



**UNIVERSIDADE ESTADUAL DO SUDOESTE DA BAHIA – UESB**

**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM  
CIÊNCIA E ENGENHARIA DE ALIMENTOS**

Área de Concentração: Ciência de Alimentos

**DESENVOLVIMENTO DE FILMES ATIVOS ANTIOXIDANTES DE  
PVA INCORPORADO COM EXTRATO DO FARELO DA AMÊNDOA  
DE CACAU**

**Autor: Luíza Carla Lavinsky Pereira**

**Orientadora: Prof<sup>ª</sup>. Dr<sup>ª</sup>. Cristiane Patrícia de Oliveira**

**ITAPETINGA  
BAHIA - BRASIL  
Fevereiro de 2017**

**LUÍZA CARLA LAVINSCKY PEREIRA**

**DESENVOLVIMENTO DE FILMES ATIVOS ANTIOXIDANTES DE  
PVA INCORPORADO COM EXTRATO DO FARELO DA AMÊNDOA  
DE CACAU**

Dissertação apresentada como parte das exigências para obtenção do título de Mestre em Engenharia e Ciência de Alimentos, no Programa de Pós-Graduação em Engenharia e Ciência de Alimentos da Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia.

**Orientadora: Dsc. Cristiane Patrícia de Oliveira**

**Co-orientador: Dsc. Marcondes Viana da Silva**

**ITAPETINGA  
BAHIA - BRASIL  
Fevereiro de 2017**



**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 DE FILMES ATIVOS ANTIOXIDANTES DE PVA INCORPORADO COM EXTRATO DO FARELO DA AMÊNDOA DE CACAU".

**Autor (a):** LUIZA CARLA LAVINSCKY PEREIRA

**Orientador (a):** Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Cristiane Patrícia de Oliveira

**Coorientador (a):** Prof.<sup>o</sup> Dr. Marcondes Viana da Silva

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

Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Cristiane Patrícia de Oliveira (UESB)

Prof.<sup>o</sup> Dr. Leonardo Milani Avelar Rodrigues (UFLA)

Prof.<sup>o</sup> Dr. Janclei Pereira Coutinho (UESC)

**Itapetinga-BA, 22 de fevereiro de 2017.**

634.7      Pereira, Luíza Carla Lavinsky  
P492d      Desenvolvimento de filmes ativos antioxidantes de PVA incorporado com extrato do farelo da amêndoa de cacau. / Luíza Carla Lavinsky Pereira. - Itapetinga: UESB, 2017.  
61p.

Dissertação apresentada como parte das exigências para obtenção do título de Mestre em Engenharia e Ciência de Alimentos, no Programa de Pós-Graduação em Engenharia e Ciência de Alimentos da Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia. Sob a orientação da Prof<sup>a</sup>. D.Sc. Cristiane Patrícia Oliveira e coorientação do Prof. D.Sc. Marcondes Viana da Silva.

1. Polivinil álcool (PVA). 2. *Theobroma cacao L.* - Farelo da amêndoa. 3. Resíduos da agroindústria. I. Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia. Programa de Pós-Graduação em Engenharia e Ciência de Alimentos. II. Oliveira, Cristiane Patrícia. III. Silva, Marcondes Viana da. IV. Título.

CDD(21): **634.7**

Catálogo na fonte:

Adalice Gustavo da Silva – CRB/5-535

Bibliotecária – UESB – Campus de Itapetinga-BA

Índice Sistemático para Desdobramento por Assunto:

1. Polivinil álcool (PVA).
2. *Theobroma cacao L.* - Farelo da amêndoa
3. Resíduos da agroindústria
4. Extratos antioxidantes

"Para realizar grandes conquistas, devemos não apenas agir, mas também sonhar;  
não apenas planejar, mas também acreditar."  
( Anatole France )

## DEDICAÇÃO

Dedico Á Deus  
À minha mãe Ana Lúcia Favila Lavinsky,  
à minha irmã Carmen Lúcia,  
a meu namorado Cauê Marques  
a meu filho Cauã Lavinsky Marques  
incríveis incentivadores a realização deste sonho  
e provas vivas de amor incondicional.

## AGRADECIMENTOS

Agradeço, primeiramente, a Deus, meu companheiro de todas as horas, por sempre atender aos meus pedidos e me amparar nos momentos de dificuldade.

À minha mãe, Ana Lúcia, que esteve sempre ao meu lado, ofertando apoio, confiança e incentivo ao longo de toda a vida, pela simplicidade, exemplo, amizade, e carinho, fundamentais na construção do meu caráter. Além da ajuda incansável nos cuidados com meu filho. Amo-te!

Ao meu amado filho Cauã, que veio para alegrar a minha vida. Hoje a minha vitória também é dele.

À minha irmã Carmen Lúcia, pelo apoio, amizade e incentivo nos momentos difíceis.

A meu namorado Cauê, sempre me dando conselhos, força e incentivo, pela paciência e companheirismo, pelas sinceras demonstrações de carinho, compreensão, auxílio e amor.

À Dsc. Cristiane Patrícia, pela valiosa orientação, atenção, carinho e imensa compreensão que sempre me dedicou no desenvolvimento deste trabalho. Quero expressar meu grande reconhecimento e admiração pela sua competência profissional e minha gratidão pelo conhecimento transmitido.

À Dsc. Simone Gualberto, pela ajuda no desenvolvimento das atividades, participando de forma fundamental e ativa para conclusão deste trabalho.

Aos amigos de laboratórios, que me ajudaram e tornaram os dias de trabalho menos cansativos.

A Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia (UESB) pela oportunidade de realização do curso.

Aos professores do Programa de Pós-graduação em Ciência de Alimentos pelo conhecimento transmitido, que com certeza irei levar ao longo de toda a minha vida profissional.

Aos professores Daniela, Luciano Brito, Leonardo Pontes pela colaboração no desenvolvimento das análises.

Aos Professores Marcondes Viana da Silva pelas sugestões durante o exame de qualificação.

A Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pela bolsa concedida.

Aos professores da banca Leonardo Milane Avelar Rodrigues e Janclei Pereira Coutinho por terem aceitado o convite, espero aprender e melhorar com as suas críticas.

À Neinha e família, queridos amigos pelos momentos de alegria e descontração compartilhados e pelo apoio em toda nossa jornada.

A tia D'ajuda pela ajuda no fornecimento do farelo da amêndoa do cacau.

Aos meus familiares por me ajudarem e me apoiarem.

A todos os amigos que de alguma forma contribuíram para a realização desta caminhada.

Enfim, a todos que contribuíram, de forma direta ou indireta, para a realização deste sonho, meus sinceros agradecimentos.

**MUITO OBRIGADA!**

## SUMÁRIO

v

LISTA DE FIGURAS.....	vii
LISTA DE TABELAS.....	viii
LISTA DE QUADROS.....	ix
RESUMO.....	x
ABSTRACT.....	xi
I – REFERENCIAL TEÓRICO.....	1
1.1 INTRODUÇÃO.....	1
1.2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	3
1.2.1 Embalagens ativas.....	3
1.2.2 Embalagens antioxidantes.....	4
1.2.3 Resíduos da indústria de cacau.....	10
1.2.4 Polivinil Álcool.....	12
1.3.REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	15
II – OBJETIVOS GERAIS.....	20
III – CAPÍTULO I – AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIOXIDANTE DO EXTRATO HIDROALCOÓLICO DE FARELO DA AMÊNDOA DO CACAU.....	21
Resumo.....	21
Introdução.....	21
Materiais e Métodos.....	22
Resultados e Discussão.....	27
Conclusão.....	30
Referências Bibliográficas.....	30
IV – CAPÍTULO II - DESENVOLVIMENTO DE FILME ATIVO ANTIOXIDANTE A BASE DE EXTRATO DO FARELO DA AMENDO A DO CACAU.....	32
Resumo.....	32
Introdução.....	32
Materiais e Métodos.....	33
Resultados e Discussão.....	37
Conclusão.....	46
Referências Bibliográficas.....	46
V - CONCLUSÃO GERAL.....	49

**LISTA DE FIGURAS**

III – CAPÍTULO I - AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIOXIDANTE DO EXTRATO HIDROALCOÓLICO DE FARELO DA AMÊNDOA DO CACAU .....	21
FIGURA 1 – Curvas de calibração .....	26
IV CAPÍTULO II – DESENVOLVIMENTO DE FILME ATIVO ANTIOXIDANTE A BASE DE EXTRATO DO FARELO DA AMENDO A DO CACAU.....	32
FIGURA 1 – Salame italiano fatiado e embalado .....	37
FIGURA 2 – Filmes biodegradáveis .....	38
FIGURA 3 – Curva da permeabilidade ao vapor d'água .....	43
FIGURA 4 – Curva da análise de oxidação .....	44

**LISTA DE TABELAS**

III – CAPÍTULO I - AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIOXIDANTE DO EXTRATO HIDROALCOÓLICO DE FARELO DA AMÊNDOA DO CACAU .....	21
TABELA 1 – Caracterização química do farelo da amêndoa de cacau .....	27
TABELA 2 – EC <sub>50</sub> das frações e extratos .....	28
TABELA 3 – Atividade antioxidante do extrato bruto .....	29
IV CAPÍTULO II – DESENVOLVIMENTO DE FILME ATIVO ANTIOXIDANTE A BASE DE EXTRATO DO FARELO DA AMENDO A DO CACAU.....	32
TABELA 1 – Atividade antioxidante do filme e extrato bruto .....	38
TABELA 2 – Caracterização dos filmes biodegradáveis .....	39
TABELA 3 – Teste de média da permeabilidade ao vapor d’água .....	43
TABELA 4 – Teste de média da análise de oxidação .....	44

## QUADROS DO APÊNDICE

ix

QUADRO 1: COMPOSTOS UTILIZADOS PARA A CONFECÇÃO DAS EMBALAGENS ATIVAS ANTIOXIDANTES.....	6
---	---

## RESUMO

PEREIRA, LUÍZA CARLA LAVINSCKY. Desenvolvimento de filmes ativos antioxidantes de PVA incorporado com o extrato do farelo da amêndoa de cacau. Itapetinga, BA: UESB, 2017. 61 p. Dissertação. (Mestrado em Engenharia e Ciência de Alimentos, Área de Concentração em Ciência de Alimentos).\*

Embalagens ativas são aquelas que consistem na incorporação de certos aditivos aos sistemas de embalagem. Dentre estas estão às embalagens ativas antioxidantes que objetivam prevenir as reações de oxidação dos alimentos. Considerando isto, o objetivo do trabalho foi desenvolver embalagem ativa antioxidante utilizando como constituintes composto naturais extraídos do farelo da amêndoa de cacau e avaliar suas características de qualidade e efetividade em alimento embalado. O farelo da amêndoa de cacau foi caracterizado quanto a sua composição (umidade, cinzas, proteína, lipídios, pH e acidez) e utilizado para obtenção de extratos por extração sólido-líquido com vários solventes diferentes, sendo obtidos extrato bruto, extrato bruto liofilizado; frações hexano, diclorometano, acetato de etila e hidroalcoólica. Os extratos obtidos foram caracterizados quanto à atividade antioxidante pelo método de DPPH (2,2-difenil-1-picrilhidrazil) que demonstrou que os mesmos apresentavam atividade antioxidante podendo ser utilizados para a confecção da embalagem ativa. O extrato bruto foi escolhido para a confecção de filmes ativos antioxidantes com a base polimérica de polivinil álcool usando o método casting. Após confecção os filmes foram avaliados quanto às características visuais, espessura, gramatura e transparência, propriedades mecânicas e permeabilidade. Foi realizado também avaliação da atividade antioxidante dos filmes com a aplicação dos mesmos, em salaminho tipo italiano. Os filmes ativos antioxidantes a base de PVA/extrato bruto do farelo de cacau apresentaram características visuais desejáveis; a espessura, gramatura, permeabilidade e propriedades óticas não foram influenciadas pela adição do extrato, enquanto que as propriedades mecânicas e as características de cor foram influenciadas. O teste nos salaminhos mostrou que os filmes com extrato tiveram ação antioxidante nos primeiros dias de análise, comparado a um filme controle. O desenvolvimento do filme ativo antioxidante de PVA incorporado com extrato do farelo da amêndoa do cacau foi satisfatório e mostrou a possibilidade de uma melhor utilização de resíduos da agroindústria cacauaieira.

**PALAVRAS CHAVE:** polivinil álcool (PVA), *Theobroma cacao L.*, resíduos da agroindústria, extratos antioxidantes.

---

\*Orientadora: Cristiane Patrícia de Oliveira, Dsc. UESB e Co-orientador: Marcondes Viana da Silva, Dsc. UESB

## ABSTRACT

PEREIRA, LUÍZA CARLA LAVINSCKY. Development of active antioxidant films PVA incorporated with cocoa almond bran extract. Itapetinga, BA: UESB, 2017. 85 p. Dissertation. (MSc in Food Science and Engineering, Food Science Concentration Area).\*

Active packaging is those that incorporate certain additives into packaging systems. Among these are the active antioxidant packages that aim to prevent oxidation reactions of foods. Considering this, the objective of the work was to develop active antioxidant packaging using as natural constituent constituents extracted from the almond meal of cacao and to evaluate its characteristics of quality and effectiveness in packed food. Cocoa-nut meal was characterized in terms of its composition (moisture, ash, protein, lipids, pH and acidity) and used to obtain extracts by solid-liquid extraction with several different solvents, obtaining crude extract, freeze-dried raw extract; Hexane, dichloromethane, ethyl acetate and hydroalcoholic fractions. The extracts obtained were characterized as antioxidant activity by the DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl) method, which showed that they had antioxidant activity and could be used to make the active packaging. The crude extract was chosen for the preparation of active antioxidant films with the polymer base of polyvinyl alcohol using the casting method. After preparation, the films were evaluated for visual characteristics, thickness, weight and transparency, mechanical properties and permeability. It was also carried out an evaluation of the antioxidant activity of the films with the application of the same, in an Italian type salami. The active antioxidant films based on PVA / crude extract of cocoa meal had desirable visual characteristics; the thickness, weight, permeability and optical properties were not influenced by the addition of the extract, while the mechanical properties and the color characteristics were influenced. The test in the salaminhos showed that the films with extract had antioxidant action in the first days of analysis, compared to a control film. The development of the active antioxidant PVA film incorporated with cocoa almond extract was satisfactory and showed the possibility of a better use of residues from the cocoa agroindustry.

**KEYWORDS:** polyvinyl alcohol (PVA), *Theobroma cacao L.*, agroindustrial residues, antioxidant extracts.

---

\*Orientadora: Cristiane Patrícia de Oliveira, Dsc. UESB e Co-orientador: Marcondes Viana da Silva, Dsc. UESB

## **I - REFERENCIAL TEÓRICO**

### **1.1 INTRODUÇÃO**

O surgimento de novas tecnologias para materiais de embalagem de contato com alimentos visa proporcionar à indústria e ao mercado consumidor produtos de alta qualidade e maior vida de prateleira, com grande alcance de distribuição. Um dos novos desenvolvimentos na área de embalagens têm como objetivo a interação da embalagem com o produto alimentício para modificar parâmetros desejáveis que proporcionem a melhoria da qualidade do produto embalado. Este novo conceito pode ainda ser aliado ao desenvolvimento de materiais biodegradáveis e ao uso de aditivos naturais sendo desejável do ponto de vista ambiental e de desejo do consumidor.

Dentre as tecnologias modernas para a obtenção de embalagens para alimentos encontram-se as embalagens ativas que consistem na incorporação de certos aditivos aos sistemas de embalagem, com o propósito de estender o tempo de vida útil do alimento embalado ou melhorar suas propriedades sensoriais. São exemplos dessas embalagens as absorvedoras de oxigênio, absorvedoras de etileno, absorvedoras de umidade, liberadoras de antioxidantes, liberadoras e/ou absorvedoras de aromas, aquelas contendo enzimas imobilizadas e as embalagens antimicrobianas.

Embalagem ativa antioxidante consiste na incorporação de substâncias antioxidantes em filmes plásticos, papéis ou sachês, de onde serão liberadas para proteger os alimentos da degradação oxidativa, inibindo as reações de oxidação ao reagirem com radicais livres e peróxidos e, conseqüentemente, estendendo a sua vida de prateleira. Deste modo, as embalagens ativas antioxidantes são de grande relevância, tendo em vista que as reações de oxidação dos alimentos destacam-se quando se trata da alteração dos alimentos.

Acredita-se que as embalagens ativas antioxidantes a base de compostos naturais são instrumentos promissores para aumentar a vida de prateleira de alimentos que contém lipídios. Estudos mostram que compostos naturais como extratos de alecrim, orégano, chá, maqui, folha de oliveira, bagaço de uva, entre outros, têm sido utilizados como compostos ativos antioxidantes e demonstrado eficiência e aplicabilidade em embalagens antioxidantes, resultando na diminuição dos processos oxidativos. O uso das propriedades antioxidantes de resíduos agroindustriais mostra-se como uma alternativa tecnológica viável para o desenvolvimento das embalagens ativas.

O desenvolvimento de embalagens ativas antioxidantes a partir de bases poliméricas degradáveis também se mostra como uma opção para oferecer ao mercado materiais ambientalmente adequados. A ideia de trabalhar com uma fonte biodegradável e com antioxidantes naturais, pode oferecer ao mercado e ao consumidor uma embalagem que, além de exercer suas

funções tecnológicas, também atenda às demandas atuais de proteção ao meio ambiente e segurança ao consumidor.

Desta forma objetiva-se com o presente trabalho utilizar antioxidantes naturais extraídos de resíduos da agroindústria cacaueteira para desenvolver um filme ativo antioxidante a ser utilizado na preparação de embalagens para a conservação da qualidade de alimentos susceptíveis a oxidação e avaliar as embalagens ativas quanto ao seu potencial antioxidante.

## 1. 2 REVISÃO DE LITERATURA

### 1.2.1 Embalagens Ativas

Na pesquisa de embalagens de alimentos, inovações vigentes integram os sistemas de embalagem ativas que utilizam compostos ativos tais como antioxidantes, agentes antimicrobianos, vitaminas, aromas e corantes, objetivando a segurança alimentar e a extensão da vida de prateleira do gênero alimentício (RAMOS et al., 2014; LICCIARDELLO et al., 2015).

A embalagem ativa é uma tecnologia projetada para incorporar componentes na embalagem sendo que estes componentes liberam ou absorvem substâncias para os alimentos embalados ou para o ambiente circundante, estendendo assim a vida de prateleira, mantendo ou melhorando o estado dos alimentos (GOMEZ-ESTACA et al., 2014). Segundo o Regulamento nº 1935/2004 do Parlamento Europeu e do Conselho as embalagens ativas são concebidas para incorporar componentes ativos destinados a ser libertados para os alimentos ou a absorver substâncias dos alimentos. Estas duas definições mostram que as embalagens ativas proporcionarão a interação entre o alimento e o aditivo e, além disto, proporcionarão uma maneira diferenciada de dar proteção ao alimento.

A incorporação do aditivo no alimento pelo uso das embalagens ativas oferece algumas vantagens em comparação com a adição direta das substâncias (BOLUMAR, ANDERSEN e ORLIEN, 2011). A saber:

- a utilização de uma menor quantidade de substâncias ativas;
- a migração a partir da película para a matriz alimentar principalmente na superfície do alimento que é onde existe uma maior degradação;
- a eliminação dos passos adicionais num processo de produção, destinado a introduzir o aditivo ao nível do processamento industrial, tais como mistura, por imersão, ou a pulverização.
- adição indireta do aditivo, quando adicionados diretamente ao alimento há uma limitação uma vez que os compostos ativos são consumidos na reação sendo que assim a proteção pode cessar e o alimento degradar-se mais rapidamente. Acrescenta-se ainda, as vantagens citadas acima, o fato de que durante o processo de comercialização as embalagens ativas apresentam um papel ativo na preservação e qualidade dos alimentos fazendo algo mais do que simplesmente fornecer uma barreira a fatores prejudiciais externos, como o sistema tradicional de embalagem desempenha (GOMEZ-ESTACA et al., 2014). Desta forma influenciam sobre a prorrogação da vida útil do alimento, na retenção da qualidade do produto e segurança da saúde humana.

Outro assunto que também chama atenção ao se tratar das embalagens ativas é o fato de que a busca por polímeros ambientalmente benignos e compostos ativos naturais na fabricação dessas embalagens está aumentando consideravelmente visto que, podem melhorar a segurança dos consumidores e concomitantemente, amenizar os impactos negativos das embalagens derivadas de polímeros sobre o meio ambiente (WORANUCH, YOKSAN e AKASHI, 2015). Nos trabalhos de Dantas et al. (2015), Crizel et al. (2016), Demitri et al. (2016), López de Dicastillo et al. (2016), Santos et al. (2016) foram utilizadas combinações diferenciadas de bases poliméricas e compostos naturais para desenvolver embalagens ativas ambientalmente melhores como, por exemplo, matriz polimérica de amido de mandioca incorporada com polpas de frutas tropicais; acetato de celulose com óleos essenciais; metilcelulose com extrato de murta; gelatina com resíduos do processamento de suco de mirtilo; quitosana e óleos essenciais de canela. Todos estes trabalhos mostram que a utilização de produtos de origem natural para o desenvolvimento de uma embalagem biodegradável é de grande interesse para a indústria de alimentos e para a sociedade, visto que se trata de uma embalagem que traz benefícios para o alimento e para o meio-ambiente sendo considerada uma alternativa sustentável, particularmente interessante para aplicações de curto prazo, tais como embalagens de alimentos, e o crescente interesse em substituir aditivos químicos por substâncias naturais devido à exigência dos consumidores por produtos mais seguros.

Em geral os trabalhos relacionados ao desenvolvimento das embalagens ativas envolvem testes com polímeros diferenciados; o uso de novos aditivos, a incorporação de nanocompostos; amplitude de microrganismos a ser afetados pela embalagem (no caso das embalagens antimicrobianas); características de qualidade e efetividade das embalagens propostas (MOURA et al., 2014; BRANDELERO, ALMEIDA E ALFARO, 2015; MORELLI et al., 2015; WRONA, BENTAYEB E NERÍN, 2015; JANJARASSKUL et al., 2016; SALARBASHI et al., 2016; SANTOS et al., 2016; SUPPAKUL et al., 2016; SHEMESH et al., 2016; OGIWARA et al., 2016). Percebe-se assim que a tecnologia de embalagens ativas está em amplo desenvolvimento e apresenta grandes demandas a serem estudadas.

### **1.2.2 Embalagens antioxidantes**

Um tipo de embalagem ativa é a “embalagem ativa antioxidante”, tecnologia inovadora para a preservação de alimentos onde há uma interação entre os materiais da embalagem e o produto alimentar promovendo o contato com o agente antioxidante, impedindo as reações de oxidação (LÓPEZ DE DICASTILLO et al., 2016).

Uma vantagem da utilização de embalagens antioxidantes é que elas conferem a libertação de compostos ativos antioxidantes para o alimento a taxas controladas, de modo que uma concentração predeterminada do composto ativo é mantida no alimento durante o armazenamento e distribuição, quando comparada com a adição direta de antioxidantes nos alimentos, compensando a contínua utilização de antioxidantes durante a armazenagem. Além disso, o agente antioxidante é liberado para a superfície dos alimentos que é mais submetida à oxidação (LICCIARDELLO et al., 2015).

Para a produção de sistemas de embalagem antioxidantes existem basicamente duas metodologias. Dispositivos independentes, como um saquinho, uma almofada ou uma etiqueta que contém o agente separado do produto alimentar que são adicionados a uma embalagem convencional e materiais de embalagens antioxidantes, que são utilizados para a fabricação da embalagem, onde o agente ativo é incorporado na embalagem exercendo a sua ação através da absorção de compostos indesejáveis ou por libertação de compostos antioxidantes para o produto (GOMEZ-ESTACA et al., 2014).

A elaboração da embalagem ativa é estabelecida em várias etapas, iniciando com a avaliação antioxidante *in vitro* do composto aplicado, até o destino final da embalagem, abrangendo os estudos de prazo de validade do alimento embalado (LICCIARDELLO et al., 2015).

#### a) Avaliação do antioxidante *in vitro*

A realização de uma seleção adequada do composto antioxidante a ser incorporada no material de embalagem é importante. Com a finalidade de se obter uma distribuição homogênea, o composto antioxidante e o material de embalagem devem ser compatíveis favorecendo assim a sua libertação. O tipo de antioxidante deve ser selecionado como uma função do tipo de alimento, pois, uma vez libertado, as características de solubilidade do antioxidante pode determinar a sua eficácia. Antioxidantes apolares parecem ser mais adequados para alimentos com um elevado teor de lipídios (GOMEZ-ESTACA et al., 2014).

Uma variedade de fontes naturais ou produtos químicos sintéticos estão acessíveis como substâncias com potencial antioxidante. Na literatura podemos encontrar vários exemplos de compostos que foram utilizados para a confecção das embalagens ativas antioxidantes (Quadro1).

Em geral as embalagens podem ser produzidas pelos métodos de extrusão e casting. O processo mais utilizado para desenvolver filmes derivados do petróleo é a extrusão e em escala laboratorial utiliza-se o método de casting. Estes métodos podem influenciar na estabilidade do antioxidante devendo também ser considerados para a escolha do composto ativo.

Quadro 1 - Compostos utilizados para a confecção das embalagens ativas antioxidantes

Antioxidante	Método para avaliação da atividade antioxidante do extrato	Método para avaliação da atividade antioxidante do filme	Produto para teste da embalagem	Método para avaliação no produto	Referência
Ácido ascórbico, ácido ferúlico, quercetina, e extrato de chá verde		DPPH	Sardinhas salgadas	Índice de peróxido e de ácido tiobarbitúrico (TBARS)	López de Dicastillo et al. (2012)
Extrato de alecrim			Carnes peito e coxa de frango	TBARS	Bolumar Andersen e Orlien (2011)
Extrato de orégano e alecrim	Fenóis totais e redutores totais de energia (FRAP)		Sardinha	FRAP, fenóis totais, TBARS, índice de peróxido, ácidos graxos livres, azoto básico volátil total	Gómez – Estaca et al. (2007)
Cascas de cevada			Salmão	Índice de peróxido, dienos conjugados, hidroperóxidos triénicos conjugados, ácidos graxos livres, TBARS	Abreu et al. (2010)
Extrato de rábano	DPPH, cromatografia líquida de alto desempenho		Carne de porco e peixe	Índice de peróxido, TBARS	Jung et al. (2009)
Ácido ferúlico		Poder redutor, DPPH	Chips de batata	Índice de peróxidos	Woranuch Yoksan e Akashi (2015)
Extrato de folha de oliveira e extrato de bagaço de uva	Fenólicos totais, ABTS, DPPH	ABTS, DPPH			Licciardello et al. (2015)
Extrato de maqui	DPPH, ABTS, FRAP e teor de polifenóis				López de Dicastillo et al. (2016)
Timol	DPPH				Ramos et al. (2014)
Tocoferóis	DPPH		Salmão	TBARS	Pereira et al. (2013)
Extratos de alecrim e orégano			Carne de cordeiro	TBARS	Camo, Beltrán e Rocalés (2008)
Polpas de frutas tropicais			Azeite de dendê	Índice de peróxido	Dantas et al. (2015)
Extrato de erva-mate			Azeite de dendê	Índice de peróxido e do teor de polifenóis totais	Machado et al. (2012)
Urucum			Azeite de dendê	Índice de peróxido e teor de fenóis totais	Santana et al. (2013)
Extratos de chá	Teor de fenólicos totais	ABTS e DPPH	Carne de porco	Índice de peróxido e TBARS	Yang et al. (2016)

Fonte: Elaborado pela autora, 2016

No processo de extrusão o biopolímero termoplástico é introduzido em um cilindro aquecido e o material amolecido é forçado a entrar através de uma abertura em uma matriz, por um parafuso rotativo, para a obtenção de formas contínuas. Logo após que sai do molde, a peça extrusada deve ser resfriada abaixo da temperatura de transição vítrea do material. Todavia, esta técnica pode resultar em problemas de degradação da matriz quando utilizado para fabricar filmes biodegradáveis, devido à natureza hidrofílica e que dificulta o seu processamento via extrusão, ou seja, é um material muito mais susceptível a alterações de umidade e temperatura, e com maior rigidez estrutural que um polímero sintético convencional. Já no caso dos filmes antioxidantes a alta temperatura da extrusão faz com que os agentes ativos se decomponham e quando, por exemplo, os óleos essenciais são utilizados como antioxidantes nos sistemas de revestimento esses produtos da decomposição dos agentes ativos podem afetar as propriedades organolépticas dos alimentos embalados (CARRIZO et al., 2015).

O método mais utilizado em escala laboratorial é a técnica chamada de casting que consiste na solubilização do polímero em um solvente, com formação de uma solução filmogênica que, em seguida, é aplicada sobre um suporte e é seca para evaporação do solvente. Essa técnica mostra bons resultados para a produção em escala laboratorial, no entanto, em larga escala, apresenta desvantagens, como tempo de processo e custo elevados. (MALI et al, 2010). O uso desta técnica possibilita controlar melhor as temperaturas para obtenção e secagem do filme diminuindo assim perdas ou alterações dos compostos antioxidantes.

A escolha e a incorporação do composto ativo de uma maneira eficaz e viável se tornam uma das principais dificuldades quanto à produção de uma embalagem antioxidante. O composto ativo deve agir como um antioxidante sem alterar a linha de embalagem ou as características do produto embalado e também não deve ser alterado durante o processo de confecção da embalagem.

#### b) Métodos para avaliação da atividade antioxidante do extrato

Vários métodos podem ser utilizados para avaliar a atividade antioxidante dos compostos puros ou extratos de plantas. Estes métodos podem ser baseados na captura do radical orgânico ABTS (2,2'-azinobis (3-etilbenzotiazolona-6-ácido sulfônico)), DPPH (2,2-difenil-1-picrilhidrazila), quantificação de produtos formados durante a peroxidação de lipídios (TBARS) e poder de redução do ferro (FRAP) (GÓMEZ-ESTACA et al., 2007; JUNG et al., 2009; PEREIRA et al., 2013; LICCIARDELLO et al., 2015; YANG et al., 2016). Estes diferentes métodos dão uma ideia do modo de ação do composto antioxidante a ser incorporado na embalagem ativa.

O método DPPH é baseado na captura do radical DPPH (2,2-difenil-1-picril-hidrazil) por antioxidantes, produzindo um decréscimo da absorbância a 515 nm. O método baseia-se na neutralização do radical livre onde, por ação de um antioxidante (AH) ou uma espécie radicalar, o DPPH que possui cor púrpura é reduzido formando difenil-picril-hidrazina, de coloração amarela, com conseqüente desaparecimento da absorção, podendo a mesma ser monitorada pelo decréscimo da absorbância. A partir dos resultados espectrofotométricos obtidos determina-se a porcentagem de atividade antioxidante ou sequestradora de radicais livres (LÓPEZ DE DICASTILLO et al., 2016; RAMOS et al., 2014).

A determinação do teor de fenólicos totais é realizada utilizando o reagente Folin-ciocalteau. Estes compostos integram um amplo e complexo grupo de fitoquímicos que apresentam em sua estrutura um anel aromático com uma ou mais hidroxilas. Em virtude de sua natureza química, atuam como agentes redutores, interrompendo a cadeia da reação de oxidação através da doação de elétrons ou de hidrogênio aos radicais livres, convertendo-os em produtos termodinamicamente estáveis, ou complexando com metais, componentes iniciadores da oxidação lipídica (MELO et al., 2008).

A técnica de determinação de flavonoides baseia-se na medida da absorbância, a 510 nm, do complexo formado entre o flavonoide e o alumínio do reagente de cor, formando compostos de coloração amarelada. A atividade antioxidante é devido à habilidade que os flavonoides têm de sequestrar radicais livres inibindo sua formação (SOUZA DE SÁ et al., 2012).

### c) Métodos utilizados para avaliar a atividade antioxidante da embalagem

A avaliação da atividade antioxidante das embalagens ativas pode ser realizada assim como a avaliação da atividade antioxidante do extrato, pelos métodos de DPPH, ABTS, e FRAP, dentre outros (Quadro 1). Esta avaliação pode ser feita *in vitro* pela dissolução do filme em solvente específico e avaliação da capacidade antioxidante da solução obtida ou indiretamente pela adição dos filmes em soluções simulantes utilizando testes de migração de compostos para alimentos com posterior avaliação da solução resultante deste contato.

López de Dicastillo et al. (2012) desenvolveram filmes de etileno álcool vinílico (EVOH) incorporados com diferentes tipos de compostos antioxidantes e após colocar os filmes em contatos com soluções simulantes dos diferentes tipos de alimentos avaliaram indiretamente a atividade antioxidante dos filmes utilizando o método do radical livre, DPPH. O teste foi efetivo quanto à avaliação da atividade antioxidante dos filmes uma vez que confirmou a atividade antioxidante dos compostos que migraram para as soluções.

Yang et al.(2016) avaliaram *in vitro* as atividades antioxidantes de filmes a base de proteína incorporados com extratos de diferentes tipos de chás utilizando os métodos ABTS e DPPH. Comprovaram por estes métodos que o filme de proteína sem extrato de chá (controle) não tinha atividade antioxidante, enquanto que os filmes que continham extratos de chá apresentaram atividade antioxidante proporcional ao aumento da concentração do extrato de chá na constituição do filme. Aproveitaram ainda o resultado destes testes para definir a concentração de extrato a ser utilizada para confecção de um filme que seria aplicado em carne de porco.

Licciardello et al. (2015) desenvolveram filmes de polipropileno orientado incorporado com extrato de folha de oliva e extrato de bagaço de uva e avaliaram indiretamente a capacidade antioxidante destes filmes pelo teste de ABTS com modificações. Os resultados mostraram que a capacidade antioxidante dos filmes aumenta com o aumento do tempo de contato dos filmes com as soluções simulantes.

Woranuch, Yoksan e Akashi (2015) prepararam diferentes filmes biodegradáveis contendo ácido ferúlico encapsulado com quitosana e determinaram *in vitro* a atividade antioxidante dos filmes pelo método DPPH modificado e pela avaliação do poder redutor. Os dois métodos foram efetivos quanto à avaliação da atividade antioxidante dos filmes biodegradáveis.

Com base nos artigos citados pode-se observar que a aplicação dos métodos de DPPH, ABTS e FRAP são adequados para avaliação da atividade antioxidante dos filmes, seja utilizando diretamente nos filmes ou avaliando as soluções resultantes dos testes de migração dos compostos.

#### d) Avaliação da embalagem no produto

A eficácia de materiais ativos antioxidantes no produto pode ser medida de várias maneiras (Quadro 1). Vários estudos demonstraram atividade antioxidante através da medição do grau de oxidação lipídica de alimentos sensíveis ao oxigênio embalado com materiais ativos.

Gómez-Estaca et al. (2007) realizaram um estudo com o objetivo de aumentar a estabilidade microbiológica e oxidativa da sardinha durante o armazenamento refrigerado (5 °C). As postas de peixe foram revestidas dos dois lados por uma película de gelatina comestível incorporada com extrato de orégano (1,25%) ou extrato de alecrim (20%). A estabilidade foi melhorada através do revestimento com filmes comestíveis à base de gelatinas funcionais. Filmes enriquecidos com extrato de orégano ou de alecrim foram capazes de retardar a oxidação lipídica das sardinhas.

Abreu et al. (2010) avaliaram a eficácia de uma embalagem ativa composta por polietileno de baixa densidade incorporado com antioxidantes naturais extraídos de cascas de cevada quanto ao retardamento da oxidação de lipídios em salmão do Atlântico congelado. O método de incorporação

do antioxidante no filme demonstrou ser altamente eficaz na proteção de amostras de salmão contra processos oxidativos durante o armazenamento congelado.

López de Dicastillo et al. (2012) avaliaram filmes ativos antioxidante aplicados em filé de sardinha. Os filmes foram produzidos pela incorporação de ácido ascórbico, ácido ferúlico, quercetina, e extrato de chá verde (5%) em um copolímero de etileno álcool vinílico (EVOH). Os filmes com extrato de chá verde foram os mais efetivos, diminuindo os valores de peróxido de 27 a 12 mEq.kg<sup>-1</sup> de gordura no quinto dia de armazenamento, e também reduzindo a concentração de malondialdeído em 25% durante o tempo de armazenamento.

Estes estudos mostram que é viável a aplicação de filmes antioxidantes em alimentos visando o aumento da estabilidade oxidativa, uma vez que estas atuam como barreira a agentes externos por apresentar substâncias com atividades antioxidantes. Além disso, conferem a migração de compostos ativos para o alimento a taxas controladas, reduzindo a quantidade de aditivos utilizados diretamente no alimento durante a armazenagem.

### **1.2.3 Resíduos na indústria de cacau**

Por ser um país de grande atividade agrícola, o Brasil é um dos países que mais produzem resíduos agroindustriais (CATANEO et al., 2008). No caso do processamento de frutas, casca, caroço, sementes e bagaço são os tipos de resíduos geralmente gerados dependendo da fruta processada. Apesar de possuírem em sua composição vitaminas, minerais, fibras, os resíduos gerados são geralmente desperdiçados causando um déficit econômico, uma vez que muitos deles são ricos em compostos bioativos, como antioxidantes, que são substâncias de elevado valor comercial (MELO et al., 2011).

A quantidade elevada dos resíduos de frutas gerados em todo o mundo e as suas características bioquímicas vem sendo tema de estudos a fim de transformá-los em produtos de valor agregado (SOUSA, VIEIRA e LIMA, 2011; MELO et al., 2011; INFANTE et al., 2013). Os resíduos de frutas representam um recurso renovável e sustentável a ser explorado em vez de simplesmente eliminados (COELHO e WOSIACKI, 2010; VILHALVA et al., 2011; LUPATINI et al., 2011; THOMAZ et al., 2012; COSTA et al., 2012; ). Sua utilização oriunda de fases do processo produtivo produz resultados econômicos desejáveis e constitui uma alternativa para a redução de materiais descartados no meio ambiente.

Dependendo de sua origem, os resíduos são ricos em umidade, hidratos de carbono e outros compostos. Além disso, alguns contêm quantidades consideráveis de proteínas, gorduras, corantes naturais e, em alguns casos, antioxidantes e outros compostos bioativos (PANDA et al.,

2016). Desta forma, agregar valor a estes subprodutos é de interesse econômico e ambiental sendo necessária uma investigação que possibilite sua utilização incluindo-se aqui os resíduos da agroindústria cacauera uma vez que a crescente demanda por amêndoas de cacau levou à acumulação de resíduos de cacau e isto representa um problema de eliminação sério (CHAN e CHOO, 2013; GÜLTEKINÖZGÜVEN, BERKTAS e OZÇELIK, 2016).

Amêndoas de cacau (*Theobroma cacao* L.) têm sido utilizados em todo o mundo como um importante ingrediente usados principalmente na fabricação do pó de cacau e chocolate. No entanto, o beneficiamento do cacau gera grandes quantidades de resíduos. Para a obtenção de chocolate a partir de amêndoas de cacau, a amêndoa tem que passar por um processo tecnológico sendo aplicadas diferentes etapas para a produção:

a) Primeiramente, tem-se o corte do fruto, onde suas amêndoas são separadas, gerando o primeiro resíduo, as cascas, que são geralmente deixados para se decompor na plantação de cacau o que gera odores desagradáveis.

b) Posteriormente as amêndoas são fermentadas, onde as amêndoas são dispostas em barcaças durante sete dias para desenvolver precursores do sabor característicos do chocolate. Após a fermentação, o desenvolvimento de sabor a partir de precursores do cacau continua durante a secagem, com o desenvolvimento de cor marrom característica. A secagem é responsável pela diminuição da umidade das amêndoas para uma faixa de 6 a 8%.

c) A terceira etapa, de torrefação, consiste em uma nova secagem para que a umidade chegue a cerca de 2%, depois as amêndoas são resfriadas e encaminhadas para o triturador, que retira a casca das amêndoas, gerando o segundo resíduo, o farelo de cacau.

Ao final, as amêndoas de cacau estão prontas para a moagem, onde é feita a redução granulométrica das partículas sólidas até a estrutura mássica atingir um estado fluido de alta viscosidade (SILVA et al., 2005; CHAN e CHOO, 2013; NASCIMENTO e ARRIECHE, 2015).

Para que o cacau possa ser aproveitado integralmente e devido à grande quantidade de resíduo que é desperdiçado na sua cadeia produtiva, novas tecnologias que objetivam a utilização desses resíduos para a produção de biofertilizantes, biogás, briquetes e enzimas microbianas, têm sido desenvolvidas, agregando valor e reduzindo o descarte destes resíduos no meio ambiente. Chan e Choo (2013) extraíram pectina a partir das cascas de cacau. Silva et al. (2005) avaliaram o consumo e a produção de leite de cabras recebendo dietas contendo farelo de cacau ou torta de dendê em substituição ao milho e ao farelo de soja da ração concentrada. Cardoso et al. (2012) avaliaram a viabilidade do aproveitamento da casca do cacau como briquete energético, a fim de promover um destino rentável para os resíduos dessa lavoura. Diniz, Druzian e Audibert (2012)

estudaram a otimização do processo de produção de goma xantana a partir de casca de cacau ou soro de leite como fonte de carbono.

A amêndoa de cacau é um material que compreende uma variedade de compostos nutricionais, tais como hidratos de carbono, proteínas. Além disso, é rica em compostos biologicamente ativos, tais como compostos fenólicos (flavonoides), polifenóis (procianidinas), antocianinas, metilxantinas (teobromina e a cafeína). Cacau e os seus produtos são considerados também como fontes naturais de antioxidantes (JAHURUL et al., 2013).

O tipo e a quantidade de compostos fenólicos desempenham um papel significativo no desenvolvimento de tais propriedades das amêndoas e produtos delas obtidos como adstringência ou amargo. Eles também desempenham um papel importante de antioxidantes. As razões para tais grandes diferenças no conteúdo de compostos fenólicos são condicionadas por: variedades de amêndoas de cacau, região de cultivo e processos em execução em plantações (fermentação, secagem) (SILVA et al., 2013; JAHURUL et al., 2013; ŻYŻELEWICZ et al., 2016).

Em geral os resíduos da agroindústria cacauceira são descartados e avaliando as características das amêndoas, acredita-se que seus resíduos possam ter propriedades semelhantes. Desta forma o aproveitamento destes resíduos para a obtenção de compostos antioxidantes abre uma nova possibilidade e é uma alternativa para agregar valor a essa cadeia produtiva.

#### **1.2.4 Polivinil Álcool (PVA)**

Existe uma tendência na indústria de alimentos e em pesquisas da área de alimentos quanto à aplicação de ingredientes naturais ao invés de substâncias sintéticas e materiais de embalagem biodegradáveis, em substituição aos derivados de petróleo, devido a preocupações com a saúde dos consumidores e os problemas ambientais. A utilização de polímeros biodegradável como substitutos para o plástico tradicional é apontado como uma alternativa sustentável (LICCIARDELLO et al., 2015; CARRIZO et al., 2015).

A confecção de embalagens ativas antioxidantes a partir de bases poliméricas degradáveis tem encorajado a exploração de novos materiais de embalagens formulados com matérias-primas oriundas de recursos renováveis. Uma das alternativas para este fim é o uso do polivinil álcool (PVA), primeiro coloide sintético preparado por Herrmann e Haehnel no ano de 1924, tem sido largamente estudado devido à sua boa capacidade de formação de película, elevada hidrofiliabilidade, biocompatibilidade, boa resistência química e propriedades mecânicas excelentes (THONG, TEO e NG, 2016; NUNES et al., 2016).

O PVA é fabricado pela polimerização de monômero de acetato de vinilo em acetato de polivinilo (PVAc), seguido de hidrólise dos grupos acetato de PVAc para o PVA. Ele tem uma estrutura plana em zigzag, solúvel em água, que pertence à classe de polímeros solúveis em água não iônicos contendo um grupo vinilo, em virtude da sua elevada polaridade. Não tóxico, considerado seguro de manusear, possui boa flexibilidade, além de um grande potencial para aplicação na produção de películas biodegradáveis uma vez que é tido como o único polímero sintético cuja estrutura básica é absolutamente biodegradável. PVA é inodoro, insípido, translúcido e disponível em branco para a forma de grânulos de pó de marfim (MUPPALLA et al., 2014; WANG et al., 2015; JO et al., 2015; THONG, TEO e NG, 2016).

As características físicas do PVA dependem do grau de polimerização (uma expressão do tamanho de polímero) e hidrólise (uma expressão da relação de grupo álcool hidrófilo e um grupo de etilo hidrofóbico). PVA de grau completamente hidrolisado são solúveis em água quente e têm boas características de formação de película (película formada são insolúveis em água, a temperatura mais baixa), bem como boas propriedades adesivas. No entanto, PVA de grau parcialmente hidrolisados são solúveis em água (temperatura ambiente) e ligeiramente solúvel em etanol, mas é insolúvel em solventes orgânicos. Possui um ponto de fusão de 230 °C para as classes totalmente hidrolisadas e 180-190 °C para as classes parcialmente hidrolisadas. Decompõe-se rapidamente acima de 200 °C, pois ele pode sofrer de pirólise em altas temperaturas (MUPPALLA et al., 2014; THONG, TEO e NG, 2016).

Grandes quantidades de PVA são produzidas anualmente por ser um dos principais polímeros utilizados na indústria tendo uma produção mundial de cerca de 650.000 toneladas por ano (THONG, TEO e NG, 2016).

A estrutura química simples do PVA permite modificações por reações químicas. Nos últimos anos, vários grupos de pesquisa têm focado a sua atenção sobre o estudo das películas de PVA ou géis obtidos pela simples adição de sais de soluções aquosas de PVA. Adesivo PVA pode ser convertido em produtos resistentes à água por reticulação de suas cadeias lineares com formaldeído, ácido bórico, sais e alguns outros agentes de insolubilidade (THONG, TEO e NG, 2016; HAYES et al., 2016).

Por ser um polímero versátil com muitas aplicações industriais e possuir excelentes propriedades resultaram em uma ampla gama de aplicações em diferentes áreas indústrias, incluindo a biotecnologia industrial, áreas biomédicas e outras áreas.

Faria et al. (2012) produziram filmes biodegradáveis à base de misturas de amido/ polivinil álcool /glicerol, com adição de nanoargilas e caracterizou estes materiais quanto às suas

propriedades mecânicas, ópticas, de barreira e microestruturais. Os filmes foram produzidos pelo processo de *casting*, empregando-se água destilada como solvente com concentração de 3% ( $\text{p.v}^{-1}$ ) de sólidos, obtidos pela mistura amido, PVA e MMT-Na, com concentrações que variaram. Todos os filmes produzidos se mostraram homogêneos, contínuos, sem rachaduras ou poros. A introdução de PVA à matriz de amido, mesmo em baixas concentrações (1 a 5%), levou à formação de filmes menos permeáveis ao vapor de água e com melhores propriedades mecânicas.

Debiagi et al. (2014) desenvolveram bandejas biodegradáveis a partir de bagaço de mandioca e polivinil álcool (PVA) incorporados com óleos essenciais de cravo (CEO) ou orégano (OEO), para estudar sua atividade antimicrobiana e investigar os efeitos da incorporação desses óleos essenciais nas propriedades mecânicas, capacidade de absorção de água e isoterma de sorção da bandeja. A adição de OEO à matriz bagaço de mandioca/PVA resultou em bandejas menos resistentes e mais flexíveis, com uma diminuição na capacidade de absorção de água e de adsorção.

Muppalla et al. (2014) desenvolveram filmes ativos com base em misturas de carboximetil celulose (CMC), polivinil álcool (PVA) e óleo de cravo em diferentes proporções para caracterizar suas propriedades físicas, funcionais e para demonstrar a sua eficácia na preservação da carne. O aumento da concentração de PVA melhorou a força de punção e resistência à tração dos filmes CMC, enquanto que, a taxa de transmissão de vapor de água diminuiu.

Wang et al. (2015) desenvolveram filmes antibacterianos de nisina - quitosana / polivinil álcool. A adição do PVA na matriz do filme interferiu nas propriedades do filme obtido.

Lian et al. (2016) preparou um biopolímero usando PVA e quitosana, como materiais de base e  $\text{TiO}_2$  como um material de enchimento para melhorar as propriedades mecânicas e de barreira, assim como as propriedades antimicrobianas do filme. O biopolímero apresentou boas características de barreira ao vapor de água e gás e também boas propriedades mecânicas e antimicrobianas.

O polivinil álcool mostra ter um grande potencial para aplicação na produção de películas biodegradáveis, sendo um polímero sintético biodegradável com muitas aplicações industriais.

### 1.3 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABREU, D. A., LOSADA, P. P., MAROTO, J., CRUZ, J. M. Evaluation of the effectiveness of a new active packaging film containing natural antioxidants (from barley husks) that retard lipid damage in frozen Atlantic salmon (*Salmo salar* L.). **Food Research International**, v. 43, p. 1277–1282, 2010.
- BOLUMAR, T., ANDERSEN, M. L., ORLIEN, V. Antioxidant active packaging for chicken meat processed by high pressure treatment. **Food Chemistry**, v.129, p. 1406–1412, 2011.
- BRANDELERO, R. P. H., ALMEIDA, F. M., ALFARO, A. Microestrutura e propriedades de filmes de amido-álcool polivinílico-alginato adicionados de óleos essenciais de copaíba e capim limão. **Quim. Nova**, v. 38, p. 910-916, 2015.
- CAETANO, A. C. S., MELO, E. A., LIMA, V. L. A. G., MACIEL, M. I. S., ARAÚJO, C. R. Extração de antioxidantes de resíduos agroindustriais de acerola. **Brazilian Journal Food Technology**, v. 12, p. 155-160, 2009.
- CAMO, J., BELTRÁN, J. A., RONCALÉS, P. Extension of the display life of lamb with an antioxidant active packaging. **Meat Science**, v. 80, p. 1086–1091, 2008.
- CARDOSO, S. A., SILVA, I. T., ROCHA, B. R. P., SILVA, I. M. O. Utilização de resíduos de cacau para a produção de energia no Estado do Pará, 2012.
- CARRIZO, D., TABORDA, G., NERÍN, C., BOSETTI, O. Extension of shelf life of two fatty foods using a new antioxidant multilayer packaging containing green tea extract. **Innovative Food Science and Emerging Technologies**, 2015.
- CATANEO, C. B., CALIARI, V., GONZAGA, L. V., KUSKOSKI, E. M., FETT, R. Atividade antioxidante e conteúdo fenólico do resíduo agroindustrial da produção de vinho. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 29, p. 93-102, 2008.
- CHAN, S. Y., CHOO, W. S. Effect of extraction conditions on the yield and chemical properties of pectin from cocoa husks. **Food Chemistry**, v.141, p. 3752–3758, 2013.
- COELHO, L. M., WOSIACKI, G. Avaliação sensorial de produtos panificados com adição de farinha de bagaço de maçã. **Ciências e Tecnologia de Alimentos**, v.30, p. 582-588, 2010
- COSTA, J. N., SOARES, D. J., CARNEIRO, A. P. G., MOURA, S. M., RODRIGUES, C. S., FIGUEIREDO, R. W. Composição centesimal e avaliação sensorial de biscoito tipo *cookies* acrescido de maracujá em pó. **Revista Brasileira de Produtos Agroindustriais**, v.14, p.143-147, 2012.
- CRIZEL, T. M., COSTA, T. M. H., RIOS, A. O., FLORES, S. H. Valorization of food-grade industrial waste in the obtaining active biodegradable films for packaging. **Industrial Crops and Products**, v. 87, p. 218-228, 2016.
- DANTAS, E. A., COSTA, S. S., CRUZ, L. S., BRAMONT, W. B., COSTA, A. S., PADILHA, F. F., DRUZIAN, J. I., MACHADO, B. A. S. Caracterização e avaliação das propriedades

antioxidantes de filmes biodegradáveis incorporados com polpas de frutas tropicais. **Ciência Rural**, v.45, p.142-148, 2015.

DEBIAGI, F., KOBAYASHI, R. K. T., NAKAZATO, G., PANAGIO, L. A., MALIA, SUZANA. Biodegradable active packaging based on cassava bagasse, polyvinylalcohol and essential oils. **Industrial Crops and Products**, v. 52, p. 664– 670, 2014.

DEMITRI, C., BENEDICTIS, V. M., MADAGHIELE, M., CORCIONE, C. E., MAFFEZZOLI, A. Nanostructured active chitosan-based films for food packaging applications: Effect of graphene stacks on mechanical properties. **Measurement**, v. 90, p. 418-423, 2016.

DINIZ, D. M., DRUZIAN, J. I., AUDIBERT, S. Produção de Goma Xantana por Cepas Nativas de *Xanthomonas campestris* a Partir de Casca de Cacau ou Soro de Leite. **Polímeros**, vol. 22, p. 278-281, 2012.

FARIA, F. O., VERCELHEZE, A. E. S., MALI, S. Propriedades físicas de filmes biodegradáveis à base de amido de mandioca, álcool polivinílico e montmorilonita. **Química Nova**, v. 35, p. 487-492, 2012.

GOMEZ-ESTACA, J., LOPEZ-DE-DICASTILLO, C., HERNANDEZ-MUNOZ, P., CATALA, R., |GAVARA, R. Advances in antioxidant active food packaging. **Trends in Food Science & Technology**, v. 35, p. 42-51, 2014.

GOMEZ-ESTACA, J., MONTERO, P., GIMENEZ, B., GOMEZ-GUILLEN, M. C. Effect of functional edible films and high pressure processing on microbial and oxidative spoilage in cold-smoked sardine (*Sardina pilchardus*). **Food Chemistry**, v. 105, p. 511–520, 2007.

GÜLTEKIN OZGÜVEN, M., BERKTAS, I., OZÇELIK, B. Change in stability of procyanidins, antioxidant capacity and in-vitro bioaccessibility during processing of cocoa powder from cocoa beans. **Food Science and Technology**, v. 72, p. 559-565, 2016.

HAYES, J. C., CURLEY, C., TIERNEY, P., KENNEDY, J. E. Biomechanical analysis of a salt-modified polyvinyl alcohol hydrogel for knee meniscus applications, including comparison with human donor samples. **Journal of the mechanical behavior of biomedical materials**, v. 56, p. 156-164, 2016.

INFANTE, J., SELANI, M. M., TOLEDO, N. M. V., SILVEIRA-DINIZ, M. F., ALENCAR, S. M., SPOTO, M. H. F. Atividade antioxidante de resíduos agroindustriais de frutas tropicais. **Alimentos e Nutrição Brazilian Journal of Food and Nutrition**, v. 24, p. 87-91, 2013.

JAHURUL, M. H. A., ZAIDUL, I. S. M., NORULAINI, N. A. N., SAHENA, F., JINAP, S., AZMIR, J., SHARIF, K. M., MOHD OMAR, A. K. Cocoa butter fats and possibilities of substitution in food products concerning cocoa varieties, alternative sources, extraction methods, composition, and characteristics. **Journal of Food Engineering**, v. 117, p. 467–476, 2013.

JANJARASSKUL, T., TANANUWONG, K., KONGPENSOOK, V., TANTRATIAN, S., KOKPOL, S. Shelf life extension of sponge cake by active packaging as an alternative to direct addition of chemical preservatives. **Food Science and Technology**, v.72, p. 166-174, 2016.

JO, H. J., PARK, K. M., NA, J. H., MIN, S. C., PARK, K. H., CHANG, P. S., HAN, J. Development of anti-insect food packaging film containing a polyvinyl alcohol and cinnamon oil emulsion at a pilot plant scale. **Journal of Stored Products Research**, v. 61, p. 114-118, 2015.

JUNG, D. C., LEE, S. Y., YOON, J. H., HONG, K. P., KANG, Y. S., PARK, S. R., PARK, S. K., HA, S. D., KIM, G. H., BAE, D. H. Inhibition of pork and fish oxidation by a novel plastic film coated with horseradish extract. **Food Science and Technology**, v.42, p. 856–861, 2009.

LIAN, Z., ZHANG, Y., ZHAO, Y. Nano-TiO<sub>2</sub> particles and high hydrostatic pressure treatment for improving functionality of polyvinyl alcohol and chitosan composite films and nano-TiO<sub>2</sub> migration from film matrix in food simulants. **Innovative Food Science and Emerging Technologies**, v. 33, p. 145–153, 2016.

LICCIARDELLO, F., WITTENAUER, J., SAENGERLAUB, S., REINELT, M., STRAMM, C. Rapid assessment of the effectiveness of antioxidant active packaging— Study with grape pomace and olive leaf extracts . **Food Packaging and Shelf Life**, v. 6, p. 16, 2015.

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

LÓPEZ DE DICASTILLO, C., GÓMEZ-ESTACA, J., CATALÁ, R., GAVARA, R., HERNÁNDEZ-MUÑOZ, P. Active antioxidant packaging films: Development and effect on lipid stability of brined sardines. **Food Chemistry**, v.131, p. 1376-1384, 2012.

LUPATINI, A. L., FUDO, R. M., MESOMO, M. C., CONCEIÇÃO, W. A. S., COUTINHO, M. R. Desenvolvimento de Biscoitos com Farinha de Casca de Maracujá-amarelo e Okara. **Revista Ciências Exatas e Naturais**, v.13, 2011.

MACHADO, B. A. S., NUNES, I. L., PEREIRA, F. V., DRUZIAN, J. I. Desenvolvimento e avaliação da eficácia de filmes biodegradáveis de amido de mandioca com nanocelulose como reforço e com extrato de erva-mate como aditivo antioxidante. **Ciência Rural**, v.42, 2012.

MALI, S., GROSSMANN, M. V. E., YAMASHITA, F. Filmes de amido: produção, propriedades e potencial de utilização. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 31, p. 137-156, 2010.

MELO, E. A., MACIEL, M. I. S., LIMA, V. L. A. G., ARAÚJO, C. R. Teor de fenólicos totais e capacidade antioxidante de polpas congeladas de frutas. **Alimentos e Nutrição**, v.19, p. 67-72, 2008.

MELO, P. S., BERGAMASCHI, K. B., TIVERON, A. P., MASSARIOLI, A. P., OLDONI, TATIANE L. C., ZANUS, M. C., PEREIRA G. E., ALENCAR, S. M. Composição fenólica e atividade antioxidante de resíduos agroindustriais. **Ciência Rural**, v.41, p.1088-1093, 2011

MORELLI, C. L., MAHROUS, M., BELGACEM, M. N., BRANCIFORTI, M. C., BRETAS, R. E. S., BRAS, J. Natural copaiba oil as antibacterial agent for bio-based active packaging. **Industrial Crops and Products**, v. 70, p. 134-141, 2015.

MOURA, M. R., AOUADA, F. A., SOUZA, J. R., MATTOSO, L. H. C. Preparação de Novos Nanobiocompósitos Comestíveis Ativos Contendo Nanoemulsão de Canela e Pectina. **Polímeros**, v. 24, p. 486-490, 2014.

MUPPALLA, S. R., KANATT, S. R., CHAWLA, S.P., SHARMA, A. Carboxymethyl cellulose–polyvinyl alcohol films with clove oil for active packaging of ground chicken meat. **Food packaging and shelf life**, v. 2, p. 51-58, 2014.

NASCIMENTO, R. F., ARRIECHE, L. S. Síntese da estrutura de processamento de um produto à base de cacau: maximização de componentes antioxidantes. Congresso Brasileiro de Engenharia Química em Iniciação Científica, 2015.

NASCIMENTO, R. J., ARAÚJO, C. R., MELO, E. A. Atividade antioxidante de extratos de resíduo agroindustrial de goiaba (*psidium guajava* l.). **Alimentos e Nutrição**, v. 21, p. 209-216, 2010.

NUNES, M. A. P., MARTINS, S., ROSA, M. E., GOIS, P. M. P., FERNANDES, P. C. B., RIBEIRO, M. H. L. Improved thermostable polyvinyl alcohol electrospun nanofibers with entangled naringinase used in a novel mini-packed bed reactor. **Bioresource Technology**, v. 213, p. 208–215, 2016.

OGIWARA, Y., ROMANO, M. J., DECKER, E. A., GODDARD, J. M. Iron chelating active packaging: Influence of competing ions and pH value on effectiveness of soluble and immobilized hydroxamate chelators. **Food Chemistry**, v.196, p. 842-847, 2016.

PANDA, S. K., MISHRA, S. S., KAYITESI, E., RAY, R. C. Microbial-processing of fruit and vegetable wastes for production of vital enzymes and organic acids: Biotechnology and scopes. **Environmental Research**, v. 146, p. 161–172, 2016.

PEREIRA, L. B., CRUZ, J. M., SENDÓN, R., QUIRÓS, A. R. B., ARES, A., LÓPEZ, M. C., ABAD, M. J., MAROTO, J., LOSADA, P. P. Development of antioxidant active films containing tocopherols to extend the shelf life of fish. **Food Control**, v. 31, p. 236 – 243, 2013.

RAMOS, M., JIMÉNEZ, A., PELTZER, M., GARRIGÓS, M. C. Development of novel nanobiocomposite antioxidant films based on poly (lactic acid) and thymol for active packaging. **Food Chemistry**, v. 162, p. 149-155, 2014.

Regulamento (CE) n.º 1935/2004 do Parlamento Europeu e do Conselho, de 27 de Outubro de 2004, relativa aos materiais e objetos destinados a entrar em contato com os alimentos e que revoga as Diretivas 80/590 / CEE e 89/109 / CEE.

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

SANTANA, M. C. C. B., MACHADO, B. A. S., SILVA, T. N., NUNES, I. L., DRUZIAN, J. I. Incorporação de urucum como aditivo antioxidante em embalagens biodegradáveis a base de quitosana. **Ciência Rural**, v.43, p.544-550, 2013.

SANTOS, D.C., RIBEIRO-SANTOS, R., VENTURA, L.A.F., MELO, N.R., COSTA, B.S., ROJAS, E.E.G., SALGADO, N.L. Antimicrobial activity studies and characterization of cellulose acetate films containing essential oils. **Italian Journal of Food Science**, v. 28, 2016

SHEMESH, R., KREPKER, M., NITZAN, N., VAXMAN, A, SEGAL, E. Active packaging containing encapsulated carvacrol for control of postharvest decay. **Postharvest Biology and Technology**, v. 118, p. 175-182, 2016.

SILVA, H. G. O., PIRES, A. J. V., SILVA, F. F., VELOSO, C. M., CARVALHO, G. G. P., CEZÁRIO, A. S., SANTOS, C. C. Farelo de Cacau (*Theobroma cacao* L.) e Torta de Dendê (*Elaeis*

*guineensis*, Jacq) na Alimentação de Cabras em Lactação: Consumo e Produção de Leite. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.34, p.1786-1794, 2005.

SILVA, S. A. M., VALARINI, M. F. C., CHORILLI, M., VENTURINI, A., LEONARDI, G. R. Atividade Antioxidante do Extrato Seco de Cacau Orgânico (*Theobroma cacao*) - Estudo de Estabilidade e Teste de Aceitação de Cremes Acrescidos Deste Extrato. **Revista de Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada**, v.34, p. 493-501, 2013.

SOUSA DE SÁ, P. G., GUIMARÃES, A. L., OLIVEIRA, A. P., FILHO, J. A. S., FONTANA, A. P., DAMASCENO, P. K. F., BRANCO, C. R. C., BRANCO, A., ALMEIDA, J. R. G. S. Fenóis totais, flavonoides totais e atividade antioxidante de *Selaginella convoluta* (Arn.) Spring (Selaginellaceae). **Revista de Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada**, v. 33, p. 561-566, 2012.

SOUSA, M. S. B., VIEIRA, L. M., LIMA, A. Fenólicos totais e capacidade antioxidante *in vitro* de resíduos de polpas de frutas tropicais. **Brazilian Journal Food Technology**, v. 14, p. 202-210, 2011.

SUPPAKUL, P., THANATHAMMATHORN, T., SAMERASUT, O., KHANKAEW, S. Shelf life extension of “fios de ovos”, an intermediate-moisture eggbased dessert, by active and modified atmosphere packaging. **Food Control**, v.70, p. 58-63, 2016.

THOMAZ, A. C., SILVA, G. R., NOVELLO, D., DALLA SANTA, H. S., RAYMUNDO, M. S., BATISTA, M. G. Aceitabilidade sensorial de biscoito tipo cracker adicionado de farinha de casca de limão siciliano (*Citrus limon* L. Burm.). **Revista Instituto Adolfo Lutz.**, v. 71, p. 24-30, 2012.

THONG, C.C., TEO, D. C. L., NG, C. K. Application of polyvinyl alcohol (PVA) in cement-based composite materials: A review of its engineering properties and microstructure behavior. **Construction and Building Materials**, v. 107, p. 172–180, 2016.

VILHALVA, D. A. A., SOARES JÚNIOR, M. S., MOURA, C. M. A., CALIARI, M., SOUZA, T. A. C., SILVA, F. A. Aproveitamento da farinha de casca de mandioca na elaboração de pão de forma. **Revista Instituto Adolfo Lutz.**, v.70, p.14-21, 2011.

WANG, H., ZHANG, R., ZHANG, H., JIANG, S., LIU, H., SUN, M., JIANG, S. Kinetics and functional effectiveness of nisin loaded antimicrobial packaging film based on chitosan/poly(vinyl alcohol). **Carbohydrate Polymers**, v. 127, p. 64–71, 2015.

WORANUCH, S., YOKSAN, R., AKASHI, M. Ferulic acid-coupled chitosan: Thermal stability and utilization as antioxidant for biodegradable active packaging film Sarekha. **Carbohydrate Polymers**, v. 115, p. 744-751, 2015.

WRONA, M., BENTAYEB, K., NERÍN, C. A novel active packaging for extending the shelf-life of fresh mushrooms (*Agaricus bisporus*). **Food Control**, v. 54, p. 200-207, 2015.

YANG, H., LEE, J., WON, M., CANÇÃO, K. B. Atividades antioxidantes do destilador grãos secos com solúveis como filmes de proteínas que contêm extratos de chá e sua aplicação na embalagem de carne suína. **Química Alimentar**, v. 196, p. 174-179, 2016.

ŻYŻELEWICZ, D., KRYSIAK, W., ORACZ, J., SOSNOWSKA, D., BUDRYN, G., NEBESNY, E. The influence of the roasting process conditions on the polyphenol content in cocoa beans, nibs and chocolates. **Food Research International**, 2016.

## **II – OBJETIVOS GERAIS**

### **2.1 OBJETIVO GERAL**

Desenvolver embalagem ativa antioxidante que utilize como constituintes composto naturais extraídos de resíduos da agroindústria cacauera e avaliar suas características de qualidade e efetividade em alimento embalado.

### **2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS**

Obtenção do extrato hidroalcoólico do farelo da amêndoa de cacau.

Avaliar a atividade antioxidante dos extratos naturais.

Desenvolver os filmes incorporados com o extrato.

Avaliar as propriedades mecânicas dos filmes.

Avaliar as propriedades de barreira.

Avaliar as propriedades ópticas dos filmes.

Avaliar a eficiência da ação antioxidante dos filmes aplicando os mesmos em salame italiano.

### III – CAPÍTULO 1 – OBTENÇÃO E AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIOXIDANTE DO EXTRATO HIDROALCOÓLICO DE FARELO DA AMÊNDOA DO CACAU

#### RESUMO

A amêndoa de cacau é rica em compostos biologicamente ativos, tais como compostos fenólicos (flavonoides), polifenóis (procianidinas), antocianinas, metilxantinas (teobromina e a cafeína), e considerada uma fonte natural de antioxidantes. Acredita-se assim que os resíduos gerados durante seu processamento podem apresentar essas mesmas características. Este trabalho teve como objetivo, obter diferentes extratos do farelo da amêndoa de cacau e avaliar a atividade antioxidante para seleção de uma fração a ser utilizada na área de alimentos. Para análise de DPPH a fração acetato de etila apresentou uma melhor atividade seguida do extrato bruto liofilizado, extrato bruto, extrato de diclorometano, extrato hidroalcoólico e extrato de hexano, sendo que este último não apresentou o valor de  $EC_{50}$  nas concentrações estudadas. O extrato bruto foi escolhido para dar continuidade ao estudo sendo que seu valor de  $EC_{50}$  foi de  $0,873 \text{ mg.mL}^{-1}$ , quanto a análise pelo método FRAP obteve-se como resultado  $18,123 \text{ mg de Fe}^{2+}/\text{g}$  extrato e quanto a análise de teor de fenólicos obteve-se um valor de  $184,443 \text{ mg Eq. Ac gálico/g ext.}$  Pode-se observar que o estudo apresentou correlação positiva entre as análise de fenóis totais, FRAP e a DPPH do extrato bruto avaliado, apresentando uma boa atividade antioxidante para o extrato do farelo da amêndoa do cacau. Os extratos do farelo da amêndoa do cacau avaliados apresentaram bom potencial antioxidante indicando a viabilidade do uso dos resíduos gerados durante o processamento do cacau em diferentes áreas, dentre elas a área de alimentos.

**PALAVRAS CHAVE:** *Theobroma cacao* L., resíduos da agroindústria, aproveitamento, antioxidantes.

#### INTRODUÇÃO

Amêndoas de cacau (*Theobroma cacao* L.) têm sido utilizados em todo o mundo como um importante ingrediente usados principalmente na fabricação do pó de cacau e chocolate. No entanto, este processo produtivo gera grandes quantidades de resíduos. Devido à composição das amêndoas de cacau acredita-se que estes resíduos podem apresentar características antioxidantes adequadas e que proporcionam o emprego deste em diferentes áreas (CHAN e CHOO, 2013).

Para a obtenção de chocolate a partir de amêndoas de cacau, a amêndoa tem que passar por um processo tecnológico sendo aplicadas diferentes etapas para a produção e nestas os principais resíduos são a casca e o farelo da amêndoa de cacau. Durante o corte do fruto, suas amêndoas são

separadas, gera-se o primeiro resíduo, as cascas e, após a torrefação as amêndoas são resfriadas e encaminhadas para o triturador, que retira a casca das amêndoas, gerando o segundo resíduo, o farelo da amêndoa de cacau. A crescente demanda por amêndoas de cacau levou ao acúmulo de resíduos de cacau, e isto representa um problema de eliminação sério (GÜLTEKINÖZGÜVEN, BERKTAS e OZÇELIK, 2016).

A amêndoa de cacau é um material que compreende uma variedade de compostos nutricionais, tais como hidratos de carbono, proteínas e gordura. Além disso, é rica em compostos biologicamente ativos, tais como compostos fenólicos (flavonoides), polifenóis (procianidinas), antocianinas, metilxantinas (teobromina e a cafeína). Cacau e os seus produtos são também as fontes naturais de antioxidantes (JAHURUL et al., 2013). Acredita-se assim que os resíduos gerados durante seu processamento podem apresentar essas mesmas características.

O presente estudo objetivou avaliar a atividade antioxidante de diferentes extratos do farelo da amêndoa do cacau utilizando o método DPPH e selecionar uma fração visando a sua utilização como um substituto de antioxidantes sintéticos na área de tecnologia de alimentos.

## **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 Análise de Alimentos, Laboratório de Ensaio dos Materiais (LABEM) e Laboratório de Pesquisa de Produtos Naturais (*LAPRON*). No período de agosto de 2015 a dezembro de 2016.

### **Obtenção do farelo das amêndoas do cacau**

O farelo da amêndoa do cacau (*Teobroma cacao* L.) foi doado por produtores de cacau de uma Empresa cacaueria da região de Ilhéus, Bahia.

### **Caracterização do farelo das amêndoas do cacau**

Para caracterização do farelo da amêndoa de cacau foram realizadas análises de umidade, cinzas totais, pH e acidez, carboidratos, lipídeos totais e proteínas totais, todas conforme as Normas Analíticas da AOAC (2010), em triplicata para três diferentes repetições de farelos da amêndoa de cacau.

### **Obtenção do extrato bruto**

O extrato bruto foi obtido do farelo da amêndoa do cacau, utilizando a técnica de extração sólido-líquido e tendo como solvente uma solução hidroetanólica a 70%, seguida de eliminação do solvente em evaporador rotatório. Colocou-se 600 gramas do farelo em funil de separação e adicionou-se álcool etílico a 70%, deixando-se em repouso por 24 horas. O solvente foi recolhido num elermnyer de 600mL e voltou-se a encher o funil de separação com nova quantidade de solução hidroetanólica. Esta operação foi repetida por mais duas vezes. Os líquidos recolhidos foram então evaporados em evaporador rotativo para eliminar o solvente. Uma parte do extrato bruto foi congelado por 72 horas a  $-80^{\circ}\text{C}$ , e posteriormente foi liofilizado por 24 horas. Os extratos foram armazenados em frasco âmbar.

### **Obtenção das frações**

Para a realização da partição do extrato bruto foram pesadas 50 g do extrato bruto em um béquer de 600 mL e adicionados 300 mL de solução hidroetanólica a 70%. Após solubilizar completamente o extrato, a solução foi transferida para um funil de separação de 1000 mL.

- **Obtenção da Fração Hexânica (FH)**

À solução hidroetanólica do extrato bruto foram adicionadas porções de 200 mL de hexano, agitando-se pelas paredes do funil com cuidado, até completa extração. Foram utilizados aproximadamente 2 litros de hexano. Os extratos hexânicos (parte superior) foram recolhidos em um elermeyer e, posteriormente, evaporados em evaporador rotativo a temperatura de  $40^{\circ}\text{C}$ , para obtenção da Fração Hexânica (FH). A parte inferior foi reutilizada para o fracionamento com o diclorometano.

- **Obtenção da Fração Diclorometânica (FD)**

À solução hidroalcoólica reservada da partição anterior foram adicionadas porções de 100 mL de diclorometano, até completa extração, utilizando-se cerca de 700 mL de diclorometano. Em seguida, foi utilizada solução de NaCl saturada para separação das fases. Após a separação das fases, foram recolhidas as porções inferiores (diclorometânicas), e a parte superior, a hidroalcoólica, permaneceu no funil para a última etapa do fracionamento. Os extratos diclorometânicos reunidos foram evaporados em evaporador rotativo a temperatura de  $40^{\circ}\text{C}$ , para obtenção da Fração Diclorometânica (FD).

- **Obtenção da Fração Acetato de Etila (FAE)**

Na solução reservada da extração com o diclorometano, foram adicionadas porções de 100 mL de acetato de etila. A solução hidroalcoólica foi extraída até a exaustão, correspondendo a um volume de 500 mL de acetato de etila. As porções superiores foram reunidas e evaporadas em evaporador rotativo a temperatura de 40°C, para obtenção da Fração Acetato de Etila (FAE).

Após a completa eliminação dos solventes, os balões foram resfriados e os resíduos foram transferidos para frascos âmbar, identificados e guardadas em refrigerador a 10°C até o momento das análises.

### **Avaliação da atividade antioxidante**

#### **Método do DPPH**

A determinação da atividade antioxidante total pelo método da captura do radical livre DPPH foi determinada espectrofotometricamente segundo adaptação de Rufino et al. (2007). A partir dos extratos obtidos, foram preparadas em tubos de ensaio cinco diluições diferentes. Foram avaliadas as frações hidroalcoólica, hexânica, diclorometânica, extrato bruto e extrato bruto liofilizado nas concentrações 1,0; 0,8; 0,6; 0,4 e 0,2 mg.mL<sup>-1</sup> e acetato de etila 0,4; 0,2; 0,1; 0,05 e 0,025 mg.mL<sup>-1</sup>. Em ambiente escuro, transferiu-se uma alíquota de 0,1 mL de cada diluição do extrato para tubos de ensaio com 3,9 mL da solução do radical DPPH (0,06 mM) e homogeneizou-se em agitador de tubos, sendo os testes realizados em triplicata. Utilizou-se álcool metílico como branco para calibrar o espectrofotômetro.

As leituras (515 nm) foram monitoradas a cada minuto, onde foi observada a redução da absorbância até sua estabilização, o que ocorreu após 50 minutos. Após a leitura, substituiu-se o valor correspondente à metade da absorbância inicial do controle pelo y da equação da curva do DPPH (Equação 1) para encontrar o consumo em µM de DPPH e, em seguida, foi transformada para g de DPPH. Para a determinação da curva do DPPH, a partir da solução inicial de DPPH (0,06 mM), foram preparadas em balões volumétricos de 10 mL, soluções variando a concentração de 0,01 mM a 0,05 mM. Em ambiente escuro, transferiu uma alíquota de aproximadamente 4 mL de cada solução de DPPH (10, 20, 30, 40, 50 e 60) para cubetas de vidro e realizou-se a leitura em espectrofotômetro a 515 nm. Plotou-se as concentrações de DPPH no eixo X e as respectivas absorbâncias no eixo Y e obteve-se a equação da reta.

Equivalência de controle e DPPH

$$y = ax - b \quad \text{Equação (1)}$$

$y =$  Absorbância inicial do controle.  $2^{-1}$

$x =$  resultado em  $\mu\text{M}$  DPPH

Converteu-se para g DPPH, através da transformação:

$$\text{g DPPH} = \frac{\mu\text{M DPPH} * 394,3(\text{peso molecular do DPPH})}{1.000.000} \quad \text{Equação (2)}$$

A partir das absorbâncias obtidas das diferentes diluições dos extratos, plotou-se a absorbância no eixo Y e a concentração ( $\text{mg.L}^{-1}$ ) no eixo X e determinou-se a Equação da reta (Equação 3). Para calcular a AAT substituiu-se a absorbância equivalente a 50% da concentração do DPPH pelo y (Equação 3) e encontrou-se o resultado que corresponde à quantidade de amostra necessária para reduzir em 50% a concentração inicial do radical DPPH ( $\text{EC}_{50}$ ).

Cálculo do  $\text{EC}_{50}$

$$y = -ax + b \quad \text{Equação (3)}$$

$y =$  Absorbância inicial do controle.  $2^{-1}$

$x = \text{EC}_{50}$  ( $\text{mg.L}^{-1}$ ).

A partir do resultado ( $\text{mg.L}^{-1}$ ) encontrado na equação 8, dividiu-se por 1.000 para ter o valor em g e, em seguida, dividiu-se pelo valor encontrado em g DPPH (Equação 2) para se obter o resultado final (Equação 4) que foi expresso em g fruta (porção comestível) / g DPPH.

$\text{EC}_{50}$  expresso em g fruta / g DPPH

$$\text{g fruta / g DPPH} = \frac{\text{EC}_{50} (\text{mg / L})}{1.000 * \text{g DPPH}} \quad \text{Equação (4)}$$

### **Determinação da atividade antioxidante pelo método de redução do ferro (FRAP)**

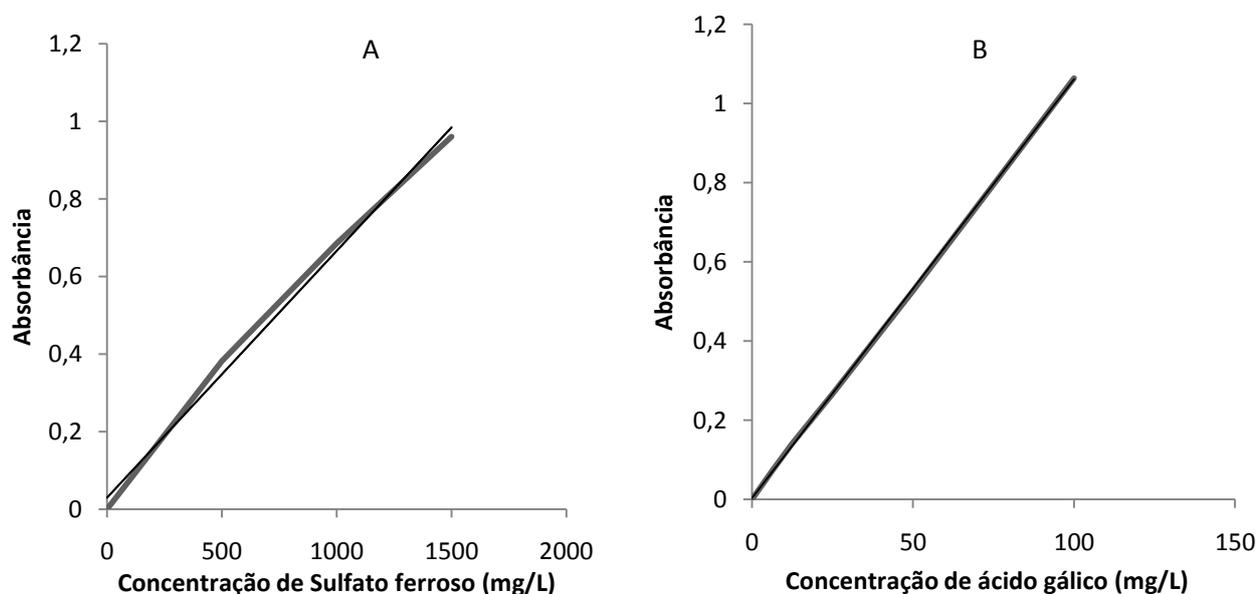
A metodologia do poder redutor dos íons ferro foi realizada como descrito por Rufino et al. (2006). O ensaio antioxidante de determinação do poder de redução do íon ferro (FRAP), está baseado na produção do íon  $\text{Fe}^{2+}$  a partir da redução do íon  $\text{Fe}^{3+}$  presente no complexo 2,4,6-tripiridil-s-triazina (TPTZ). Quando a redução ocorre, há uma alteração na tonalidade da mistura de reação, passando de roxo claro a um roxo intenso, cuja absorbância pode ser medida no comprimento de onda de 595 nm. Quanto maior a absorbância ou intensidade da coloração, maior será o potencial antioxidante. Em ambiente escuro, transferiu-se uma alíquota de 90  $\mu\text{L}$  de cada diluição do extrato para tubos de ensaio, acrescentou-se 270  $\mu\text{L}$  de água destilada, misturou com 2,7 mL do reagente FRAP, homogeneizou em agitador de tubos e manteve em banho-maria a 37  $^{\circ}\text{C}$ .

Realizou-se a leitura (595 nm) após 30 minutos da mistura preparada e utilizou-se o reagente FRAP como branco para calibrar o espectrofotômetro. Construiu-se a curva padrão com soluções de sulfato ferroso, nas concentrações de 500,0 a 1500,0  $\mu\text{M}$  (Figura 1A). A partir da equação da reta ( $y = 0,000637x + 0,029333$ ,  $R^2 = 0,994104$ ) obtida pela curva padrão realizou-se o cálculo e os resultados foram expressos em mg de  $\text{Fe}^{2+}$  / g de extrato.

### Determinação dos compostos fenólicos

A determinação espectrofotométrica dos compostos fenólicos foi realizada utilizando-se o reagente de Folin-Ciocalteu. A curva de calibração foi obtida fazendo-se uso de cinco diluições de ácido gálico (100 - 50 - 25 - 12,5 - 6,25 mg/L) (Figura 1B). As amostras em análise foram submetidas ao mesmo procedimento. Tomou-se 1 mL em tubo de ensaio para cada diluição e adicionaram-se 5 mL do reagente Folin Ciocalteau (10%). A solução foi homogeneizada e, após 8 min, acrescentou-se 4 mL de solução saturada de carbonato de sódio ( $\text{Na}_2\text{CO}_3$ ). Decorrida 1 hora de repouso, foram realizadas as leituras em triplicata das absorbâncias em espectrofotômetro a 773 nm. O branco foi realizado nas mesmas condições, substituindo a amostra por água destilada. A partir da equação da reta ( $y = 0,010578x + 0,003586$ ,  $R^2 = 0,999891$ ) obtida pela curva de calibração realizou-se o cálculo do teor de fenólicos totais, expresso em mg de ácido gálico/100 g de amostra.

**Figura 1 –** Curvas de calibração



Fonte: Elaborado pela autora, 2016

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

### Caracterização do farelo da amêndoa do cacau

O farelo de cacau foi caracterizado quanto as suas propriedades físico-químicas (Tabela 1).

**Tabela 1-** Caracterização química do farelo da amêndoa do cacau

Parâmetros	Resultado
pH	5,42 ± 0,02
Parâmetros	Resultado (g.100g <sup>-1</sup> )
Acidez	11,43 ± 0,02
Umidade	7,63 ± 0,11
Cinzas	5,69 ± 0,02
Lipídios Totais	8,42 ± 0,78
Proteína Totais	16,48 ± 0,18
Carboidratos	61,78 ± 0,27

Fonte: Elaborado pela autora, 2016

A caracterização do farelo é importante tendo em vista que alguns constituintes podem influenciar na extração dos compostos com características antioxidantes. Alguns estudos elucidam as características do farelo da amêndoa de cacau. Pires et al. (2004) encontraram 10% de umidade, 16% de proteína bruta e 8% de cinzas; Carvalho et al. (2004) encontraram 86,14% de matéria seca, 13,62% de proteína bruta, 7,36% de cinzas e Rocha Neto et al. (2010), encontraram 89% de matéria seca, 16,60% de proteína bruta, 7,80% de cinzas. Os valores encontrados neste estudo foram similares aos de outras avaliações para esse tipo de resíduo. Fatores como a variedade do cacau e o processamento podem influenciar nas características da composição deste resíduo.

### Atividade antioxidante dos extratos

A Tabela 2 apresenta os valores de EC<sub>50</sub> para os diferentes extratos e frações. Considerando que valores de EC<sub>50</sub> menores representam melhores atividades antioxidantes, temos que a fração acetato de etila apresentou uma melhor atividade seguida do extrato bruto liofilizado, extrato bruto, extrato de diclorometano, extrato hidroalcoólico e extrato de hexano, sendo que este último não apresentou o valor de EC<sub>50</sub> nas concentrações estudadas. A atividade antioxidante foi confirmada também pelo índice de atividade antioxidante (IAA) que segundo Scherer e Godoy (2009) os extratos vegetais apresentam baixa atividade antioxidante quando o IAA é menor que 0,5; atividade

antioxidante moderada quando o IAA apresenta-se entre 0,5 e 1,0; forte atividade antioxidante quando IAA apresenta-se entre 1,0 e 2,0 e muito forte quando o IAA é maior que 2,0.

**Tabela 2** – EC<sub>50</sub> das frações e extratos

Fração	Equação dpph	Equação extrato	EC <sub>50</sub> (µg.mL <sup>-1</sup> )	g fruta / g DPPH	IAA
Extrato Bruto	y = 0,008x + 0,002 R <sup>2</sup> = 0,996	y = -0,327x + 0,472 R <sup>2</sup> = 0,994	16,26	1,28	1,47
Extrato Bruto Liofilizado	y = 0,008x + 0,002 R <sup>2</sup> = 0,996	y = -0,397x + 0,442 R <sup>2</sup> = 0,993	11,51	0,90	2,08
Acetato de Etila	y = 0,011x - 0,021 R <sup>2</sup> = 0,995	y = -1,121x + 0,612 R <sup>2</sup> = 0,992	5,88	0,50	4,08
Hidroalcoólico	y = 0,011x - 0,021 R <sup>2</sup> = 0,995	y = -0,091x + 0,632 R <sup>2</sup> = 0,987	77,83	6,62	0,31
Diclorometano	y = 0,011x - 0,021 R <sup>2</sup> = 0,995	y = -0,299x + 0,609 R <sup>2</sup> = 0,995	21,70	1,84	1,10
Hexano	y = 0,011x - 0,021 R <sup>2</sup> = 0,995	-----	-----	-----	

Fonte: Elaborado pela autora, 2016

Alguns estudos mostram resultados da atividade antioxidante de alguns compostos naturais frente a diferentes solventes. Magina et al. (2010) avaliaram a atividade antioxidante de três espécies de *Eugenia* (Myrtaceae) observando valores de EC<sub>50</sub> menor para as frações de acetato de etila, seguida do extrato bruto, da fração de diclorometano e hexano. Andrade et al. (2007) avaliou a atividade antioxidante de *Acacia podalyriifolia* e encontrou o valor de EC<sub>50</sub> de 3,22 µg.mL<sup>-1</sup> obtido para a fração acetato de etila sendo significativamente diferente ( $p < 0,05$ ) dos obtidos para o padrão de ácido ascórbico (0,49 µg.mL<sup>-1</sup>), para o extrato etanólico bruto (10,48 µg.mL<sup>-1</sup>) e para a fração diclorometano (36,65µg.mL<sup>-1</sup>), mas não difere estatisticamente ( $p > 0,05$ ) do apresentado

pelo padrão de rutina ( $4,14 \mu\text{g.mL}^{-1}$ ). Lima et al. (2006) avaliaram a atividade antioxidante do extrato hidroalcoólico de folhas de bardana (EEB), fração acetato de etila (ACE) e fração de hexano (HEX) e encontrou valores de  $EC_{50}$  de  $0,029 \pm 0,006$ ;  $0,089 \pm 0,003$  e  $0,837 \pm 0,160 \text{ mg.mL}^{-1}$  respectivamente. Na maioria destes estudos, assim como no nosso, os extratos obtidos com o uso do acetato de etila apresentaram maior atividade antioxidante. Segundo Cechinel Filho e Yunes (1998) o extrato de planta submetido a um processo de partição líquido-líquido, com solventes de polaridades crescentes, como hexano, diclorometano e acetato de etila, visando uma semi-purificação das substâncias através de suas polaridades tem como prováveis classes de compostos separados para a fração de hexano, esteróis, terpenos e acetofenonas; para a fração de diclorometano, lignanas, flavonóides metoxilados, sesquiterpenos, lactonas, triterpenos, cumarinas; fração de acetato de etila, flavonóides, taninos, xantonas, ácidos triterpênicos, saponinas, compostos fenólicos em geral. Nota-se ai que a fração de acetato de etila apresenta mais classe de compostos com atividade antioxidante comprovada, tais como os flavonoides e compostos fenólicos. A presença destes compostos pode explicar os valores mais baixos de  $EC_{50}$  para o extrato obtido com o acetato de etila quando comparados aos valores obtidos para os extratos de outros solventes.

Apesar da maior atividade antioxidante do extrato obtido com acetato de etila, o extrato bruto foi escolhido para dar continuidade ao estudo devido ao interesse de aplicação do mesmo na área de alimentos. Os resultados da avaliação da atividade antioxidante do extrato bruto do farelo da amêndoa do cacau estão apresentados na tabela 3. A avaliação pelas técnicas de fenólicos totais e FRAP confirma a capacidade antioxidante do extrato bruto obtido a partir do farelo da amêndoa de cacau.

**Tabela 3** – Atividade antioxidante do extrato bruto

	$EC_{50} (\mu\text{g.mL}^{-1})$	gfruta/gDPPH	IAA	mg de Fe <sup>2+</sup> /g extrato	mg Eq. Ac gálico/g ext
<b>Extrato Bruto</b>	$21,880 \pm 5,687$	$1,762 \pm 0,458$	$1,153 \pm 0,326$	$21,36 \pm 5,03$	$184,443 \pm 21,190$

Fonte: Elaborado pela autora, 2016

Estudos apontam o potencial antioxidante de extratos obtidos a partir de resíduos de frutas (CAETANO et al., 2008; CAETANO et al., 2009; NASCIMENTO, ARAÚJO e MELO, 2010; MELO et al., 2011; SOUSA, VIEIRA e LIMA, 2011; INFANTE et al., 2013). Estes estudos, assim como os resultados que foram apresentados aqui mostram a possibilidade de uma melhor utilização dos resíduos agroindustriais, agregando valor aos resíduos e aos seus produtos, devido à

importância dos antioxidantes para saúde da população e a geração de elevadas taxas de produção de resíduos. Para contribuir com a diminuição do desperdício de resíduos e a obtenção de benefícios à saúde humana, espera-se que os estudos realizados sirvam de incentivo à indústria de alimentos para a utilização de antioxidantes naturais em substituição aos sintéticos.

## CONCLUSÃO

Os extratos do farelo da amêndoa do cacau avaliados apresentaram bom potencial antioxidante indicando a viabilidade do uso dos resíduos gerados durante o processamento do cacau em diferentes áreas, dentre elas a área de alimentos.

## REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

ANDRADE, C. A., COSTA, C. K., BORA, K. MIGUEL, M. D., MIGUEL, O. G., KERBER, V. A. Determinação do conteúdo fenólico e avaliação da atividade antioxidante de *Acacia podalyriifolia* A. Cunn. ex G. Don, Leguminosae-mimosoideae. **Brazilian Journal of Pharmacognosy**, v.17, p. 231-235, 2007

AOAC.ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS. **Official methods of analysis**.15th Ed. Arlington: AOAC, 1990.

CAETANO, A. C. S., MELO, E. A., LIMA, V. L. A. G., MACIEL, M. I. S., ARAÚJO, C. R. Extração de antioxidantes de resíduos agroindustriais de acerola. **Brazilian Journal Food Technology**, v. 12, p. 155-160, 2009.

CARVALHO, G.G.P., PIRES, A.J.V., SILVA, F.F., VELOSO, C.M., SILVA, R.R., SILVA, H.G.O., MENDONÇA, S.S. Comportamento ingestivo de cabras leiteiras alimentadas com farelo de cacau ou torta de dendê. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 39, p. 919-925, 2004.

CATANEO, C. B., CALIARI, V., GONZAGA, L. V., KUSKOSKI, E. M., FETT, R. Atividade antioxidante e conteúdo fenólico do resíduo agroindustrial da produção de vinho. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 29, p. 93-102, 2008.

CECHINEL FILHO, V., YUNES, R. A. Estratégias para a obtenção de compostos farmacologicamente ativos a partir de plantas medicinais. Conceitos sobre modificação estrutural para otimização da atividade. **Química nova**, v. 21, 1998.

CHAN, S. Y., CHOO, W. S. Effect of extraction conditions on the yield and chemical properties of pectin from cocoa husks. **Food Chemistry**, v.141, p. 3752–3758, 2013.

GÜLTEKIN OZGÜVEN, M., BERKTAS, I., OZÇELIK, B. Change in stability of procyanidins, antioxidant capacity and in-vitro bioaccessibility during processing of cocoa powder from cocoa beans. **Food Science and Technology**, v. 72, p. 559-565, 2016.

INFANTE, J., SELANI, M. M., TOLEDO, N. M. V., SILVEIRA-DINIZ, M. F., ALENCAR, S. M., SPOTO, M. H. F. Atividade antioxidante de resíduos agroindustriais de frutas tropicais. **Alimentos e Nutrição Brazilian Journal of Food and Nutrition**, v. 24, p. 87-91, 2013.

JAHURUL, M. H. A., ZAIDUL, I. S. M., NORULAINI, N. A. N., SAHENA, F., JINAP, S., AZMIR, J., SHARIF, K. M., MOHD OMAR, A. K. Cocoa butter fats and possibilities of substitution in food products concerning cocoa varieties, alternative sources, extraction methods, composition, and characteristics. **Journal of Food Engineering**, v. 117, p. 467–476, 2013.

LIMA, A. R., BARBOSA, V. C., SANTOS FILHO, P. R., GOUVÊA, C. M. C. P. Avaliação *in vitro* da atividade antioxidante do extrato hidroalcoólico de folhas de bardana. **Brazilian Journal of Pharmacognosy**, v. 16, p. 531-536, 2006.

MAGINA, M. A., GILIOLI, A., MORESCO, H. H., COLLA, G., PIZZOLATTI, M. G., BRIGHENTE, I. M. C. Atividade antioxidante de três espécies de Eugenia (Myrtaceae). **Latin American Journal of Pharmacy**, v. 29, p. 376-382, 2010.

MELO, P. S., BERGAMASCHI, K. B., TIVERON, A. P., MASSARIOLI, A. P., OLDONI, TATIANE L. C., ZANUS, M. C., PEREIRA G. E., ALENCAR, S. M. Composição fenólica e atividade antioxidante de resíduos agroindustriais. **Ciência Rural**, v.41, p.1088-1093, 2011.

NASCIMENTO, R. J., ARAÚJO, C. R., MELO, E. A. Atividade antioxidante de extratos de resíduo agroindustrial de goiaba (*psidium guajava* L.). **Alimentos e Nutrição**, v. 21, p. 209-216, 2010.

PIRES, A. J. V., JÚNIOR, J. N. C., SILVA, F. F., VELOSO, C. M., SOUZA, A. L., OLIVEIRA, T. N.N SANTOS, C. L., CARVALHO, G. G. P., BERNARDINO, F. S. Farelo de cacau na alimentação de ovinos. **Revista Ceres**, v. 51, p.33-43, 2004.

ROCHA NETO, A. L., VELOSO, C. M., SILVA, F. F., MENEZES, D. R., OLIVEIRA, H. C., AZEVÊDO, S. T., PINHEIRO, A. A., OLIVEIRA, A. C., COSTA, L. T., SOUZA, D. R. Avaliação econômica do confinamento de novilhas leiteiras alimentadas com farelo de cacau na dieta. **Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal**, v.11, p.1068-1080, 2010.

RUFINO, M. S. M., ALVES, R. E., BRITO, EDY S., MORAIS, S. M., SAMPAIO, C. G., PÉREZ-JIMÉNEZ, J. SAURA-CALIXTO, F. D. Metodologia Científica: Determinação da Atividade Antioxidante Total em Frutas pela Captura do Radical Livre DPPH. **Embrapa Agroindústria Tropical**, 1 a edição on line: julho de 2007.

RUFINO, M. S. M., ALVES, R. E., BRITO, EDY S., MORAIS, S. M., SAMPAIO, C. G., PÉREZ-JIMÉNEZ, J. SAURA-CALIXTO, F. D. Metodologia Científica: Determinação da Atividade Antioxidante Total em Frutas pelo Método de Redução do Ferro (FRAP). **Embrapa Agroindústria Tropical**, 1 a edição on line: Dezembro, 2006.

SCHERER, R., GODOY, H T. Antioxidant activity index (AAI) by the 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl method. **Food Chemistry**, v 112, p. 654–658,2009.

SOUSA, M. S. B., VIEIRA, L. M., LIMA, A. Fenólicos totais e capacidade antioxidante *in vitro* de resíduos de polpas de frutas tropicais. **Brazilian Journal Food Technology**, v. 14, p. 202-210, 2011.

## **IV CAPÍTULO 2 - DESENVOLVIMENTO DE FILME ATIVO ANTIOXIDANTE A BASE DE EXTRATO DO FARELO DA AMENDOA DO CACAU**

### **RESUMO**

As embalagens ativas antioxidantes são promissoras tendo em vista que podem inibir ou retardar as reações de oxidação dos alimentos. Aliar a tecnologia das embalagens ativas ao uso de polímeros biodegradáveis e antioxidantes naturais atende as demandas atuais de proteção ao meio ambiente e necessidades dos consumidores. Este trabalho objetivou-se desenvolver embalagem ativa antioxidante a ser aplicada em alimentos utilizando como base polimérica o polivinil álcool (PVA) incorporado de extrato obtido de resíduos da agroindústria cacaujeira, caracterizando suas propriedades físicas, mecânicas, ópticas e de permeabilidade e a avaliação da atividade antioxidante dos filmes com a aplicação dos mesmos em salaminho tipo italiano. Comparado ao controle, a adição do extrato não interferiu nas características de espessura, gramatura, transparência e permeabilidade ao vapor d'água do filme obtido, e promoveu diferenças quanto à cor e a resistência a tração. O desenvolvimento do filme ativo antioxidante de PVA incorporado com extrato de farelo da amêndoa de cacau foi satisfatório mostrando a possibilidade do aproveitamento desse resíduo da agroindústria.

**PALAVRAS CHAVE:** polivinil álcool (PVA), *Theobroma cacao L.*, resíduos da agroindústria, salaminho tipo italiano.

### **INTRODUÇÃO**

Na pesquisa de embalagens de alimentos, inovações vigentes integram os sistemas de embalagem ativas que utilizam compostos ativos tais como antioxidantes, agentes antimicrobianos, vitaminas, aromas e corantes, objetivando a segurança alimentar e a extensão da vida de prateleira do gênero alimentício (RAMOS et al., 2014; LICCIARDELLO et al., 2015).

A embalagem ativa é uma tecnologia projetada para incorporar componentes na embalagem sendo que estes componentes liberam ou absorvem substâncias para os alimentos embalados ou para o ambiente circundante, estendendo assim a vida de prateleira, mantendo ou melhorando o estado dos alimentos (GOMEZ-ESTACA et al., 2014).

Um tipo de embalagem ativa é a “embalagem ativa antioxidante”, tecnologia inovadora para a preservação de alimentos onde há uma interação entre os materiais da embalagem e o

produto alimentar promovendo o contato com o agente antioxidante, impedindo as reações de oxidação (LÓPEZ DE DICASTILLO et al., 2016).

Acredita-se que as embalagens ativas antioxidantes a base de compostos naturais são instrumentos promissores para aumentar a vida de prateleira de alimentos que contém lipídios. Estudos mostram que compostos naturais como extratos de alecrim, orégano, chá, maqui, folha de oliveira; resíduos industriais como o bagaço de uva, entre outros têm sido utilizados como compostos ativos antioxidantes e demonstrado eficiência e aplicabilidade em embalagens antioxidantes resultando na diminuição dos processos oxidativos (GÓMEZ-ESTACA et al., 2007; BOLUMAR ANDERSEN E ORLIEN, 2011; CARRIZO et al., 2015; LICCIARDELLO et al., 2015; LÓPEZ DE DICASTILLO et al., 2016).

Cacau e os seus produtos são considerados como fontes naturais de antioxidantes. Em geral os resíduos da agroindústria cacaujeira são descartados e avaliando as características das amêndoas acredita-se que seus resíduos possam ter propriedades semelhantes. Desta forma o aproveitamento do farelo da amêndoa do cacau para obtenção de compostos antioxidantes abre uma nova possibilidade e é uma alternativa para agregar valor a essa cadeia produtiva (JAHURUL et al., 2013).

O uso das propriedades antioxidantes de resíduos agroindustriais mostra-se como uma alternativa tecnológica viável para o desenvolvimento das embalagens ativas, desta forma, o presente estudo objetivou desenvolver filmes ativos antioxidantes incorporados com extrato do farelo da amêndoa do cacau e avaliar suas propriedades visuais, mecânicas e de barreira e sua atividade antioxidante *in vitro* e no produto.

## **MATERIAIS E MÉTODOS**

### **Preparo dos filmes**

Os filmes foram preparados de acordo com a metodologia descrita por SOARES (1998), sendo a técnica utilizada a tipo *casting*. Os filmes foram incorporados com diferentes frações dos extratos vegetais de resíduos de cacau, em relação ao peso do PVA, além do preparo de um filme controle sem adição do extrato e de um controle positivo com antioxidante sintético de ação conhecida e permitido para uso em alimentos.

A solução filmogênica foi obtida dissolvendo-se 10% de PVA ( $p.v^{-1}$ ) em água destilada sob aquecimento até completa solubilização. Depois adicionou-se 25% de glicerol e concentrações de 0,1; 0,5 e 1% de extrato bruto, calculadas em relação a massa de PVA utilizado. Todos os

componentes foram homogeneizados, e posteriormente, levados para banho ultrassônico por 15 min para remoção das bolhas formadas durante o processo. A suspensão foi então, vertida em placas de vidro com 30 x 35 cm e levadas à secagem em temperatura ambiente por 3 dias.

### **Determinação da atividade antioxidante total do filme pela captura do radical livre**

O teste do DPPH (2,2-difenil-1-picril-hidrazil) foi utilizado para avaliar a atividade antioxidante *in vitro* dos filmes. Os filmes preparados com diferentes concentrações de extrato (0,1; 0,5 e 1%) foram cortados em pequenos pedaços e misturado com 3 mL de metanol a 80%. A mistura foi agitada em vórtex durante 3 minutos e mantida em repouso à temperatura ambiente por 3 horas. Em seguida, foi novamente agitada por 3 min. O sobrenadante obtido foi analisado quanto a atividade antioxidante pela captura do radical DPPH.

Uma alíquota do sobrenadante (0,1 mL) foi misturada com 3,9 mL de DPPH 0,06 mM em metanol a 80%. A mistura foi vigorosamente agitada em agitador de tubos durante 1 minuto e depois foi deixada em repouso à temperatura ambiente no escuro por 50 min. A absorvância foi lida a 515 nm, utilizando um espectrofotômetro UV-VIS. O equipamento foi zerado com metanol 80% (BYUN, KIM, WHITESIDE, 2010).

Atividade antioxidante total (AAT) foi calculada a partir da Equação 1:

$$\text{AAT}(\%) = \left(1 - \frac{\text{abs amostra}}{\text{abs controle}}\right) * 100 \quad \text{Equação (1)}$$

Esse mesmo teste foi aplicado aos extratos a fim de se verificar a efetividade dos mesmos após incorporação ao material polimérico.

### **Avaliação visual dos filmes**

A avaliação visual dos filmes foi determinada segundo Sarantópoulos (2002). Os filmes foram cuidadosamente observados sob uma fonte de luz branca, sem o auxílio de ampliação, considerando os seguintes critérios: 1) formato e dimensões; 2) material com odor indesejável; 3) presença na superfície do material de: bolhas de ar, furos e cortes, amassamento, fraturas, má distribuição da espessura, sujidades, riscos, olho de peixe (massa globular pequena que não se misturou completamente ao material do filme).

### **Determinação da gramatura dos filmes**

A gramatura foi determinada através da pesagem de uma área definida do filme em balança analítica, em triplicata para cada repetição, utilizando-se a Equação 2. (HENRIQUE 2008)

$$G = \frac{10.000 \times p}{a} * 100 \quad \text{Equação (2)}$$

G = gramatura ( $\text{g.m}^{-2}$ )

p = peso do filme (g)

a = área do filme ( $\text{cm}^2$ )

### **Determinação da espessura dos filmes**

A avaliação da espessura dos filmes foi realizada utilizando-se micrômetro digital (PIK B-Pantec) e os resultados foram expressos em milímetros (mm). Foram medidos dez pontos por repetição, considerando a espessura do filme como a média das dez leituras (SOBRAL, 1999).

### **Transparência dos filmes**

Os filmes foram cortados em pedaços retangulares com 1 cm de largura e 3 cm de comprimento e colocados no compartimento para amostras do espectrofotômetro. O compartimento vazio foi utilizado como referência para as medidas. A transparência dos filmes foi determinada medindo a porcentagem de transmitância (%T) a 600 nm usando espectrofotômetro de acordo com Sothornvit et al. (2010).

A transparência ( $T_{600}$ ) foi calculada usando a Equação 3:

$$T(600) = \frac{\log \%T}{\varepsilon} \quad \text{Equação (3)}$$

$\varepsilon$  é a espessura do filme (mm).

### **Análise de cor dos filmes**

A cor dos filmes foi analisada em colorímetro (COLORQuest XE) com leitura direta das coordenadas  $L^*$  (luminosidade),  $a^*$  (relativa de verde a vermelho) e  $b^*$  (relativa de amarela a azul) no parâmetro de transmitância. Para cálculo dos parâmetros de cor foram estabelecidos o iluminante D65 (luz do dia 6.500K), o ângulo de  $10^\circ$  para o observador e a escala do sistema de cor "CIElab". Para cada filme, utilizou-se a média de três determinações em zonas aleatórias de cada amostra com três repetições.

### **Permeabilidade ao vapor d'água dos filmes**

A permeabilidade foi determinada gravimetricamente segundo teste da ASTM (1995). O filme foi colocado em célula contendo sílica gel (UR = 0%; 0 mm Hg pressão de vapor),

constituindo uma membrana. A célula então foi colocada dentro de um dessecador contendo água destilada (UR = 100%; 32,23 mm Hg pressão de vapor), em sala climatizada a 22 °C. A célula foi pesada em balança semi-analítica a cada 24 horas durante 20 dias (HENRIQUE, 2008). A permeabilidade foi avaliada em triplicata para cada repetição e calculada utilizando a Equação 4:

$$P_v = \frac{G \cdot V}{A \cdot T \cdot (p_1 - p_2)} \quad \text{Equação(4)}$$

$P_v$  = permeabilidade ao vapor d'água ( $\text{g} \cdot \text{mm} \cdot (\text{m}^2 \cdot \text{dia} \cdot \text{mm} \cdot \text{Hg})^{-1}$ )

$G$  = peso ganho pela célula durante 24 horas (g)

$V$  = espessura média do filme (mm)

$A$  = superfície de permeação do filme ( $\text{m}^2$ )

$T$  = tempo (dias)

$p_1 - p_2$  = gradiente de pressão de vapor entre as superfícies do filme (32,23 mmHg)

### **Avaliação das propriedades mecânicas dos filmes**

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 com formato recomendado pela norma ASTM para teste de filmes poliméricos e dimensões ajustadas às dimensões do equipamento utilizado.

Os corpos de prova possuíam 100 mm de comprimento e 25 mm de largura. Foram analisados cinco corpos de prova para cada tratamento. Os mesmos foram fixados as garras do equipamento. Os corpos de prova foram tracionados a uma velocidade constante de  $0,4 \text{ mm} \cdot \text{s}^{-1}$  e 100% de deformação até sua ruptura. Os parâmetros avaliados foram: Força máxima (N) e o percentual de alongamento (%).

O (%) de alongamento e determinado pela Equação 5.

$$A\% = \frac{L_f - L_o}{L_o} * 100 \quad \text{Equação (5)}$$

$L_f$ : Alongamento final da amostra

$L_o$ : Tamanho inicial da amostra

A resistência a tração e determinada pela Equação 6.

$$T = \frac{F}{S} \quad \text{Equação (6)}$$

*F*: Última força máxima de ruptura

*S*: Área secção transversal

### **Determinação do índice do ácido tiobarbitúrico (TBA)**

O teste de TBA quantifica o malonaldeído (MDA), um dos principais produtos de decomposição dos hidroperóxidos de ácidos graxos poliinsaturados, formado durante o processo oxidativo. O salame italiano foi fatiado, colocados em bandejas e cobertos com os filmes controle, BHT e extrato, em seguida todos foram cobertos por filmes de PVC (Figura 1). Para determinar o índice do ácido tiobarbitúrico (TBA) foram pesadas 10g de salame italiano, adicionado de 40 mL de ácido tricloroacético (TCA) 5% mais 1 mL de BHT 0,15%. Homogeneizados por 1 min em Politron. Posteriormente, filtrou-se em papel de filtro e ajustou o volume do balão volumétrico para 50 mL, com TCA. Retirou-se do balão alíquotas de 2 mL, com pipeta volumétrica, transferiu para o tubo de ensaio e adicionou 2 mL de TBA 0,08 M. Homogeneizou e levou ao banho-maria fervente durante exatos 5 minutos. Resfriou e realizou a leitura da absorbância em espectrofotômetro a 532 nm contra um branco (2mL TCA + 2mL TBA). Os resultados foram expresso em mg de malonaldeído/kg amostra (RAHARJO, SOFOS e SCHIMIDT, 1992).

**Figura 1** - Salame italiano fatiado e embalado



Fonte: Elaborado pela autora, 2016

## **RESULTADOS E DISCUSSÃO**

### **Determinação da atividade antioxidante *in vitro* dos filmes**

Os resultados encontrados para atividade antioxidante total do filme e extrato estão apresentados na Tabela 1. Os filmes adicionados de extrato nas concentrações de 0,5 e 1 mg.mL<sup>-1</sup> apresentaram capacidade antioxidante superior a dos filmes incorporados com 0,1 mg.mL<sup>-1</sup> do extrato. Observa-se uma redução na capacidade antioxidante dos extratos após a incorporação do

mesmo ao material polimérico nas três concentrações testadas. Provavelmente esta redução foi ocasionada pela extração incompleta do extrato incorporado ao filme pelo solvente que foi utilizado para realização do teste de atividade antioxidante.

**Tabela 1-** Atividade antioxidante do filme e extrato bruto

Concentração (mg.mL <sup>-1</sup> )	AAT do filme (g.100g <sup>-1</sup> )	AAT do extrato (g.100g <sup>-1</sup> )
0,1	38,339 ± 24,908	48,647 ± 28,245
0,5	87,103 ± 1,080	90,116 ± 4,195
1,0	78,850 ± 10,913	90,953 ± 0,796

ATT – Atividade antioxidante

Fonte: Elaborado pela autora, 2016

Nos trabalhos realizados por Yang et al. (2016), Woranuch, Yoksan e Akashi (2015), Dias (2013), López de Dicastillo et al. (2012) o método de DPPH foi utilizado para avaliar a atividade antioxidante do filme *in vitro*. Assim como neste estudo o teste foi efetivo quanto a avaliação da atividade antioxidante dos filmes. Yang et al. (2016) e Ugalde (2014), selecionaram a quantidade de extrato a ser utilizada na confecção dos filmes ativos tendo como base o resultado dos testes *in vitro*. Baseado nisto, a concentração de extrato escolhida para posterior confecção do filme foi a de 0,5 mg.mL<sup>-1</sup> uma vez que está apresentou valor de atividade antioxidante semelhante a da maior concentração testada.

### Caracterização visual dos filmes

Os filmes preparados apresentaram características visuais desejáveis (Figura 2). Em geral os filmes foram lisos, flexíveis, homogêneos e aparentemente sem poros ou fissuras. Apresentaram má distribuição da espessura ocasionada provavelmente por variações da superfície onde foram colocados para secar. O filme com extrato do farelo da amêndoa do cacau apresentou cor, e odor adocicado, característicos do extrato do farelo da semente de cacau. O filme com BHT apresentou partes com insolubilização do antioxidante.

**Figura 2** - Filmes biodegradáveis



Fonte: Elaborado pela autora, 2016

López de Dicastillo et al. (2012) produziram filmes incorporados com ácido ascórbico, ácido ferúlico, quercetina, e extrato de chá verde em uma matriz de etileno álcool vinílico (EVOH) e apresentaram todos os filmes flexíveis, transparentes e sem descontinuidades visuais. Filmes com quercetina foram ligeiramente amarelo e aqueles com extrato de chá verde mostraram uma coloração ligeiramente marrom. Assim como neste trabalho, observou-se alteração de cor com adição do extrato.

### Determinação da espessura dos filmes

A espessura é um parâmetro que influencia as propriedades dos filmes e quando controlada permite a uniformidade do material e a validade das comparações entre suas propriedades. Os valores médios de espessura estão apresentados na Tabela 2. Os filmes não apresentaram variação significativa ( $p \leq 0,05$ ) pelo teste de Tukey.

**Tabela 2** - Caracterização dos filmes

Análises	Tratamentos		
	Controle	Extrato	BHT
<b>Gramatura (g.cm<sup>2</sup>)</b>	209,444 ± 72,943 <sup>a</sup>	273,963 ± 18,219 <sup>a</sup>	159,148 ± 13,446 <sup>a</sup>
<b>Espessura (mm)</b>	0,146 ± 0,000 <sup>a</sup>	0,169 ± 0,006 <sup>a</sup>	0,161 ± 0,007 <sup>a</sup>
<b>Transparencia(%)</b>	13,379 ± 0,070 <sup>a</sup>	12,172 ± 0,119 <sup>a</sup>	11,933 ± 0,583 <sup>a</sup>
<b>A (%)</b>	77,945 ± 2,620 <sup>a</sup>	73,412 ± 4,330 <sup>a</sup>	81,030 ± 0,489 <sup>a</sup>
<b>T (kPa)</b>	10,129 ± 1,127 <sup>ab</sup>	12,261 ± 0,969 <sup>a</sup>	8,108 ± 0,371 <sup>b</sup>
<b>L</b>	92,761 ± 0,074 <sup>a</sup>	76,842 ± 0,582 <sup>b</sup>	92,587 ± 0,205 <sup>a</sup>
<b>A</b>	-0,925 ± 0,012 <sup>a</sup>	9,325 ± 0,339 <sup>b</sup>	-0,912 ± 0,003 <sup>a</sup>
<b>B</b>	1,057 ± 0,015 <sup>a</sup>	27,479 ± 0,851 <sup>b</sup>	1,077 ± 0,019 <sup>a</sup>

Médias seguidas de mesma letra na linha não diferem entre si estatisticamente pelo teste de Tukey ( $p \leq 0,05$ ).

A(%) - porcentagem de alongamento, T – resistência a tração, L, a, b – parâmetros de cor.

Fonte: Elaborado pela autora, 2016

Alguns estudos mostram o efeito da adição de extratos na espessura dos filmes. Jo et al. (2015) avaliaram embalagens de filmes antiinsetos que continham óleo de canela (CO) encapsulado por álcool polivinílico e observaram que a espessura da película do controle foi mais fina do que a espessura dos três tipos de filmes contendo CO. Faria et al. (2012) avaliaram filmes biodegradáveis à base de amido de mandioca, álcool polivinílico e montmorilonita e obtiveram como resultados espessura dos filmes variando de 0,130 a 0,142 mm sendo que o tipo de formulação não afetou esta característica dos filmes. Brandelero, Almeida e Alfaro (2015) avaliaram filmes de amido-álcool polivinílico-alginato adicionados de óleos essenciais de copaíba e capim limão obtiveram a

espessura dos filmes variando entre 0,049 mm e 0,066 mm observando que embora os valores de espessura tenham sido diferentes do valor fixado (0,005 mm), as diferenças de espessura entre os tratamentos não foram significativas ( $p > 0,05$ ). Percebe-se que para a maioria dos estudos, assim como no nosso, que a adição do extrato não influenciou na espessura do filme, não impossibilitando que os mesmos sejam comparados entre si quanto às várias características de qualidade.

### **Determinação da gramatura dos filmes**

Os valores de gramatura estão apresentados na Tabela 2. A gramatura de filmes é definida como a massa de uma determinada área do material e está diretamente relacionada à resistência mecânica e de barreira dos filmes, sendo que maiores gramaturas oferecem maiores resistências mecânicas e de barreira. A adição do extrato não interferiu na gramatura dos filmes.

### **Transparência dos filmes**

Os resultados de transparência estão apresentados na Tabela 2. Observa-se que a adição do extrato e BHT não influenciaram a transmissão de luz através dos filmes não obtendo diferença significativa ( $p \leq 0,05$ ) na transparência dos filmes pelo teste de Tukey. As propriedades ópticas são importantes para determinar a função dos filmes, pois enquanto alguns alimentos precisam de proteção à luz, outros podem ser embalados em filmes transparentes, permitindo assim a visualização do produto (DIAS, 2013).

Alguns estudos apontam para o fato de que a adição de outros compostos a composição dos filmes interfere na sua transparência. Sothornvit et al. (2010) avaliaram a transparência dos filmes compostos de isolado de proteínas de soro de leite e argila e observou que a transparência dos filmes baseados em WPI diminuiu significativamente ( $p \leq 0,05$ ) quando o filme foi misturado com a argila. A aparência opaca dos filmes WPI / compostos de argila impede a transmissão de luz através dos filmes, resultando na transparência do filme reduzida. Dias (2013) avaliou a transparência dos filmes a base de quitosana incorporados com a-tocoferol e montmorilonita e observou que a transparência reduziu com o aumento da concentração do tocoferol encapsulado. Percebe-se que tanto a adição do extrato quanto a adição de argila e de a-tocoferol diminuíram a transparência dos filmes, provavelmente por serem todos eles compostos que apresentam coloração. No caso dos filmes com atividade antioxidante, a diminuição da transparência é um fator adequado tendo em vista que a luz é um dos fatores que acelera os processos de oxidação dos alimentos.

### **Análise de cor**

Os resultados da Tabela 2 mostram que a adição do extrato alterou significativamente ( $p \leq 0,05$ ) as características de cor dos filmes em relação ao filme controle e com adição de BHT pelo teste de Tukey.

Para o parâmetro  $L^*$  que caracteriza a luminosidade na escala de 0 (preto) a 100 (branco), o filme com extrato apresentou uma menor luminosidade, diferente do BHT e controle que apresentaram uma maior luminosidade. Este resultado demonstra que os filmes apresentaram-se com coloração mais clara para os filmes controle e extrato. Para o parâmetro de cor  $a^*$  o filme com extrato também apresentou diferença entre os filmes avaliados. Os valores encontrados para o BHT e controle foram negativos, enquanto o filme com extrato do farelo da amêndoa do cacau apresentou valores positivos. Para o parâmetro de cor  $b^*$ , também apresentou diferença sendo que o filme com extrato apresentou o maior valor, apresentando uma coloração mais intensa, enquanto os filmes controle e BHT valores menores.

Ramos et. al (2014) desenvolveram filmes biodegradáveis antioxidantes baseados em PLA poli (ácido láctico) reforçados com argila organicamente modificada e um aditivo natural (timol) para obter nanobiocompósitos baseados em recursos renováveis com atividade antioxidante e propriedades melhoradas para ativas aplicações de embalagem. Nesse estudo encontraram como resultados que todas as películas apresentaram uma alta transparência, porém algumas diferenças nas coordenadas CIELab ( $L^*$ ,  $a^*$ ,  $b^*$ ) entre o composto puro e nanocompósitos de poli (ácido láctico) foi observada.

López de Dicastillo et al (2016) desenvolveram um material antioxidante ativo à base de metilcelulose, e o estudo do efeito de diferentes graus de reticulação com glutaraldeído sobre as propriedades de metilcelulose e a liberação de agentes ativos derivados de frutas maqui. E tiveram como resultado que filmes contendo extrato de maqui eram transparentes e pouco rosa e claramente diferente de amostras sem extrato. Estas diferenças nos parâmetros de cor observados nesse e nos estudos citados podem ser atribuídas à cor intrínseca dos aditivos utilizados.

### **Avaliação das propriedades mecânicas dos filmes**

Os dados das propriedades mecânicas dos filmes estão apresentados na Tabela 2. A adição de antioxidantes interferiu na resistência a tração dos filmes sendo que a menor resistência a tração foi observada para o filme incorporado com o antioxidante sintético BHT e o maior para o filme incorporado com o extrato do farelo da amêndoa do cacau. Porém não houve diferença significativa

entre o filme controle e o filme adicionado de extrato do farelo da amêndoa do cacau. Para as demais propriedades mecânicas não houve diferença entre os filmes.

Souza, Silva e Druzian (2012) em estudo realizado para filmes obtidos pela adição de polpa de manga e polpa de acerola em biofilmes formulados com fécula de mandioca verificaram que quanto maior a adição de polpas de manga e de acerola maior o percentual de alongamento dos filmes. Quando comparados ao filme controle, as formulações apresentaram menores percentuais de alongamento, demonstrando que a incorporação de ambas as polpas promoveu uma diminuição do percentual de alongamento dos biofilmes. Observaram também que a incorporação dos aditivos nas maiores concentrações resultou em uma diminuição da resistência à tração, quando comparada com as formulações com menores concentrações de aditivos. Lian et al. (2011) observaram que os valores de resistência à tração de filme PVA-CHI-TiO<sup>2</sup> foram significativamente maiores do que a da película de controle. O alongamento à ruptura também apresentou uma tendência a ser maior quando a incorporação de nanopartículas de TiO<sub>2</sub>.

Esses estudos mostram que a adição de aditivos pode influenciar nas propriedades mecânicas dos filmes obtidos quando comparadas ao filme controle. A resistência a tração depende fortemente da formulação (macromolécula, solvente, plastificante, ajustador de pH) e do processo de obtenção, no nosso a adição do extrato do farelo da semente de cacau como agente antioxidante proporcionou o aumento da resistência a tração.

### **Permeabilidade ao vapor d'água dos filmes**

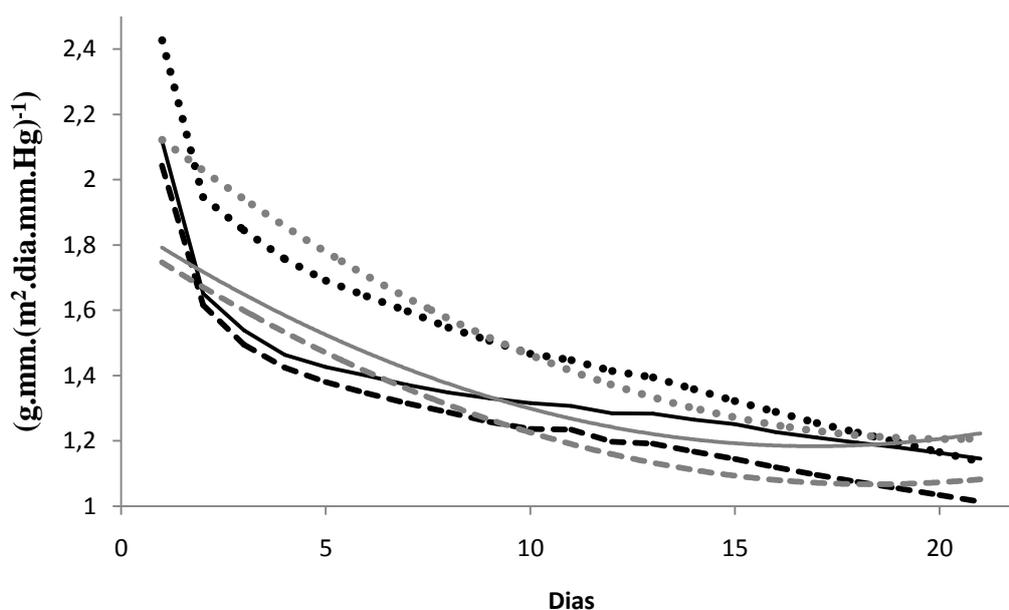
Para a análise de permeabilidade obteve-se para os filmes avaliados modelos quadráticos, cujas equações foram  $y = 1,8704 - 0,08106x + 0,0024x^2$ ,  $R^2 = 0,805$ ,  $y = 1,8268 - 0,0825x + 0,0022x^2$ ,  $R^2 = 0,865$  e  $y = 2,2195 - 0,1006x + 0,0025x^2$ ,  $R^2 = 0,918$ , para extrato, controle e BHT, respectivamente. As curvas de permeabilidade ao vapor d'água estão apresentadas na Figura 3.

A comparação entre os filmes pelo teste de Tukey ( $p \leq 0,05$ ) no vigésimo primeiro dia da análise não apresentou diferença significativa, ou seja, a adição do extrato do farelo da semente de cacau não interferiu na permeabilidade ao vapor d'água nos filmes de PVA (Tabela 3).

Souza, Silva e Druzian (2012) encontraram que a adição das polpas de manga e de acerola em baixos percentuais na matriz de fécula de mandioca plastificada com sacarose e açúcar invertido resultou em um aumento nos valores de permeabilidade ao vapor de água, enquanto que a incorporação de maiores percentuais reduziu a referida taxa. Machado et al. (2012) avaliaram a eficácia da incorporação do extrato aquoso de erva-mate como aditivo antioxidante para filmes biodegradáveis a base de amido de mandioca, plastificados com glicerol e reforçados com

nanocelulose de coco e obteve como resultado que a incorporação do extrato de erva-mate na matriz polimérica não alterou significativamente as propriedades de barreira dos nanobiocompósitos. Os estudos, assim como o nosso, mostram que a adição do extrato pode ou não interferir na permeabilidade ao vapor d'água, dependendo do percentual do extrato adicionado.

**Figura 3** – Curva de permeabilidade ao vapor d'água



..... BHT, ——— Extrato, ----- Controle. Cor cinza curva ajustada

Fonte: Elaborado pela autora, 2016

**Tabela 3** – Teste de média da permeabilidade ao vapor d'água

Dias	Tratamentos ( g.mm.(m <sup>2</sup> .dia.mm.Hg) <sup>-1</sup> )		
	Controle	Extrato	BHT
21	1,014 ± 0,086 <sup>a</sup>	1,146 ± 0,039 <sup>a</sup>	1,136 ± 0,076 <sup>a</sup>

Médias seguidas de mesma letra na linha não diferem entre si estatisticamente pelo teste de Tukey ( $p \leq 0,05$ ). Dados de permeabilidade apresentados em  $\text{g.mm.}(\text{m}^2.\text{dia.mm.Hg})^{-1}$

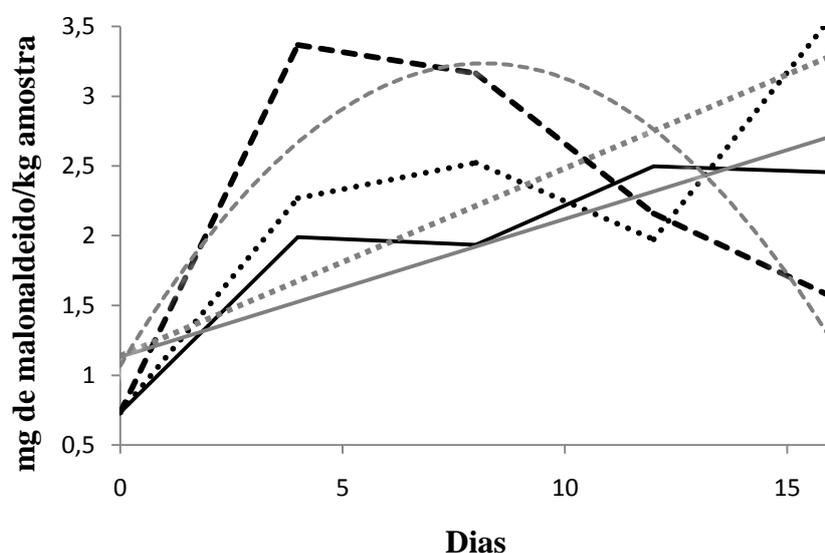
Fonte: Elaborado pela autora, 2016

### Avaliação da atividade antioxidante em salaminho

A avaliação da atividade antioxidante dos filmes aplicados diretamente em salaminho tipo italiano apresentou diferentes respostas (Figura 4). A oxidação nas amostras embaladas em filme

contendo extrato e em filme contendo BHT mostrou seguir modelos lineares cujas equações foram  $y = 0,2238x + 1,1313$ ,  $R^2 = 0,690$  e  $y = 0,1343x + 1,1406$ ,  $R^2 = 0,768$  respectivamente. E para as amostras embaladas com o filme controle o modelo foi quadrático e a equação foi  $y = 0,0294x^2 + 0,4616x + 1,1802$ ,  $R^2 = 0,630$ . Houve interação significativa entre os tipos de filmes e os dias de avaliação, ou seja, houve diferença quanto à oxidação dos salaminhos a depender do tipo de filamentos diferentes dias de análises. Os resultados do desmembramento da ação de cada tipo de embalagem em relação ao tempo estão apresentados na Tabela 4.

**Figura 4** – Curva da análise de oxidação



..... BHT, — Extrato, - - - - - Controle. Cor cinza curva ajustada

Fonte: Elaborado pela autora, 2016

**Tabela 4.** Teste de média da análise de oxidação

Dias	Tratamentos		
	Controle	Extrato	BHT
4	3,493 ± 0,778 <sup>a</sup>	1,990 ± 0,048 <sup>b</sup>	2,273 ± 0,533 <sup>ab</sup>
8	2,856 ± 0,412 <sup>a</sup>	1,933 ± 0,630 <sup>a</sup>	2,526 ± 0,458 <sup>a</sup>
12	1,716 ± 0,111 <sup>a</sup>	2,496 ± 0,395 <sup>a</sup>	1,973 ± 0,569 <sup>a</sup>
16	2,456 ± 0,267 <sup>b</sup>	1,430 ± 0,589 <sup>c</sup>	3,570 ± 0,259 <sup>a</sup>

Médias seguidas de mesma letra na linha não diferem entre si estatisticamente pelo teste de Tukey ( $p \leq 0,05$ ). Dados da oxidação apresentados em mg de malonaldeído/kg amostra

Fonte: Elaborado pela autora, 2016

Observou-se que no quarto dia o filme com extrato foi efetivo, tendo diferença significativa em relação à prevenção do processo oxidativo do salaminho. No oitavo dia não apresentou diferença significativa, porém permaneceu com valores inferiores do indicador da oxidação o malonaldeído. A partir do décimo do segundo dia obtiveram-se valores maiores de malonaldeído na avaliação dos salaminhos embalados com o filme contendo extrato enquanto para os produtos embalados com o filme contendo BHT e com a embalagem controle obteve-se valores mais baixos. Como o teste de TBA quantifica o malonaldeído (MDA), um dos principais produtos de decomposição dos hidroperóxidos de ácidos graxos poliinsaturados, formado durante o processo oxidativo, o decréscimo observado no nível de oxidação lipídica observado pode ser explicado por uma decomposição dos produtos de oxidação de lipídeos secundárias e por ligação daqueles para as proteínas.

Jung et al. (2009) desenvolveram uma embalagem ativa antioxidante a base de etil vinil acetato (EVA) incorporado com microcápsulas de quitosana contendo extrato de raiz forte e observaram que a embalagem impediu a oxidação lipídica quando aplicada em carne de porco e peixes. Abreu et al. (2010) avaliaram a eficácia de uma embalagem ativa composta por polietileno de baixa densidade incorporado com antioxidantes naturais extraídos de cascas de cevada quanto ao retardamento da oxidação de lipídios em salmão do Atlântico congelado. O método de incorporação do antioxidante no filme demonstrou ser altamente eficaz na proteção de amostras de salmão contra processos oxidativos durante o armazenamento congelado. López de Dicastillo et al. (2012) avaliaram filmes ativos antioxidante aplicados em filé de sardinha. Os filmes foram produzidos pela incorporação de ácido ascórbico, ácido ferúlico, quercetina, e extrato de chá verde (5%) em um copolímero de etileno álcool vinílico (EVOH). Os filmes com extrato de chá verde foram os mais efetivos, diminuindo os valores de peróxido de 27 a 12 mEq.kg<sup>-1</sup> de gordura no quinto dia de armazenamento, e também reduzindo a concentração de malondialdeído em 25% durante o tempo de armazenamento.

Estes estudos mostram que é viável a aplicação de filmes antioxidantes em alimentos visando o aumento da estabilidade oxidativa, uma vez que estas atuam como barreira a agentes externos por apresentar substâncias com atividades antioxidantes. Além disso, conferem a migração de compostos ativos para o alimento a taxas controladas, reduzindo a quantidade de aditivos utilizados diretamente no alimento durante a armazenagem.

## CONCLUSÃO

O desenvolvimento do filme ativo antioxidante de PVA incorporado com extrato de resíduos da agroindústria cacauera foi satisfatório uma vez que o mesmo apresentou características de qualidade desejáveis.

O filme com extrato de farelo da amêndoa do cacau apresentou atividade antioxidante *in vitro*, e quando aplicado ao salaminho mantido sob refrigeração apresentou boa atividade antioxidante, podendo assim ser utilizado como filme ativo antioxidante para aplicações em embalagem de alimentos de baixa umidade a fim de prolongar a vida de prateleira, retardando os processos oxidativos.

Esta pesquisa mostra a possibilidade de uma melhor utilização do farelo da amêndoa do cacau, agregando valor aos resíduos, devido à importância dos antioxidantes, além de contribuir com a diminuição destes resíduos no meio ambiente.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AMERICAN SOCIETY FOR TESTING AND MATERIALS – ASTM. Standard Test Methods for Tensile Properties of Thin Plastic Shelling. **ASTM D882-95a**. New York, 1995.

BOLUMAR, T., ANDERSEN, M. L., ORLIEN, V. Antioxidant active packaging for chicken meat processed by high pressure treatment. **Food Chemistry**, v.129, p. 1406–1412, 2011.

BRANDELERO, R. P. H., ALMEIDA, F. M., ALFARO, A. Microestrutura e propriedades de filmes de amido-álcool polivinílico-alginato adicionados de óleos essenciais de copaíba e capim limão. **Quim. Nova**, v. 38, p. 910-916, 2015.

BYUN, Y., KIM, Y. T., WHITESIDE, S. Characterization of an antioxidant polylactic acid (PLA) film prepared with a-tocopherol, BHT and polyethylene glycol using film cast extruder. **Journal of Food Engineering**, v. 100, p. 239-244, 2010.

CARRIZO, D., TABORDA, G., NERÍN, C., BOSETTI, O. Extension of shelf life of two fatty foods using a new antioxidant multilayer packaging containing green tea extract. **Innovative Food Science and Emerging Technologies**, 2015.

DIAS, M. V. Filmes a base de quitosana incorporados com a tocoferol e montmorilinita para aplicação em embalagens funcional e antioxidante. Tese de doutorado, UFLA, 2013.

FARIA, F. O., VERCELHEZE, A. E. S., MALI, S. Propriedades físicas de filmes biodegradáveis à base de amido de mandioca, álcool polivinílico e montmorilinita. **Química Nova**, v. 35, p. 487-492, 2012.

GOMEZ-ESTACA, J., LOPEZ-DE-DICASTILLO, C., HERNANDEZ-MUNOZ, P., CATALA, R., GAVARA, R. Advances in antioxidant active food packaging. **Trends in Food Science & Technology**, v. 35, p. 42-51, 2014.

- GOMEZ-ESTACA, J., MONTERO, P., GIMENEZ, B., GOMEZ-GUILLEN, M. C. Effect of functional edible films and high pressure processing on microbial and oxidative spoilage in cold-smoked sardine (*Sardina pilchardus*). **Food Chemistry**, v. 105, p. 511–520, 2007.
- HENRIQUE C.M., CEREDA . M. P., SARMENTO S. B. S., Características físicas de filmes biodegradáveis produzidos a partir de amidos modificados de mandioca. **Ciências e Tecnologia e Alimentos**, Campinas, v. 28, 231-240, 2008.
- JAHURUL, M. H. A., ZAIDUL, I. S. M., NORULAINI, N. A. N., SAHENA, F., JINAP, S., AZMIR, J., SHARIF, K. M., MOHD OMAR, A. K. Cocoa butter fats and possibilities of substitution in food products concerning cocoa varieties, alternative sources, extraction methods, composition, and characteristics. **Journal of Food Engineering**, v. 117, p. 467–476, 2013.
- JO, H. J., PARK, K. M., NA, J. H., MIN, S. C., PARK, K. H., CHANG, P. S., HAN, J. Development of anti-insect food packaging film containing a polyvinyl alcohol and cinnamon oil emulsion at a pilot plant scale. **Journal of Stored Products Research**, v. 61, p. 114-118, 2015.
- JUNG, D. C., LEE, S. Y., YOON, J. H., HONG, K. P., KANG, Y. S., PARK, S. R., PARK, S. K., HA, S. D., KIM, G. H., BAE, D. H. Inhibition of pork and fish oxidation by a novel plastic film coated with horseradish extract. **Food Science and Technology**, v.42, p. 856–861, 2009.
- LIAN, Z., ZHANG, Y., ZHAO, Y. Nano-TiO<sub>2</sub> particles and high hydrostatic pressure treatment for improving functionality of polyvinyl alcohol and chitosan composite films and nano-TiO<sub>2</sub> migration from film matrix in food simulants. **Innovative Food Science and Emerging Technologies**, v. 33, p. 145–153, 2016.
- LICCIARDELLO, F., WITTENAUER, J., SAENGERLAUB, S., REINELT, M., STRAMM, C. Rapid assessment of the effectiveness of antioxidant active packaging— Study with grape pomace and olive leaf extracts . **Food Packaging and Shelf Life**, v. 6, p. 16, 2015.
- LOPEZ DE DICASTILLO, C., BUSTOS, F., GUARDA, A., GALOTTO, M. J. Cross-linked methyl cellulose films with murta fruit extract for antioxidant and antimicrobial active food packaging. **Food Hydrocolloids**, v. 60, p. 335-344, 2016.
- LÓPEZ DE DICASTILLO, C., GÓMEZ-ESTACA, J., CATALÁ, R., GAVARA, R., HERNÁNDEZ-MUÑOZ, P. Active antioxidant packaging films: Development and effect on lipid stability of brined sardines. **Food Chemistry**, v.131, p. 1376-1384, 2012.
- MACHADO, B. A. S., NUNES, I. L., PEREIRA, F. V., DRUZIAN, J. I. Desenvolvimento e avaliação da eficácia de filmes biodegradáveis de amido de mandioca com nanocelulose como reforço e com extrato de erva-mate como aditivo antioxidante. **Ciência Rural**, v.42, 2012.
- RAHARJO, S.; SOFOS, J.N.; SCHIMIDT, G. R. Improved speed, specificity, and limit of determination of an aqueous acid extraction thiobarbituric acid-C18 method for measuring lipid peroxidation in beef. **Journal of Agricultural Food Chemistry**, v. 40, p. 2182-2185, 1992.
- RAMOS, M., JIMÉNEZ, A., PELTZER, M., GARRIGÓS, M. C. Development of novel nanobiocomposite antioxidant films based on poly (lactic acid) and thymol for active packaging. **Food Chemistry**, v. 162, p. 149-155, 2014.

SARANTÓPOULOS, C. I. 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. **CETEA/ITAL**, 2002.

SOARES, N.F.F. **Bitterness Reduction in Citrus Juice Through Naringinase Immobilized into Polymer Film**. Ph.D. Dissertation, New York: Cornell University, 1998.

SOBRAL, P. J. A. Propriedades funcionais de biofilmes de gelatina em função da espessura. **Ciência e Engenharia**, v. 8, p. 60-67, 1999.

SOTHORNVIT, R. et al. Effect of clay content on the physical and antimicrobial properties of whey protein isolate/organo-clay composite films. **Food Science and Technology**, v. 43, p. 279-284, 2010.

SOUSA DE SÁ, P. G., GUIMARÃES, A. L., OLIVEIRA, A. P., FILHO, J. A. S., FONTANA, A. P., DAMASCENO, P. K. F., BRANCO, C. R. C., BRANCO, A., ALMEIDA, J. R. G. S. Fenóis totais, flavonoides totais e atividade antioxidante de *Selaginella convoluta* (Arn.) Spring (Selaginellaceae). **Revista de Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada**, v. 33, p. 561-566, 2012.

SOUSA, M. S. B., VIEIRA, L. M., LIMA, A. Fenólicos totais e capacidade antioxidante *in vitro* de resíduos de polpas de frutas tropicais. **Brazilian Journal Food Technology**, v. 14, p. 202-210, 2011.

TYMOSZCZYK, K. M. The effect of antioxidants, packaging type and frozen storage time on the quality of cooked turkey meatballs. **Food Chemistry**, v. 148, p. 276–283, 2014.

UGALDE, M. L. Biofilmes ativos com incorporação de óleos essenciais. Tese de doutorado, URI, 2014.

WORANUCH, S., YOKSAN, R., AKASHI, M. Ferulic acid-coupled chitosan: Thermal stability and utilization as antioxidant for biodegradable active packaging film. **Carbohydrate Polymers**, v. 115, p. 744-751, 2015.

YANG, H., LEE, J., WON, M., CANÇÃO, K. B. Atividades antioxidantes do destilador grãos secos com solúveis como filmes de proteínas que contêm extratos de chá e sua aplicação na embalagem de carne suína. **Química Alimentar**, v. 196, p. 174-179, 2016.

#### **IV - CONCLUSÃO GERAL**

O presente trabalho tem um caráter inovador existindo a possibilidade de patenteamento desse desenvolvimento para uso em produtos alimentícios. No entanto, não é um estudo conclusivo quanto ao desenvolvimento de filmes antioxidantes utilizando extrato do farelo da amêndoa de cacau. Apresenta resultados que podem ser utilizados em estudos futuros que visem à otimização das características do filme, assim como o impacto na utilização em alimentos podendo fazer, por exemplo, uma análise sensorial.

Em geral os resíduos da agroindústria cacaeira são descartados e avaliando as características das amêndoas acredita-se que seus resíduos possam ter propriedades semelhantes. Desta forma o aproveitamento destes resíduos para a obtenção de compostos antioxidantes abre uma nova possibilidade e é uma alternativa para agregar valor a essa cadeia produtiva.

Esse estudo pode auxiliar indústrias de embalagens para a produção de embalagens ativas contendo antioxidantes auxiliando a preservação da conservação do alimento, aumentando assim o interesse da utilização de antioxidantes naturais pelas indústrias.