of fresh-cut products using safe technologies. **Journal of Consumer Protection and Food Safety**, v.5, n.1, p.65-72, 2010.

GOUNGA, M.E., XU, S. & WANG, Z. Film forming Mechanism and mechanical and thermal properties of whey protein isolate-based edible films as affected by protein concentration, glycerol ratio and pullulan content. **Journal of Food Biochemistry**, v. 34, n.3, p. 501–519, 2010.

HAMMER, K.A.; CARSON, C.F.; RILEY, T.V. Antimicrobial activity of essential oils and other plant extracts. **Journal of Applied Microbiology**, v.86, n. 6, p. 985-90, 1999.

HAN, J. H.; GENNADIOS, A. Edible films and coatings: a review. In: HAN, J. H. (Editor). **Innovations in Food Packaging**. Amsterdam: Elsevier Science & Technology Books, 2005. Capítulo 15, p. 239 -262.

HORVÁTH, G.; JÁMBOR, N.; VÉGH, A.; BÖSZÖRMÉNYI, A.; LEMBERKOVICS, É.; HÉTHELYI, É.; KOVÁCS, K.; KOCSIS, B. Antimicrobial activity of essential oils: The possibilities of TLC-bio autography. **Flavour and Fragrance Journal**, v.25, n. 3, p. 178-182, 2010.

HUANG, Z.-Q.; LU, J.-P.; LI, X.-H.; TONG, Z.-F. Effect of mechanical activation on physico-chemical properties and structure of cassava starch. **Carbohydrate Polymers**, v.68, n.1, p. 128-135, 2007.

JIMÉNEZ, A. FABRA, M.J.; TALENS, P. CHIRALT, A. Effect of re-cristallization on tensile, optical and water vapour barrier properties of corn starch films containing fatty acids. **Food Hydrocolloids**, v. 26, n. 1, p. 302-310, 2012.

JOSHI, H. N.; KRAL, M. A.; TOPP, E. M. Microwave drying of aqueous tablet film coatings: a study on free films. **International Journal of Pharmaceutics**, Amsterdam, v.51, n. 1, p. 19-25, abr. 1989.

KAHKONEN, M. P., HOPIA, A. I., VUORELA, H. J., RAUHA, J. P., PIHLAJA, K., KUJALA, T. S. AND HEINONEN, M. Antioxidant activity of plant extracts containing phenolic compounds. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.47, n. 10, p. 3954-3962, 1999.

KISLENKO, V., OLIYNYK, L., & GOLACHOWSKI, A. The model of the rheological behavior of gelatinized starch at low concentrations. **Journal of Colloid and Interface Science**, v.294, p. 79–86, 2006.

KORHONEN, H. Technology options for new nutritional concepts. **International Journal of Dairy Technology**, v. 55, n.2, p.79-88, 2005.

KROCHTA, J. M. Proteins as raw materials for films and coatings: definitions, current status, and opportunities. In: GENNADIOS, A. (Editor). **Protein-based Films and Coatings**. Boca Raton: CRC Press, 2002. Capítulo 1, p. 1 – 41.

LIN, D.; ZHAO, Y. Innovations in the Development and Application of Edible Coatings for Fresh and Minimally Processed Fruits and Vegetables. **Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety**, v.6, n.3, p. 60-75, 2007.

MA, W.; TANG, C.-H.; YIN, S.-W.; YANG, X.-Q.; WANG, Q.; LIU, F.; WEI, Z.-H. Characterization of gelatin-based edible films incorporated with olive oil. **Food Research International**, v.49, n.1, p. 572-579, 2012.

MACHADO, M. T. C. **Concentração de extratos de pequi (*Caryocar brasiliense* Camb.) por nanofiltração**. 2011. 134 p. Dissertação (Mestrado em Engenharia de Alimentos) – Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2011.

MAIZURA, M.; FAZILAH, A. NORZIAH, M. H.; KARIM, A. A. Antibacterial activity and mechanical properties of partially hydrolyzed sago starch-alginate edible film containing lemongrass oil. **Journal of Food Science – Food Chemistry and Toxicology**, v. 72, n. 6, p. C324-C330, 2007.

MALI, S.; SAKANAKA, L. S.; YAMASHIDA, F.; GROSSMANN, M. V. E. Water sorption and mechanical properties of cassava starch films and their relation to plasticizing effect. **Carbohydrate Polymers**, v.60, n.3, p. 283–289, 2005.

MALI, S.; GROSSMANN, M. V. E.; GARCÍA, M.; MARTINO, M.; ZARITZKY, N. Antiplasticizing effect of glycerol and sorbitol on the properties of cassava starch films. **Brazilian Journal of Food Technology**, v. 11, n.3, p. 194–200, 2008.

MAYEN, C.; MARSHALL, M. I. **Opportunities in the fresh-cut fruit sector for Indiana melon growers**. Purdue New Ventures, 2005. Disponível em: <<http://www.extension.purdue.edu/extmedia/EC/EC-732.pdf>> Acessado em: 15 Out. 2012.

MAYER, A.S. Natural food preservatives. In: OHLSSON, T.; BENGTSSON, N. **Minimal processing technologies in the food industry**. CRC Press. Capítulo 6, 2002, p. 124-161.

MATKOWSKI, A. Plant in vitro culture for the production of antioxidants–A review. **Biotechnology. Advances**, v.26, n. 6, p. 548-560, 2008.

MCCLEMENTS, D. J. Rheology. In: MCCLEMENTS, D. J. (Editor). **Emulsion: Principles, Practices, and Techniques**. Boca Ration: CRC Press, 2ed, 2005a. Capítulo 8, p. 1-47.

MCCLEMENTS, D. J. Appearance. In: MCCLEMENTS, D. J. (Editor). **Emulsion: Principles, Practices, and Techniques**. Boca Ration: CRC Press, 2ed, 2005b. Capítulo 10, p. 1-29.

MCCLEMENTS, D. J. Critical review of techniques and methodologies for characterization of emulsion stability. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, Philadelphia, v. 47, n. 7, p. 611-649, set. 2007.

MORRISON, L. R. Glycerol. In: **Kirk-Othmer Encyclopedia of chemical technology**. 5.ed. New York: John Wiley, 2007.

MUCHUWETI, M.; KATIVU, E.; MUPURE, C.H.; CHIDEWE, C.; NDHLALA, A. R.; BENHURA, M. A. N. Phenolic composition and antioxidant properties of some spices. **Journal of Food Technology**, v.2, n. 5, p.414-420, 2007.

MÜLLER, C. M. O.; YAMASHITA, F.; LAURINDO, J. B. Evaluation of the effects of glycerol and sorbitol concentration and water activity on the water barrier properties of cassava starch films through a solubility approach. **Carbohydrate Polymers**, v. 72, n.1, p. 82-87, 2008.

NANASOMBAT, S.; WIMUTTIGOSOL, P. Antimicrobial and antioxidant activity of spice essential oils. **Food Science and Biotechnology**, v. 20, n. 1, p.45-53, 2011.

NEWSTEIN, M.C., WANG, H., BALSARA, N.P., LEFEBVRE, A.A., SHNIDMAN, Y., WATANABE, H., OSAKI, K., SHIKATA, T., NIWA, H., MORISHIMA, Y. Microstructural changes in a colloidal liquid in the shear thinning and shear thickening regimes. **Journal of Chemical Physics**, v.111, n.10, p.4827, 1999.

OLIVAS, G. I.; BARBOSA-CÁNOVAS, G.V. Edible coatings for fresh-cut fruits. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v. 45, n. 7-8, p. 657-670, 2005.

OLIVAS, G.I.; MATTINSON, D.S.; BARBOSA-CÁNOVAS, G.V. Alginate coatings for preservation of minimally processed ‘Gala’ apples. **Postharvest Biology and Technology**. v. 45, n. 1, p. 89 - 96, 2007.

OLIVAS, I. G.; BARBOSA-CÁNOVAS, G. Edible Films and Coatings for Fruits and Vegetables. EMBUSCADO, M. E.;HUBER, K.C. (EDITORES). In: **Edible Films and Coatings for Food Applications**. Springer: LLC, 2009. Cap. 7, p. 211-244.

OLIVEIRA, A. G. **Caracterização da Distribuição do Tamanho de Gotas em Emulsões Água e Óleo Utilizando Diferentes Técnicas de Medição**. 2010. 144 p. Dissertação (Mestrado em Engenharia Mecânica) – Instituto de Engenharia Mecânica, Universidade Federal de Itajubá, Itajubá, 2010.

OMS-OLIU, G.; SOLIVA-FORTUNY, R.; MARTÍN-BELLOSO, O. Edible coatings with antibrowning agents to maintain sensory quality and antioxidant properties of fresh-cut pears. **Postharvest Biology and Technology**, v. 50, n.1, p. 87-94, 2008.

PAN, S.-Y.; CHEN, C.-H.; LAI, L.-S. Effect of Tapioca Starch/Decolorized Hsian-tsao Leaf Gum-Based Active Coatings on the Qualities of Fresh-Cut Apples. **Food and Bioprocess Technology**, p. 1-11 DOI: 10.1007/s11947-012-0907-5, 2012.

PARETA, R.; EDIRISINGHE, M.J. A novel method for the preparation of starch films and coatings. **Carbohydrate Polymers**, v. 63, n.3, p.425-431, 2006.

PELISSARI, F.M.; GROSSMANN, M.V.E.; YAMASHITA, F.; PINED, E.A.G. Antimicrobial, mechanical, and barrier properties of cassava starch-chitosan films incorporated with oregano essential oil. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 57, n. 16, p. 7499-7504, 2009.

PERDONES, A.; SÁNCHEZ-GONZÁLEZ, L.; CHIRALT, A.; VARGAS, M. Effect of chitosan-lemon essential oil coatings on storage-keeping quality of strawberry. **Postharvest Biology and Technology**, v. 20, n.1, p. 32-41, 2012.

PERERA, C. O. Minimal Processing of Fruits and Vegetables. In: RAHMAN, M. S. **Handbook of Food Preservation**, 2. ed., --: CRC Press, p. 137-150, cap.5, 2007.

PEREZ-GAGO, M.B.; KROCHTA, J. M. Emulsion and bi-layer edible films. In: HAN, J. (Editores). **Innovations in Food Packaging**. Amsterdam: Elsevier Science & Technology Books, 2005. Capítulo 22, p. 384-399.

PEREZ-GAGO, M. B.; SERRA, M., ALONSO, M.; MATEOS, M.; DEL RÍO, M. A. Effect of whey protein and hydroxypropyl methylcellulosebased edible composite coatings on color change of fresh-cut apples. **Postharvest Biology and Technology**, v.36, p.77-85, 2005.

POLITEO, O.; JUKIĆ, M.; MILOŠ, M. Chemical composition and antioxidant activity of essential oils of twelve spice plants. **Croatica Chemica Acta**, v.79, n.4, p. 545-552, 2006.

PUTAUX, J.-L.; MONTESANTI, N.; VÉRONSE, G.; BULÉON, A. Morphology and structure of A-amylose single crystals. **Polymer**, v.52, n.10, p. 2198-2205, 2011.

RAYBAUDI-MASSILIA, R.M.; MOSQUEDA-MELGAR, J.; MARTÍN-BELLOSO, O. Edible alginate-coating as Carrier of antimicrobials to improve shelf-life and safety of fresh-cut melon. **International Journal of Food Microbiology**, v. 121, n.3, p. 313-327, 2008.

RAYBAUDI-MASSILIA, R. M.; ROJAS-GRAÜ, M.A.; MOSQUEDA-MELGAR, J.; MARTÍN-BELLOSO, O. Comparative study on essential oils incorporated into an alginate-

based edible coating to assure the safety and quality of fresh-cut 'Fuji' apples. **Journal of Food Protection**, v.71, n.06, p.1150-1161, 2008.

RHIM, J. W.; SHELLHAMMER, T. H. Lipid-based edible films and coatings In: HAN, J. H. (Editor). **Innovations in Food Packaging**. Amsterdam: Elsevier Science & Technology Books, 2005. Capítulo 21, p. 362 – 383.

ROCCULI, P.; ROMANI, S.; DALLA ROSA, M. Evaluation of physico-chemical parameters of minimally processed apples packed in non-conventional modified atmosphere. **Food Research International**, v.37, n.4, p. 329–335, 2004.

ROJAS-GRAÜ, M.A.; AVENA-BUSTILLOS, R.J.; FRIEDMAN, M.; HENIKA, P.R.; MARTÍN-BELLOSO, O.; MCHUGH, T.H. Mechanical, barrier, and antimicrobial properties of apple puree edible films containing plant essential oils. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 54, n.24, p. 9262-9267, 2006.

ROJAS-GRAÜ, M.A. RAYBAUDI-MASSILIA, R.M.; SOLIVA-FORTUNY, R.C.; AVENA-BUSTILLOS, R.J.; MCHUGH, T.H.; MARTÍN-BELLOSO, O. Apple puree-alginate edible coating as carrier of antimicrobial agents to prolong shelf-life of fresh-cut apples. **Postharvest Biology and Technology**, v.45, n.2, p.254-264, 2007a.

ROJAS-GRAÜ, M. A.; TAPIA, M .S.; RODRÍGUEZ,F. J.; CARMONA, A. J.; MARTIN-BELLOSO, O. Alginate and gellan-based edible coatings as carriers of antibrowning agents applied on fresh-cut Fuji apples. **Food Hydrocolloids**, v. 21, n.1, p. 118-127, 2007b

ROJAS-GRAÜ, M.A.; SOLIVA-FORTUNY, R.; MARTÍN-BELLOSO, O. Edible coatings to incorporate active ingredients to fresh-cut fruits: a review. **Trends in Food Science and Technology**, v.20, n.10, p. 438-447, 2009.

ROJAS-GRAÜ, M. A.; GARNER,E.; MARTÍN-BELLOSO, O. The Fresh-Cut Fruit and Vegetables Industry In: MARTÍN-BELLOSO, O; SOLIVA-FORTUNY, R. (Editores). **Advances in Fresh-Cut Fruits and Vegetables Processing**. Boca Raton: CRC Press, 2010. Capítulo 1, p.1-11.

ROJAS-GRAÜ, M. A.; SOLIVA-FORTUNY, R.; MARTÍN-BELLOSO, O. Use of Edible Coatings for Fresh-Cut Fruits and Vegetables. In: MARTÍN-BELLOSO, O; SOLIVA-FORTUNY, R. (Editores). **Advances in Fresh-Cut Fruits and Vegetables Processing**. Boca Raton: CRC Press, 2010. Capítulo 11, p.. 285-311.

ROSA, D.S.; GUEDES, C.G.F.; PEDROSO, A.G. Gelatinized and nongelatinized corn starch/poly(ϵ -caprolactone) blends: Characterization by rheological, mechanical and morphological properties. **Polímeros: Ciência e Tecnologia**, v.14, n.3, p.181–186, 2004.

RUFINO, M.S.M.; ALVES, R.E.; BRITO, E.S.; MORAIS, S.M.; SAMPAIO, C.G.; PÉREZ-JIMÉNEZ, J.; SAURA-CALIXTO, F.D. **Metodologia Científica**: Determinação da Atividade Antioxidante Total em Frutas pelo Método de Redução do Ferro (FRAP). Comunicado técnico on-line, 125. EMBRAPA, Fortaleza, 2006.

RUFINO, M.S.M.; ALVES, R.E.; BRITO, E.S.; MORAIS, S.M.; SAMPAIO, C.G.; PÉREZ-JIMÉNEZ, J.E.; SAURA-CALIXTO, F.D. **Metodologia científica**: Determinação da atividade antioxidante total em frutas pela captura do radical livre DPPH. Comunicado técnico online. EMBRAPA, Fortaleza, 2007.

SÁNCHEZ-GONZÁLEZ, L., VARGAS, M., GONZÁLEZ-MARTÍNEZ, C., CHIRALT, A., CHÁFER, M. Characterization of edible films based on hydroxypropylmethylcellulose and tea tree essential oil. **Food Hydrocolloids**, v.23, n.8, p. 2102-2109, 2009.

SANCHEZ-GONZALEZ, L.; PASTOR, C.; VARGAS, M.; CHIRALT, A.; GONZALEZ-MARTINEZ, C.; CHAFER, M. Effect of hydroxypropylmethylcellulose and chitosan coatings with and without bergamot essential oil on quality and safety of cold-stored grapes. **Postharvest Biology and Technology**, v. 60, n. 1, p.57-63, 2010.

SÁNCHEZ-GONZÁLEZ, L.; VARGAS, M.; GONZÁLEZ-MARTÍNEZ, C.; CHIRALT, A.; CHÁFER, M. Use of essential oil in bioactive edible coatings. **Food Engineering Review**, v.3, n. 1, p. 1-16, 2011.

SANTANA, R.C. **Emulsões estabilizadas por colágeno: efeito da hidrólise térmica e do processo de homogeneização**. 2009. 129 p. Dissertação (Mestrado em Engenharia de Alimentos) - Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2009.

SINGH, J.; SINGH, N.; SAXENA, S. K. Effect of fatty acids on the rheological properties of corn and potato starch. **Journal of Food Engineering**, v.52, n.1, p. 9-16, 2002.

SHAHAT, A. A.; IBRAHIM, A. Y.; HENDAWY, S. F.; OMER, E. A.; HAMMOUDA, F. M.; ABDEL-RAHMAN, F. H.; SALEH, M. A. Chemical Composition, Antimicrobial and Antioxidant Activities of Essential Oils from Organically Cultivated Fennel Cultivars. **Molecules**, v. 16, p. 1366-1377, doi:10.3390/molecules16021366, 2011.

SINGLETON, V. L.; ORTHOFER, R.; LAMUELA-RAVENTOS, R. M. Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of Folin-Ciocalteu reagent. **Methods Enzymol.**, v.299, 152–178, 1999.

SOTHORNVIT, R.; RODSAMRAN, P. Effect of a mango film on quality of whole and minimally processed mangoes. **Postharvest Biology and Technology**, v. 47, n. 3, p. 407-415, 2008.

SPERLING, L. H. Introduction to physical polymer science. New Jersey: John Wiley & Sons, Inc., (2006).

STEFFE, J. F.; DAUBERT, C. R. Propriedades Reológicas de Fluidos Reológicos. In: STEFFE, J. F.; DAUBERT, C. R. (Editores) **Ductos y Tuberías para Bioprocesos: Reología y Análisis**. Freeman Press, East Lansing, MI, USA, 2006. Capítulo 1, p. 1-12.

SWAIN, T.; HILLIS, W.E.; The phenolic constituents of *Prunus domestica*. The quantitative analysis of phenolic constituents. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v.10, n.1, p.63-68, 1959.

TAPIA, M.S.; ROJAS-GRAÜ, M.A.; CARMONA, A.; RODRÍGUEZ, F.J.; SOLIVA-FORTUNY, R.; MARTIN-BELLOSO, O. Use of alginate- and gellan-based coatings for improving barrier, texture and nutritional properties of fresh-cut papaya. **Food Hydrocolloids**, v. 22, p. 1493–1503, 2008.

THAKHIEW, W.; DEVAHASTIN, S.; SOPONRONNARIT, S. Effects of drying methods and plasticizer concentration on some physical and mechanical properties of edible chitosan films. **Journal of Food Engineering**, v.99, n.2, p. 216-224, 2010.

TONGDEESOONTORN, W.; MAUER, L.J.; WONGRUONG, S.; SRIBURI, P.; RACHTANAPUN, P. Effect of carbocymethyl cellulose concentration on physical properties of biodegradable cassava starch-based films. **Chemistry Central Journal**, v. 5, p. 1-8, 2011.

UNICAMP – Universidade Estadual de Campinas. **Tabela Brasileira de Composição de Alimentos – TACO**. Disponível em: < <http://www.unicamp.br/nepa/taco/>>. Acesso em: 16 Out. 2012.

USDA – **United States Department of Agriculture**. Tabela de Composição Química de Alimentos. Disponível em: < <http://www.unifesp.br/dis/servicos/nutri/nutri.php?id=1987>>. Acessado em: 16 Out. 2012.

USTUNOL, Z. Edible Films and Coatings for Meat and Poultry. In: EMBUSCADO, M.E.; HUBER, K. C. **Edible Films and Coatings for Food Applications**. --: Springer, 2009. Capítulo 8, p.245-269.

VARGAS, M.; ALBORS, A.; CHIRALT, A.; GONZÁLEZ-MARTÍNEZ, C. Quality of cold-stored strawberries as affected by chitosan-oleic acid edible coatings. **Postharvest Biology and Technology**, v. 41, n. 2, p. 164-171, 2006.

VARGAS, M.; PASTOR, C.; CHIRALT, A.; MCCLEMENTS, D.J.; GONZÁLEZ-MARTÍNEZ, C. Recent Advances in Edible Coatings for Fresh and Minimally Processed Fruits. Critical Reviews in **Food Science and Nutrition, Philadelphia**, v. 48, n. 6, p. 496-511, 2008.

WANG, B.; LI, D.; WANG, L.-J.; LIU, Y.-H.; ADHIKARI, B. Effect of high-pressure homogenization on microstructure and rheological properties of alkali-treated high-amylose maize starch. **Journal of Food Engineering**, v.113, p. 1,p. 61-68, 2012.

WEN, L.C.; WEN, Y.C.; SUNG-CHUAN, W.; KUANGH-WAY, Y. DPPH free-radical scavenging activity, total phenolic contents and chemical composition analysis of forty-two kinds of essential oils. **Journal of Food and Drug Analysis**, v.17, n.5, p.386–95, 2009.

WHITE, J. M. L.; MCFADDEN, J. P. Contact allergens in food ingredients and additives: atopy and the hapten-atopy hypothesis. **Contact Dermatitis**, v. 58, n.4 p.245–246, 2008.

YUTANI, M.; HASHIMOTO, Y.; OGITA, A.; KUBO, I.; TANAKA, T.; FUJITA, K.I. Morphological changes of the filamentous fungus *Mucor Mucedo* and inhibition of chitin synthase activity induced by anethole. **Phytotherapy Research**, v. 25, p. 11,p. 1707-1713, 2011.

ANEXO A



FÉCULA DE MANDIOCA

Descrição	Amido de mandioca
Aparência	Pó branco
Especificações	
Umidade	11... 14%
pH	5.0 ...7.0
Viscosidade Brabender	min. 700 BU
Granulometria	passa 99%, mesh # 100
Fibras finas 9.1	max. Nível C
Sujidade	max. Nível C
Pontos pretos	max. Nível 3
Metodologia	
Umidade	ISO 1666
pH	Suspensão 30% em água destilada
Viscosidade Brabender	6%, 75°C. 700 cmg, 3°C/min, 75 rpm
Fibras finas 9.1	Metodologia DSI
Sujidade	1 Kg # 200 mesh
Pontos pretos	91 g # 200 mesh

Armazenamento

Estocar em local fresco, seco em embalagens fechadas.
Tempo recomendado de armazenamento: 2 anos

Nota:

Devido à pureza e características higroscópicas naturais o produto pode gerar aglomerações compactadas.

EP - Fécula de mandioca 1/1

Dutch Starches International
Rodovia Goiana Oliveira Castro, Km 04 - CEP: 85980-000 - Curitiba - PR - Brasil.
Fone: (44) 3642-9888 - Fax: (44) 3642-9887

ANEXO B



Product Specification

FENNEL ESSENTIAL OIL

Ref :
AA015901

This specification sheet cancels and replaces all previous publications : July 22, 2011

Óleo Essencial de Erva Doce

• Description :

Essential oil obtained by steam distillation of fennel seeds. **Parte da planta usada: Semente**Botanical name : *Foeniculum vulgare* L.

• Composition :

Natural extract

• Regulations status :

Natural flavouring of the named source according to European Regulation 1334/2008/EC. Natural flavoring according to US Code of Federal Regulation 21CFR101.22.

• Specifications :

Sensory quality :

Aspect :	Liquid
Color :	Colorless to pale yellow
Flavor :	Characteristic
Solubility :	Oil soluble

Analytical quality :

Specific gravity (20°C/20°C) :	0.953 - 0.973
Refractive index (20°C) :	1.528 - 1.538
Optical rotation (20°C) :	+ 12° / + 24°
Restricted substances :	See list on last page

Microbiological quality :

Total plate count :	< 1000 cfu/g
Yeasts and molds :	< 100 cfu/g

• Packaging :

HDPE jerrycan: 10 and 25 kg net
Aluminium bottle: 1 kg net

• Storage conditions :

To be stored in a cool room, sheltered from light, moisture and oxygen.

• Shelf life :

12 months under the previously mentioned conditions and in its original packaging.

1/2

GLOBAL HEADQUARTERS - Site d'Agroparc - BP 1218 - 84911 Avignon cedex 9 - France - Tel : 33 (0)4 90 23 96 89 - Fax : 33 (0)4 90 23 73 40
 US HEADQUARTERS - 375 Huyler street - South Hackensack - NJ 07606 - USA - Tel: 1 201 440 5000 - Fax : 1 201 342 8000
 E-mail : naturex@naturex.com - Website : www.naturex.com



Product Specification

FENNEL ESSENTIAL OILRef :
AA015901*This specification sheet cancels and replaces all previous publications : July 22, 2011**** List of Naturally occurring restricted substances according to Regulation (EC) No 1334/2008**

Beta-asarone :	N/A
Coumarin :	N/A
Estragole :	< 10 %
Hydrocyanic acid :	N/A
Menthofuran :	N/A
Methyleugenol :	N/A
Pulegone :	N/A
Quassin :	N/A
Safrole :	N/A
Teucrin :	N/A
Thujone (alpha & beta) :	N/A

2/2

GLOBAL HEADQUARTERS - Site d'Agroparc - BP 1218 - 84911 Avignon cedex 9 - France - Tel : 33 (0)4 90 23 96 89 - Fax : 33 (0)4 90 23 73 40
US HEADQUARTERS - 375 Huyler street - South Hackensack - NJ 07606 - USA - Tel: 1 201 440 5000 - Fax : 1 201 342 8000
E-mail : naturex@naturex.com - Website : www.naturex.com



Product Specification

CINNAMON EO COUMARIN FREERef :
AA016501*This specification sheet cancels and replaces all previous publications : July 22, 2011***Óleo Essencial de Casca de Canela**• **Description :**

Extract obtained from Cinnamon.

Botanical name : *Cinnamomum zeylanicum*Part of plant used: bark. **Parte da planta usada: Casca**• **Composition :**

Natural extract

• **Regulations status :**

Natural flavouring of the named source according to European Regulation 1334/2008/EC. Natural flavoring according to US Code of Federal Regulation 21CFR101.22.

• **Specifications :****Sensory quality :**

Aspect :	Liquid
Color :	Yellow
Flavor :	Characteristic
Solubility :	Oil soluble

Analytical quality :

Specific gravity (20°C) :	1.0 - 1.1
Refractive index (20°C) :	1.45 - 1.65
Coumarin content :	< 0.02%
Cinnamaldehyde content :	> 55%

Restricted substances : See list on last page

• **Packaging :**

HDPE jerrycan: 25 kg net

• **Storage conditions :**

Temperature <12 °C, sheltered from light, moisture and oxygen.

• **Shelf life :**

12 months under the previously mentioned conditions and in its original packaging.

1/2



Product Specification

CINNAMON EO COUMARIN FREERef :
AA016501*This specification sheet cancels and replaces all previous publications : July 22, 2011***• List of Naturally occurring restricted substances according to Regulation (EC) No 1334/2008**

Beta-asarone :	N/A
Coumarin :	< 5000 ppm
Estragole :	N/A
Hydrocyanic acid :	N/A
Menthofuran :	N/A
Methyleugenol :	N/A
Pulegone :	N/A
Quassin :	N/A
Safrole :	N/A
Teucrin :	N/A
Thujone (alpha & beta) :	N/A

2/2