



UNIVERSIDADE ESTADUAL DO SUDOESTE DA BAHIA – UESB
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ENGENHARIAS E CIÊNCIAS DE
ALIMENTOS

DESENVOLVIMENTO E CARACTERIZAÇÃO DE BIOPLÁSTICOS A BASE
DE AMIDO DE JACA COM INCORPORAÇÃO DE LISOZIMA

TALINE AMORIM SANTOS

ITAPETINGA
BAHIA-BRASIL

2015

TALINE AMORIM SANTOS

**DESENVOLVIMENTO E CARACTERIZAÇÃO DE BIOPLÁSTICOS A
BASE DE AMIDO DE JACA COM INCORPORAÇÃO DE LISOZIMA**

Dissertação apresentada a Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia - UESB, como parte integrante das exigências do Programa de Pós-Graduação em Engenharia e Ciências de Alimentos, área de concentração em Engenharia de Processos de Alimentos, para obtenção do título de “Mestre”.

Orientadora:

Prof^a. D. Sc. Renata Cristina Ferreira Bonomo

Co-Orientadores:

Prof^a. D. Sc. Ana Clarissa dos Santos Pires

Prof^o. D. Sc. Luciano Brito Rodrigues

**ITAPETINGA
BAHIA-BRASIL**

2015

660.634

S239d

Santos, Taline Amorim.

Desenvolvimento e caracterização de bioplásticos a base de amido de jaca com incorporação de lisozima. / Taline Amorim Santos. - Itapetinga: UESB, 2015.

64f.

Dissertação apresentada a Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia - UESB, como parte integrante das exigências do Programa de Pós-Graduação em Engenharia e Ciências de Alimentos, área de concentração em Engenharia de Processos de Alimentos, para obtenção do título de "Mestre". Sob a orientação da Profa. D.Sc. Renata Cristina Ferreira Bonomo e co-orientação da Profa. D.Sc. Ana Clarissa dos Santos Pires e Prof. D.Sc. Luciano Brito Rodrigues.

1. Amido de jaca – Bioplástico - Difusão. 2. Bioplástico – Enzima - Atividade antimicrobiana. I. Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia. Programa de Pós-Graduação em Engenharia de Alimentos. II. Bonomo, Renata Cristina Ferreira. III. Pires, Ana Clarissa dos Santos. IV. Rodrigues, Luciano Brito. V. Título.

CDD(21): 660.634



Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia
Programa de Pós-Graduação
Mestrado em Engenharia e Ciência de Alimentos



Áreas de Concentração: Engenharia de Alimentos
Ciência de Alimentos

DECLARAÇÃO DE APROVAÇÃO

Título: DESENVOLVIMENTO E CARACTERIZAÇÃO DE BIOPLÁSTICOS A BASE DE AMIDO DE JACA COM INCORPORAÇÃO DE LISOZIMA

Autor (a): TALINE AMORIM SANTOS

Orientador (a): Prof.^a Dr.^a Renata Cristina Ferreira Bonomo

Co-orientador (a): Prof.^a Dr.^a Ana Clarissa dos Santos Pires
Prof.^o Dr. Luciano Brito Rodrigues

Aprovado como parte das exigências para obtenção do Título de **MESTRE EM ENGENHARIA E CIÊNCIA DE ALIMENTOS, ÁREA DE CONCENTRAÇÃO: ENGENHARIA DE ALIMENTOS**, pela Banca Examinadora.


Prof.^a Dr.^a Renata Cristina Ferreira Bonomo (UESB)


Prof.^o Dr. Leandro Soares Santos (UESB)


Prof.^a Dr.^a Maria Patrícia Milagres (UESB/Jequié)

Itapetinga-BA, 11 de fevereiro de 2015.

“Obstáculos são aquelas coisas medonhas que você vê quando tira os olhos do seu objetivo”.

Henry Ford

Tudo posso naquele que me fortalece.

(Filipenses 4:13)

AGRADECIMENTOS

Ao todo criador, Deus, que está acima de todas as coisas deste mundo, por ter-me, por ter me proporcionado saúde e forças para superar os períodos difíceis na conclusão desta etapa tão importante em minha vida;

Agradeço à minha mãe, Carmelina, pela confiança, amor, cuidado, e sabedoria. Você é responsável por este momento tão marcante em minha vida. A você que desde o começo acreditou, incentivando - me sempre a busca de novos conhecimentos. Esta vitória também é sua.

Ao meu namorado Marcos pelas conquistas ao longo desta caminhada, pelo seu amor inigualável, cumplicidade, amparo, incentivo, paciência e suporte durante estes dois anos de muita batalha e persistência.

A minha família em especial a minha irmã Talita, que esteve comigo durante esses anos aqui em Itapetinga.

À Professora Renata Cristina Ferreira Bonomo, pela orientação e dedicado apoio durante o desenvolvimento desse trabalho.

Aos meus mestres e amigos, Leandro Soares, Paulo Bonomo, Rafael Fontan, Cristiane Martins e Luciano Brito, muito obrigado pelo conhecimento, pelo apoio, e pela amizade. Vocês são os profissionais que me inspiram.

A minha grande amiga e companheira Simone, em primeiro lugar pela cumplicidade e companheirismo em todos esses anos, momentos de muita alegria e a certeza que a amizade é para todo sempre e pelo apoio no desenvolvimento deste trabalho.

Agradeço aos colegas e amigos Adejanildo, Rafael, Grazyelli, Ben-Hur e Ludmila, por tudo que pudemos compartilhar a convivência, as alegrias, as frustrações, as descobertas, enfim pelo o que aprendemos.

Aos amigos do Laboratório de Engenharia de Processos (LEP) pelos momentos agradáveis e auxílio.

À banca examinadora;

A Capes, pela concessão da bolsa de estudos;

À UESB, pelo espaço cedido em seus laboratórios, bibliotecas e salas de aula;

Enfim, a todos que direta ou indiretamente colaboraram na execução deste trabalho, muito obrigada.

RESUMO

AMORIM-SANTOS, Taline, Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia, Fevereiro de 2014. Desenvolvimento e caracterização de bioplásticos a base de amido de jaca com incorporação de lisozima. Orientadora: Prof^a. D. Sc. Renata Cristina Ferreira Bonomo. Co-orientadores: Prof^a. D. Sc. Ana Clarissa dos Santos Pires e Prof^o. D. Sc. Luciano Brito Rodrigues.

O interesse por embalagens biodegradáveis tais como os bioplásticos, está aumentando porque usa materiais naturais e recursos renováveis, que não contribuem para a poluição ambiental. Entre todos os biopolímeros o amido está sendo pesquisado como um material com grande potencial para elaboração de películas biodegradáveis. O objetivo deste estudo é a elaboração e caracterização de um bioplástico de amido de jaca com diferentes valores de pH, e a incorporação da lisozima como agente antimicrobiano na matriz amilácea. Foram desenvolvidos bioplásticos de amido de jaca com e sem adição de lisozima com diferentes níveis de pH, a técnica utilizada foi do tipo *casting*. Os bioplásticos foram caracterizados quanto à atividade antimicrobiana, espessura, solubilidade, permeabilidade ao vapor de água e propriedades mecânicas. Os bioplásticos apresentaram boa aparência e atividade antimicrobiana contra *Micrococcus Lysodeikticus*. A espessura dos bioplásticos não foi afetada pela variação de pH, porém, a adição de lisozima causou um aumento na espessura dos mesmos. Os bioplásticos com maior concentração de lisozima foram os que apresentaram maior espessura. A variação de pH das soluções filmogênica favoreceu a solubilidade dos bioplásticos e maior solubilidade em água foi encontrada nos bioplásticos de pH 7,0 e na maior concentração de lisozima. A incorporação de lisozima causou um aumento na permeabilidade dos bioplásticos. A concentração de lisozima e a variação de pH causou variações nas propriedades mecânicas dos bioplásticos. A adição de 8% de lisozima houve um aumento na resistência a tração e no módulo de Young em todos os valores de pH estudados. Os bioplásticos e pH 7,0 e com 8% de lisozima apresentaram maior percentual de alongamento. A difusão da lisozima segue o mecanismo de transporte Fickiano. Portanto a taxa de difusão da lisozima é muito menor do que a taxa de relaxação da matriz polimérica.

Palavras chave: Enzima, atividade antimicrobiana e difusão.

ABSTRACT

The interest in biodegradable packaging such as bioplastics, is increasing because it uses natural materials and renewable resources, which do not contribute to environmental pollution. Among all the starch biopolymers is being researched as a material with great potential for development of biodegradable films. The objective of this study is the development and characterization of a jackfruit starch bioplastic with different pH values, and the incorporation of lysozyme as an antimicrobial agent in starchy matrix. Were developed jackfruit starch bioplastics with and without addition of lysozyme with different pH levels, the technique used was the type casting. Bioplastics were characterized for antimicrobial activity, thickness, solubility, permeability to water vapor and mechanical properties. Bioplastics had good looks and antimicrobial activity against *Micrococcus lysodeikticus*. The thickness of bioplastics was not affected by the pH variation; however, the addition of lysozyme caused a nning the thickness thereof. Bioplastics with the highest concentration of lysozyme showed the greatest thickness. The pH range of filmogenic solution of bioplastics favored solubility and greater aqueous solubility was found in the pH 7.0 and bioplastics highest concentration of lysozyme. The incorporation of lysozyme caused an increase in the permeability of bioplastics. The concentration of lysozyme, pH changes caused by variations in the mechanical properties of bioplastics. The addition of 8% lysozyme there was an increase in tensile strength and Young's modulus at all pH levels studied. Bioplastics and pH 7.0 and 88% of lysozyme showed higher elongation percentage. The diffusion of lysozyme follows Fickian transport mechanism. Therefore, the lysozyme diffusion rate is much smaller than the relaxation rate of the polymer matrix.

Keywords: Enzyme, antimicrobial activity and diffusion.

AMORIM-SANTOS, Taline, State University of Southwest Bahia, February 2014. Development and characterization of bioplastics jackfruit starch based lysozyme incorporation. Advisor: Prof.. D. Sc. Renata Cristina Ferreira Bonomo. Co-advisors: Prof.. D. Sc. Ana Clarissa dos Santos Pires and Prof.. D. Sc. Luciano Brito Rodrigues.

Lista de Figuras

Figura 1- Estrutura das frações do amido	18
Figura 2- Bioplásticos de amido de jaca.	34
Figura 3 - Zona de inibição (contra <i>Micrococcus lysodeikticus</i>) de bioplásticos de amido de jaca: a) 0% de lisozima e b) 4% de lisozima	34
Figura 4 - Dimensões do corpo de prova para realização do teste de tração.	35
Figura 5- Ensaio mecânico dos bioplásticos	35
Figura 6 - Curva tensão-deformação do bioplástico de amido de jaca com 8% de lisozima e pH 7,0.	36
Figura 7- Ilustração do teste de Permeabilidade ao vapor de água	37
Figura 8 - Zona de inibição (contra <i>Micrococcus lysodeikticus</i>) de bioplásticos de amido de jaca em função da concentração de lisozima.	40
Figura 9 - Espessura dos bioplásticos de amido de jaca em diferentes concentrações de lisozima.	42
Figura 10 - Solubilidade em água dos bioplásticos de amido de jaca com diferentes concentrações de lisozima e valores de pH.	44
Figura 11 - Solubilidade dos bioplásticos de amido de jaca (pH 6,0) em solução ácida e em água. ...	45
Figura 12 - Permeabilidade ao vapor de água dos bioplásticos de amido de jaca em função da concentração de lisozima.	46
Figura 13 - Tensão máxima dos bioplásticos de amido de jaca com diferentes concentrações de lisozima e valores de pH.	48
Figura 14 - Percentual de alongamento dos bioplásticos de amido de jaca com diferentes concentrações de lisozima e valores de pH.	49
Figura 15 - Módulo de Young dos bioplásticos de amido de jaca com diferentes concentrações de lisozima e valores de pH.	50
Figura 16 - Curvas de liberação da lisozima dos bioplásticos de amido de jaca com 8% de lisozima em diferentes solventes; água e solução de ácido acético 3%.....	51

Lista de Tabelas

Tabela 1 - Conteúdo de amilose de amidos de fontes naturais.....	20
Tabela 2 - Expoente de difusão e mecanismo de liberação.....	26
Tabela 3 - Formulações dos bioplásticos	33
Tabela 4 - Composição centesimal do amido de jaca.....	39
Tabela 5 - Espessura dos bioplásticos de amido de jaca.	41
Tabela 6 - Propriedades mecânicas dos bioplásticos de amido de jaca.....	47
Tabela 7 - Expoente de difusão (n), constante de difusão (k) e coeficiente de difusão (D_{ef}) de liberação de lisozima. Bioplásticos de amido de jaca com 8% de lisozima.	52

Sumário

1	INTRODUÇÃO.....	13
2	OBJETIVOS.....	15
2.1	Objetivo Geral.....	15
2.2	Objetivos Específicos.....	15
3	REVISÃO DE LITERATURA.....	16
3.1	Bioplásticos.....	16
3.2	Constituintes do Bioplástico.....	17
3.2.1	Amido.....	17
3.2.2	Proteínas.....	20
3.3	Embalagens Antimicrobianas.....	22
3.4	Lisozima.....	23
3.5	Difusão de Compostos.....	24
4	MATERIAL E MÉTODOS.....	30
4.1	Matéria Prima.....	30
4.2	Extração do Amido.....	30
4.3	Composição centesimal do amido de jaca.....	31
4.3.1	Umidade.....	31
4.3.2	Cinzas.....	31
4.3.3	Proteínas.....	31
4.3.4	Teor de lipídeos.....	31
4.3.5	Determinação do Teor de Amido.....	32
4.3.6	Determinação do Teor de Amilose.....	32
4.4	Produção do bioplástico.....	32
4.5	Determinação da atividade antimicrobiana dos bioplásticos.....	34
4.6	Caracterização dos bioplásticos.....	35
4.6.1	Espessura.....	35
4.6.2	Propriedades mecânicas.....	35
4.6.3	Solubilidade.....	36
4.6.4	Permeabilidade ao vapor de água.....	37
4.7	Estudo da difusão da Lisozima.....	38
4.7.1	Quantificação da lisozima liberada.....	38
4.8	Delineamento experimental.....	38

5	RESULTADOS E DISCUSSÕES	38
5.1	Caracterização do amido de jaca	38
5.2	Caracterização dos bioplásticos de amido de jaca	40
5.2.1	Atividade antimicrobiana dos bioplásticos	40
5.3	Espessura	41
5.4	Solubilidade	43
5.5	Permeabilidade ao Vapor de Água (PVA)	45
5.6	Propriedades Mecânicas	47
5.7	Estudo da difusão da lisozima	51
6	CONCLUSÕES	54
7	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	55

1 INTRODUÇÃO

O interesse por embalagens biodegradáveis tais como os bioplásticos, tem aumentado em razão das preocupações ambientais, demandando a substituição de plásticos a base de petróleo por materiais naturais oriundos de recursos renováveis e que, portanto não contribuem com o aumento da poluição ambiental.

Entre todos os biopolímeros o amido está sendo pesquisado como um material com grande potencial para elaboração de películas biodegradáveis. Vários pesquisadores têm estudado o uso de amidos de diferentes fontes, para produzir bioplásticos com diferentes propriedades uma vez que é uma fonte de energia renovável, barata e amplamente disponível (CHIUMARELLI e HUBINGER, 2014; PRATES e ASCHER, 2010; SHIMAZU *et al.*, 2007; CANO *et al.*, 2014; DIEULOT e SKURTYS, 2013; SLAVUTSKY e BERTUZZI, 2014).

O amido pode ser obtido de diversas fontes vegetais, como cereais, raízes e tubérculos, e também de caroços e polpas de frutas. De acordo com a sua origem, este biopolímero apresenta diferentes propriedades físicas, químicas e funcionais e, em consequência, produzem bioplásticos com diferentes características mecânicas e de barreira (MALI *et al.*, 2010).

Dentre as diversas fontes vegetais de amido tem se a jaca (*Artocarpus heterophyllus*) que se encontra bem disseminada no Brasil, sendo mais comum na região litorânea que se estende do sul da Bahia até a Paraíba (DÓREA *et al.*, 2013). As sementes de jaca (que geralmente são descartadas) contêm consideravelmente alta quantidade de amido sendo nos últimos anos objeto de estudo de diversos autores, (MADRUGA *et al.*, 2014; DUTTA *et al.*, 2011; NAYAK e PAL, 2013; SANTOS *et al.*, 2013).

A utilização do amido de jaca é uma forma de aproveitamento da semente de jaca a qual é considerada um resíduo agroindustrial. O amido de jaca tem sido estudado por alguns autores (BARBOSA *et al.*, 2013; DUTTA *et al.*, 2011; KITTIPONGPATANA e KITTIPONGPATANA, 2011; RENGSUTTHI e CHAROENREIN, 2011), porém existem poucos relatos na literatura sobre a utilização do amido de jaca na produção de bioplásticos (BARBOSA *et al.*, 2011).

Com incorporação de um agente antimicrobiano numa matriz polimérica é possível se obter um bioplástico com atividade antimicrobiana. Devido à crescente preocupação com a qualidade microbiológica dos alimentos tem se aumentado o interesse pelos filmes antimicrobianos.

Dentre os vários tipos de embalagens para alimentos estão às embalagens ativas que são aquelas que interagem de maneira intencional com o alimento, visando melhorar algumas de suas características. Dentre estas temos a embalagem antimicrobiana que é um tipo promissor de embalagem ativa que apresenta substância antimicrobiana incorporada e, ou imobilizada no material da embalagem e é capaz de eliminar ou inibir microorganismos deterioradores e, ou patogênicos (SOARES *et al.*, 2009).

A embalagem antimicrobiana é uma possibilidade para empacotamento de vários produtos, como carnes, massas, queijos, etc. Principalmente, porque a contaminação destes produtos inicia-se na superfície, devido ao manuseio após corte e processamento. O uso de embalagens contendo agentes antimicrobianos tem como vantagem a difusão desses compostos da embalagem para a superfície do alimento de maneira controlada. (PIRES *et al.*, 2014).

Atendendo a tendência do consumidor que busca por alimentos com qualidade microbiológica e com ausência de conservantes, pesquisadores estão buscando o desenvolvimento de embalagens ativas antimicrobianas que se baseiam na incorporação de conservantes naturais na estrutura do polímero que compõe os filmes (KECHICHIAN *et al.*, 2010; FIALHO *et al.*, 2011; SOUZA *et al.*, 2013; PIRES *et al.*, 2014).

A lisozima é uma das enzimas antimicrobianas mais utilizadas para ser adicionada em materiais de embalagem, uma vez que é uma enzima que ocorre naturalmente, com atividade. Ela atua contra bactérias Gram-positivas e nos últimos anos existem diversos relatos na literatura sobre sua utilização em filmes antimicrobianos (GUÇBILMEZ *et al.*, 2007; LIAN *et al.*, 2012; FABRA *et al.*, 2014; CORRADINI *et al.*, 2013)

Com a utilização de um resíduo sem nenhum valor nutricional como o amido de jaca, é possível desenvolver um biopolímero que quando associado com a utilização da lisozima tem o diferencial de atividade antimicrobiana podendo ser utilizado como uma embalagem ativa para embalar vários produtos alimentares.

A produção e aplicação dos bioplásticos com atividade antimicrobiana podem ser classificadas como uma tecnologia de liberação controlada. Este procedimento é utilizado para liberar substâncias ativas, como os antimicrobianos, melhorando a eficácia, segurança e conveniência de sua utilização (TURBIANI *et al.*, 2011).

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo Geral

Elaborar e caracterizar um bioplástico de amido de jaca contendo lisozima como agente antimicrobiano e com diferentes valores de pH, com potencial de aplicação em embalagens de alimentos.

2.2 Objetivos Específicos

1. Realizar extração do amido da semente de jaca.
2. Determinar a composição centesimal do amido de jaca.
3. Elaborar bioplásticos de amido da semente de jaca com diferentes valores de pH e diferentes concentrações de lisozima.
4. Caracterizar os bioplásticos obtidos por análises atividade antimicrobiana, espessura, solubilidade em água, solubilidade em ácido, permeabilidade ao vapor de água e propriedades mecânicas.
5. Avaliar o comportamento de difusão da lisozima nos bioplásticos de amido de jaca.

3 REVISÃO DE LITERATURA

3.1 Bioplásticos

Os plásticos biodegradáveis, também chamados de bioplásticos, ao contrário dos sintéticos derivados do petróleo, sofrem biodegradação com relativa facilidade, se desintegrando totalmente na natureza. Uma substância é biodegradável se os microorganismos presentes no meio ambiente forem capazes de convertê-la a substâncias mais simples, existentes naturalmente em nosso meio. A utilização de materiais biodegradáveis está ganhando grande importância ambiental devido à demanda pela redução do consumo dos materiais processados a partir de combustíveis fósseis e não recicláveis (SNYDER, 1995; ANDRADE, 2011).

Os polímeros biodegradáveis sofrem mais facilmente a ação de microorganismos, por conterem funções orgânicas em suas cadeias alifáticas: carbonilas, hidroxilas, ésteres, hidroxiácidos, mais suscetíveis à ação enzimática, entretanto, é importante lembrar que esta ação depende de fatores, tais como tipos de microorganismos presentes, condições do meio e propriedades do polímero (FRANCHETTI e MARCONATO, 2006; SILVA, 2010).

O uso dos bioplásticos tem sido crescente para a indústria alimentar, pois, ajudam a satisfazer muitos desafios relacionados ao descarte dos materiais plásticos tendo em vista a vida útil curta destes materiais quando utilizados como embalagens de alimentos. A funcionalidade e o desempenho dos bioplásticos dependem de suas propriedades de barreira e mecânicas, o que por sua vez dependem da sua composição, seu processo de formação e o método de aplicação para o produto (RODRÍGUEZ *et al.*, 2006).

Os bioplásticos podem ser utilizados como revestimentos que são aplicados sobre a superfície do alimento ou entre os alimentos, visando à redução na perda de vapor de água, oxigênio, migração de lipídios e aroma ou para estabilizar os gradientes de atividade de água e assim manter as diferentes propriedades de textura (GIANCONE *et al.*, 2008).

Considerando as vantagens da tecnologia dos bioplásticos sobre as embalagens tradicionais, assim como o grande aumento das pesquisas em materiais de embalagem alternativos, é possível prever que o futuro das embalagens alimentícias pertence aos filmes biodegradáveis. Filmes biodegradáveis podem ser produzidos a partir de misturas de polissacarídeos e proteínas cujas cadeias são longas e capazes de formar matrizes contínuas

que dão estrutura ao filme. As características estruturais e a composição química dos biopolímeros são muito importantes na elaboração de filmes biodegradáveis (ROCHA, 2009).

Pelo menos um dos constituintes dos bioplásticos deve ser uma macromolécula capaz de formar uma matriz contínua e de alta coesão. As macromoléculas biológicas mais estudadas para este fim são as proteínas e os polissacarídeos, polímeros capazes de formar matrizes contínuas e, que através de diversas técnicas de produção podem ser transformados em bioplásticos (GUILBERT, 1986; MALI e GROSSMANN, 2003).

Entre os polímeros naturais, o amido tem sido amplamente utilizado em estudos sobre embalagens biodegradáveis, já que é encontrado em abundância, possui baixo custo e comportamento termoplástico. Para a elaboração de bioplásticos, são necessários alguns componentes com finalidade específica, sendo os principais um biopolímero capaz de formar o filme e um plastificante (MALI *et al.*, 2005).

3.2 Constituintes do Bioplástico

3.2.1 Amido

Tendo em vista suas propriedades, o amido é o polissacarídeo mais usado na elaboração de bioplásticos e tem sido estudado por vários autores nos últimos anos (CHIUMARELLI e HUBINGER, 2014; SLAVUTSKY e BERTUZZI, 2014; CANO *et al.*, 2014; MATTA *et al.*, 2011; BALAN *et al.*, 2012; PRATES e ASCHER, 2010).

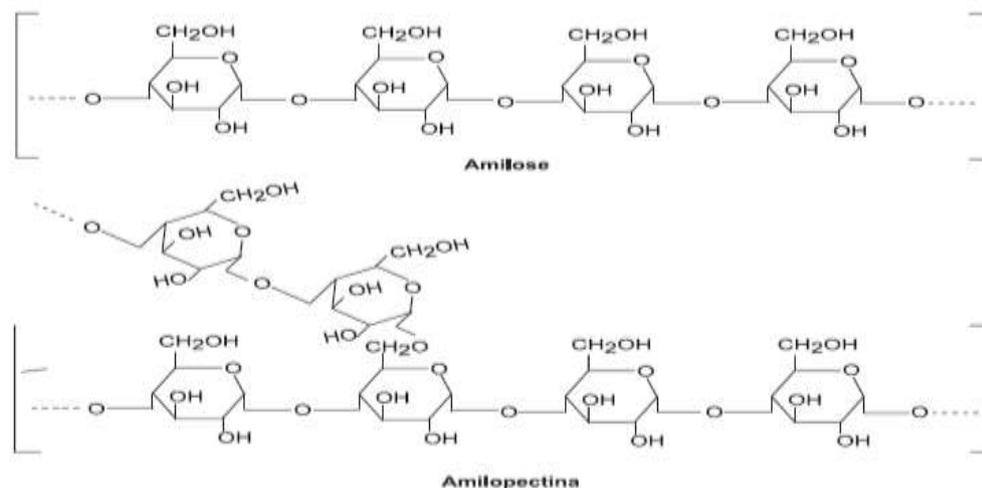
Depois da celulose o amido é o biopolímero mais abundante no mundo. É uma matéria-prima renovável, biodegradável e não tóxico, podendo ser extraído comercialmente de várias fontes, como de cereais (milho, trigo, arroz, aveia, sorgo), tubérculos (batata), raízes (mandioca, inhame) e leguminosas (grão-de-bico, soja, lentilha, feijão). Os processos industriais permitem que o amido seja extraído com alto grau de pureza (BAYER e LAMED, 1992; HUANG, 2006).

A utilização do amido como matéria-prima para a produção de plásticos biodegradáveis é promissora, no entanto, os filmes de amido apresentam alguns inconvenientes: propriedades mecânicas instáveis devido ao fenômeno de retrogradação e uma permeabilidade ao vapor de água relativamente elevada (WU *et al.*, 2013).

Basicamente, o amido é composto de dois homopolímeros de D-glicose, amilose e amilopectina, conforme mostra a Figura 1. É acumulado nas plantas devido aos resíduos de

glicose formados durante a fotossíntese. Essas glicoses unidas pela ação de enzimas, na presença de ATP, formam cadeias longas de amido (BASTOS, 2010).

Figura 1- Estrutura das frações do amido



As moléculas de amilose em solução, devido à sua linearidade, tendem a se orientar paralelamente, aproximando-se o suficiente, para que se formem ligações de hidrogênio entre hidroxilas de polímeros adjacentes. Como resultado, a afinidade do polímero por água é reduzida, favorecendo a formação de pastas opacas e filmes resistentes (WURZBURG, 1986).

Segundo MALI (2010), durante a gelatinização dos grânulos de amido, as moléculas de amilose e amilopectina são liberadas na solução. As moléculas de amilose e amilopectina liberadas interagem principalmente mediante ligações de hidrogênio.

De acordo com LIU e HAN (2005), sem plastificantes, a amilose e a amilopectina formariam um filme com uma estrutura bifásica, que teria uma fase rica em amilose e outra fase rica em amilopectina. As interações entre as moléculas de amilose e as da amilopectina podem ser tão fortes, que os filmes de amido tornam-se quebradiços e rígidos. A existência dos plastificantes nos filmes de amido ajuda a interromper a formação de dupla hélice da amilose com fragmentos da amilopectina, reduzindo assim a interação entre a amilose e as moléculas da amilopectina, formando um filme flexível.

A adição de um agente plastificante é necessária para superar a fragilidade dos bioplásticos, que ficam quebradiços devido às extensivas forças intermoleculares. Os plastificantes reduzem essas forças, suavizam a rigidez da estrutura do filme e aumentam a mobilidade entre as cadeias poliméricas, melhorando as propriedades mecânicas do bioplástico (GONTARD e GUILBERT, 1996).

Os plastificantes mais indicados para serem empregados em filmes de amido são os polióis, como o glicerol e o sorbitol, que são materiais que interagem com as cadeias de amido através de pontes de hidrogênio. Outros tipos de aditivos, geralmente, utilizados são os agentes antimicrobianos, vitaminas, antioxidantes, aromatizantes e pigmentos (MALI *et al.*, 2005; MALI *et al.*, 2010).

Os plastificantes são geralmente líquidos, inodoros, incolores e de baixa volatilidade. As características essenciais de um bom plastificante são baixa volatilidade e pouca ou nenhuma migração para a superfície, alta resistência à extração por água, óleos e solventes, compatibilidade com o polímero, baixa toxicidade e resistência térmica (NUNES e RODOLFO, 2006).

AL-HASSAN e NORZIAH (2012) avaliaram as propriedades físicas e mecânicas dos filmes comestíveis à base de misturas de amido de sagu e gelatina de peixe plastificadas com glicerol ou sorbitol e concluíram que as propriedades físicas, mecânicas e de barreira dos filmes produzidos, foram afetadas pelas diferentes proporções de amido de sagu e gelatina de peixe utilizadas.

CANO *et al.*, (2014) avaliou o efeito da relação amilose/amilopectina e a adição de farelo de arroz nas propriedades de filmes de amido e concluíram que filmes ricos em amilose são mais duros, mais resistentes à fratura, menos elásticos e são menos permeáveis ao oxigênio. Observaram também que a adição de farelo de arroz afeta as propriedades físicas dos filmes de amido.

GHASEMLOU *et al.*, (2013) estudou as propriedades físicas, mecânicas e de barreira dos filmes de amido de milho incorporados com óleos essenciais de plantas e observaram que a adição de óleos essenciais causou um reforço nas propriedades de barreira e que um aumento no teor de óleo resultou em significativamente menor força de ruptura à tração, mas um concomitante aumento no alongamento na ruptura.

Além do amido, as proteínas têm sido consideradas bastante promissoras para elaboração de bioplásticos. As proteínas possuem uma estrutura com até 20 aminoácidos diferentes de alto potencial para interações intermoleculares. São muito utilizadas na produção de bioplásticos devido às suas propriedades funcionais, variedade de fontes disponíveis e de baixo custo de produção.

3.2.1.1 Amido de Jaca

A jaca (*Artocarpus heterophyllus Lam.*) é um fruto tropical popular que é consumido por pessoas em muitos países. As sementes de jaca contêm consideravelmente relevante quantidade de amido (~ 20% (m/m)), que a qualifica como uma fonte sustentável de amido para as indústrias alimentícias e farmacêuticas. O relatório inicial sobre as propriedades físico-químicas e de extração do amido de jaca por BOBBIO, *et al.*, (1978) levou a uma série de estudos por vários grupos de pesquisa (MADRUGA *et al*, 2014; SANTOS *et al*, 2013; KITTIPONGPATANA e KITTIPONGPATANA, 2011; DUTTA *et al*, 2011).

O amido de jaca possui algumas características únicas quando comparadas a outros amidos. Dentre estas características, apresenta um teor de amilose elevado (Tabela 1). O alto teor de amilose do amido de jaca é interessante para a confecção dos filmes, pois, segundo MALI *et al.*,(2010), a aplicação do amido na produção de filmes se baseia nas propriedades químicas, físicas e funcionais da amilose para formar géis e na sua capacidade para formar filmes.

Tabela 1 - Conteúdo de amilose de amidos de fontes naturais.

Fonte vegetal	Teor de amilose (m/m)
Milho ^a	25,00
Batata ^a	23,00
Arroz ^a	15,00-25,00
Trigo ^a	20,00
Mandioca ^a	16,00 – 20,00
Jaca ^b	27,58

^aGARCIA, 1999; ^bBARBOSA *et al*, 2013.

As quantidades relativas de amilose e amilopectina são conhecidas por influenciar as propriedades tecnológicas e nutricionais da pasta de amido, como a suscetibilidade a hidrólise enzimática, gelatinização, retrogradação, poder de intumescimento e solubilidade, entre outros (GÉRARD *et al.*, 2001).

3.2.2 Proteínas

As proteínas oferecem um grande potencial para a produção de bioplástico e podem ser definidas como os polímeros naturais capazes de dar forma às estruturas tridimensionais amorfas estabilizadas principalmente por interações não covalentes. São moléculas complexas constituídas por carbono, hidrogênio, oxigênio, nitrogênio e, às vezes, também por outros

elementos, como enxofre, ferro, cobre fósforo e zinco (GUERRERO *et al.*, 2011; SWAIN, 2004; ORDÓÑEZ *et al.*, 2005).

As proteínas devem apresentar-se na forma aberta ou estendidas para permitir a interação molecular, necessária para a formação do filme. A extensão desta interação depende da estrutura da proteína (grau de extensão da cadeia) e da seqüência dos resíduos de aminoácidos hidrofóbicos e hidrofílicos da proteína. O aumento da interação molecular da cadeia de proteína resulta em filme forte, porém, menos flexível e permeável (KROCHTA, 1997).

Os filmes formados por proteínas e polissacarídeos apresentam boas propriedades de barreira ao oxigênio, principalmente sob condições de baixa umidade relativa. As características estruturais e a composição química do biopolímero utilizado na elaboração dos biofilmes são muito importantes, as propriedades funcionais (força, deformação, barreira aos gases, etc.) dos filmes dependem, sobretudo do tipo de ligações intermoleculares. Nesse sentido as proteínas são mais interessantes que os polissacarídeos (homopolímeros), por possuírem em sua estrutura até 20 monômeros diferentes (aminoácidos), com alto potencial de interações intermoleculares (MALI *et al.*, 2010; GONTARD e GUILBERT, 1996).

GUERRERO *et al.*, (2011) elaboram filmes com proteína isolada de soja, incorporados com gelatina e plastificados com glicerol e concluíram que as propriedades mecânicas destes filmes foram melhoradas pela adição de gelatina. Além disso, observaram que estes filmes apresentaram excelentes propriedades de barreira à luz UV.

SOUZA, PAULO e MENEGALLI (2004) realizaram um estudo sobre a extração de proteínas miofibrilares de carne bovina para elaboração de filmes comestíveis e concluíram que as proteínas miofibrilares extraídas e liofilizadas mostraram-se excelentes matérias-primas para a elaboração de filmes comestíveis.

SOBRAL *et al.*, (2004) estudaram as propriedades físicas de filmes constituídos de proteínas miofibrilares e sarcoplasmáticas do músculo de tilápia-do-nilo, em razão da concentração de proteínas e do plastificante na solução filmogênica e observaram que os filmes produzidos com soluções de maior concentração de proteínas apresentaram-se mais coloridos, mais resistentes à perfuração e à tração, com maior capacidade de alongamento quando submetido à tração, e visivelmente mais opacos, embora nesse último caso, sem efeito significativo. Todas as propriedades foram influenciadas pela concentração do plastificante.

3.3 Embalagens Antimicrobianas

A utilização de embalagens antimicrobianas aumentou significativamente como um método alternativo para a redução da contaminação microbiana nos alimentos. A incorporação de substâncias antimicrobianas em materiais de embalagens possui um elevado potencial, podendo ser usada para melhorar a segurança e a qualidade do alimento, e assim prolongar a vida de prateleira dos produtos alimentícios (APPENDINI e HOTCHKISS, 2002; QUINTAVALLA e VICINI, 2002).

A razão para a incorporação de agentes antimicrobianos na embalagem é retardar ou inibir o crescimento de microorganismos na superfície dos alimentos, onde ocorre a maior parte de deterioração e contaminação. A liberação gradual de um agente antimicrobiano a partir de uma embalagem para a superfície do alimento pode ter uma vantagem sobre a imersão e pulverização. Nestes últimos processos, a atividade antimicrobiana pode ser rapidamente perdida devido à inativação dos agentes antimicrobianos por componentes do alimento ou diluição abaixo da concentração ativa devido à migração para dentro da matriz de alimentos a granel (APPENDINI e HOTCHKISS, 2002).

Deve-se considerar na seleção do agente antimicrobiano: seu mecanismo de inibição, características físico-químicas, cinéticas de migração e difusão do agente no alimento, tipo e população de microorganismos, fisiologia do microorganismo-alvo, processo de fabricação do material de embalagem, processabilidade do material de embalagem e aspectos relacionados à legislação (OLIVEIRA e OLIVEIRA, 2004).

Os polissacarídeos podem interagir com agentes antimicrobianos, tais como ácidos sórbico, benzóicos, e p-benzóico e a natureza desta interação depende do tipo de amido, bem como com a concentração e as características químicas do conservante. Consequentemente, algumas das propriedades do conservante, tal como a sua solubilidade, difusividade, o coeficiente de partição e capacidade de penetrar uma membrana biológica pode ser modificada e afetar a atividade antimicrobiana (DUCKOVA e MANDAK, 1981; KURUP *et al.*, 1995).

Devido a preocupações com a saúde dos consumidores os agentes antimicrobianos naturais são preferidos em materiais de embalagem comestíveis e biodegradáveis e diversos trabalhos são relatados na literatura sobre a incorporação de agente antimicrobiano em materiais de embalagem.

Diversos estudos têm demonstrado a eficiência e aplicabilidade das embalagens ativas antimicrobianas. FIALHO *et al.*, (2011) avaliaram a aplicação de filmes ativos com ácido sórbico e aromatizados com aroma de pizza em contato com a massa de pastel e concluíram que os filmes apresentaram atividade antimicrobiana satisfatória, houve diminuição na força máxima na ruptura e um aumento na porcentagem de alongamento dos filmes.

PIRES *et al.*, (2008) avaliaram filmes incorporados com nisina e natamicina para aumentar a vida de prateleira de queijo mussarela fatiado e observaram eficácia dos filmes principalmente sobre fungos filamentosos e leveduras.

KECHICHIAN *et al.*, (2010) ao investigar o efeito da adição de ingredientes naturais antimicrobianos incorporados em filmes biodegradáveis à base de amido de mandioca concluíram que, a adição de vários ingredientes reduziu as propriedades de tração (resistência à tração e porcentagem de alongamento na ruptura) e aumentou a permeabilidade ao vapor de água de biodegradáveis à base de amido de mandioca.

SOUZA *et al.*, (2013) desenvolveram filmes de amido de mandioca incorporados com óleos essenciais e testaram a sua atividade antimicrobiana contra fungos encontrados atualmente nos pães e observaram que os óleos essenciais de canela e cravo atribuíram uma propriedade antimicrobiana nos filmes de amido de mandioca.

MARTÍNEZ *et al.*, (2013) desenvolveram bioplásticos ativos à base de proteínas. Dois tipos de proteínas, glúten de trigo e clara de ovo branco, e dois agentes bioativos diferentes, ácido fórmico e óleo essencial de orégano, foram utilizados. Os testes efetuados em quatro tipos de microrganismos selecionados revelaram que o óleo essencial de orégano incorporado em uma matriz à base de glúten de trigo pode ser adequado para aplicações em que o agente ativo deve ser progressivamente liberado (em até 7 dias).

O estudo de novos aditivos naturais e não tóxicos são necessários no intuito de substituir os aditivos artificiais. Muitos agentes antimicrobianos naturais são utilizados na produção de filmes antimicrobianos como os óleos essenciais e as proteínas. Dentre as proteínas uma que tem potencial de aplicação como agente antimicrobiano é a lisozima.

3.4 Lisozima

A lisozima tem este nome devido à sua ação sobre *Micrococcus lysodeikticus*. Ela representa 3,4% das proteínas da clara do ovo, tem o peso molecular mais baixo (14,4 kDa) e o ponto isoelétrico (11,1) mais alto dentre todas as proteínas da clara. A lisozima é uma

proteína básica com atividade antibacteriana. Sua atividade catalítica é a hidrólise da ligação glicosídica β (1 \rightarrow 4), que une os resíduos de açúcares aminados N-acetilmurâmico e 2-deoxi-N-acetilglicosamina componentes do peptidoglicano da parede celular de bactérias. Contudo, a ação lítica da lisozima é limitada a bactérias gram-positivas, apresentando pouca ou nenhuma atividade sobre bactérias gram-negativas, pois o acesso da lisozima ao peptidoglicano de bactérias gram-negativas é impedido por uma membrana externa lipopolissacarídica (FENNEMA, 2010).

Segundo FUGLSANG *et al.*, (1995), a lisozima é muito utilizada na indústria de alimentos na prevenção do crescimento de microorganismos patogênicos por atuar como agente bacteriostático, especialmente em carnes e laticínios. A fonte comercial mais significativa desta enzima é a clara de ovo de galinha (CUNNINGHAM *et al.*, 1991).

A aplicação potencial da lisozima à indústria de alimentos tem sido descrita na literatura, por ser uma fonte segura para o consumo humano, além de não causar problemas de poluição ambiental (PADGETT *et al.*, 1998). A lisozima por ser um antimicrobiano natural, tem sido objetivo de vários estudos os quais visam a sua incorporação em embalagens de alimentos.

MECITOĞLU *et al.*, (2006) incorporaram lisozima parcialmente purificada a partir de ovos de galinha em filmes de zeína e observaram que os filmes apresentaram efeito antimicrobiano contra *Bacillus subtilis* e *Lactobacillus plantarum*. Por meio da adição de EDTA dissódico, os filmes também se tornaram eficaz contra *Escherichia coli*. Os resultados deste estudo mostraram que a lisozima parcialmente purificada pode ser utilizado na embalagem antimicrobiana e aumentar a segurança dos alimentos.

BARBIROLI *et al.*, (2012) elaboraram e caracterizaram um material de embalagem ativa à base de celulose, em que a lisozima e lactoferrina foram incorporados e concluíram que a incorporação da lisozima e da lactoferrina foi eficiente, e as proteínas incorporadas podem ser liberadas simultaneamente numa forma biologicamente ativa.

3.5 Difusão de Compostos

Os sistemas de liberação de antimicrobianos têm sido usados principalmente em aplicações farmacêuticas, portanto, atualmente a utilização de sistemas de liberação controlada em embalagens de alimentos é ainda limitada, mas devem crescer nos próximos anos, devido ao aumento do conceito de embalagens ativas.

A taxa de liberação do agente antimicrobiano a partir do material de embalagem é influenciado principalmente por fatores que incluem o método de produção do filme, as propriedades do agente antimicrobiano (como volatilidade e polaridade), a interação química entre o agente antimicrobiano e as cadeias de polímero, alterações na película de embalagem que pode ser induzida pela incorporação do agente antimicrobiano, a hidrofobicidade e hidrofiliabilidade do polímero, composição de alimentos, atividade de água e o pH dos alimentos, bem como de fatores ambientais, tais como condições de armazenamento, principalmente temperatura e umidade relativa (WENG e HOTCHKISS, 1993).

Uma vez incorporados nos polímeros e em contato com o alimento, pode ocorrer uma migração lenta e constante do agente antimicrobiano, por difusão ou separação, para a superfície do produto, de modo que a atividade antimicrobiana ocorra com maior intensidade onde se faz necessário (COMA, 2008).

Materiais de embalagem antimicrobiana devem contatar com a superfície do alimento de modo que os agentes antimicrobianos possam se difundir para a superfície, portanto, as características da superfície e da cinética de difusão tornam-se crucial. A difusão dos antimicrobianos de embalagem tem sido objetivo de vários trabalhos de pesquisa (HAN, 2000; OZDEMIR e FLOROS, 2001; BUNOCORE, *et al.*, 2003; FLORES *et al.*, 2007; DEL NOBILE *et al* 2008; GEMILI, *et al.* 2009; KUORWEL *et al*, 2013;)

Uma vez que a eficiência antimicrobiana dos filmes é baseada na migração de substâncias ativas, o conhecimento da difusão desses compostos no interior do filme é um fator determinante no desenvolvimento de sistemas antimicrobianos de embalagem de alimentos. A difusão pode ser afetada pelo tamanho e forma das moléculas da substância ativa, a estrutura do polímero (tamanho dos poros, flexibilidade da cadeia polimérica e densidade) e condições ambientais (pH, atividade de água e temperatura). Os parâmetros de composição do filme, tais como, concentração de polímero, tipo e concentração de plastificante e a presença de componentes como lipídios e agentes ativos podem influenciar o processo de difusão (TURBIANI *et al*, 2011).

Os comportamentos clássicos de difusão em matrizes poliméricas podem ser classificados como:

□ Caso I ou difusão Fickiana: a velocidade de difusão é muito menor que a mobilidade do segmento da cadeia polimérica;

□ Caso II: a velocidade de difusão é muito maior que a mobilidade do segmento da cadeia polimérica e é dependente da cinética de inchamento;

□ Difusão anômala, não Fickiana ou pseudo-Fickiana: a velocidade de difusão e a mobilidade do segmento da cadeia polimérica são comparáveis, este comportamento anômalo pode ser considerado intermediário aos casos I e II de difusão.

Para avaliar em qual caso se enquadra o material sob análise, pode-se considerar a curva de sorção versus tempo representada pela Equação 01.

$$\frac{Mt}{M_{\infty}} = Kt^n \quad (01)$$

Sendo Mt relativo ao ganho de massa com relação ao tempo t , M_{∞} relativo ao ganho de massa no equilíbrio e k e n são constantes. Onde k é uma constante do sistema que é característica da interação da rede macromolecular e a substância ativa, e n representa o expoente de difusão, um indicativo do mecanismo de transporte. O valor de n está relacionado com os diferentes tipos de difusão (Tabela 2) (ESPERT *et al*, 2004).

Tabela 2 - Expoente de difusão e mecanismo de liberação.

N	Mecanismo
0,5	Fickiano
$0,5 \leq n \leq 1$	Anômalo ou pseudo-Fickiano
≥ 1	Comportamento segue o caso II

Nos sistemas poliméricos, os quais o valor de n é igual 0,5 o comportamento da difusão segue o mecanismo Fickiano. Em um estudo realizado por RITGER e PEPPAS (1987a), a 2ª Lei de Fick da difusão foi usada para modelar a liberação de um fármaco por difusão Fickiana a partir de um filme polimérico (Equação 02).

$$\frac{Mt}{M_{\infty}} = 1 - \sum_{n=0}^{\infty} \frac{8}{(2n+1)^2\pi^2} \exp\left[\frac{-D(2n+1)^2\pi^2}{l^2}t\right] \quad (02)$$

Em que Mt , é definido como a massa do fármaco liberada no momento t , e M_{∞} , é a massa de fármaco liberada quando o tempo se aproxima do infinito. A Equação 03 é uma solução simplificada da 2ª Lei de Fick para uma aproximação de curto tempo sendo utilizada apenas para o ajuste dos pontos experimentais iniciais, quando menos de 60% da massa do fármaco é liberada.

$$\frac{Mt}{M_{\infty}} = 4 \left(\frac{Dt}{\pi l^2} \right)^{1/2} \quad (03)$$

Onde Mt/M_{∞} é a fração do composto ativo liberada, D é o coeficiente de difusão do fármaco, l é a espessura inicial do filme e t é o tempo de liberação.

Uma análise matemática do transporte de Caso-II em uma fina película de polímero foi apresentada por RITGER e PEPPAS (1987b). Sendo k_0 , definido como a constante de relaxação do Caso-II, a simples expressão de primeira ordem (Equação 04) descreve a cinética de liberação do fármaco através de uma fina película de polímero.

$$\frac{dMt}{dt} = k_0 A \quad (04)$$

A quantidade de fármaco Mt , liberado a partir da região de volume inchado V , em que V é igual a $A (l/2 - X)$, em qualquer instante t , é dado pela seguinte balanço de massa:

$$Mt = C_0 A \left[\frac{l}{2} - X \right] \quad (05)$$

Substituindo Mt , a partir do balanço de massa acima por uma expressão cinética encontra-se em simplificação

$$\frac{dX}{dt} = - \frac{k_0}{C_0} \quad (06)$$

Resolvendo em relação a X e substituindo esta expressão no balanço de massa, obtém-se a seguinte expressão para Mt em função do tempo:

$$Mt = \frac{4k_0 A}{l} t \quad (07)$$

A equação (07) pode também ser escrito como se segue

$$Mt = \left[\frac{2C_0 A}{l} \right] \left[\frac{2k_0}{C_0 l} t \right] \quad (08)$$

O termo $2C_0 A / l$ é a liberação, por longos tempos, M_{∞} . A equação 08 aplica-se apenas a valores de tempo $t = C_0 l / 2k_0$. Assim, esta equação pode ser escrita como:

$$\frac{Mt}{M_{\infty}} = \frac{2k_0}{C_0 l} t \quad (09)$$

Tal como indicado pela Equação 09, a liberação do fármaco (Caso-II) a partir de uma fina película de polímero é caracterizada por um dependência linear do tempo de liberação.

Matrizes poliméricas estão propensas a sofrer relaxamento na estrutura sob a influência de solventes penetrantes ou moléculas de soluto e o mecanismo de transporte anômalo prevalece (caso III). Sistemas de mecanismo anômalo ou não-Fickianos situam-se entre Caso I e Caso II em que n tem um valor intermédio entre 0,5 e 1. (OZDEMIR e FLOROS, 2001).

No Caso I (difusão Fickiana) e no Caso II os mecanismos que controla a liberação do fármaco em sistemas poliméricos de liberação controlada são únicos, na medida em que cada um pode ser descrito em termos de um único parâmetro. O transporte de Caso I é descrito por um coeficiente de difusão, enquanto o transporte de Case-II é descrito por uma constante de relaxamento característica. O comportamento não Fickiano (caso III), por comparação, requer dois ou mais parâmetros para descrever a dependência da difusão e o fenômeno de relaxamento (RITGER e PEPPAS, 1987b).

Para o caso de liberação de um fármaco em sistemas poliméricos no qual segue o mecanismo de transporte do Caso-III, os dois fenômenos que controlam a liberação são considerados. Portanto, podemos escrever:

$$\frac{Mt}{M_{\infty}} = k_1 t^m + k_2 t^{2m} \quad (10)$$

Onde o primeiro termo do lado direito é a contribuição Fickiana, e o segundo termo a contribuição de relaxação Caso-II. O coeficiente m é o expoente difusão puramente Fickiano.

O percentual de liberação do fármaco devido ao mecanismo Fickiana, F , é claramente calculada como:

$$F = \frac{1}{1 + \frac{k_2 t^m}{k_1}} \quad (11)$$

o que leva à razão de relaxação sobre contribuições Fickiana como:

$$\frac{R}{F} = \frac{k_2}{k_1} t^m \quad (12)$$

Portanto, a Equação 10 indica que o fármaco liberado a partir de qualquer película polimérica, pode ser escrito em termos de uma contribuição Fickiana e uma contribuição de relaxação. Se a contribuição Fickiana pode ser expressa como uma função de t^m , então a contribuição de relaxação pode ser expressa como uma função de t^{2m} (PEPPAS e SAHLIN, 1989).

TURBIANI *et al*, (2011) confeccionaram filmes à base de alginato de sódio reticulados com íons Ca^{++} provenientes de duas fontes, cloreto e benzoato de cálcio, e avaliou a liberação de benzoato de cálcio em diferentes concentrações de agente ativo e em dois níveis de reticulação do alginato. O mecanismo envolvido no processo de difusão foi investigado usando o modelo da Lei de Potência. Estes autores concluíram que o transporte de benzoato de cálcio em filmes de alginato segue comportamento Fickiano e não-Fickiano e os valores de difusividade diminuíram com o aumento da intensidade de reticulação e aumentaram com a concentração de benzoato no filme.

OZDEMIR e FLOROS, (2001) avaliaram o mecanismo de liberação de sorbato de potássio a partir de filmes comestíveis de proteína de soro de leite e observaram que a liberação do sorbato de potássio neste filmes obteve um mecanismo de difusão não-Fickiana ou Anômala com expoentes de difusão (n) entre 0,55 e 0,86.

KUORWEL *et al*, (2013) investigaram a migração de agentes antimicrobianos incorporados em filmes à base de amido, e concluíram que um modelo de primeira ordem descreve satisfatoriamente a cinética de liberação total de carvacrol, timol e linalol. Os coeficientes de difusão e as constantes de velocidade determinadas com base no modelo de difusão e da análise de cinética aumentou com a elevação da temperatura. Uma relação de Arrhenius foi encontrada para descrever adequadamente a relação entre o coeficiente de difusão e a temperatura em todos os sistemas estudados.

4 MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi realizado na Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia, situado no campus Juvino Oliveira na cidade de Itapetinga, BA, nos laboratórios de Engenharia de Processos (LEP), Laboratório de Embalagens e Projetos Agroindustriais e Laboratório de Ensaio dos Materiais (LABEM).

4.1 Matéria Prima

As sementes de jaca utilizadas para extração do amido foram retiradas de jacas maduras, adquirida na feira livre da cidade de Itapetinga, BA. Logo após foram lavadas e congeladas (-18 °C) em freezer horizontal até o dia de extração do amido.

4.2 Extração do Amido

As sementes foram lavadas e imersas em solução de bissulfito de sódio a 0,2% (m/v) por 30 min. Esse procedimento é necessário para evitar a multiplicação microbiana e facilitar a entrada de água nas sementes promovendo a separação das proteínas aderidas nas sementes.

A extração do amido foi realizada segundo metodologia proposta por SCHOCH e MAYWALD (2001) com modificações. As sementes de jaca imersas em solução de bissulfito de sódio (0,2% (m/v) em SO₂) foram trituradas em liquidificador industrial (Visa, 15 L e velocidade única de rotação), até que os resíduos apresentassem bem finos. A massa triturada foi então prensada em tecido de algodão. A suspensão de amido obtido foi decantada por 30 min a temperatura ambiente sendo esta lavada várias vezes com solução de bissulfito de sódio. Em seguida a suspensão de amido foi centrifugada em centrífuga (Hitachi: CF 16RX) a 900g por 05 min a 25 °C.

Após a centrifugação a parte superior, que apresentavam coloração marrom claro foi descartada obtendo-se o amido. O amido foi submetido à secagem em secador de bandeja com circulação de ar (Solab- SL102) com temperatura inicial de 45 °C, sendo esta aumentada a partir do momento em que o amido apresentava menor teor de água. O amido foi seco até obter uma umidade desejada (menor que 14,0 (m/m)), estando dentro das especificações da ANVISA que permite um teor de umidade no máximo de 14,0 (m/m) para ser designado como amido.

4.3 Composição centesimal do amido de jaca

4.3.1 Umidade

O conteúdo de umidade foi determinado através da perda de massa a 105°C da amostra até massa constante, segundo as Normas Analíticas do Instituto Adolfo Lutz (2004).

4.3.2 Cinzas

O conteúdo de cinzas foi determinado por incineração do material em forno tipo mufla a 550°C, segundo as Normas Analíticas do Instituto Adolfo Lutz (2004).

4.3.3 Proteínas

A quantificação da proteína residual foi determinada pelo método micro-kjeldahl segundo protocolo do Instituto Adolfo Lutz, (2004). Para isso a amostra foi digerida com ácido sulfúrico e mistura catalítica (utilizada para acelerar a reação), e submetida á destilação utilizando hidróxido de sódio e titulação com solução de ácido clorídrico.

4.3.4 Teor de lipídeos

O teor de lipídios totais do amido foi determinado pelo método de BLIGH e DYER (1959), com modificações. 5,0 g de amido foi dissolvida em uma mistura de clorofórmio, metanol e água na proporção 1:2:0,8 (20, 40 e 16 (mL)) , respectivamente; proporção esta em que os três solventes coexistem em solução.

A solução foi agitada por 15 min em agitador magnético (Tecnal- TE0851) a temperatura ambiente. Em seguida, adicionou-se 20 mL de clorofórmio e 20 mL de água destilada, os recipientes foram tampados e agitados vigorosamente por mais 2 min, causando a separação total do clorofórmio (na camada inferior).

A solução foi filtrada com auxílio de um funil de separação por um período de aproximadamente 30 min. A parte inferior foi removida com um béquer e submetida a aquecimento em estufa para a evaporação do solvente. O teor de lipídios da amostra foi calculado através da Equação 13.

$$\% \text{ Lipídios totais} = \frac{P \times 100}{G} \quad (13)$$

Sendo: P = massa de lipídios (em gramas); G = massa da amostra (em gramas).

4.3.5 Determinação do Teor de Amido

Em 1,0 g de amostra, previamente seca (ou com umidade conhecida) foi adicionado 50 mL de HCl 1 mol L⁻¹ em um tubo. A solução foi homogeneizada e os tubos foram tampados com algodão. Os tubos foram então colocados em bloco digestor a temperatura de 120 °C por aproximadamente 3 h. Após este período o amido foi hidrolisado em açúcares e 1 mL foi retirado para realização do teste com Lugol (Iodo em iodeto de potássio), onde adicionou-se 3 gotas de lugol e verificou-se a coloração amarelo. A seguir a amostra foi transferida para béqueres e com auxílio de um pHmetro (Quimis) a solução foi neutralizada com NaOH 10% (m/v). Após neutralização o volume foi transferido para um balão volumétrico de 250 mL e o volume foi completado com água destilada, em seguida foi realizada a titulação de açúcares por Lane-Eynon utilizando solução de Felhing A e B. O teor de amido foi calculado utilizando a Equação 14.

$$\% \text{ amido} = \frac{250 \text{ mL} \times \text{TL} \times 90}{\text{Médiadevol. gasto mL} \times \text{PA}} \quad (14)$$

Onde: 250 mL é o volume total da diluição da amostra de amido; TL fator de correção para soluções A e B; 90 é o fator que transforma açúcares redutores em amido e PA é o peso da amostra de amido usada.

4.3.6 Determinação do Teor de Amilose

Na determinação do teor de amilose, foi utilizado o método colorimétrico do iodo simplificado, que se baseia na transmissão de luz através de um complexo colorido que a amilose forma ao reagir com o iodo, de acordo com a metodologia de MARTINEZ (1989). A leitura das absorvâncias foi realizada em um espectrofotômetro digital (Biochrom Libra s 70), no intervalo de luz visível a um comprimento de onda de 610 nm. O teor de amilose foi obtido a partir da curva analítica construída com amilose de batata PA da marca (Synth).

4.4 Produção do bioplástico

Para produção dos bioplásticos foi utilizado amido de jaca, lisozima de clara de ovo de galinha (Sigma-Aldrich) como agente antimicrobiano, agente plastificante glicerol PA (Fmaia), e água destilada. Foram produzidos 12 tipos de bioplásticos como descrito na Tabela 03.

Tabela 3 - Formulações dos bioplásticos

Tratamentos	pH	Concentração de lisozima (g/100 de amido)	Concentração de glicerol (g/100 de amido)	Concentração de amido % (m/m)
1	4	0	30	4
2	5	0	30	4
3	6	0	30	4
4	7	0	30	4
5	4	2	30	4
6	5	2	30	4
7	6	2	30	4
8	7	2	30	4
9	4	8	30	4
10	5	8	30	4
11	6	8	30	4
12	7	8	30	4

As suspensões filmogênicas foram preparadas segundo a metodologia proposta por VICENTINI (2003), a técnica utilizada foi do tipo *casting*, definida como sendo aquela em que uma suspensão filmogênica é desidratada em um suporte. Para tanto, todos os componentes foram homogeneizados, em seguida realizou-se os ajustes de pH com soluções (10% m/v) de ácido cítrico e citrato de sódio e depois foram aquecidos em placa aquecedora magnética (Fisatom 752A) até atingir temperatura de gelatinização completa (95 °C). Para os bioplásticos contendo lisozima, a solução foi resfriada até uma temperatura de $\pm 40^{\circ}\text{C}$ e logo após se adicionou a lisozima.

A suspensão foi vertida em placas de vidro com (22,5 X 32,5) cm e levadas a secagem em secador de bandeja com circulação de ar (Solab- SL102) a uma temperatura de 37 °C por 20 h. Após a secagem os bioplásticos foram retirados das placas de vidro (Figura 2) os quais foram recortados para se obter as amostras para realização das análises de caracterização do mesmo.

Figura 2- Bioplásticos de amido de jaca.



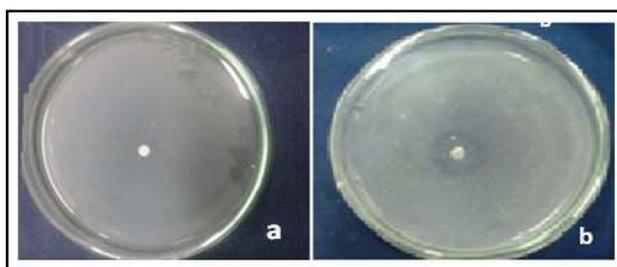
Os bioplásticos foram caracterizados quanto às propriedades ópticas, espessura, propriedades mecânicas, solubilidade, permeabilidade ao vapor de água e atividade antimicrobiana.

4.5 Determinação da atividade antimicrobiana dos bioplásticos

Para a determinação da atividade antimicrobiana foram elaborados seis bioplásticos com diferentes concentrações (0, 2, 4, 6, 8 e 10) % de lisozima. A atividade antimicrobiana dos bioplásticos obtidos foi testada em placas de ágar contra *Micrococcus Lysodeikticus*.

A atividade da lisozima foi testada de acordo com uma versão modificada do método de LIE *et al.*,(1986). Uma solução de 1% de gel de agarose em tampão de fosfato 50 mmolL^{-1} (pH 6,2) contendo 1 mg/mL de *Micrococcus lysodeikticus* (Sigma) foi preparada e vertida em placas de Petri (11,5 cm de diâmetro). Após a solidificação, os discos dos bioplásticos (diâmetro de 6mm) foram colocados no gel. As placas foram então incubadas à temperatura de 37 °C durante 24 e 48h, e a atividade da lisozima foi avaliada como uma zona clara de lise em torno do material plástico. Avaliação quantitativa da atividade antimicrobiana foi avaliada medindo o diâmetro da área de lise das paredes de células em torno das películas (Figura 3). A figura 6a mostra a amostra controle com 0% de lisozima a qual não apresentou zona de inibição e a 6b ilustra a zona de inibição a qual se obteve a quantificação da atividade antimicrobiana.

Figura 3 - Zona de inibição (contra *Micrococcus lysodeikticus*) de bioplásticos de amido de jaca: a) 0% de lisozima e b) 4% de lisozima



4.6 Caracterização dos bioplásticos

4.6.1 Espessura

A espessura dos bioplásticos foi medida em micrômetro de precisão do Kit B da Pantec. Em cada amostra de bioplástico utilizado para caracterização foram realizadas três medidas, compreendendo as extremidades, pontos medianos e centrais e a espessura final de cada amostra foi considerada como a média das três repetições.

4.6.2 Propriedades mecânicas

As propriedades mecânicas dos biopolímeros foram avaliadas por teste de tração em uma máquina de ensaios (CT3, Brookfield, USA), com célula de carga de 25 kg, acoplado com garra TA-DAGA Dual Grip Assembly, segundo metodologia descrita pela ASTM (1995), com modificações. Para realização do ensaio de tração, foram utilizados corpos de prova (Figura 4) com formato recomendado pela norma ASTM para teste de filmes poliméricos e dimensões ajustadas às dimensões do equipamento utilizado.

Figura 4 - Dimensões do corpo de prova para realização do teste de tração.



Os corpos de prova foram tracionados a uma velocidade constante de 0,4 mm/s e 100% de deformação até sua ruptura. Os parâmetros avaliados foram: módulo de Young, Força máxima (N) e o percentual de alongamento (%). O ensaio mecânico está ilustrado na Figura 5.

Figura 5- Ensaio mecânico dos bioplásticos



O (%) de alongamento foi determinado pela Equação (15).

$$A(\%) = \frac{L_f - L_0}{L_0} \times 100 \quad (15)$$

Onde: L_f : Alongamento final da amostra; L_0 : Tamanho inicial da amostra

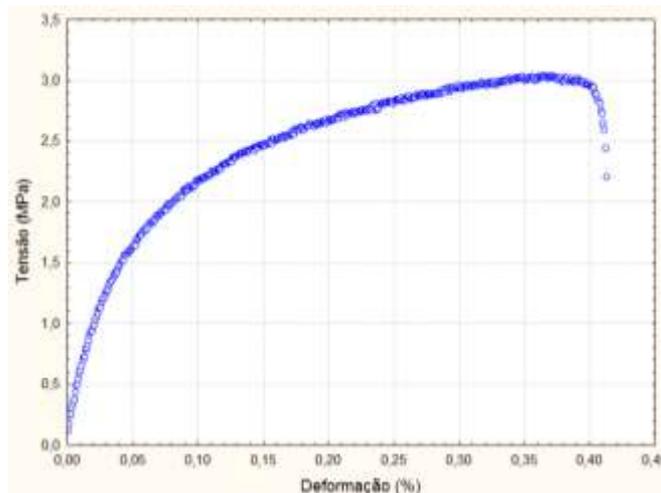
A resistência a tração é determinada pela Equação (16).

$$T = \frac{F}{S} \quad (16)$$

Onde: F : Última força máxima de ruptura; S : Área secção transversal

O módulo de Young ou módulo de elasticidade foi calculado pelo coeficiente angular da porção linear da curva de tensão/deformação (Figura 6)

Figura 6 - Curva tensão-deformação do bioplástico de amido de jaca com 8% de lisozima e pH 7,0.



4.6.3 Solubilidade

A solubilidade em água foi determinada segundo metodologia proposta por GONTARD *et al.* (1992), com modificações. Inicialmente, a massa seca de amostras de filme de 2 cm de diâmetro foi determinada em função de sua umidade em uma estufa de secagem e esterilização (TECNAL- TE-393/I) mantida a 105 °C por 24 h, em seguida a amostra foi pesada (m_i) e imersa em 50 mL de água destilada em erlenmeyer sob agitação a 175 rpm, a 25 °C, durante 24 h, utilizando-se uma mesa agitadora (QUIMIS). Após este período as amostras foram retiradas da água e a massa seca (m_f) foi determinada nas mesmas condições descritas para obtenção da massa seca inicial. A solubilidade em água foi expressa em porcentagem de

material solubilizado, calculada a partir dos resultados em triplicata, conforme a Equação (17).

$$\text{Solubilidade(\%)} = \frac{\text{Massa Inicial} - \text{Massa Final}}{\text{Massa Inicial}} \times 100 \quad (17)$$

4.6.4 Permeabilidade ao vapor de água

A permeabilidade ao vapor de água foi determinada gravimetricamente segundo teste da ASTM (1995), modificado por GONTARD *et al.* (1992). Os filmes, em forma de disco com 4,5 cm de diâmetro, foram colocados em célula contendo sílica gel (UR = 0%; 0 Pa pressão de vapor), formando uma membrana de modo a garantir que a difusão de umidade ocorra exclusivamente através dos filmes. A célula será colocada dentro de um dessecador contendo água destilada (UR = 100%; $0,4297 \times 10^4$ Pa pressão de vapor), em sala climatizada a 22 °C, com umidade relativa e pressão de vapor constante. A célula foi pesada em balança analítica (Scientech, As 210), com precisão de 0,0001 g, a cada 24 h, durante 7 dias consecutivos. A permeabilidade foi calculada por meio da Equação (18). Na Figura 07 é ilustrado o esquema de realização do teste de permeabilidade ao vapor de água.

$$\text{PVA} = \frac{G \times V}{A \times T (P_1 - P_2)} \quad (18)$$

Em que: PVA é a permeabilidade ao vapor de água ($\text{g m}^{-1} \text{s}^{-1} \text{Pa}^{-1}$); G é o ganho de massa (g) da célula durante 24 h; V é a espessura (m) média do filme; A é a área (m^2) de permeação do filme; T é o tempo (s) e P1-P2 é o gradiente de pressão (Pa) de vapor entre as superfícies do filme ($0,4297 \times 10^4$ Pa). As análises de permeabilidade ao vapor de água serão realizadas em triplicata.

Figura 7- Ilustração do teste de Permeabilidade ao vapor de água



4.7 Estudo da difusão da Lisozima

4.7.1 Quantificação da lisozima liberada

A atividade da lisozima liberada a partir do bioplástico de amido de jaca foi testada com os bioplásticos contendo 8% de lisozima e pH 6,0. Essa concentração foi escolhida considerando que a partir de 8% não houve aumento na atividade dos bioplásticos.

A quantificação da lisozima liberada foi obtida utilizando o método de Shugar (APPENDINI e HOTCHKISS, 1997). Uma solução 0,03% (m/v) da suspensão de células liofilizada de *Micrococcus lysodeikticus* (ATCC - 4698; Sigma) foi preparadas em água destilada estéril. Os bioplásticos foram colocados em 50 mL de água destilada e em 50 mL de solução de ácido acético 3%, e, ao longo do tempo, valores de 500 µL de água ou solução de ácido acético, contendo a lisozima liberada, foram retiradas e armazenadas em eppendorfs.

Para a quantificação da lisozima foram retirados 100 µl da solução contida no eppendorf e adicionou-se 2,9 ml de suspensão de células. A lise celular da suspensão de *M. lysodeikticus* foi monitorada através do decréscimo da absorbância a 450 nm em um espectrofotômetro. A concentração de lisozima foi obtida por meio da curva padrão de *M. lysodeikticus*.

4.8 Delineamento experimental

O delineamento experimental utilizado neste estudo foi um fatorial completo: 3x4, no qual foi utilizado 3 concentrações de lisozima (0%, 2% e 8%) e 4 níveis de pH (4, 5, 6 e 7). Para análise dos resultados foi feito uma análise de variância (ANOVA) e análise de regressão múltipla.

5 RESULTADOS E DISCUSSÕES

5.1 Caracterização do amido de jaca

A composição centesimal do amido de jaca está apresentada na Tabela 04. De acordo com os resultados obtidos o amido de jaca apresenta 11,7% de umidade, caracterizando-o como um produto de baixa umidade.

Tabela 4 - Composição centesimal do amido de jaca

Constituintes	Concentração % (m/m)
Amido	84,68 ± 1,26
--Amilose	26,45 ± 0,05
--Amilopectina	73,55 ± 0,05
Proteína	1,61 ± 0,01
Lipídeos	0,01 ± 0,01
Cinzas	0,52 ± 0,01
Umidade	11,7 ± 0,12

Lipídeos, proteínas, fibras e minerais estão presentes nos grânulos de amido em pequenas quantidades e são geralmente denominados “constituintes menores”. A presença desses constituintes resulta de uma ineficiência da purificação do amido durante o processo de extração e, mesmo em pequenas quantidades, desempenham um importante papel nas propriedades físico-químicas e tecnológicas do amido (YONEMOTO, 2006).

O teor de proteína encontrado no amido de jaca no presente estudo foi superior ao encontrado por DUTTA *et al.*, (2011) (0,4%). Já MADRUGA *et al.*, (2014) encontrou valor semelhante ao obtido neste estudo (1,51%) em amidos de semente de jacas da variedade mole. A quantidade de proteínas é comumente utilizada para verificar a pureza de uma fonte de amido, portanto a extração do amido de jaca obteve um elevado grau de pureza tendo em vista o baixo teor de proteína encontrado (ZHOU *et al.*, 2002).

Segundo WONG *et al.*, (2007) geralmente, a maioria dos amidos contém 15-30% de amilose. O teor de amilose do amido de jaca (26,44) foi semelhante aos relatados por KITTIPONGPATANA e KITTIPONGPATANA, (2011) (26,45%), TONGDANG (2008) (24,4%), OATES e POWELL (1996) (27,7%-28,5%) e BOBBIO *et al.* (1978) (28,1%).

O amido de jaca obteve um baixo teor de lipídeo 0,01%. Este valor foi semelhante ao encontrado por RENGSUTTHI e CHAROENREIN, (2011) (0,03%) em amido de semente de jaca. O valores de cinzas (0,52%) está entre os valores encontrados por MADRUGA *et al.*, (2014) em amido de semente de jaca mole (0,16%) e dura (0,07%).

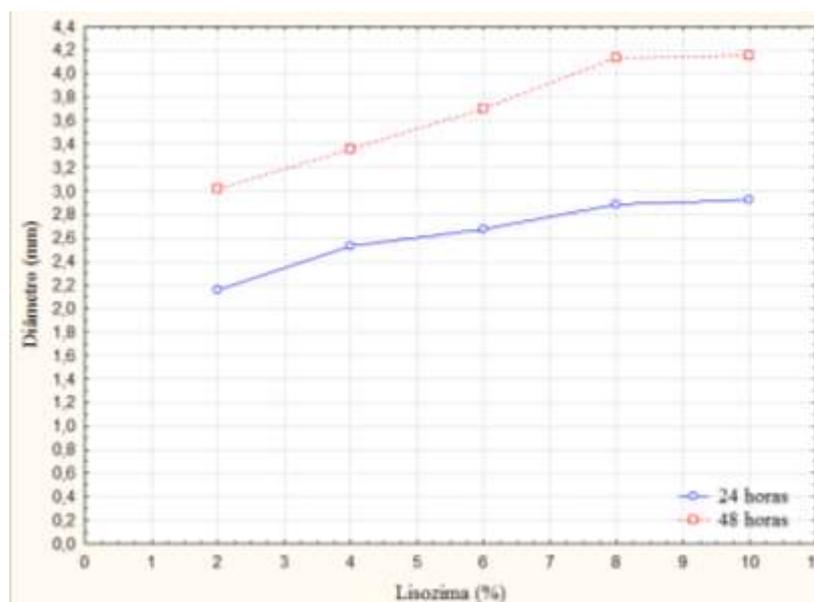
Estes resultados encontram-se de acordo com a RDC nº 263 de 22 de setembro de 2005 da ANVISA que aprova o Regulamento Técnico para produtos de cereais, amidos, farinhas e farelos, que permite até 14,0% de umidade e 0,5% de cinzas e exige pelo menos 80% de amido (BRASIL, 2014).

5.2 Caracterização dos bioplásticos de amido de jaca

5.2.1 Atividade antimicrobiana dos bioplásticos

A atividade antimicrobiana dos bioplásticos de amido de jaca incorporado com lisozima foi testada contra *Micrococcus lysodeikticus*. Na Figura 8 tem se a representação gráfica do diâmetro de inibição em função da concentração de lisozima nos tempo de 24 e 48 horas.

Figura 8 - Zona de inibição (contra *Micrococcus lysodeikticus*) de bioplásticos de amido de jaca em função da concentração de lisozima.



Como pode ser observado, o diâmetro da zona de inibição contra *Micrococcus lysodeikticus* aumentou com o acréscimo da concentração de lisozima, de modo que, o maior diâmetro da zona estava relacionado com o bioplásticos com 8% de lisozima, o qual não diferiu estatisticamente do bioplástico com 10% de lisozima.

Os bioplásticos foram testados apenas contra bactéria gram-positiva, pois, segundo FENNEMA (2010), a lisozima é uma proteína básica com atividade antibacteriana e sua atividade catalítica é a hidrólise da ligação glicosídica β (1 \rightarrow 4), que une os resíduos de açúcares aminados N-acetilmurâmico e 2-deoxi-N-acetilglicosamina, componentes do peptidoglicano da parede celular de bactérias. Contudo, a ação lítica da lisozima é limitada a bactérias gram-positivas, apresentando pouca ou nenhuma atividade sobre bactérias gram-negativas, pois o acesso da lisozima ao peptidoglicano de bactérias gram-negativas é impedido por uma membrana externa lipopolissacarídica.

De acordo com resultados da atividade antimicrobiana, a lisozima foi incorporada com sucesso em filmes de amido de jaca, produzindo bioplásticos com potencial de atividade

antimicrobiana contra bactérias Gram-positivas. Mesmo na concentração mínima de lisozima utilizada, os bioplásticos de amido de jaca mostraram inibição contra *Micrococcus lysodeikticus*. Diante dos resultados obtidos foram elaborados no presente estudo bioplásticos com concentrações de (0, 2 e 8%) de lisozima.

FABRA *et al* (2014) incorporaram lisozima como agente antimicrobiano em filmes de proteína de ervilha e em filmes de amido de milho e comprovaram a eficácia dos filmes contra *Listeria monocytogenes* (bactéria gram-positiva).

MECITOĞLU *et al* (2006) ao realizarem um estudo sobre a incorporação de lisozima de ovo branco de galinha em filmes de zeína, observaram, que os filmes de zeína incorporados com lisozima parcialmente purificada mostrou efeito antimicrobiano em bactérias gram-positiva como *Bacillus subtilis* e *Lactobacillus plantarum*.

5.3 Espessura

A espessura dos bioplásticos de amido de jaca variou de 0,14 mm a 0,17 mm e está apresentada na Tabela 5.

Tabela 5 - Espessura dos bioplásticos de amido de jaca.

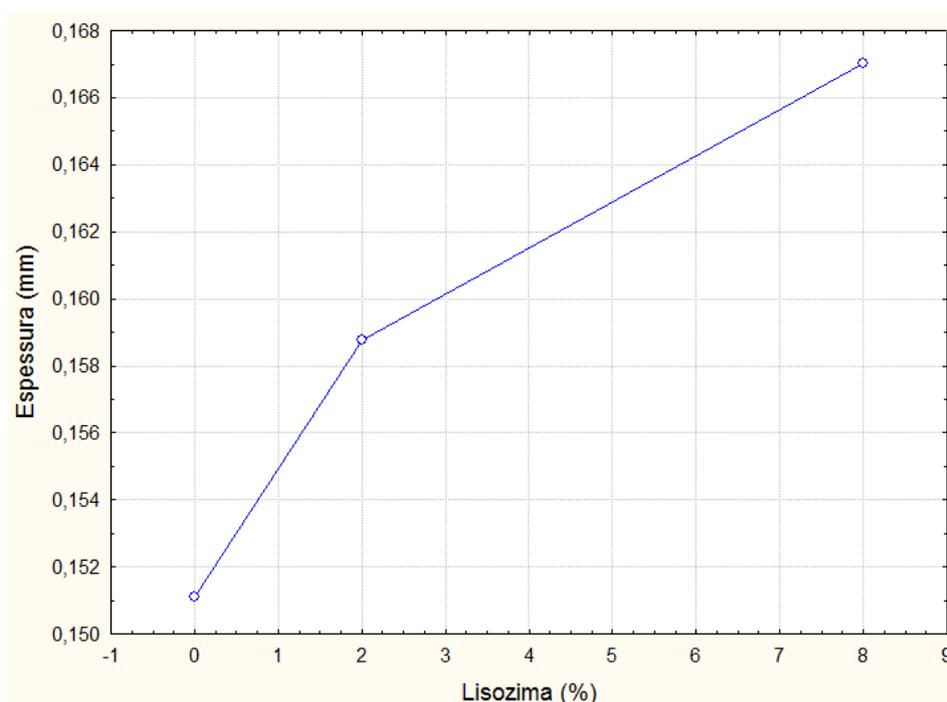
pH	Espessuras (mm)		
	Concentração de lisozima (%)		
	0	2	8
4	0,16	0,16	0,17
5	0,15	0,15	0,16
6	0,14	0,15	0,17
7	0,15	0,16	0,16

Por meio de uma análise de regressão foi possível observar que o aumento da espessura dos bioplásticos de amido de jaca é proporcional ao aumento da concentração de lisozima, como mostra a Equação (19). Esse comportamento pode ser devido ao aumento da concentração de matéria seca no bioplástico. A Figura 09 ilustra o comportamento dos bioplásticos com as diferentes concentrações de lisozima obtidas no presente trabalho.

$$E = 0,1540 + 0,0017*L \quad (19)$$

Onde: E é a espessura e L é a concentração de lisozima (%).

Figura 9 - Espessura dos bioplásticos de amido de jaca em diferentes concentrações de lisozima.



A variação de pH não causou variações significativas ($p < 0,05$) na espessura dos bioplásticos de amido de jaca. Vários autores na literatura concluíram que a espessura dos bioplásticos a base de amido, varia de acordo com a concentração de amido, de proteína e de plastificante utilizado (MOURA, 2008; SHIMAZU, MALI e GROSSMANN, 2007; ROCHA, 2009; MATTA *et al*, 2011; MOTA, 2009; MULLER, *et al*, 2007) corroborando os resultados encontrados neste estudo, uma vez que a concentração de amido e de glicerol foram constantes e houve variações na espessura apenas em concentrações diferentes de lisozima.

Segundo HENRIQUE, CEREDA e SARMENTO (2008), a espessura é um parâmetro que influencia as propriedades dos bioplásticos e quando controlada permite a uniformidade do material e a validade das comparações entre suas propriedades.

A espessura influencia as propriedades mecânicas e a permeabilidade ao vapor de água de filmes hidrofílicos. Quanto maiores as espessuras, mais resistentes à tração são os filmes e maior a sua permeabilidade ao vapor de água (GALDEANO, 2007).

FAKHOURY *et al*, (2012) ao estudar filmes comestíveis com diferentes concentrações de amido de mandioca e gelatina encontraram espessuras de 0,043 a 0,075 mm e observaram que o aumento da quantidade de amido ou de gelatina nos bioplásticos resultou em um aumento na sua espessura.

5.4 Solubilidade

A concentração de lisozima e a variação do pH causaram um efeito significativo ($p < 0,05$) na solubilidade dos bioplásticos de amido de jaca, o efeito de cada um desses parâmetros pode ser observado na Equação (20).

Segundo BALAN *et al.*, 2012, a solubilidade dos filmes em água é uma importante propriedade para determinar a aplicabilidade destes como embalagem de alimentos em ambiente de alta atividade de água.

Como há um interesse na redução da transferência de água entre o produto e o meio externo, e como esta propriedade está relacionada com a solubilidade do filme, uma alta solubilidade pode comprometer as propriedades mecânicas e de barreira dos filmes.

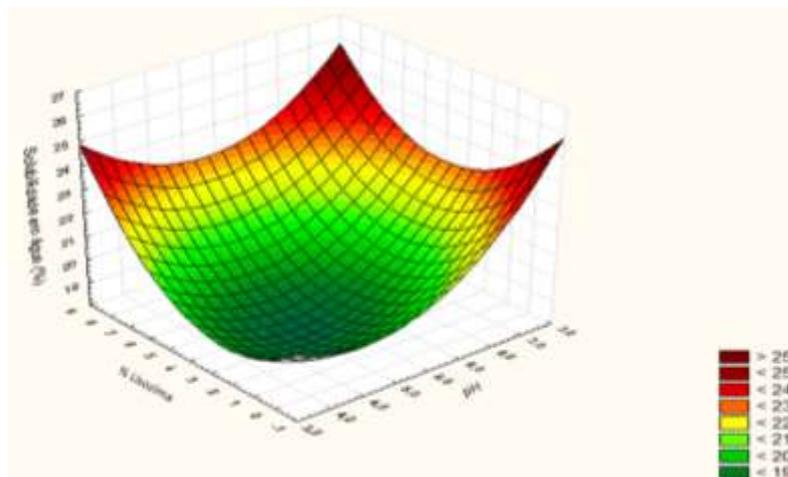
$$S = 32,79 - 0,19 * L - 5,86 * pH + 0,12 * L^2 - 0,10 * PH * L + 0,64 pH^2 \quad (20)$$

Onde: S é a solubilidade dos bioplásticos em água e L é a concentração (%) de lisozima.

Através da análise de regressão foi possível verificar o ponto mínimo de solubilidade dos bioplásticos de amido de jaca de 18,36%. Essa redução da solubilidade pode ser atribuída a uma interação entre a proteína e o amido reduzindo a capacidade de interação entre o amido e as moléculas de água. Materiais de embalagens com baixa solubilidade são de grande interesse, pois são ideais para embalar alimentos com alto valor de umidade como, por exemplo, queijo, presunto, carne e outros.

Analisando a Figura 10, é possível observar que a adição de 8% de lisozima na matriz polimérica causou um aumento na solubilidade dos bioplásticos em todos os pH estudados. Este comportamento também foi observado por ROCHA *et al.*, (2014) ao estudar filmes de amido de mandioca com adição de extrato protéico de soja, o qual percebeu que o aumento do teor de proteína gerou um aumento da solubilidade dos filmes.

Figura 10 - Solubilidade em água dos bioplásticos de amido de jaca com diferentes concentrações de lisozima e valores de pH.



Segundo FAKHOURY *et al.*, (2012) quando a proteína é adicionada à matriz amilácea, esta se instala entre as cadeias de amilose e amilopectina levando à redução das interações, assim ocorre as cadeias, aumento do volume livre e permitindo maior difusão da água.

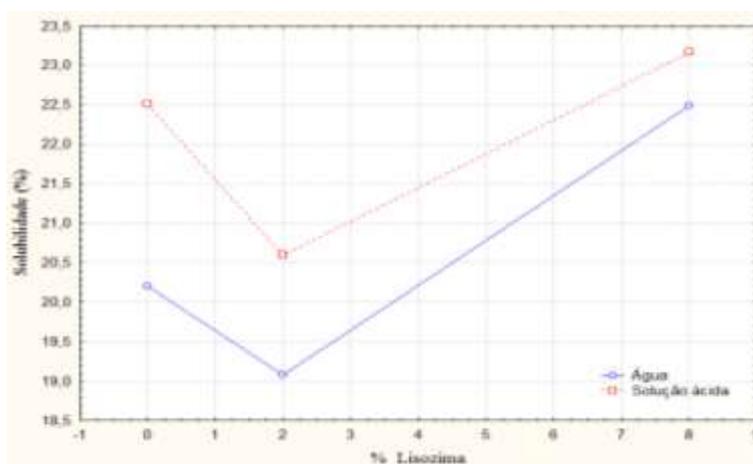
O aumento no valor do pH da solução filmogênica também favoreceu a solubilidade dos bioplásticos de amido de jaca. A maior solubilidade em água foi encontrada nos bioplásticos de pH 7,0 e concentração de lisozima igual a 8%. Esse comportamento pode ser devido a adição de citrato de sódio para o ajuste do pH da solução filmogênica, pois, segundo LEÓN (2006), os íons citrato diminuem a solubilidade da proteína por aumentarem as interações hidrofóbicas e a agregação entre as moléculas devido a uma competição dos íons salinos pela água, resultando em uma interação proteína-proteína (principalmente via interação hidrofóbica) maior que a interação proteína-água. Com o fortalecimento das interações proteína-proteína as moléculas de amido ficam livres para interagir com água, tendo em vista que o amido é um polímero que apresenta a característica de hidrofilicidade.

Os valores de solubilidade dos bioplásticos de amido de jaca encontrados neste estudo estão entre os encontrados por ROCHA (2009) que obteve solubilidade entre 14,84 e 60,96% em filmes de amido de mandioca e extrato de soja. MACHADO (2013) obteve solubilidade de filmes biodegradáveis a base de amido de mandioca e bagaço de cevada entre 21,2 e 31,9%. Já PRATES e ASCHER (2010) obtiveram valores de solubilidade entre 26,18 e 29,02% em filmes elaborados com amido de fruta-de-lobo e GHASEMLOU *et al.*, (2013) encontrou solubilidades entre 18,96 e 27,88% em filmes de amido de milho incorporados com óleos essenciais de plantas.

A solubilidade dos bioplásticos de amido de jaca também foi avaliada em solução de ácido acético 3% o qual foi utilizado como um simulante de alimentos para a realização de ensaios de migração do antimicrobiano. Apenas os bioplásticos com o pH da solução filmogênica igual a 6,0 foram utilizados para a determinação da solubilidade em solução ácida.

Os bioplásticos apresentaram maior solubilidade em solução de ácido acético 3% do que em água como pode ser observado na Figura 11. Este comportamento pode ser devido a uma provável hidrólise ácida do amido tornando-o mais solúvel.

Figura 11 - Solubilidade dos bioplásticos de amido de jaca (pH 6,0) em solução ácida e em água.



FAKHOURY *et al.*, (2012) ao avaliarem a solubilidade de filmes feitos a partir de misturas de amido de mandioca e gelatina observou que os mesmos foram muito mais solúveis em solução ácida do que em água, chegando a ser 100% solúvel em solução ácida.

5.5 Permeabilidade ao Vapor de Água (PVA)

A variação de pH das soluções filmogênicas não causou um efeito significativo ($p < 0,05$) na PVA dos bioplásticos. A PVA média dos bioplásticos de amido foi de (0,00042 e 0,00057) $\text{g.m/dia.m}^2\text{Pa}^{-1}$.

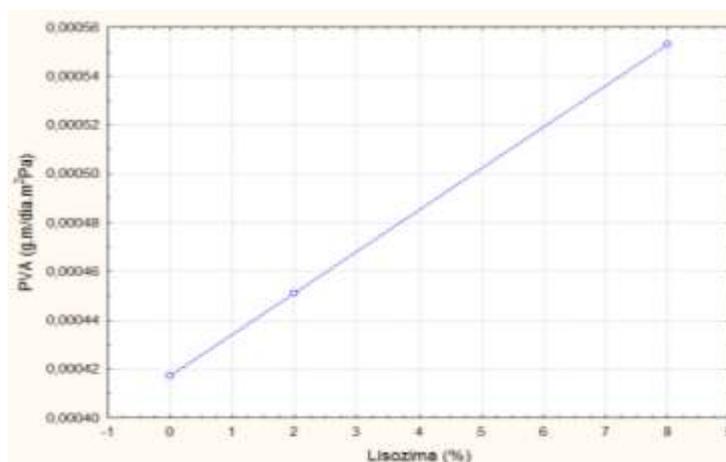
A incorporação de lisozima na matriz amilácea, causou um aumento na PVA dos bioplásticos. A introdução da lisozima na matriz polimérica alterou o modo de organização tridimensional das cadeias poliméricas, diminuindo as forças de atração intermoleculares, aumentando o espaço livre e conseqüentemente a mobilidade das cadeias.

O modelo linear (Equação 21) se ajustou satisfatoriamente aos resultados experimentais e como pode ser observado na Figura 12, a maior PVA (0,00057g.m/dia.m²Pa) foi observada na maior concentração de lisozima incorporada. Estes resultados corroboram os resultados da análise de solubilidade, pois, fisicamente, a permeabilidade ao vapor de água é o produto da difusividade pela solubilidade da água no filme. Portanto o aumento da PVA está relacionado com o aumento da solubilidade dos bioplásticos.

$$PVA = 0,000417 + 0,000017 * L \quad (21)$$

Onde: PVA é a permeabilidade ao vapor de água em g.m/dia.m²Pa⁻¹; L é a concentração de lisozima em %.

Figura 12 - Permeabilidade ao vapor de água dos bioplásticos de amido de jaca em função da concentração de lisozima.



O mesmo comportamento foi observado por FAKHOURY *et al.*, (2012), o qual relatou que a permeabilidade ao vapor de água de filmes de amido e gelatina aumentou com a elevação do teor de proteína. ROCHA *et al.*, 2014 também observaram que a máxima PVA dos filmes biodegradáveis a base de amido de mandioca e proteína de soja foi encontrada nos filmes elaborados com o máximo teor de proteína de soja.

A maior PVA encontrada nos bioplásticos com 8% de lisozima pode ser devido a estes bioplásticos apresentarem maior espessura. Segundo MALI *et al.*, (2010), quanto maiores as espessuras, mais resistentes são os filmes e maior a sua permeabilidade ao vapor de água. Este comportamento pode estar relacionado com as modificações estruturais da rede de amido que podem tornar-se menos densas (inchada), devido à presença da lisozima entre os polímeros de amilose e amilopectina, facilitando a difusão da água pela matriz.

Os valores de permeabilidade ao vapor de água dos filmes poliméricos podem ser utilizados em predições da vida de prateleira de produtos embalados e para a indicação de aplicações específicas para os mesmos (BALAN, 2012).

Segundo BERTUZZI *et al.*, (2007), o transporte da água em películas comestíveis de produtos a base de amido é um fenômeno complexo devido à interação forte de moléculas de água com a estrutura polimérica do amido.

5.6 Propriedades Mecânicas

Por meio dos testes de tração foi possível obter, a resistência a tração, o percentual de alongamento e o módulo de Young dos bioplásticos de amido de jaca. A resistência a tração e o percentual de alongamento representam a resistência do material quando submetido a uma força máxima que tende a alongá-lo até seu ponto de ruptura e a sua capacidade de alongamento, respectivamente, ao passo que o módulo de Young é uma medida da rigidez do material. Os resultados dos testes de tração estão apresentados na Tabela 06.

Tabela 6 - Propriedades mecânicas dos bioplásticos de amido de jaca.

Ph	% Lisozima	Tensão Máxima (M Pa)	(%) de Alongamento	Módulo de Young (M Pa)
4	0	2,98	21,61	36,90
5	0	3,24	19,37	62,59
6	0	2,91	14,42	38,04
7	0	2,86	19,03	35,53
4	2	2,20	16,48	34,84
5	2	2,60	16,23	38,04
6	2	2,71	19,15	44,28
7	2	2,48	22,56	20,40
4	8	4,07	22,82	136,62
5	8	4,80	20,94	215,82
6	8	4,37	20,34	153,97
7	8	3,81	51,20	60,33

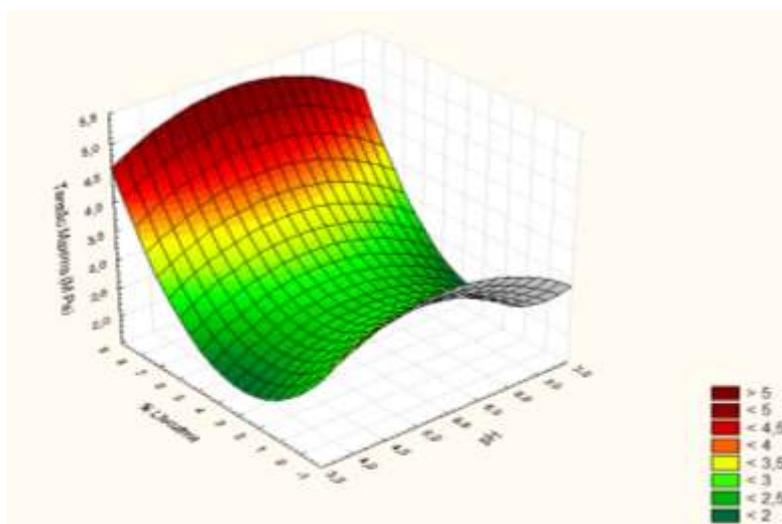
A concentração de lisozima e a variação de pH das soluções filmogênica causou um efeito significativo ($p < 0,05$) na tensão máxima dos bioplásticos de amido de jaca e a Equação 22 foi a que melhor se ajustou aos dados:

$$\text{Tensão Máxima} = - 2,20 - 0,39 * L + 2,0 * \text{pH} + 0,07 * L^2 - 0,19 * \text{pH}^2 \quad (22)$$

Onde: L é concentração (%) de lisozima

Na Figura 13 está ilustrada a tensão máxima dos bioplásticos de amido de jaca em função da concentração de lisozima e a variação de pH. Os bioplásticos que apresentaram uma menor resistência a tração (tensão máxima) foram os com concentração de 2% de lisozima. A presença da pequena quantidade de proteína reduziu a resistência à tração como um resultado da interação entre o amido e a proteína que pode ter reduzido a interação entre as cadeias de amido uma vez que a concentração de plastificante não variou em todas as amostras.

Figura 13 - Tensão máxima dos bioplásticos de amido de jaca com diferentes concentrações de lisozima e valores de pH.



Os bioplásticos com maior concentração de lisozima foram os que apresentaram maior tensão máxima em todos os níveis de pH. Este aumento pode estar associado à maior concentração de lisozima proporcionando um aumento do número de cadeias de proteínas, sendo estas responsáveis por interações intermoleculares mais fortes. O aumento da espessura é outro fator que pode ter contribuído para aumentar a tensão.

FAKHOURY *et al.*, (2012) ao avaliarem filmes comestíveis feitos a partir de misturas de amido de mandioca e gelatina também observaram que a adição de proteína (gelatina) a matriz amilácea causou um aumento na tensão máxima de bioplásticos de amido de mandioca.

Os valores obtidos para resistência a tração dos bioplásticos de amido de jaca (2,8MPa - 4,8MPa) são similares aos encontrados por CANO *et al*, (2014) em filmes de batata (3,04 MPa) e mandioca (1,7 MPa).

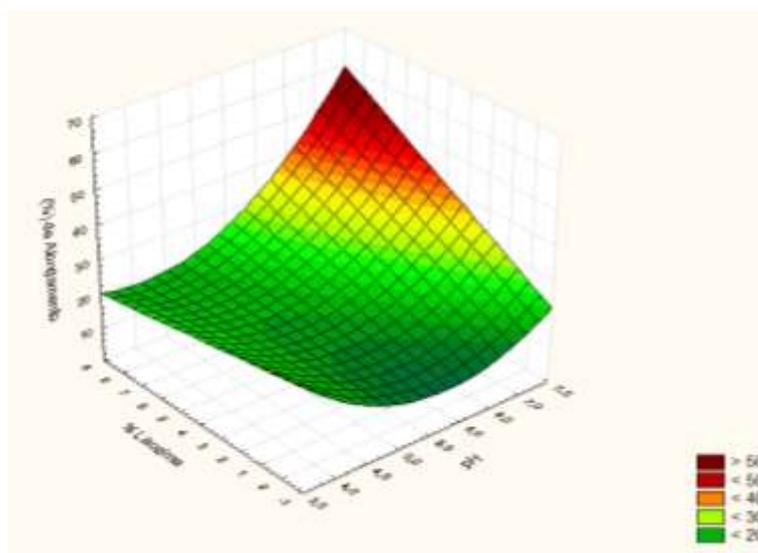
O percentual de alongamento variou significativamente ($p < 0,05$) com a concentração de lisozima e com a variação de pH. Através da análise de regressão foi possível se obter a Equação 23, a qual melhor se ajustou aos dados.

$$\% \text{ Alongamento} = 126,60 - 5,11 * L - 40,51 * \text{pH} + 1,19 * \text{pH} * L + 3,61 * L^2 \quad (23)$$

Onde: L é a concentração de lisozima

Na Figura 14 tem-se a representação gráfica da relação do percentual de alongamento com a variação de pH e da concentração de lisozima. O bioplástico com 8% de lisozima e pH 7,0 foi o que apresentou maior percentual de alongamento. Provavelmente os íons citrato diminuíram a solubilidade da proteína aumentando a agregação entre as moléculas de lisozima devido a uma competição dos íons salinos pela água, resultando em uma interação proteína-proteína. Essas proteínas se dispersaram na matriz amilácea atuando como um plastificante aumentando o volume livre entre as cadeias e consequentemente aumentando a flexibilidade e capacidade de alongamento deste bioplástico.

Figura 14 - Percentual de alongamento dos bioplásticos de amido de jaca com diferentes concentrações de lisozima e valores de pH.



O maior percentual de alongamento (51,2%) encontrado para os bioplásticos de amido de jaca foi superior aos encontrados por DE CARVALHO, *et al* (2011) em filmes de amido

de mandioca plastificados com glicerol, o qual encontrou percentual de alongamento de 27,25 %.

O módulo de elasticidade é a razão entre a tensão e a deformação específica dentro do limite elástico, onde a deformação é totalmente reversível e proporcional à tensão. Ele é um indicador da rigidez do material, pois quanto maior for o módulo de elasticidade do material, maior será sua resistência à deformação e menor será a sua deformação elástica (SARANTÓPOULOS, 2002).

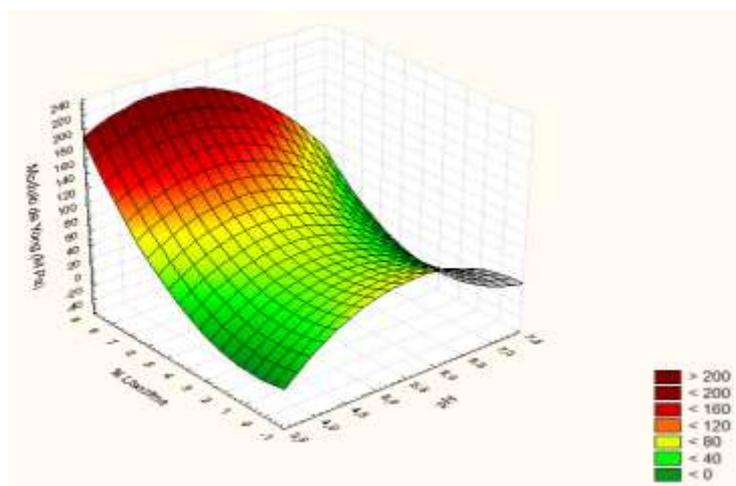
A concentração de lisozima e a variação de pH das soluções filmogênica causaram um efeito significativo ($p < 0,05$) dos bioplásticos de amido de jaca. A Equação 24 foi a que melhor se ajustou aos dados com base na significância dos parâmetros.

$$MY = -506,7 + 9,21 * L + 208,86 * pH + 2,79 * L^2 - 3,5 * pH * L - 19 * L^2 \quad (24)$$

Onde: MY é o módulo de Young ou módulo de elasticidade em MPa e L é a concentração de lisozima em %.

Na Figura 15 está apresentada a representação gráfica do modulo de Young em relação à concentração de lisozima e a variação de pH das soluções filmogênica dos bioplásticos de amido de jaca.

Figura 15 - Módulo de Young dos bioplásticos de amido de jaca com diferentes concentrações de lisozima e valores de pH.



Com relação à interação entre o pH da solução filmogênica e a lisozima, o efeito do pH está relacionado ao ponto isoelétrico. Quando o valor do pH da solução está distante ponto isoelétrico da lisozima ($pI = 11,1$) maior a diferença de cargas entre as moléculas de lisozima

e conseqüentemente essas cargas líquidas repelem-se entre si, favorecendo a interação entre a lisozima e o amido, favorecendo um aumento no módulo de elasticidade do bioplástico como aconteceu nos bioplásticos de pH 4,0 com 8% de lisozima.

Como o módulo de elasticidade é um indicador da rigidez do material, os bioplásticos com 8% de lisozima e pH 4,0 foram os que apresentaram maior resistência à deformação e menor deformação elástica.

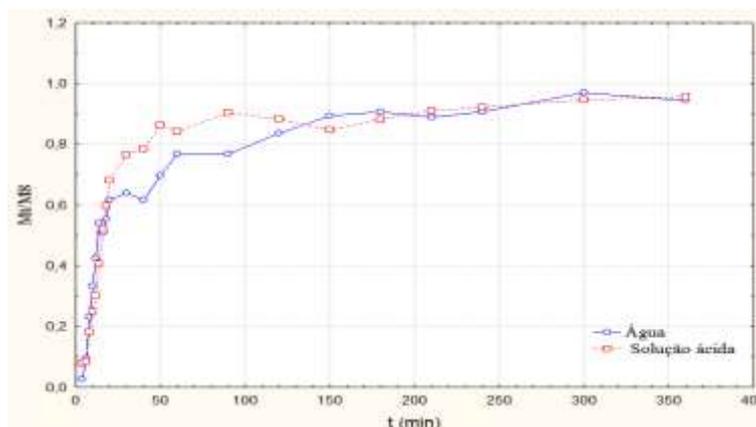
Os valores de módulo de Young encontrados neste estudo variaram de 20,40MPa a 215,82MPa. Estes valores estão entre os encontrados por ROCHA (2009) o qual obteve módulos de Young variando de 0,17MPa a 211,63MPa em filmes biodegradáveis produzidos a partir de misturas de amido de mandioca e extrato protéico de soja.

5.7 Estudo da difusão da lisozima

Os ensaios de difusão foram realizados utilizando dois tipos de solventes: água e solução de ácido acético 3%. Foram calculados a massa de lisozima liberada num tempo t , M_t , e a massa de lisozima liberada no tempo infinito, sendo a quantidade total liberada quando o equilíbrio foi alcançado M_∞ . A espessura dos bioplásticos foram medidas antes e depois dos ensaios. A massa total de lisozima liberada tanto na água como no ácido foi inferior a 60% da massa de lisozima incorporada.

As curvas de liberação da lisozima nos diferentes solventes utilizados são mostradas na Figura 16. Analisando as curvas é possível observar que a quantidade de lisozima liberada vai aumentando até que o sistema atinge o seu equilíbrio, apresentando uma alta taxa inicial de liberação.

Figura 16 - Curvas de liberação da lisozima dos bioplásticos de amido de jaca com 8% de lisozima em diferentes solventes; água e solução de ácido acético 3%.



O mecanismo envolvido no processo de difusão da lisozima foi investigado aplicando o modelo da Lei de Potência nas curvas apresentadas na Figura 16. Os expoentes de difusão (n) e as constantes de difusão (k) foram calculados utilizando o programa estatístico Statistical Analysis System- SAS, versão 9.1. Onde n é o expoente de difusão característico do mecanismo de liberação e k é uma constante que caracteriza o sistema macromolecular. Os valores de n, k e o coeficiente de difusão (D) estão apresentados na Tabela 07.

Tabela 7 - Expoente de difusão (n), constante de difusão (k) e coeficiente de difusão (D_{ef}) de liberação de lisozima. Bioplásticos de amido de jaca com 8% de lisozima.

Solvente	n	k (s)	$D_{ef} \times 10^{-7}$ (cm ² s ⁻¹)
Água	0,24	0,429	4,83
Solução de ácido cítrico (3%)	0,26	0,083	4,98

Os valores dos expoentes de difusão (n) encontrados neste estudo foram inferiores a 0,5. Como os valores de n estão dentro do limite de 0,5 pode se inferir que a difusão da lisozima segue um mecanismo de transporte Fickiano (Caso I). Os valores de n encontrados neste estudo sendo consideravelmente diferente do valor de n obtido por RITGER e PEPPAS (1987a) para a liberação de uma amostra monodispersa, isto é, n = 0,5, pode ser devido a uma rápida difusão da lisozima devido ao pequeno tamanho desta molécula.

Para a obtenção dos coeficientes de difusão (D), foi utilizada a equação simplificada da 2ª Lei de Fick (Equação 03), a solução para tempos curtos, sendo utilizada para o ajuste dos pontos experimentais iniciais, quando menos de 60% da massa da massa do composto ativo é liberada (CRANK, 1975).

Como o mecanismo de liberação da lisozima segue o comportamento Fickiano (Caso-I), podemos dizer que a taxa de difusão da lisozima é muito menor do que a taxa de relaxação da matriz polimérica. Portanto a difusão da lisozima é independente do intumescimento da matriz, que é muito rápido devido a sua característica hidrofílica. Os diferentes tipos de solventes utilizados não causaram diferenças significativas ($p < 0,5$) no coeficiente de difusão da lisozima.

Os coeficientes de difusão da lisozima em bioplásticos de amido de jaca plastificados com glicerol foram próximos aos encontrados por TURBIANI, *et al.*, (2011), os quais encontraram coeficientes de difusão do benzoato de cálcio em filmes de alginato entre $3,21 \times 10^{-7}$ e $5,93 \times 10^{-7}$ cm²/s. e semelhantes aos encontrados por FLORES, *et al.*, (2007) que

obteve coeficientes de difusão para o sorbato de potássio em filmes comestíveis à base de amido de tapioca plastificante com glicerol variando de $1,26 \times 10^{-6}$ a $9,41 \times 10^{-7}$ cm^2/s .

GEMILI, *et al.*,(2009) encontrou coeficientes de difusão da lisozima em filmes de acetato de celulose entre $6,17 \times 10^{-10}$ e $2,33 \times 10^{-9}$ cm^2/s . Estes valores foram inferiores aos encontrados neste estudo indicando que o tipo de matriz influencia no coeficiente de difusão da lisozima.

6 CONCLUSÕES

O amido de jaca apresentou composição centesimal compatíveis com os reportados na literatura e com bom conteúdo de amilose, que é um componente importante na formação de bioplásticos. Os bioplásticos elaborados com amido de jaca e lisozima apresentaram boa aparência e atividade antimicrobiana contra *Micrococcus Lysodeikticus*.

A adição de lisozima na matriz polimérica assim como a variação de pH da solução filmogênica afetou a solubilidade, tensão máxima, percentual de alongamento e o módulo de Yong dos bioplásticos de amido de jaca.

Os bioplásticos de amido de jaca apresentaram maior solubilidade em solução acida do que em água em todas as concentrações de lisozima estudadas. A permeabilidade ao vapor de água e a espessura dos bioplásticos foram aumentadas com a incorporação da lisozima na matriz.

Por meio dos ensaios de difusão pode se inferir que a difusão da lisozima segue o mecanismo de transporte Fickiano. Portanto a taxa de difusão da lisozima é muito menor do que a taxa de relaxação da matriz polimérica. Os resultados demonstraram que os bioplásticos de amido de jaca com incorporação de lisozima, possuem um grande potencial na utilização deste material no acondicionamento de produtos alimentares para estender sua vida útil.

7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AL-HASSAN, A. A., e M. H. NORZIAH. "Starch–gelatin edible films: Water vapor permeability and mechanical properties as affected by plasticizers." **Food Hydrocolloids** 26.1: 108-117(2012).
- AMERICAN SOCIETY FOR TESTING AND MATERIALS – ASTM. Standard Test Methods for Tensile Properties of Thin Plastic Shelling. **ASTM D882-95a**. New York, 1995.
- ANDRADE, M. C. P. DE A. **Avaliação do desempenho de diferentes plásticos biodegradáveis na cultura do morangueiro** (Fragaria x ananassa Duch.). 2011.
- APPENDINI, P., & HOTCHKISS, J. H. Immobilization of lysozyme on food contact polymers as a potential antimicrobial films. **Packaging Technology and Science**, 10, 71–279 (1997).
- APPENDINI, P., HOTCHKISS, J. H. Análise de embalagens de alimentos antimicrobiano inovador. **Food Science e Emerging Technologies** , v 3, n. 2, p. 113-126, 2002.
- BALAN, G. C. *et al.* **Propriedades de Sorção de Filmes a Base de Amido de Mandioca, Gelatina, Pbat e Óleo Essencial**. 2012
- BARBIROLI, A. *et al.*. Antimicrobial activity of lysozyme and lactoferrin incorporated in cellulose-based food packaging. **Food control**, 26(2), 387-392 (2012).
- BARBOSA, M. C.; GONÇALVES, G. R. F. ; GANDOLFI, O. R. R.; VELOSO, C. M; BONOMO, R. C. F. Composição Química do Amido da Semente de Jaca (Artocarpus Integrifolia L.) Revista Magistra, v 25, 2013.
- BASTOS, D.C. **Estudo da redução da hidrofiliidade de filmes biodegradáveis de amido de milho termoplástico com e sem reforço de fibra de bananeira através do tratamento por plasma de SF6**. Dissertação-. Universidade Federal do Rio de Janeiro, 2010.
- BAYER, E. A.; LAMED, R. The cellulose paradox: pollutant par excellence and/or a reclaimable natural resource. **Biodegradation**, v. 3, n. 2-3, p. 171-188, 1992.

BERTUZZI, M.A.; CASTRO VIDAURRE, E.F.; ARMADA, M.; GOTTIFREDI, J.C. Water vapor permeability of edible starch based films. **Journal of Food Engineering**, v. 80, p. 972–978, 2007.

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

BOBBIO, F. O., EL-DASH, A. A., BOBBIO, P. A., e RODRIGUES, L. R.. Isolation and characterization of the physicochemical properties of the starch of jackfruit seeds (*Artocarpus heterophyllus*). **Cereal Chemistry**, 55, 505 e 511(1978).

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). Resolução RDC n. 263 de 22 de setembro de 2005. Disponível em: <<http://www.anvisa.gov.br>>. Acesso em 13 de agosto. 2014.

BUONOCORE, G. G. et al. Modeling the lysozyme release kinetics from antimicrobial films intended for food packaging applications. **Journal of Food Science**, v. 68, n. 4, p. 1365-1370, 2003.

Buonocore, G. G., Nobile, M. A., Panizza, A., Bove, S., Battaglia, G., & Nicolais, L. Modeling the lysozyme release kinetics from antimicrobial films intended for food packaging applications. **Journal of Food Science**, 68(4), 1365-1370 (2013).

CANO, A.; JIMÉNEZ, A.; CHÁFER, M.; GÓNZALEZ, C.; CHIRALT, A. Effect of amylose: amylopectin ratio and rice bran addition on starch films properties. **Carbohydrate Polymers**. 2014.

CHIUMARELLI, M.; HUBINGER, M. D. Evaluation of edible films and coatings formulated with cassava starch, glycerol, carnauba wax and stearic acid. **Food Hydrocolloids**, 38, 20-27 (2014).

COMA, V.. Bioactive packaging technologies for extended shelf life of meat-based products. **Meat Science**, 78, 90e103 (2008).

CORRADINI, Claudio *et al.* Antimicrobial films containing lysozyme for active packaging obtained by sol–gel technique. **Journal of Food Engineering**, v. 119, n. 3, p. 580-587, 2013.

CRANK, J. – “The mathematics of diffusion”, 2nd ed., Clarendon Press, Oxford (1975).

CUNNINGHAM, F.E.; PROCTOR, V.A. e GOETSCH, S.J. Egg white lysozyme as a food preservative: an overview. **World's Poultry Science Journal**, 47: 141-163, 1991

DE CARVALHO, C. W. P., *et al.* "Bióplásticos à base de amido lipofílico e glicerina obtidos por processo de extrusão termoplástica." Embrapa Agroindústria de Alimentos-Artigo em anais de congresso (ALICE). In: FEIRA E CONGRESSO PLASTSHOW, 5., 2010, São Paulo. Soluções para a indústria de transformação de plásticos. São Paulo: Aranda, 2010. 1 CD-ROM., 2011.

DEL NOBILE, M. A., CONTE, A., INCORONATO, A. L., & PANZA, O.. Antimicrobial efficacy and release kinetics of thymol from zein films. *Journal of Food Engineering*, 89(1), 57-63 (2008).

DIEULOT, J.-Y.; SKURTYYS, Olivier. Classification, modeling and prediction of the mechanical behavior of starch-based films. **Journal of Food Engineering**, v. 119, n. 2, p. 188-195, 2013.

DÓREA, J. R. R. *et al.* Composição bromatológica e dinâmica de fermentação da silagem de jaca. *Semina: Ciências Agrárias*, 34(4), 1967-1976 (2013)..

DUCKOVA, K.; MANDAK, M. **Interaktion modifizierter staken mit sorbinsaure. Pharmazie**, 36(H9), 634–635. 1981 (1981).

DUTTA, H., PAUL, S. K., KALITA, D., e MAHANTA, C. L. Effect of acid concentration and treatment time on acid–alcohol modified jackfruit seed starch properties. **Food Chemistry**, 128(2), 284-291(2011).

ESPERT, A., VILAPLANA, F., KARLSSON S., Comparison of water absorption in natural cellulosic fibres from wood and one-year crops in polypropylene composites and its influence on their mechanical properties, *Compos Part A-Appl S*, 35 1267-1276. 4 Dhakal, H.N., Zhang, Z.Y., Richardson, M.O.W (2004)

FABRA, M. J.; SÁNCHEZ-GONZÁLEZ, L.; CHIRALT, A. Lysozyme release from isolate pea protein and starch based films and their antimicrobial properties. **LWT-Food Science and Technology**, 55(1), 22-26 (2014).

FAKHOURY, Farayde Matta *et al.* Edible films made from blends of manioc starch and gelatin–Influence of different types of plasticizer and different levels of macromolecules on their properties. *LWT-Food Science and Technology*, v. 49, n. 1, p. 149-154, 2012.

FENNEMA, O.R.; DAMODARAN, S.; PARKIN L. K. **Química de alimentos de Fennema**. 4. Edição . Porto Alegre Artmed. p.900.2010.

FIALHO, A. R., VIDIGALI, M. M. C. T. R., & GONÇALVESIV, M. P. J. Desenvolvimento e avaliação de filme antimicrobiano aromatizado para aplicação em massa de pastel. **Ciência Rural**, 41(3), 537-543, 2011.

FLORES, S., CONTE, A., CAMPOS, C., GERSCHENSON, L., e DEL NOBILE, M. Mass transport properties of tapioca-based active edible films. **Journal of Food Engineering**, 81(3), p.580-586 (2007).

FRANCHETTI, S. M. M., e MARCONATO, J. C. Polímeros biodegradáveis-uma solução parcial para diminuir a quantidade dos resíduos plásticos. **Química Nova**, 29(4), 811(2006).

FUGLSANG, C. C.; JOHANSEN, C.; CHRISTGAU, S.; ADLER-NISSEN, J. Antimicrobial enzymes: Applications and future potential in the food industry. *Trends in Food Science and Technology*, **Cambridge**, v. 6, p. 390-396, 1995.

GALDEANO, M. C. **Filmes e laminados biodegradáveis de amido de aveia com diferentes plastificantes, produzidos por casting e extrusão**. 2007, 170f. Tese (Doutorado em Ciência de Alimentos) – Universidade Estadual de Londrina. Londrina, 2007.

GARCIA, M. A. Desarrollo de recubrimientos de matriz amilósica para vegetales. 1999. Tese (Doutorado) – Departamento de Química, Facultad de Ciência Exactas, Universidad Nacional de La Plata, Argentina, 1999.

GEMILI, SEYHUN; YEMENICIOĞLU, AHMET; ALTINKAYA, Sacide Alsoy. Development of cellulose acetate based antimicrobial food packaging materials for controlled release of lysozyme. **Journal of Food Engineering**, v. 90, n. 4, p. 453-462, 2009.

GERÁRD, C. *et al.* Amylose determination in genetically modified starches. **Carbohydrate polymers**, v.44, n.1, p.19-27, 2001.

GHASEMLOU, M., *et al.* Physical, mechanical and barrier properties of corn starch films incorporated with plant essential oils. **Carbohydrate polymers**, 98(1), 1117-1126, 2013.

- GIANCONE, T. *et al.* Role of constituents on the network formation of hydrocolloid edible films. *Journal of food engineering*, 89(2), 195-203 (2008).
- GONTARD, N.; GUILBERT, S. Bio-packaging: technology and properties of edible and/or biodegradable material of agricultural origin. **Boletim da Sociedade Brasileira de Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v.30, n.1, p.3- 15, 1996.
- GONTARD, N.; GUILBERT, S.; CUQ, J.L. Edible wheat gluten films: influence of the main process variables on film properties using response surface methodology. **Journal of Food Science**, v.57, n.1, p.190-199, 1992
- GÜÇBILMEZ, Ç. M., YEMENICIOĞLU, A., e ARSLANOĞLU, A. Antimicrobial and antioxidant activity of edible zein films incorporated with lysozyme, albumin proteins and disodium EDTA. **Food Research International**, 40(1), 80-91. (2007).
- GUERRERO, P., STEFANI, P.M., RUSECKAITE, R.A., DE LA CABA, K., Functional properties of films based on soy protein isolate and gelatin processed by compression molding. **Journal of Food Engineering** 105 (1), 65–72 2011.
- GUILBERT, S. Technology and application of edibles films. In: M. Mathlouthi, Food Packaging and Preservation, **Elsevier Applied Science Publishers**, N.Y., p 371-394, 1986.
- HAN, J. **Antimicrobial food packaging**. *Ž . Ž. Food Technology*, 54 3 ,56-65, 2000.
- HENRIQUE, Celina Maria; CEREDA, Marney Pascoli; SARMENTO, Silene Bruder Silveira. Características físicas de filmes biodegradáveis produzidos a partir de amidos modificados de mandioca. **Food Science and Technology** (Campinas), v. 28, n. 1, p. 231-240, 2008.
- HUANG, J. **Function-Structure Relationships of Acetylated Pea Starches**. **The Netherlands**,. 152p. Ph.D. thesis. Wageningen University 2006.
- INSTITUTO ADOLFO LUTZ. **Normas Analíticas: métodos químicos e físico-químicos para análise de alimentos**. 2a ed., Sao Paulo, 2004.
- KECHICHIAN, V., DITCHFIELD, C., VEIGA-SANTOS, P., & TADINI, C. C. Natural antimicrobial ingredients incorporated in biodegradable films based on cassava starch. **LWT-Food Science and Technology**, 43(7), 1088-1094. (2010).

- KITTIPONGPATANA, O. S.; KITTIPONGPATANA, N. Preparation and physicochemical properties of modified jackfruit starches. **LWT-Food Science and Technology**, 44(8), 1766-1773. (2011).
- KROCHTA, J. M.; MULDER-JOHNSTON, C. Edible and biodegradable polymer films: challenges and opportunities. **Food Technology**. v.51, p. 61, 1997.
- KUORWEL, K. K., CRAN, M. J., SONNEVELD, K., MILTZ, J., & BIGGER, S. W. Migration of antimicrobial agents from starch-based films into a food simulant. **LWT-Food Science and Technology**, 50(2), 432-438. (2013).
- KURUP, T. R. R.; WAN, L. S.; CHAN, L. W. Interaction of preservatives with macromolecules: **Part II-cellulose derivatives**. *Pharmaceutica Acta Helvetica*, 70, 187–193, 1995.
- LEÓN, T. L. Efectos Hofmeister en Sistemas Coloidales. Universidad de Granada, Facultad de Ciencias, Departamento de Física Aplicada, Grupo de Coloides y Fluidos, Tesis Doctoral, 2006.
- LIAN, Zi-Xuan *et al.* Preparation and characterization of immobilized lysozyme and evaluation of its application in edible coatings. **Process Biochemistry**, v. 47, n. 2, p. 201-208, 2012.
- LIE, O., SYED, M., SOLBU, H., **Improved agar plate assays of bovine lysozyme and haemolytic complement activity**. *Acta Veterinaria Scandinavica* 27, 23–32. 1986.
- LIU, Z.; HAN, J.H. Film-forming characteristics of starch. **Journal of Food Science**, Chicago, v. 70, n. 1, p. 31-36, 2005.
- MACHADO, Taynara Rezende **Elaboração e avaliação de filmes biodegradáveis a base de amido de mandioca e bagaço de cevada**. 2013 56f. Trabalho de conclusão de curso (Química Licenciatura)- Universidade Estadual de Goiás, Anápolis, 2013.
- MADRUGA, Marta Suely *et al.* Chemical, morphological and functional properties of Brazilian jackfruit (*Artocarpus heterophyllus* L.) seeds starch. **Food chemistry**, v. 143, p. 440-445, 2014.

- MALI, S.; GROSSMANN, M. V. E. Effects of yam starch films on storability and quality of fresh strawberries (*Fragaria ananassa*). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, Washington, p.7055-7011, 2003.
- MALI, S.; GROSSMANN, M. V. E.; YAMASHITA, F. Filmes de amido: produção, propriedades e potencial de utilização. **Seminário: Ciências Agrárias**, v. 31, n. 1, p. 137-156, 2010.
- MALI, S. *et al.* Mechanical and thermal properties of yam starch films. **Food Hydrocolloids**, 19(1), 157-164, 2005.
- MARTÍNEZ, INMACULADA, *et al.* "Development of protein-based bioplastics with antimicrobial activity by thermo-mechanical processing." **Journal of Food Engineering** 117.2 247-254. (2013).
- MATTA JR, M. D. *et al.* Propriedades de barreira e solubilidade de filmes de amido de ervilha associado com goma xantana e glicerol. **Polímeros**, 21(1), 67-72. (2011).
- MECITOĞLU, Ç. *et al.* Incorporation of partially purified hen egg white lysozyme into zein films for antimicrobial food packaging. **Food Research International**, 39(1), 12-21. (2006).
- MOTA, R. D. P. *Elaboração e caracterização de filmes biodegradáveis através de blenda polimérica de amido de lírio do brejo (*Hedychium coronarium*) e de amido de fruto-do-lobo (*Solanum lycocarpum* st. Hill). – Anápolis - Goiás. / Rejane Dias Pereira Mota – Anápolis: Universidade Estadual de Goiás, Curso de Mestrado em Ciências Moleculares, 2009.*
- MOURA, W. de S. *Extração e caracterização do amido do *Hedychium coronarium* e elaboração de filmes biodegradáveis. 96 p. (Mestrado em Ciências Moleculares) - Universidade Estadual de Goiás, Anápolis, 2008.*
- MÜLLER, C. M. O. **Estudo dos processos de transferência de massa e propriedades mecânicas de biofilmes de amido de mandioca reforçados com fibras de celulose.** Tese (Doutorado) – Universidade Estadual de Londrina (UEL), Londrina, 2007.
- NAYAK, A. K., e PAL, D. Formulation optimization and evaluation of jackfruit seed starch–alginate mucoadhesive beads of metformin HCl. **International journal of biological macromolecules**, 59, 264-272. (2013).

NUNES, L.R.; RODOLFO JR., A. **Tecnologia do PVC**. 2ª ed. São Paulo: Pro Editores /Braskem. 448p, 2006.

OATES, C. G., e POWELL, A. D. Bioavailability of carbohydrate material stored in tropical fruit seeds. *Food Chemistry*, 56, 405 e 414. 1996

OLIVEIRA, L. M.; OLIVEIRA, P.A.P.L.V. Revisão: principais agentes antimicrobianos utilizados em embalagens plásticas. **Brazil Journal of Food Technology**, v. 7, n. 2, p.161-165, 2004.

ORDÓÑEZ, J. A. *et al.* **Tecnologia de Alimentos/Componentes dos Alimentos e Processos**, v. 1, Trad. Fátima Murad – Porto Alegre: ARTMED, - Cap. 4, p.51-54, 2005.

OZDEMIR, M. e FLOROS, J. D. Analysis and modeling of potassium sorbate diffusion through edible whey protein films. *J. Food Eng.*, 47, p.149-155 (2001).

PADGETT, T.; HAN, I.Y. e DAWSON, P.L. Incorporation of food-grade antimicrobial compounds into biodegradable packaging films. **Journal of Food Protection**, 61: 1.330-1.335, 1998.

PEPPAS, Nikolaos A.; SAHLIN, Jennifer J. A simple equation for the description of solute release. III. Coupling of diffusion and relaxation. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 57, n. 2, p. 169-172, (1989).

PIRES ACS, SOARES NFF, ANDRADE NJ, SILVA LHM, CAMILLOTO GP & BERNARDES PC Development and evaluation of active packaging for sliced mozzarella preservation. **Packaging Technology and Science**, 21:375-383. (2008)

PIRES, M. *et al.*. Efeito da Migração de Composto Antimicrobiano nas Propriedades Finais de Selagem de Filme Poliolefínico. **Polímeros**, 24(2), 237-242. (2014)

PRATES, M. F. O., & ASCHERI, D. P. R. Secagem De Soluções Filmogênicas De Amido De Fruta-De-Lobo (*Solanum Lycocarpum* St. Hil.) E Propriedades Físicas dos Filmes em Função do Plastificante e da Temperatura. **Boletim do Centro de Pesquisa de Processamento de Alimentos**, 28(2). 2010

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

RENGSUTTHI, K, E CHAROENREIN. S. "Physico-chemical properties of jackfruit seed starch (<i>Artocarpus heterophyllus</i>) and its application as a thickener and stabilizer in chilli sauce." *LWT-Food Science and Technology* 44.5 1309-1313. (2011)

RITGER, Philip L.; PEPPAS, Nikolaos A. A simple equation for description of solute release II. Fickian and anomalous release from swellable devices. **Journal of controlled release**, v. 5, n. 1, p. 37-42, (1987b).

RITGER, Philip L.; PEPPAS, Nikolaos A. A simple equation for description of solute release I. Fickian and non-Fickian release from non-swellable devices in the form of slabs, spheres, cylinders or discs. **Journal of controlled release**, v. 5, n. 1, p. 23-36, (1987a)

ROCHA, G. O. **Obtenção e Caracterização de Filmes Biodegradáveis a partir de Misturas de Amido de Mandioca e Extrato Protéico de Soja**. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) -Departamento de Tecnologia de Alimentos, 2009.

ROCHA, O. G. e FARIAS, M.G.. Filmes Compostos Biodegradáveis a Base de Amido de Mandioca e Proteína de Soja. **Polímeros**, v. 24, n. 5, p. 587-595, 2014.

RODRÍGUEZ, M.; OSÉS, J.; ZIANI, K.; MATÉ, J. I. Combined effect of plasticizers and surfactants on the physical properties of starch based edible films. **Food Research International**, v.39, p. 840–846, 2006.

SANTOS, L. S. *et al.* O. Efeito Dos Métodos De Extração na Composição, Rendimento e Propriedades da Pasta do Amido Obtido da Semente de Jaca. **Revista Brasileira de Produtos Agroindustriais**, Campina Grande, v.15, n.3, p.255-261, 2013.

SARANTÓPOULOS, C. I. G. L.; OLIVEIRA, L. M.; PADULA, M.; COLTRO, L., ALVES, R. M. V.; GARCIA, E. E. C. Embalagens Plásticas Flexíveis. Principais Polímeros e Avaliação de Propriedades. 267 p., 2002.

SCHOCH, TJ; MAYWALD, Ec. Preparation and properties of various legume starches. **Cereal Chemistry**, v.45, n.6, p. 564-573, 1968.

SHIMAZU, A. A., MALI, S., e GROSSMANN, M. V. E. Efeitos plastificante e antiplastificante do glicerol e do sorbitol em filmes biodegradáveis de amido de mandioca. *Semina: Ciências Agrárias*, 28(1), 79-88. (2007).

SILVA, M. L. V. J. **Tecnologia Para Produção De Superfícies Hidrofóbicas Em Filmes De Amido De Milho Termoplástico Por Plasma**. Tese de Doutorado. Universidade Federal do Rio de Janeiro, 2010.

SLAVUTSKY, A.M., e BERTUZZI M. A. Water barrier properties of starch films reinforced with cellulosenanocrystals obtained from sugarcane bagasse. **Carbohydrate Polymers**, 110, 53–61. (2014)

SNYDER, C.H. The extraordinary chemistry of ordinary things. 2^a ed. Nova Iorque: John Wiley e Sons., p. 558-562, 1995.

SOARES, N.F.F. *et al.* Novos desenvolvimentos e aplicações em embalagens de alimentos. *Revista Ceres*, v.56, p.370- 378, 2009.

SOBRAL, Paulo José *et al.* Propriedades de filmes comestíveis produzidos com diferentes concentrações de plastificantes e de proteínas do músculo de tilápia-do-nilo. *Pesq. agropec. bras.*, Brasília, v. 39, n. 3, p. 255-262, 2004.

SOUZA, A. C. *et al.* Cassava starch composite films incorporated with cinnamon essential oil: Antimicrobial activity, microstructure, mechanical and barrier properties. **LWT-Food Science and Technology**, v. 54, n. 2, p. 346-352, 2013.

SOUZA, Sílvia MA; PAULO, J. do A.; MENEGALLI, Florencia C. EXTRAÇÃO DE PROTEÍNAS MIOFIBRILARES DE CARNE BOVINA PARA ELABORAÇÃO DE FILMES COMESTÍVEIS1. *Ciênc. Technol. Aliment*, v. 24, n. 4, p. 619-626, 2004.

SWAIN, S. N. *et al.* Biodegradable Soy-Based Plastics: Opportunities and Challenges. **Journal of Polymers and the Environment**, v. 12, n. 1, 2004.

TONGDANG, T. Some properties of starch extracted from three Thai aromatic fruit seeds. *Starch*. [Starke] 60, 199 e 207. 2008.

TURBIANI, F. R. B.; KIECKBUSCH, T. G. And Gimenes, Marcelino L..Liberação de benzoato de cálcio de filmes de alginato de sódio reticulados com íons cálcio. **Polímeros[online]**. vol.21, n.3, pp. 175-181, 2011.

VICENTINI, N. M. **Elaboração e caracterização de filmes comestíveis a base de fécula de mandioca para uso em pós colheita**. 2003, Tese (doutorado em agronomia). Faculdade de Ciências agronomicas da UNESP, Sao Paulo, 2003.

WENG, Y.-M., e HOTCHKISS, J. H. Anhydrides as antimycotic agents added to polyethylene films for food packaging. **Packaging Technology and Science**, 6(3), 123e128. (1993).

WONG, C. W., MUHAMMAD, S. K. S., DZULKIFLY, M. H., SAARI, N., e GHAZALI, H. M. Enzymatic production of linear long-chain dextrin from sago (Metroxylon Sagu) starch. *Food Chemistry*, 100, 774e780, 2007.

WU, Min *et al.* Effect of flaxseed meal on the dynamic mechanical properties of starch-based films. **Journal of Food Engineering**, v. 118, n. 4, p. 365-370, 2013.

WURZBURG, O.B. **Modified starches: properties and uses**. Boca Raton: CRC, 1986.

YONEMOTO, P.G. Efeito do tamanho dos grânulos nas características estruturais e físico-químicas do amido de trigo. São José do Rio Preto (SP), 101p. Tese (Mestrado em Engenharia e Ciência de Alimentos). Instituto de Biociências, Letras e Ciências Exatas da Universidade Estadual Paulista “Julio de Mesquita Filho”, 2006.

ZHOU, Z.; ROBARDS, K.; HELLIWELL, S.; BLANCHARD, C. Composition and functional properties of rice. *International Journal of Food Science and Technology*, v. 37, p. 849-868, 2002.