



UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO
CENTRO DE TECNOLOGIA E GEOCIÊNCIAS
DEPARTAMENTO DE ENGENHARIA QUÍMICA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA QUÍMICA

GLÊCE MILENE SANTANA GOMES

**DESENVOLVIMENTO DE UM FILME COM PROPRIEDADES ATIVAS À BASE
DE FÉCULA DE ARARUTA E EXTRATO ETANÓLICO DE PRÓPOLIS VERDE**

Recife
2019

GLÊCE MILENE SANTANA GOMES

**DESENVOLVIMENTO DE UM FILME COM PROPRIEDADES ATIVAS À BASE
DE FÉCULA DE ARARUTA E EXTRATO ETANÓLICO DE PRÓPOLIS VERDE**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Engenharia Química do Centro de Tecnologia e Geociências da Universidade Federal de Pernambuco, como parte dos requisitos parciais à obtenção do título de Doutora em Engenharia Química.

Área de concentração: Engenharia de Processos Químicos e Bioquímicos.

Orientadora: Prof^a. Dr^a. Yêda Medeiros Bastos de Almeida.

Coorientadora: Prof^a. Dr^a. Glória Maria Vinhas.

Recife

2019

Catálogo na fonte
Bibliotecária Margareth Malta, CRB-4 / 1198

G633d Gomes, Glêce Milene Santana.
Desenvolvimento de um filme com propriedades ativas à base de fécula de araruta e extrato etanólico de própolis verde / Glêce Milene Santana Gomes. – 2019.
139 folhas, il., gráfs., tabs.

Orientadora: Profa. Dra. Yêda Medeiros Bastos de Almeida.
Coorientadora: Profa. Dra. Glória Maria Vinhas.
Tese (Doutorado) – Universidade Federal de Pernambuco. CTG. Programa de Pós-Graduação em Engenharia Química, 2019.
Inclui Referências e Apêndices.

1. Engenharia Química. 2. Bioplástico. 3. Matriz polimérica. 4. Atividade antioxidante. 5. Atividade antimicrobiana. 6. Embalagens ativas.
I. Almeida, Yêda Medeiros Bastos de. (Orientadora). II. Vinhas, Glória Maria. (Coorientadora). III. Título.

UFPE

660.2 CDD (22. ed.)

BCTG/2019-340

GLÊCE MILENE SANTANA GOMES

**DESENVOLVIMENTO DE UM FILME COM PROPRIEDADES ATIVAS À BASE
DE FÉCULA DE ARARUTA E EXTRATO ETANÓLICO DE PRÓPOLIS VERDE**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Engenharia Química do Centro de Tecnologia e Geociências da Universidade Federal de Pernambuco, como parte dos requisitos parciais à obtenção do título de Doutora em Engenharia Química.

Aprovada em: 13/06/2019.

BANCA EXAMINADORA

Prof^a. Dr^a. Yêda Medeiros Bastos de Almeida (Orientadora)
Universidade Federal de Pernambuco

Prof. Dr. Nelson Medeiros de Lima Filho (Examinador Interno)
Universidade Federal de Pernambuco

Prof. Dr. Marcos Ghislandi (Examinador Interno)
Universidade Federal Rural de Pernambuco

Prof. Dr^a. Samara Alvachian Cardoso (Examinadora Externa)
Universidade Federal de Pernambuco

Prof^a. Dr^a. Kátia Aparecida da Silva (Examinadora Externa)
Universidade Federal de Pernambuco

Prof^a. Dr^a. Keila Aparecida Moreira (Examinadora Externa)
Universidade Federal Rural de Pernambuco

Aos meus pais, que doam o seu melhor por mim; às minhas irmãs, que me inspiram; aos meus sobrinhos amados; e à minha psicóloga, que caminhou ao meu lado.

AGRADECIMENTOS

A Deus, por me fortalecer nessa caminhada de doutoramento, amparando-me nas situações difíceis através de pessoas que se fizeram anjos nos momentos oportunos.

À minha família, minha mãe, Dida, meu pai, Orlando, minhas irmãs, Mili e Cristina, meus sobrinhos, Juninho e Artur, por todo seu amor, apoio, incentivo, generosidade, respeito...

À minha irmã do coração, Dani, e amiga, Iris, que caminharam ao meu lado, desde o início dessa jornada, quando precisei procurar um lugar para ficar em Recife, durante as discussões sobre a pesquisa e a elaboração da tese. Obrigada pela amizade e pelas experiências compartilhadas.

Aos meus amigos, que escolhi como família em Garanhuns, Vivi, Vini, Beto, Raquel e Robson, pela amizade e companheirismo.

À minha psicóloga, Marta, a qual chamo carinhosamente de “cigana”, pelo seu belo trabalho realizado, o qual me possibilitou chegar ao final dessa caminhada com saúde emocional, com o meu “eu” fortalecido, e viver com leveza. “A vida é uma festa!”.

Aos amigos Rúbner, Luciene, Luciana e Calila, que se fizeram presentes com palavras de incentivo, conforto, fé, persistência, conhecimento científico, fundamentais para a realização deste trabalho.

Às novas amizades: Cata e Alana, ambas me acolheram em seus lares; Alê e Moniquete, amigas na alegria e na tristeza; Michele, Sônia e Ivo, amigos que se doaram durante a realização do experimento e da tese; Fatinha, pelas conversas durante o cafezinho adoçado com carinho.

Ao Programa de Pós-Graduação em Engenharia Química, em especial à Priscila, sempre solícita e empenhada a auxiliar os pós-graduandos.

Às minhas orientadoras, Yêda e Glória, pessoas e professoras admiráveis, exemplos de profissionalismo. Agradeço pelo apoio, conhecimentos compartilhados, respeito e atenção.

À professora Keila e ao Laboratório de Biotecnologia (Centro Laboratorial de Apoio à Pesquisa da Unidade Acadêmica de Garanhuns – CENLAG), pelo espaço, equipamentos e reagentes fornecidos; ao professor Marcelo Metri, pela disponibilidade de tempo e por conceder-me o Difratoograma de Raios-X; à professora Suzana e ao Laboratório de Análise de

Alimentos (Laboratório Multiusuário de Ciência e Tecnologia de Alimentos – LACTAL), pela liberação de equipamentos; à técnica Wilki, pelo tempo dedicado e pelo agendamento do uso da estufa do Laboratório de Ensino de Biologia Vegetal, sempre que necessário; à técnica Isabele, pela disponibilidade de tempo, materiais e equipamentos do Laboratório de Ensino de Biologia Animal; à professora Beth, por viabilizar o uso do Laboratório de Microbiologia – CENLAG. Os laboratórios citados pertencem à Universidade Federal Rural de Pernambuco, especificamente à Unidade Acadêmica de Garanhuns, localizada na cidade de Garanhuns-PE.

Ao Laboratório de Materiais Poliméricos e Caracterização – DEQ, ao Laboratório de Bioprocessos – DEQ, ao Laboratório de Análise de Combustíveis – LAC, à Central Analítica – DQF, ao Laboratório Gamalab – DEN e ao Laboratório de Polímeros e Nanoestruturas – DEN, pertencentes à Universidade Federal de Pernambuco.

Ao professor Elmo, do Departamento de Energia Nuclear, pela assistência, atenção e conhecimentos compartilhados.

Meus sinceros agradecimentos a todos aqueles que contribuíram de alguma forma para a finalização desse ciclo, o qual me trouxe experiências de crescimento profissional e acadêmico e, sobretudo, de evolução como pessoa.

RESUMO

Filmes de amido são bioplásticos biodegradáveis, podendo conter compostos bioativos – geralmente fenólicos, de extratos naturais –, os quais são responsáveis por conferir àqueles propriedades ativas, tais como, atividade antioxidante e atividade antimicrobiana. O desenvolvimento deste trabalho teve como objetivo obter filmes com propriedades ativas à base de fécula de araruta aditivados com extrato etanólico de própolis verde. Os filmes preparados por *Solution Casting* foram avaliados em função da concentração de extrato (3%, 10% e 20%, m/m de araruta) e codificados, respectivamente, FA3%EP, FA10%EP e FA20%EP. O filme que não continha extrato, FA, foi empregado como referência. A caracterização dos filmes procedeu-se através das propriedades físicas, térmicas, mecânicas, ópticas, de solubilidade em água, de permeabilidade ao vapor de água (PVA) e da determinação das atividades antioxidante e antimicrobiana. A formulação dos filmes, selecionada com base nos resultados das atividades antioxidante e antimicrobiana, seguiu para etapa posterior, a fim de ser avaliada quanto ao efeito da radiação gama (5-50 kGy). Conforme os resultados obtidos na primeira etapa, a concentração de extrato de própolis afetou a composição química e as propriedades dos filmes de araruta. O efeito plastificante do extrato de própolis foi confirmado pela redução da cristalinidade residual e do módulo de elasticidade dos filmes de araruta aditivados com 20% de extrato. O teor de flavonoides e fenólicos totais apresentados pelos filmes de araruta foi proporcional à concentração de extrato. Esses compostos reduziram a solubilidade em água dos filmes aditivados com extrato de própolis, entretanto, mantiveram inalterada a PVA. Ademais, a presença dos flavonoides e fenólicos, nos filmes de araruta aditivados com 10% e 20% de extrato, conferiu-lhes atividade antioxidante e antimicrobiana frente à *Staphylococcus aureus* e a formulação com 10% de extrato foi selecionada e submetida à irradiação gama. Quanto aos resultados da segunda etapa, estes demonstraram o efeito da radiação gama sobre as propriedades dos filmes de araruta mediante redução da viscosidade intrínseca e das massas moleculares médias viscosimétricas, para os filmes FA e FA10%EP. Todavia, os filmes FA10%EP, irradiados na dose 5 kGy, apresentaram alterações minimizadas. Independente da composição dos filmes de araruta, a radiação gama os tornou mais amorfos, menos resistentes à tração, com uma estrutura menos rígida e mais flexível, exceto os filmes FA10%EP irradiados na dose 25 kGy. Os filmes FA10%EP irradiados foram mais estáveis termicamente, de forma que esta estabilidade foi atribuída à presença do extrato de própolis na matriz polimérica. Observou-se também que a radiação gama causou amarelecimento dos filmes FA e desbotamento dos

filmes FA10%EP. Por fim, a bioatividade e a proteção radiolítica dos filmes de araruta aditivados com extrato de própolis foram atribuídas aos flavonoides e compostos fenólicos. Nesse sentido, os filmes de araruta aditivados com extrato de própolis podem ser aplicados ao desenvolvimento de embalagens ativas e esterilizadas à radiação gama.

Palavras-chave: Bioplástico. Matriz polimérica. Atividade antioxidante. Atividade antimicrobiana. Embalagens ativas.

ABSTRACT

Starch films are biodegradable bioplastics and may contain bioactive compounds – usually phenolic, from natural extracts - which are responsible for conferring properties such as antioxidant and antimicrobial activities. The development of this work has had the objective to obtain films with active properties based on starch of arrowroot added with ethanolic extract of green propolis. The films prepared by Solution Casting were evaluated according to the concentration of extract (3%, 10% and 20%, m/m of arrowroot) and encoded, respectively, FA3% EP, FA10% EP and FA20% EP. The film that did not contain extract, FA, was used as reference. The films were characterized by their physical, thermal, mechanical and optical features, their water solubility, water vapour permeability (PVA) and antioxidant and antimicrobial activity determination. The formulation of the films, which was done based on the results of the antioxidant and antimicrobial activities, was taken to a later stage in order to evaluate the effect of gamma radiation (5-50 kGy). According to the results obtained in the first stage, the concentration of propolis extract affected the chemical composition and properties of arrowroot films. The plasticizing effect of the propolis extract was confirmed by the reduction of the residual crystallinity and the modulus of elasticity in arrowroot films added by 20% of extract. The percentage of flavonoids and phenolic totals shown by arrowroot films were proportional to the extract concentration. These compounds reduced the solubility in water of the films added with propolis extract, however, they kept the PVA unchanged. In addition, the presence of flavonoids and phenolics in the films of arrowroot added with 10% and 20% of extract, gave them antioxidant and antimicrobial activity against *Staphylococcus aureus* and the formulation with a 10% extract was selected and submitted to gamma radiation. As for the results of the second stage, they demonstrated the effect of gamma radiation on the properties of arrowroot films by reducing the intrinsic viscosity and the average viscosimetric molecular masses for the FA and FA10% EP films. However, FA10% EP films, irradiated at the dosage 5 kGy, showed minimized changes. Regardless of the composition of arrowroot films, gamma radiation made them more amorphous, less resistant to traction, with a less rigid and more flexible structure, except FA10% EP films irradiated at a dosage 25 kGy. The FA10% EP films irradiated were more thermally stable, so that this stability was thought to be due to the presence of the propolis extract in the polymer matrix. It was also observed that the gamma radiation caused yellowing in the FA films and fading in the FA10% EP films. Finally, the bioactivity and radiolytic protection of arrowroot films added with propolis extract were thought to happen because of

flavonoids and phenolic compounds. In this sense, the arrowroot films added with propolis extract can be applied in the development of bioactive packages and sterilized by gamma radiation.

Keywords: Bioplastic. Polymer matrix. Antioxidant activity. Antimicrobial activity. Active packages.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 –	Estrutura química e representação esquemática: (a) amilose e (b) amilopectina.....	28
Figura 2 –	Esquema de gelatinização e retrogradação do amido: (a) amido no estado nativo; (b) amido gelatinizado após hidratação e aquecimento; (c) rearranjo das moléculas de amilose durante o resfriamento do gel; e (d) retrogradação do amido com o tempo de armazenamento.....	30
Figura 3 –	Rizoma da araruta.....	31
Figura 4 –	Estrutura química Artepillin C (ácido 3,5 diprenil-4-hidroxicinâmico) própolis verde	38
Figura 5 –	O logotipo internacional RADURA do Codex Alimentarius.....	41
Figura 6 –	Duplas hélices de amilose e das quatro moléculas de água (como pontos negros) em uma célula unitária	54
Figura 7 –	Difratograma de raios-X descritivo do método de determinação da cristalinidade, adaptado à razão das intensidades difratadas	55
Figura 8 –	Espectros correspondentes às cores.....	61
Figura 9 –	(a) Coordenadas de identificação de cor do espaço $L^*a^*b^*$; e (b) Diagrama de tonalidade e saturação do espaço colorimétrico $L^*C^*h^\circ$	61
Figura 10 –	Fluxograma de preparação dos filmes de araruta	68
Figura 11 –	Análise de solubilidade em água dos filmes de araruta aditivados com extrato de própolis	75
Figura 12 –	(a) Esquema de célula coberta com o filme empregada na análise da PVA; e (b) Amostras durante as análises da PVA.....	76
Figura 13 –	Filme de araruta contendo 3% de extrato de própolis: (a) retirado do suporte após secagem; e (b) amostras empregadas na análise da PVA.....	80
Figura 14 –	Espectro FTIR da araruta.....	81
Figura 15 –	Espectro FTIR-ATR do extrato de própolis.....	82
Figura 16 –	Espectros FTIR-ATR dos filmes de araruta aditivados com extrato de própolis.....	83

Figura 17 –	Gráfico dos <i>scores</i> da PCA dos espectros FTIR dos filmes de araruta aditivados com extrato de própolis.....	84
Figura 18 –	Gráfico dos <i>loadings</i> para primeira componente principal – PC1..	85
Figura 19 –	Gráfico dos <i>loadings</i> para segunda componente principal – PC2..	86
Figura 20 –	Difratograma de raios-X da araruta.....	90
Figura 21 –	Difratograma de raios-X dos filmes de araruta aditivados com extrato de própolis.....	91
Figura 22 –	Curva da análise termogravimétrica (TGA) e derivada correspondente (DTG) da araruta.....	93
Figura 23 –	Curva da análise termogravimétrica (TGA) e derivada correspondente (DTG) da glicerina.....	94
Figura 24 –	Degradação térmica dos filmes de araruta aditivados com extrato de própolis: (a) curva da análise termogravimétrica – TGA; e (b) derivada correspondente – DTG.....	95
Figura 25 –	Placas de contagem de <i>Staphylococcus aureus</i> após 24 horas de contato com filmes de araruta aditivados com extrato de própolis.	103
Figura 26 –	Representação gráfica da viscosidade reduzida em função da concentração para determinação da constante de Huggins: (FA) filme de araruta, (FA10%EP) filme de araruta aditivado com 10% de extrato de própolis.....	107
Figura 27 –	Índice de degradação do filme de araruta (FA) e filme de araruta aditivados com 10% de extrato de própolis (FA10%EP) em função da dose de irradiação.....	109
Figura 28 –	Difratograma de raios-X dos filmes de araruta (FA) e filmes de araruta aditivados com 10% de extrato de própolis (FA10%EP).....	112
Figura 29 –	Curva da análise termogravimétrica-TGA e derivada correspondente-DTG dos filmes de araruta irradiados (FA) e filmes de araruta aditivados com 10% extrato de própolis (FA10%EP).....	114

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 –	Formulações dos filmes de araruta com base na concentração de extrato de própolis.....	68
Tabela 2 –	Espessura e umidade dos filmes de araruta aditivados com extrato de própolis.....	79
Tabela 3 –	Teor de flavonoides e fenólicos totais dos filmes de araruta aditivados com extrato de própolis.....	87
Tabela 4 –	Atividade antioxidante dos filmes de araruta aditivados com extrato de própolis.....	88
Tabela 5 –	Cristalinidade dos filmes de araruta aditivados com extrato de própolis	92
Tabela 6 –	Temperaturas de início (T_{onset}), de final (T_{offset}) e de máxima ($T_{máx}$) da araruta e glicerina durante análise termogravimétrica	94
Tabela 7 –	Temperaturas de início (T_{onset}), de final (T_{offset}) e de máxima ($T_{máx}$) dos filmes de araruta aditivados com extrato de própolis durante análise termogravimétrica.....	96
Tabela 8 –	Percentual de perda de massa dos filmes de araruta aditivados com extrato de própolis	97
Tabela 9 –	Propriedades mecânicas dos filmes de araruta aditivados com extrato de própolis.....	98
Tabela 10 –	Propriedades ópticas dos filmes de araruta aditivados com extrato de própolis.....	100
Tabela 11 –	Resultados da análise de solubilidade em água e PVA dos filmes de araruta aditivados com extrato de própolis.....	102
Tabela 12 –	Contagem de <i>S. aureus</i> após 24 horas de contato com os filmes de araruta aditivados com extrato de própolis.....	104
Tabela 13 –	Viscosidade intrínseca $[\eta]$ e massa molar média viscosimétrica (M_v) dos filmes de araruta (FA) e filmes de araruta aditivados com 10% de extrato de própolis (FA10%EP).....	108
Tabela 14 –	Teor de flavonoides, fenólicos totais e atividade antioxidante dos filmes de araruta aditivados com 10% de extrato de própolis (FA10%EP).....	110

Tabela 15 –	Cristalinidade dos filmes de araruta (FA) e filmes de araruta aditivados com 10% de extrato de própolis (FA10%EP).....	113
Tabela 16 –	Temperaturas de degradação térmica dos filmes de araruta (FA) e filmes de araruta aditivados com 10% (m/m) de extrato de própolis (FA10%EP).....	115
Tabela 17 –	Propriedades mecânica dos filmes de araruta (FA) e filmes de araruta contendo 10% de extrato de própolis (FA10%EP).....	117
Tabela 18 –	Coordenadas de cor L^* , a^* , b^* , diferença de cor (ΔE_{ab}^*), diferença de saturação (ΔC_{ab}^*) e diferença de tonalidade (ΔH_{ab}^*) em filmes de araruta (FA) e filmes de araruta aditivados com 10% de extrato de própolis (FA10%EP).....	119

LISTA ABREVIATURAS E SIGLAS

A	Área
A e B	Média do número de células viáveis
Abs	Absorbância
ABTS ^{•+}	Radical catiônico 2,2'-azino-bis [3-etilbenzotiazolina-6-sulfônico]
ATR	Refletância total atenuada
C	Concentração de permeante ou solução polimérica
C _n	Número médio de colônias
D	Coeficiente de difusão
d	Razão de diluição
DPPH [•]	Radical livre 2, 2-difenil-1-picrilhidrazilo
DRX	Difratometria de raios-X
DTG	Derivada da curva termogravimétrica
EHA	2-Etilhexil acrilato
G	Massa
HMPC	Hidroxipropilmetilcelulose
J	Fluxo difusivo do permeante
KBr	Brometo de potássio
M	Massa molar
n	Número de moléculas
NaBr	Brometo de sódio
N _c	Número de células viáveis
P	Coeficiente de permeabilidade
p	Pressão parcial do permeante
P ₀	Pressão de vapor da água
PBAT	Poli (butileno adipato co-tereftalato)
PCL	Policaprolactona
PHA	Poli-hidroxialcanoatos
PHB	Poli-hidroxibutirato
PHB-PHV	Poli-hidroxibutirato-poli-hidroxivalerato
PLA	Poli (ácido lático)
PVA	Permeabilidade ao vapor de água
Q	Quantidade do permeante
S	Coeficiente de solubilidade
t	Tempo
T	Transmitância
T _c	Temperatura de cristalização
T _g	Temperatura de transição vítrea
T _m	Temperatura de fusão
TG	Termogravimetria
TGA	Análise termogravimétrica
TSB	Caldo soja tripticaseína
UR	Umidade relativa
V	Volume
x	Espessura
ΔH _{gel}	Entalpia de gelatinização

LISTA DE SÍMBOLOS

α	Constante dependente do sistema polímero-solvente-temperatura
σ	Resistência à tração
F	Força
E	Elongação
ε	Deformação
L	Comprimento
Y	Módulo de elástico
L*	Luminosidade
a*	Coordenada de cor que varia do vermelho ao verde
b*	Coordenada de cor que varia do amarelo ao azul
h°	Tonalidade ou ângulo de matiz
C*	Saturação ou croma
ΔE	Diferença de cor
ΔC^*	Diferença de saturação
ΔH	Diferença de tonalidade
R●	Radical livre
ArOH ^{+•}	Radical cátion
ArO●	Radical oxidado
R ⁻	Espécie energeticamente estável
RH	Espécies não reativas
η	Viscosidade
K _H	Constante de Huggins
Γ	Função gama

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	20
2	REVISÃO DE LITERATURA	23
2.1	BIOPLÁSTICOS	23
2.2	AMIDO	28
2.2.1	Filmes de amido	33
2.3	EMBALAGENS ATIVAS	35
2.3.1	Própolis	36
2.4	RADIAÇÃO IONIZANTE	39
2.4.1	Esterilização por radiação gama	40
2.4.2	Efeito da radiação gama em materiais poliméricos	42
2.5	CARACTERIZAÇÃO DOS FILMES	44
2.5.1	Espectroscopia de absorção no infravermelho com transformada de Fourier (FTIR)	44
2.5.2	Propriedades ativas	47
2.5.2.1	Atividade antioxidante dos compostos fenólicos	47
2.5.2.2	Atividade antimicrobiana dos compostos fenólicos	50
2.5.3	Massa molar dos polímeros	51
2.5.4	Difratometria de raios-X	53
2.5.5	Termogravimetria (TG)	56
2.5.6	Propriedades mecânicas	58
2.5.7	Propriedades ópticas	59
2.5.7.1	Medidas de cor	60
2.5.7.2	Transparência	63
2.5.8	Solubilidade em água	64
2.5.9	Permeabilidade ao vapor de água (PVA)	64
3	MATERIAIS E MÉTODOS	67
3.1	MATERIAIS	67
3.2	MÉTODOS	67
3.2.1	Preparação dos filmes de araruta	67

3.2.2	Análises das matérias-primas	69
3.2.2.1	Espectroscopia de infravermelho com transformada de Fourier (FTIR)	69
3.2.2.2	Determinação de flavonoides	70
3.2.2.3	Determinação de fenólicos totais	70
3.2.2.4	Atividade antioxidante	70
3.2.2.5	Análise por difratometria de raios-X (DRX)	71
3.2.2.6	Análise termogravimétrica (TGA)	72
3.2.3	Caracterização dos filmes de araruta	72
3.2.3.1	Análise por espectroscopia de infravermelho com transformada de Fourier (FTIR)	72
3.2.3.2	Determinação de flavonoides, fenólicos totais e atividade antioxidante	72
3.2.3.3	Atividade antimicrobiana	73
3.2.3.4	Análise por difratometria de raios-X (DRX)	74
3.2.3.5	Análise termogravimétrica (TGA)	74
3.2.3.6	Análise das propriedades mecânicas	74
3.2.3.7	Análise de cor	75
3.2.3.8	Análise de transparência	75
3.2.3.9	Análise de solubilidade em água	75
3.2.3.10	Análise de permeabilidade ao vapor de água (PVA)	76
3.2.4	Irradiação dos filmes	77
3.2.5	Caracterização dos filmes irradiados	77
3.2.5.1	Análises viscosimétricas	77
3.2.6	Análise estatística	78
4	RESULTADOS E DISCUSSÃO	79
4.1	ASPECTOS GERAIS DOS FILMES DE ARARUTA	79
4.2	CARACTERIZAÇÃO DAS MATÉRIAS-PRIMAS E DOS FILMES DE ARARUTA	80
4.2.1	Análise por espectroscopia de infravermelho com transformada de Fourier (FTIR)	80
4.2.2	Determinação de flavonoides e fenólicos totais	86

4.2.3	Atividade antioxidante	87
4.2.4	Análise por difratometria de raios-X (DRX)	89
4.2.5	Análise termogravimétrica (TGA)	92
4.2.6	Propriedades mecânicas	98
4.2.7	Propriedades ópticas	99
4.2.8	Análise da solubilidade em água e da permeabilidade ao vapor de água (PVA)	101
4.2.9	Atividade antimicrobiana	103
4.3	CARACTERIZAÇÃO DOS FILMES DE ARARUTA IRRADIADOS	105
4.3.1	Análises viscosimétricas	105
4.3.2	Determinação de flavonoides, fenólicos totais e atividade antioxidante ...	109
4.3.3	Análise por difratometria de raios-X (DRX)	111
4.3.4	Análise termogravimétrica (TGA)	113
4.3.5	Propriedades mecânicas	116
4.3.6	Análise de cor	118
5	CONCLUSÕES	122
6	PERSPECTIVAS	123
	REFERÊNCIAS	124
	APÊNDICE A – FICHA TÉCNICA DO EXTRATO DE PRÓPOLIS DOADO PELO FORNECEDOR	136
	APÊNDICE B – DIFRATOGRAMA DA ARARUTA EMPREGADO NA EXTRAÇÃO DAS ÁREAS UTILIZADAS NO CÁLCULO DA CRISTALINIDADE	137
	APÊNDICE C – REPRESENTAÇÃO GRÁFICA DO INVERSO DA MASSA MOLAR MÉDIA VISCOSIMÉTRICA EM FUNÇÃO DA DOSE DE IRRADIAÇÃO	138
	APÊNDICE D – CURVA PADRÃO DE QUERCETINA PARA DETERMINAÇÃO DO TEOR DE FLAVONOIDES	139

1 INTRODUÇÃO

O uso de plásticos, oriundos dos recursos fósseis para produção de embalagens, contribuiu de forma negativa aos impactos ambientais. Considerando ainda que o petróleo é um recurso não renovável, a comunidade científica tem despertado interesse para produzir embalagens a partir dos recursos renováveis. Estes, por sua vez, dão origem aos plásticos biodegradáveis, ou seja, materiais passíveis de degradação biológica, resultando em resíduos inócuos ao meio ambiente, tais como água, gás carbônico e biomassa (AWADHIYA; KUMAR; VERMA, 2017; LUCAS et al., 2008; PEREZ-PUYANA et al., 2017).

Os plásticos biodegradáveis, também denominados de bioplásticos, são obtidos de polímeros renováveis (biopolímeros) de origem natural ou sintética. Dentre os bioplásticos, os mais estudados são aqueles obtidos de biomassa (amido, pectina, quitosana, gelatina), produzidos por fermentação microbiana (os poli-hidroxicarboxilatos e poli-hidroxibutiratos) e sintetizados quimicamente poli (ácido lático). Os biopolímeros comumente apresentam biocompatibilidade, biodegradabilidade, não toxicidade, características de interesse nas áreas médicas e/ou farmacêuticas e de alimentos (FONSECA-SANTOS; CHORILLI, 2017).

Os bioplásticos de amido são conhecidos como material verde. A abundância, o baixo custo, a capacidade para funcionar como um termoplástico e formar uma matriz contínua fazem do amido um biopolímero bastante investigado para a produção de filmes. Os filmes de amido são inodoros, insípidos, transparentes, comestíveis e apresentam boa barreira aos gases e aromas. Durante a preparação de filmes de amido, é comum o uso de plastificantes, principalmente o glicerol, um poliol capaz de torna-los mais flexíveis (JIMÉNEZ et al., 2012; MALI; GROSSMANN; YAMASHITA, 2010).

O desenvolvimento de filmes de amido pode ser realizado a partir de fontes de diferentes origens botânicas, os amidos mais comuns compreendem os de mandioca (MEDINA- JARAMILLO et al., 2016; PIÑEROS-HERNANDEZ et al., 2017) e de milho (CHANG-BRAVO; LÓPEZ-CÓRDOBA; MARTINO, 2014; WU et al., 2010), pois são consideradas como fontes de maior exploração comercial. Entretanto, outras matérias-primas incomuns à extração de amido são objeto de estudo para a elaboração de filmes, como por exemplo, o amido de pinhão (DAUDT, 2016), de ervilha (SABERI et al., 2016) e de araruta (NOGUEIRA; FAKHOURI; DE OLIVEIRA, 2018; SENHORINHO, 2014). A araruta, uma hortaliça “não convencional”, produz uma fécula de boa qualidade e de cor clara (LEONEL; CEREDA, 2002) que pode ser aplicada na produção de alimentos e de filmes poliméricos destinados ao desenvolvimento de embalagens.

A embalagem tem como principais funções conter, proteger, facilitar o transporte e o manuseio do produto e, ainda, informar ao consumidor acerca do produto acondicionado. Uma nova função pode ser desempenhada pela embalagem, a de interagir com alimento de modo intencional garantindo a integridade do produto durante o período de armazenamento. Em razão de sua aplicabilidade, ela é conceituada como embalagem ativa (CORRALES; FERNANDEZ; HAN, 2014).

É comum as embalagens ativas desempenharem funções antimicrobianas e/ou antioxidantes para prolongar a vida de prateleira do alimento, para tanto, têm sido empregados aditivos sintéticos. A comunidade científica tem comprovado os efeitos adversos à saúde humana sobre o consumo excessivo desses aditivos (AZNAR, et al., 2016; KECHICHIAN et al., 2010; MOURE et al., 2001). Por isso, os consumidores têm exigido a substituição dos aditivos sintéticos por componentes naturais.

Os extratos naturais e óleos essenciais, ricos em compostos fenólicos, são empregados como substitutos dos aditivos sintéticos no desenvolvimento de embalagens ativas. Os compostos fenólicos são responsáveis pela atividade biológica dos extratos naturais, principalmente a atividade antioxidante e antimicrobiana (PIÑEROS-HERNANDEZ et al., 2017; SIRIPATRAWAN; VITCHAYAKITTI, 2016).

O extrato etanólico de própolis é um derivado apícola, cuja composição química apresenta compostos fenólicos que justifica sua aplicação para a elaboração de filmes com propriedades ativas. A presença dos compostos fenólicos na estrutura polimérica dos filmes, destinados à produção de embalagens ativas, faz delas um potente método de conservação de alimentos. É interessante ressaltar que a preservação do alimento é alcançada de forma mais efetiva quando mais de um método de conservação é empregado.

Associada ao uso de embalagens, a irradiação gama é uma prática comum na indústria alimentícia como um método padrão de esterilização de embalagens plásticas. As principais vantagens desse método para a produção de alimentos irradiados compreendem: evitar a contaminação pós-envase, considerando que o produto pode ser irradiado após o acondicionamento; preservar os constituintes dos alimentos sensíveis ao calor, uma vez que se trata de um método não-térmico (EHLERMANN, 2009; FARKAS; EHLERMANN; MOHÁCSI-FARKAS, 2014; HAJI-SAEID; SAMPA; CHMIELEWSKI, 2007). Por outro lado, a irradiação pode alterar a estrutura polimérica da embalagem, o que pode influenciar na sua função de proteger o produto e comprometer a qualidade do alimento.

Nesse contexto, o desenvolvimento deste trabalho tem como objetivo geral obter filmes bioativos à base de fécula de araruta aditivados com extrato etanólico de própolis

verde. Dentre os objetivos específicos, podem ser destacados: caracterizar as propriedades físicas, térmicas, mecânicas, ópticas, solubilidade em água, permeabilidade ao vapor de água e determinar a atividade antioxidante e antimicrobiana dos filmes em função da concentração de extrato; selecionar a melhor formulação do filme quanto à composição para submeter ao tratamento por irradiação gama; e avaliar os filmes irradiados quanto às propriedades físicas, térmicas, mecânicas, ópticas e atividade antioxidante.

A pesquisa foi realizada em duas etapas distintas. A primeira teve como foco de estudo avaliar os filmes em função da concentração de extrato etanólico de própolis verde. Já a segunda etapa foi compreendida pelos estudos que avaliaram o efeito da dose empregada de radiação gama nos filmes selecionados na primeira etapa.

2 REVISÃO DE LITERATURA

Nesse capítulo, será apresentado o estado da arte pertinente ao desenvolvimento da pesquisa. Nessa parte do trabalho, haverá cinco seções nas quais serão abordados os bioplásticos, o amido, as embalagens ativas, a radiação ionizante e a caracterização dos filmes. Cada seção será detalhada em novas subseções.

2.1 BIOPLÁSTICOS

Os plásticos derivados do petróleo são amplamente utilizados e podem ser considerados uns dos principais responsáveis pela poluição ambiental. Todos os dias, esses materiais se transformam em resíduos sólidos dispostos de forma inadequada na natureza e causam prejuízos ao solo, aos animais, aos rios e aos mares.

Com o intuito de preservar os recursos naturais e reduzir o impacto ambiental, pesquisadores têm buscado desenvolver plásticos a partir de recursos renováveis e biodegradáveis. Esses plásticos são obtidos na forma de filmes e/ou revestimentos comestíveis (AWADHIYA; KUMAR; VERMA, 2017; DAUDT et al., 2016; MEDINA-JARAMILLO et al., 2016; PEREZ-PUYANA et al., 2017; PIÑEROS-HERNANDEZ et al., 2017).

No presente estudo, os plásticos referem-se aos materiais produzidos a partir de polímeros biodegradáveis e/ou macromoléculas naturais, que também são conhecidos como bioplásticos. A característica biodegradável dos bioplásticos corresponde à capacidade que esse material apresenta de ser modificado por meio da atividade biológica (AHMED et al., 2017; DANNENBERG et al., 2017; MOGOŞANU; GRUMEZESCU, 2014).

Segundo Lucas et al. (2008), a biodegradação de polímeros compreende três etapas: (1) biodeterioração, que consiste na degradação superficial responsável por modificar as propriedades mecânicas, físicas e químicas de um determinado material; (2) biofragmentação, que corresponde ao fenômeno, via reação enzimática e/ou oxidativa, que converte os polímeros/macromoléculas em moléculas menores, oligômeros e monômeros, os quais serão consumidos na próxima etapa; e (3) assimilação, etapa em que os microrganismos utilizam os monômeros/moléculas menores, como fonte de carbono e nutrientes necessários ao seu metabolismo e desenvolvimento celular, e os convertem em CO₂, água e biomassa, via metabolismo aeróbico.

Os polímeros biodegradáveis ou biopolímeros são classificados quanto à fonte, renovável e não renovável (AVEROUS; BOQUILLON, 2004; BORDES; POLLET;

AVÉROUS, 2009; OTHMAN, 2014). Dentre as características apresentadas pelos biopolímeros, a biodegradabilidade é a característica mais atrativa para aplicação industrial, principalmente para elaboração de filmes que se caracterizam como bioplásticos. É interessante salientar que esses plásticos obtidos de fontes renováveis, tais como amido, gelatina, pectina, entre outros, são comestíveis e, por isso, a indústria de alimentos tem despertado grande interesse pela sua aplicação (DAUDT et al., 2016; MEDINA-JARAMILLO et al., 2016; PIÑEROS-HERNANDEZ et al., 2017).

Ademais, os bioplásticos podem ainda apresentar propriedades ativas, quando adicionados componentes com ação antimicrobiana, antioxidante, enzimática, cicatrizante, entre outros, durante a sua preparação. Tais bioplásticos são considerados como ativos e/ou funcionais e são bastante utilizados como embalagem para alimentos, bem como na produção de curativos dérmicos (AHMED et al., 2017; DANNENBERG et al., 2017; MOGOŞANU; GRUMEZESCU, 2014).

Algumas limitações impedem a aplicabilidade dos bioplásticos em grande escala, como alto custo de produção, propriedades mecânicas deficientes, alta permeabilidade ao vapor de água (doravante, PVA) e solubilidade em água (CASTRO-ROSAS et al., 2016; EMADIAN; ONAY; DEMIREL, 2016; AWADHIYA; KUMAR; VERMA, 2017). Todavia, as restrições são inerentes à aplicação, por exemplo, filme com alta PVA é aplicável ao acondicionamento de vegetais que mantêm seu metabolismo durante o armazenamento, enquanto os filmes com alta solubilidade em água são interessantes para aplicação como revestimento comestível.

Os bioplásticos obtidos a partir de polímeros e/ou macromoléculas naturais, geralmente, são obtidos pela técnica de evaporação do solvente (*Solution Casting*), principalmente, na etapa laboratorial. A seguir, serão apresentados estudos que utilizaram macromoléculas naturais de fontes renováveis para a elaboração de filmes, cujo objeto de estudo perpassa pela avaliação da concentração do polímero, do plastificante e dos extratos com características bioativas, entre outros.

Em estudos realizados por Piñeros-Hernandez et al. (2017), o amido de mandioca, em uma proporção de 5% (m/m), e o glicerol (1,5%, m/m) foram utilizados na obtenção de filmes para determinar o efeito das concentrações de extrato de alecrim (5%, 10% e 20%, m/m de amido) nas propriedades dos filmes (PIÑEROS-HERNANDEZ et al., 2017). Os autores atribuíram aos compostos fenólicos existentes no extrato de alecrim, o aumento da atividade antioxidante dos filmes. Os testes de migração demonstraram que os compostos fenólicos migraram para o meio simulador aquoso e uma quantidade não significativa foi encontrada

em um meio simulador gorduroso. Esse comportamento sugeriu que os filmes de amido de mandioca aditivados com extrato de alecrim têm potencial aplicação como filmes ativos em alimentos que não sejam gordurosos.

Medina-Jaramillo et al. (2016) também empregaram amido de mandioca (5% m/m) e glicerol (1,5% m/m), nas mesmas concentrações supracitadas, para elaboração de filmes, entretanto, o extrato utilizado foi o de erva mate (5% e 20%, m/m de amido). Com base nos resultados encontrados pelos autores, foi demonstrado que o extrato de erva-mate agiu como um plastificante. Este efeito em filmes poliméricos, que apresentam em sua composição extratos naturais, é muito interessante, uma vez que afeta diretamente as propriedades mecânicas do material.

Daudt et al. (2016) utilizaram amido e farinha de pinhão (5%, m/m) na preparação de filmes poliméricos, cujo estudo objetivou avaliar o efeito da concentração de glicerol (1%, 1,5% e 2%, m/m) nas propriedades térmicas, de barreira e mecânicas. O aumento da concentração de glicerol provocou o aumento da higroscopicidade dos filmes e a diminuição da barreira ao vapor de água, da resistência à tração e da elongação.

Saberi et al. (2016) elaboraram filmes de amido de ervilha (5%, m/m) para avaliar também o efeito da concentração de glicerol (15%, 25% e 35%, m/m de amido). O aumento do teor de glicerol diminuiu as propriedades de tração dos filmes, já as propriedades ópticas não foram alteradas significativamente. No entanto, a solubilidade em água, a absorção de água e a PVA dos filmes aumentaram significativamente com aumento da concentração de glicerol.

O amido de araruta foi utilizado na preparação de filmes comestíveis por Nogueira; Fakhouri e de Oliveira (2018). Estes foram obtidos em diferentes concentrações de amido (2,59% a 5,41%, m/m) e de glicerol (9,95% a 24,08%, m/m de amido) e apresentaram-se homogêneos, transparentes e inodoros. Sendo assim, a espessura e a solubilidade dos filmes aumentaram com a concentração de amido e de glicerol.

Os estudos supracitados, independente da origem botânica do amido utilizado na elaboração de filmes e que avaliaram o efeito das diferentes concentrações de plastificante, utilizaram o glicerol. A capacidade plastificante deste último foi comprovada pelo aumento da flexibilidade e redução do módulo de elasticidade e da resistência à tração dos filmes de amido de pinhão, amido de ervilha e amido de araruta.

A PVA e a solubilidade em água dos filmes de amido de pinhão, de ervilha e de araruta também foram alteradas em função da concentração de plastificante. A função plastificante, que consiste em aumentar o espaço entre as cadeias poliméricas, facilita a

permeação das moléculas de água através da película. O glicerol apresenta em sua estrutura química hidroxilas capazes de interagir por ligações de hidrogênio. Tal característica causa o aumento da solubilidade em água dos filmes de amido plastificados com glicerol (DAUDT et al., 2016; NOGUEIRA; FAKHOURI; de OLIVEIRA, 2018; SABERI et al., 2016).

Em situações nas quais o elevado índice da PVA é indesejável, o polímero e/ou a matriz polimérica podem ser submetidos ao processo de reticulação. Isso porque as interações intramoleculares decorrentes da reticulação possibilitam formar uma estrutura capaz de reduzir a permeabilidade aos gases e ao vapor de água em materiais de embalagem de alimentos e melhorar suas deficiências mecânicas (GARAVAND et al., 2017).

Além do amido, outros polissacarídeos também são empregados na preparação de filmes. O ágar-ágar, um hidrocolóide extraído das algas marinhas vermelhas, foi utilizado na preparação destes últimos por processo de reticulação na presença de ácido cítrico. Os filmes reticulados apresentaram o dobro da resistência à tração em relação aos não reticulados, visto que a taxa de degradação térmica dos filmes reticulados foi menor que a dos não reticulados. Além disso, a reticulação melhorou a resistência à água dos filmes de ágar-ágar e alterou a estrutura do filme polimérico que, por sua vez, afeta principalmente as propriedades mecânicas deste, conforme demonstrado no parágrafo anterior (AWADHIYA; KUMAR; VERMA, 2017).

A quitosana, um polissacarídeo encontrado no exoesqueleto dos crustáceos, foi utilizada para preparação de filmes bioativos com extrato etanólico de própolis, do qual foram empregadas as seguintes concentrações 2,5%, 5%, 10% e 20% (m/m de quitosana). A incorporação do extrato em filmes de quitosana melhorou as propriedades mecânicas e de barreira, bem como as atividades antimicrobiana e antioxidante. As análises espectroscópicas por FTIR mostraram que as interações entre grupos funcionais da quitosana e dos compostos fenólicos foram responsáveis pelas modificações nas propriedades dos filmes (SIRIPATRAWAN; VITCHAYAKITTI, 2016).

Apesar das proteínas não serem caracterizadas como polímeros, essas macromoléculas são capazes de formar uma matriz contínua e, por isso, são empregadas na elaboração de filmes. No estudo de Dou et al. (2016), penas de frango foram utilizadas para extração da queratina hidrolisada e posterior preparação de filmes, além de terem sido testadas concentrações de glicerol variando entre 20% e 40% (m/m de queratina). Os autores demonstraram que a temperatura de transição vítrea (T_g) diminuiu com o aumento do teor de glicerol (20% a 40%) e a resistência à tração também reduziu com aumento da concentração de plastificante. Não obstante, a elongação dos filmes contendo até 35% de glicerol

aumentou, enquanto os que continham 40% de plastificante diminuiu. Os autores justificaram que essa tendência de variação ocorre porque o glicerol forma ligações de hidrogênio com grupos hidrofílicos das cadeias da queratina hidrolisada, que poderiam romper as ligações de hidrogênio entre as cadeias de proteínas e aumentar o volume livre entre elas.

Foi observado ainda que o aumento da solubilidade em água dos filmes de queratina hidrolisada foi proporcional ao teor de plastificante, ou seja, os filmes com 40% de glicerol foram os mais solúveis (DOU et al., 2016). O efeito do glicerol na solubilidade em água dos filmes à base de proteínas assemelha-se ao comportamento apresentado pelos filmes de amido demonstrados anteriormente (DAUDT et al., 2016; NOGUEIRA; FAKHOURI; de OLIVEIRA, 2018; SABERI et al., 2016).

Há uma prática comum para a elaboração de filmes a partir da mistura de polímeros e/ou macromoléculas naturais, que é denominada blenda (CASTRO-ROSAS et al., 2016). Essa prática objetiva que o filme resultante apresente as características de ambos, polímeros e macromoléculas, de forma que ele seja de qualidade superior ao filme produzido a partir de um único componente polímero/macromolécula.

Senhorinho (2014) elaborou filmes a partir da mistura de amido de araruta e de caseína. A quantidade de amido foi fixada em 4% (m/m), enquanto a quantidade de caseína variou entre 2% e 8% (m/m). Conforme os resultados encontrados pela autora, o aumento da concentração de caseína afetou a diminuição proporcional da resistência à tração e solubilidade em água dos filmes. O aumento da concentração de caseína nos filmes de araruta propiciou a formação de filmes mais maleáveis. A redução da solubilidade em água desses filmes pode ter sido em função da interação preferencial entre hidroxilas do amido com a proteína, as quais se tornaram indisponíveis para interagir com a água.

Além dos polímeros/macromoléculas de origem natural, biopolímeros de origem microbiológica podem ser produzidos por via fermentativa, por exemplo, poli-hidroxialcanoatos (PHA), poli-hidroxibutirato (PHB) e poli-hidroxibutirato-poli-hidroxivalerato (PHB-PHV); enquanto outros podem ser sintetizados quimicamente, utilizando monômeros oriundos de recursos agropecuários, por exemplo, poli ácido láctico (PLA) (VIEIRA et al., 2011).

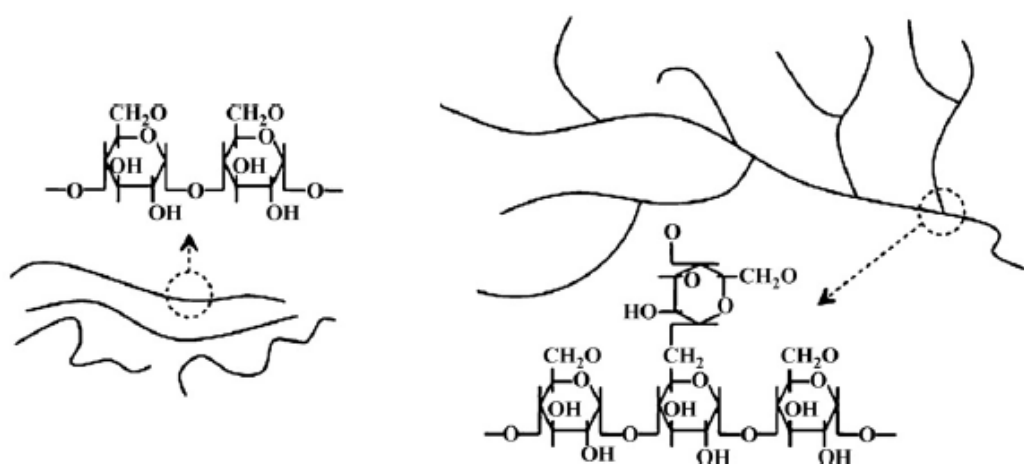
Outros polímeros podem ser derivados do petróleo e, portanto, de fonte não renovável, por exemplo, policaprolactonas (PCL), co-poliésteres alifáticos e co-poliésteres aromáticos, como poli (butileno adipato co-tereftalato) – PBAT (BORDES; POLLET; AVÉROUS, 2009; VIEIRA et al., 2011).

Embora ainda seja necessário tempo para que os bioplásticos sejam substitutos expressivos dos plásticos fósseis, é notável a representatividade das pesquisas na busca por melhorias da qualidade dos plásticos obtidos de biopolímeros, principalmente aqueles de fontes renováveis. No presente estudo, o amido foi escolhido como biopolímero e, na seção a seguir, serão abordados os aspectos químicos, entre outros, os quais fazem dessa macromolécula interessante para a elaboração de filmes poliméricos. Essa abordagem norteará o entendimento do comportamento apresentado pelos filmes de amido nas suas diferentes composições e quando submetidos aos efeitos externos, cujas alterações da sua estrutura polimérica serão observadas a partir da caracterização dos filmes.

2.2 AMIDO

Na natureza, o amido é produzido como reserva dos vegetais, sendo de grande importância para alimentação humana, desde a antiguidade. Ele pode ser encontrado nos grãos de cereais, sementes de leguminosas, tubérculos e frutas imaturas ou verdes em proporções que variam entre 30% e 85% de amido em base seca (DAUDT et al., 2016). No estado nativo, o amido se apresenta na forma de grânulos ovais, redondos ou esféricos, poliédricos. Eles são irregulares e podem medir entre 1 μm a 110 μm , dependendo da origem botânica (HOOVER, 2001). Além disso, os grânulos de amido são insolúveis em água fria (JIMÉNEZ et al., 2012), devido à indisponibilidade dos grupos hidroxilas, os quais se encontram ligados inter e intramolecularmente. A molécula de amido é composta pelos polímeros amilose e amilopectina, como pode-se verificar a seguir na Figura 1.

Figura 1 – Estrutura química e representação esquemática: (a) amilose e (b) amilopectina



(a) Amilose

(b) Amilopectina

Fonte: LIU et al. (2009).

Ambos os polímeros, amilose e amilopectina, são constituídos por monômeros de glicose ligados entre si, sendo que na amilose as ligações glicosídicas são exclusivamente do tipo α -1,4, enquanto que na molécula de amilopectina, além das ligações α -1,4 existentes nas cadeias curtas, apresentam-se ligações do tipo α -1,6 nas ramificações. A amilose é uma molécula de cadeia linear, com uma estrutura helicoidal, com massa molecular da ordem de 10^6 , que é dez vezes maior que a dos polímeros sintéticos. A amilopectina, por sua vez, é um polímero ramificado e sua massa molecular é cerca de cem vezes maior que a da amilose (LIU et al., 2009; MOLAVI et al., 2015).

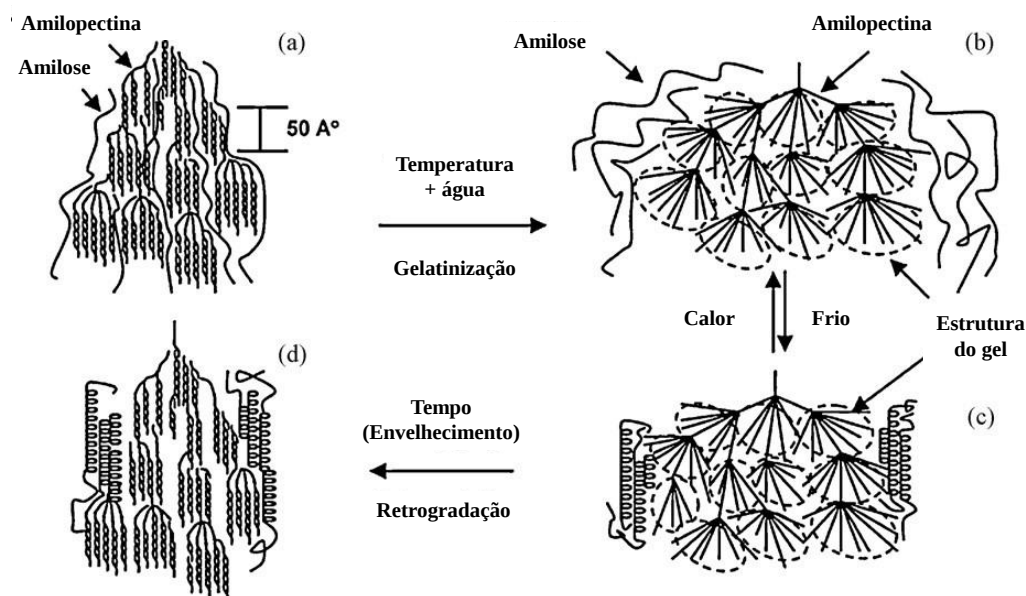
As cadeias de amilose e os pontos de ramificação da amilopectina são responsáveis pelas regiões amorfas dos grânulos de amido, enquanto as ramificações de cadeia curta, da amilopectina, estruturam as regiões cristalinas. Estas últimas apresentam-se na forma de duplas hélices com aproximadamente 5 nm. Portanto, os grânulos de amido são considerados semicristalinos, cuja caracterização de cada região pode ser realizada através de medidas da temperatura de transição vítrea (T_g) e do grau de cristalinidade (LIU et al., 2009; JIMÉNEZ et al., 2012). A maioria dos tipos de amidos apresenta cristalinidade variando de 15 a 45% (CAZÓN et al., 2017; HOOVER, 2001), dependendo da proporção de amilose/amilopectina (usualmente de 20% a 25/75-80%) (CAZÓN et al., 2017).

A proporção de amilose/amilopectina varia conforme a origem botânica, idade do amido e, também, pode ser controlada pelo processo de extração (JIMÉNEZ et al., 2012). O conteúdo de amilose no amido varia entre 20% a 25% (DAMODARAN; PARKIN; FENNEMA, 2010). Estudos realizados com diferentes tipos amidos de raízes e tubérculos encontraram valores entre 10-38% de amilose (HOOVER, 2001); para o feijão caupi, 15,63% (SALGADO; GUERRA; ANDRADE, 2005); amido de araruta, 15,21% (PÉREZ; LARES, 2005); amido de milho e amido de mandioca, 24%, 26% e 16,40%, respectivamente (MOORE et al., 2005).

Foi constatado que o amido com maior proporção de amilose é capaz de formar um filme mais forte do que os amidos convencionais, que normalmente contêm 25% de amilose. Filmes de amidos convencionais podem ser frágeis, em razão do alto grau de emaranhamento das ramificações da elevada quantidade de amilopectina (MOLAVI et al., 2015). O amido nativo rico em amilopectina é mais cristalino, todavia, os filmes obtidos com este amido apresentam regiões mais amorfas quando comparados aos filmes de amido contendo mais amilose (GARCÍA; MARTINO; ZARITZKY, 2000). Esse fenômeno pode ser explicado pela capacidade que a amilose possui de se rearranjar após gelatinização com tendência a restabelecer a região cristalina, sendo esta última denominada de retrogradação (JIMÉNEZ et

al., 2012). A gelatinização e a retrogradação do amido são representadas no esquema elaborado por Liu et al. (2009) (Figura 2).

Figura 2 – Esquema de gelatinização e retrogradação do amido: (a) amido no estado nativo; (b) amido gelatinizado após hidratação e aquecimento; (c) rearranjo das moléculas de amilose durante o resfriamento do gel; e (d) retrogradação do amido com o tempo de armazenamento



Fonte: Liu et al. (2009).

A gelatinização é um fenômeno que ocorre quando os grânulos de amido são solubilizados em água durante o aquecimento, visto que são insolúveis em água fria, pois as hidroxilas estão envolvidas por ligações de hidrogênio, inter e intramolecular. Com aquecimento do grânulo em excesso de água, ocorre a difusão de moléculas de água que são capazes de interagir com a amilose e a amilopectina, conferindo desorganização da região cristalina e a solubilidade parcial do amido (CAZÓN et al., 2017; HOOVER, 2001). O aquecimento de suspensões de amido entre 65°C e 90°C, dependendo da origem botânica, pode ocorrer a gelatinização irreversível (JIMÉNEZ et al., 2012).

À medida que a retrogradação se processa, durante o resfriamento do gel, a cristalinidade se restabelece, o índice de refração sofre alteração e a opacidade aumenta. A complexidade da retrogradação é influenciada por diversos fatores, tais como: temperatura e tempo de armazenamento, pH, fonte de amido, presença de outros componentes (lipídios, eletrólitos e açúcares) e condições de processamento (DENARDIN; SILVA, 2009).

O amido é extraído de fontes amiláceas, dentre estas, o milho e a mandioca são as mais exploradas comercialmente, sobretudo existem diversas fontes vegetais ricas em amido. A araruta é um produto amiláceo encontrado nos rizomas (caules subterrâneos) de *Marantha*

arundinacea, uma planta perene, encontrada nas florestas tropicais da América do Sul (CHARLES et al., 2016; NEVES; COELHO; ALMEIDA, 2005). No Brasil, são encontradas três variedades importantes, Creoula, Banana e Comum. A variedade Comum produz uma fécula de melhor qualidade, seus rizomas são claros e, por isso, é a mais difundida (LEONEL; CEREDA, 2002). A Figura 3 ilustra os rizomas da araruta.

Figura 3 – Rizoma da araruta



Fonte: Martins (2010).

Nos estudos realizados por Cunha (2016), há relatos das variedades de araruta seta, produzida no estado mineiro, e da araruta redonda, produzida no estado baiano. A araruta seta também foi objeto de estudo de Gordillo et al. (2014). Segundo Brasil (2010), a araruta faz parte do grupo das hortaliças “não convencionais”. Esse grupo se caracteriza pela produção local, predominantemente por agricultores familiares, cujo conhecimento do cultivo foi passado de geração para geração.

Um produto amiláceo considerado ideal para extração de amido deve apresentar elevado teor de matéria seca. Em estudos realizados por Leonel e Cereda (2002), dentre as tuberosas amiláceas, açafrão, ahipa, araruta, batata doce, inhame e mandioquinha, a araruta apresentou maior teor de matéria seca (32%). Em contrapartida, apresentou o segundo maior valor para teor de fibras (1,44%), perdendo apenas para o açafrão (1,78%). Segundo os autores, o teor de fibras deve ser considerado no processo de extração, fazendo-se necessária a etapa de trituração ou moagem, a fim de que haja o rompimento celular e, consequentemente, a liberação dos grânulos de amido.

Conforme a Resolução de Diretoria Colegiado – RDC nº 263, regulamentada pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), o amido extraído de tubérculos, raízes e rizomas podem ser designados de fécula. A extração da fécula de araruta se dá pela trituração dos rizomas, que resultam em uma massa fibrosa contendo o amido, este por sua vez é

peneirado e lavado para separação da fibra através da decantação. A fécula tem características de fácil digestibilidade e capacidade de gelificação (NEVES; COELHO; ALMEIDA, 2005).

A digestibilidade e as propriedades térmicas da fécula de araruta estão relacionadas ao tamanho dos grânulos, por isso, vários estudos avaliaram esta característica, como serão apresentados a seguir: (a) Leonel (2007) demonstrou uma distribuição homogênea, com grânulos de diferentes tamanhos e predomínio de grânulos na faixa de 20 μm a 40 μm ; (b) Erdman, Indies e America (1984) encontraram diâmetro médio de 13 μm ; (c) Hernández-Medina et al. (2008) identificaram tamanhos homogêneos, em média 10,64 μm ; (d) Gordillo et al. (2014) observaram uma grande variabilidade do tamanho dos grânulos da fécula de araruta entre 29 μm e 126 μm ; (e) Charles et al. (2016) encontraram valores de tamanho granular que variaram de 9,47 μm a 22,47 μm . Nesse estudo, a maioria dos grânulos da fécula de araruta mostrou um amplo intervalo de distribuição, que incluiu uma mistura de grânulos grandes (elíptico para oval), intermediários (oval) e pequenos (oval a elíptico); e (e) Cunha (2016) observou valores entre 8 μm e 45 μm , com predominância de 30 μm , tanto para a fécula de araruta redonda quanto para araruta seta, podendo ser considerados grânulos grandes. Ainda segundo Charles et al. (2016), grânulos maiores são adequados à elaboração de filmes poliméricos e produtos de panificação.

Além do tamanho do grânulo, o conteúdo de amilose pode influenciar nas propriedades tecnológicas dos filmes elaborados a partir do amido. Em estudos realizados com fécula de araruta, o teor de amilose encontrado variou entre 16% e 40,86%: Villas-Boas e Franco (2016) (19,5%); Gordillo et al. (2014) (40,86%); Nogueira, Fakhouri e de Oliveira (2018) (35,2%); Tanetrungroj e Prachayawarakorn (2015) (19,9%); Hernández-Medina et al. (2008) (22,7%); Moorthy (2002) (16% a 27%); Erdman, Indies e America (1984) (19,9%). Filmes de amido com alto teor de amilose são mais resistentes e apresentam boas propriedades de barreira (FAKHOURI, 2009; THARANATHAN, 2003).

Fisicamente, o grânulo de amido pode ser avaliado quanto à cristalinidade, sendo que esta característica está fortemente ligada à concentração de amilopectina presente, visto que as cadeias curtas das ramificações desta molécula contribuem para formação de regiões cristalinas no grânulo. Maiores detalhes sobre a cristalinidade do amido serão relatados na Subseção 2.5.4.

Nesse contexto, as características apresentadas pelo amido tais como origem botânica, proporção amilose/amilopectina e tamanho dos grânulos podem sugerir sua aplicação para elaboração de filmes. Foi visto que amido de fontes cuja proporção de amilose é superior a

amilopectina podem resultar em filmes mais fortes, devido à capacidade que a amilose apresenta de restabelecer as regiões cristalinas durante o resfriamento.

2.2.1 Filmes de amido

Os filmes de amido são comestíveis, geralmente, inodoros, insípidos, transparentes e apresentam boa barreira aos gases (O_2 e CO_2) e aos aromas (BILIADERIS; LAZARIDOU; ARVANITOYANNIS, 1999; CHIUMARELLI; HUBINGER, 2012; DAUDT et al., 2016; JIMÉNEZ et al., 2012; MOLAVI et al., 2015). Todavia, algumas características desses filmes podem restringir diretamente sua aplicação, tais como baixa resistência à água e deficiência nas propriedades mecânicas, quando comparados aos filmes de polímeros sintéticos convencionais, oriundos do petróleo (AVEROUS; BOQUILLON, 2004).

Em relação à cristalinidade, os filmes de amido são semicristalinos e as regiões amorfas são capazes de acomodar moléculas de água dependendo da atividade de água da atmosfera circundante (PERDOMO et al., 2009). No que tange à fragilidade e à rigidez, elas também são características dos filmes de amido. A redução da fragilidade e o aumento da flexibilidade desses filmes podem ser alcançados mediante o uso de plastificantes. Estes últimos diminuem as forças intermoleculares e facilitam a mobilidade entre as cadeias do polímero, com redução de possíveis descontinuidades e zonas quebradiças; resultando assim, em materiais com menores temperaturas de transição vítrea (T_g) (MALI; GROSSMANN; YAMASHITA, 2010), maior flexibilidade, aumento da deformação na ruptura e menor resistência à tração (JIMÉNEZ et al., 2012).

Daudt et al. (2016) observaram que o aumento da concentração de glicerol (1%, 1,5% e 2%, m/m) tornou os filmes de amido de pinhão menos resistentes devido ao efeito higroscópico positivo. Verificou-se ainda a redução do módulo de elasticidade 2.586 MPa para 19 MPa e da resistência à tração de 46,54 MPa para 2,14 MPa. Entretanto, a elongação aumentou de 3,1% para 57,4%, tornando os filmes mais flexíveis.

A plastificação ocorre na região amorfa que apresenta maior mobilidade molecular. Contudo, a capacidade dos plastificantes quebrarem as ligações de hidrogênio ao longo das cadeias poliméricas depende do tipo e da quantidade do plastificante (JIMÉNEZ et al., 2012). É muito comum utilizar polióis, tais como glicerol e sorbitol, como plastificantes em filmes à base de amido. Sua eficácia é relatada por Mali et al. (2005) em virtude das semelhanças entre a estrutura química dos polióis e a estrutura do amido, sendo que os filmes preparados com glicerol são mais flexíveis quando comparados aos obtidos com sorbitol (JIMÉNEZ et al., 2012). Contudo, a adição de plastificantes favorece ao aumento da permeabilidade aos gases e

ao vapor de água dos filmes de amido (GONTARD; GUILBERT; CUQ, 1993; MALI; GROSSMANN; YAMASHITA, 2010)

Dependendo da concentração, o plastificante pode ocasionar um efeito conhecido como antiplastificante, ou seja, ele interage com a matriz polimérica, mas não em quantidade suficiente para aumentar a mobilidade molecular, apenas para aumentar o grau de interações e a rigidez desta matriz. Esse fenômeno depende das condições de armazenamento e normalmente ocorre quando são empregadas pequenas concentrações de plastificante, abaixo de 20%, m/m de amido (MALI et al., 2005; MALI; GROSSMANN; YAMASHITA, 2010).

Em filmes contendo fécula de araruta e caseína (SENHORINHO, 2014), o efeito antiplastificante foi verificado naqueles com concentrações inferiores a 35% de glicerol, confirmado pela redução da resistência à tração. É interessante ressaltar que a presença da caseína também contribuiu para esse fenômeno.

À medida que a concentração de plastificante aumenta em filmes de amido, aumenta-se também a PVA, como demonstrado em estudos realizados por Daudt et al. (2016) em filme de amido de pinhão. Assim, verificou-se o aumento da PVA (de 1,05 mm/kPa.h.m² para 1,67g mm/kPa.h.m²) proporcionalmente ao teor de glicerol, 20% a 40%. Os autores atribuíram o comportamento descrito ao efeito da plastificação do glicerol entre as cadeias do amido e ainda correlacionaram o maior valor da PVA à máxima elongação e à menor resistência à tração para os filmes contendo 30% e 40% de glicerol.

Conforme descrito nos parágrafos supracitados, além do efeito sobre a PVA dos filmes de amido, os plastificantes melhoram as propriedades mecânicas destes, demonstradas pela redução da tensão máxima e da rigidez e aumento da elongação e da flexibilidade. A melhoria dessas propriedades é essencial, uma vez que, durante o armazenamento dos filmes de amido, é comum ocorrerem fenômenos de recristalização os quais induzem mudanças físicas e químicas dos filmes. Com o envelhecimento, normalmente, os filmes de amido tornam-se mais rígidos e, conseqüentemente, menos flexíveis, devido ao aumento da cristalinidade (JIMÉNEZ et al., 2012).

O efeito plastificante dos filmes de amido pode ainda ser melhorado a partir da aditivação destes com extratos naturais, os quais são utilizados com objetivo principal de conferir àqueles propriedades ativas. Estas, por sua vez, são de grande interesse da indústria de alimentos para aplicação desses filmes ao desenvolvimento de embalagens ativas, que será o assunto da próxima seção.

2.3 EMBALAGENS ATIVAS

A embalagem tem como principais funções conter, proteger, facilitar o transporte e o manuseio do produto e, ainda, informar aos consumidores sobre a qualidade do produto acondicionado. As embalagens que são capazes de interagir com os alimentos, de modo intencional, aumentando a vida de prateleira dos produtos pela ação de aditivos existentes na matriz polimérica ou no interior da embalagem são denominadas de embalagens ativas (CORRALES; FERNANDEZ; HAN, 2014).

As propriedades antimicrobiana e antioxidante são destacadas e estudadas visando à aplicação dos filmes como embalagem ativa. As alterações microbiológicas e oxidativas são as principais responsáveis pela deterioração de alimentos (MORENO; ATARÉS; CHIRALT, 2015; SIRIPATRAWAN; VITCHAYAKITTI, 2016).

O controle microbiológico é de fundamental importância para a segurança do alimento e a conservação do produto final até o consumo (SIRIPATRAWAN; VITCHAYAKITTI, 2016). Aliadas às reações microbiológicas, as reações de oxidação são as principais causas de deterioração dos alimentos, sendo responsáveis por perdas nutricionais, descoloração e/ou escurecimento, alterações de sabor e formação de radicais livres (MORENO; ATARÉS; CHIRALT, 2015).

Nesse contexto, as embalagens ativas protegem os alimentos e a saúde do consumidor, tendo em vista que atuam sobre os microrganismos. O emprego de aditivos na formação da matriz polimérica da embalagem minimiza a necessidade da sua aplicação diretamente no alimento. O aditivo com ação antimicrobiana e/ou antioxidante atua na superfície do produto, região de maior incidência microbiológica e de reações de oxidação, através do contato direto com a embalagem ou por meio da migração do aditivo da matriz para o espaço livre do interior da embalagem (WRONA; BENTAYEB; NERÍN, 2015).

Os aditivos sintéticos são empregados comumente pela indústria com intuito de evitar as alterações nos alimentos pós-processamento. Todavia, estudos relatam efeitos adversos desses componentes à saúde humana (AZNAR, et al., 2016; KECHICHIAN et al., 2010; MOURE et al., 2001) e, por isso, o consumidor tem exigido produtos com menos quantidade desses agentes e, de preferência, que sejam de origem natural.

Os extratos naturais e os óleos essenciais são avaliados como excelentes aditivos com ação antimicrobiana e antioxidante, devido à sua composição rica em compostos fenólicos (PIÑEROS-HERNANDEZ et al., 2017; SIRIPATRAWAN; VITCHAYAKITTI, 2016). O

extrato etanólico de própolis, um derivado apícola, apresenta tais compostos e, por essa razão, é utilizado como aditivo na produção de filmes com função ativa.

Matrizes poliméricas de amido e carragena contendo extrato de própolis vermelha cubana foram avaliadas (CHANG-BRAVO; LÓPEZ-CÓRDOBA; MARTINO, 2014). Os filmes apresentaram aumento para o conteúdo de polifenóis e para a atividade antioxidante, justificado pela polimerização dos compostos fenólicos presentes no extrato durante o armazenamento.

Além da atividade antioxidante, a atividade antimicrobiana foi estudada em filmes de quitosana e extrato de própolis por Siripatrawan e Vitchayakitti (2016). O teor de compostos fenólicos e a capacidade antioxidante dos filmes aumentaram com a concentração de extrato de própolis. Consequentemente, os filmes apresentaram atividade antimicrobiana frente as bactérias Gram-positivas e Gram-negativas.

Os filmes à base de gelatina e extrato etanólico de própolis verde brasileira (5%, 40% e 200%, m/m de gelatina) foram elaborados por Bodini et al. (2013) e avaliados, durante 177 dias, quanto à estabilidade. Os resultados comprovaram que o teor de compostos fenólicos foi preservado nos filmes ao longo do armazenamento, exceto nos filmes que apresentaram extrato na concentração 5% (m/m de gelatina). Além da atividade antioxidante atribuída aos compostos fenólicos presentes no extrato, a ação antimicrobiana também foi uma consequência da presença destes compostos.

Nos estudos realizados por Torlak e Sert (2013), em filmes de polipropileno revestidos com quitosana-própolis foi verificada a ação frente as bactérias Gram-negativas e também atribuída à difusão de constituintes ativos da própolis, denominado polifenóis, a partir da matriz polimérica e ao sinergismo destes compostos com a quitosana.

Sendo assim, os estudos até então mencionados atestam que o extrato de própolis apresenta excelentes propriedades, antioxidante e antimicrobiana, que podem ser exploradas quando aplicado à elaboração de filmes destinados à produção de embalagens ativas.

2.3.1 Própolis

O material resinoso coletado pelas abelhas dos brotos, exsudados de folhas, flores e outras partes das plantas da vegetação no entorno da colmeia, é denominado de própolis. A própolis compreende uma mistura complexa de substâncias gomosas e balsâmicas, modificada pelas abelhas no interior da colmeia por ação enzimática (β -glicosidase), proveniente de secreções salivares e adicionadas de cera e pólen ao produto final (MARCUCCI, 1996; MENEZES, 2005; SALGUEIRO; CASTRO, 2016).

A palavra própolis, de origem grega “pro” = em defesa de e “polis” = cidade, o que significa dizer em “defesa da cidade ou da colmeia”. As abelhas, na colmeia, utilizam essa substância para fechar as paredes, isolar termicamente, proteger contra invasão de insetos e microrganismos, tornar o ambiente asséptico, além de mumificar insetos invasores (BANKOVA, 2005; MARCUCCI, 1996; SFORCIN; BANKOVA, 2011).

Desde a antiguidade, a humanidade tem utilizado a própolis como produto natural. Os egípcios embalsamavam seus mortos com uma “cera negra” (1700 a. C), os gregos e romanos a utilizavam como agente antisséptico e cicatrizante, enquanto os incas a empregavam como antipirético (reduz a febre) (PEREIRA; SEIXAS; DE AQUINO NETO, 2002; SFORCIN; BANKOVA, 2011). Em função dos diversos benefícios medicinais, a própolis é utilizada popularmente como terapia alternativa e alimento funcional (LUSTOSA et al., 2008). Sua aplicação em produtos farmacêuticos e na indústria de alimentos é dificultada devido à falta de padronização, no caso da própolis brasileira.

A composição química da própolis está relacionada com a origem geográfica e a vegetação de onde ela é extraída, época da colheita e espécie da abelha. Sua cor varia do verde, vermelho ao marrom escuro (PARK; ALENCAR; AGUIAR, 2002; PEREIRA, SEIXAS; DE AQUINO NETO, 2002). Essa variação é comum em própolis de origem de regiões tropicais, em função da grande biodiversidade, quando comparada à de origem de regiões temperadas, como a própolis europeia (BANKOVA, 2005). Em resumo, a própolis contém 50-60% de resinas e bálsamos, 30-40% de ceras, 5-10% de óleos essenciais, 5% de grãos de pólen, minerais e vitaminas (PARK et al., 2002).

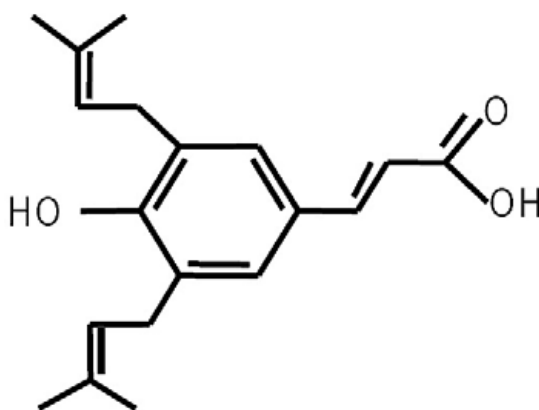
A espécie de abelha *Apis mellifera* é a mais estudada pela comunidade científica quando se trata de própolis. As subespécies introduzidas no Brasil no período colonial eram de origem europeia. Nos anos 50, com intuito de melhorar a capacidade produtiva de mel e rusticidade, as subespécies africanas foram introduzidas na região Sudeste. Após um ano, houve um acidente e alguns enxames fugiram com suas respectivas rainhas, as quais cruzaram com as subespécies europeias, fenômeno que ficou conhecido por africanização (OLIVEIRA; CUNHA, 2005; SHEPPARD et al., 1991). A própolis da *A. melífera* é a mais estudada no Brasil e no mundo devido ao valor agregado e à qualidade dos produtos apícolas obtidos (FRANCHIN et al., 2017).

Mais de 500 compostos foram identificados em própolis de muitos países. Eles pertencem às classes de substâncias: flavonoides, fenilpropanoides, terpenoides, estilbenos, lignanas, cumarinas e seus derivados prenilados (HUANG et al., 2014). Dentre elas, merecem destaque a dos flavonoides e a dos ácidos fenólicos, pois é atribuída grande parte das

atividades biológicas descritas para a própolis (FUNARI; FERRO, 2006; SALGUEIRO; CASTRO, 2016).

Até o momento presente, encontram-se catalogados 13 grupos da própolis brasileira conforme o perfil físico-químico, sendo que apenas 4 grupos (Grupo 3, 6, 12 e 13) foram caracterizados quanto à origem botânica (DAUGSCH et al., 2008; PARK; ALENCAR; AGUIAR, 2002). A própolis verde, pertencente ao Grupo 12, identificada no Sudeste brasileiro, de origem botânica *Baccharis dracunculifolia*, é rica em ácidos fenólicos, principalmente o ácido 3,5 diprenil-4-hidroxicinâmico (Artepillin C), um marcador químico deste grupo (FUNARI; FERRO, 2006; PARK et al., 2004). Esses compostos fenólicos conferem atividade antimicrobiana e antioxidante à própolis verde (AZIZ; KARBOUNE, 2017). A estrutura molecular do Artepillin C é ilustrada na Figura 4.

Figura 4 – Estrutura química Artepillin C (ácido 3,5 diprenil-4-hidroxicinâmico) – própolis verde



Fonte: Paulino et al. (2008).

Em função da comprovação das propriedades antimicrobiana e antioxidante, diversos pesquisadores quantificaram estas propriedades em seus experimentos empregando própolis de diferentes regiões geográficas brasileira.

Em duas amostras de própolis verde (Grupo 12) do Rio Grande do Norte analisadas por Ferreira et al. (2017), foi verificado que a atividade para sequestrar o radical 1,1-difenil-2-picrilidrazilo (doravante DPPH) corresponde a valores acima de 10% da atividade da quercetina pura.

Silva et al. (2017) avaliaram amostras de própolis vermelha (Grupo 13) obtidas por dois métodos de extração, a etanólica e por fluido supercrítico, em três concentrações diferentes. Nesse estudo, foi constatado que todos os extratos etanólicos a uma concentração de 500 $\mu\text{g. mL}^{-1}$ apresentaram atividade antioxidante acima de 50% e todos os extratos obtidos por fluido supercrítico apresentaram atividade superior a 60%.

Amostras de própolis das regiões Nordeste, Sul, Centro-Oeste e Sudeste foram estudadas em sistemas β -caroteno/ácido linoleico e todas elas apresentaram capacidade antioxidante superior a 50%, sendo que as amostras da última região mencionada apresentaram os maiores índices comparados com os demais. Foi observado ainda que as amostras das regiões Nordeste e Sudeste apresentaram maior e menor variabilidade dos níveis de capacidade antioxidante, respectivamente (DE-MELO et al., 2014).

Amostras de própolis orgânica da região Sul brasileira foram analisadas por Tiveron et al. (2016), os pesquisadores verificaram que as sete amostras inibiram o crescimento das bactérias testadas. Também foi constatado maior ação das própolis frente a Gram-positivas (*Streptococcus mutans*, *Streptococcus oralis*, *Streptococcus sobrinus*, *Staphylococcus aureus*), quando comparada com a bactéria Gram-negativa (*Pseudomonas aeruginosa*).

Com base nas informações supracitadas, observa-se que a própolis apresenta propriedades antimicrobianas e antioxidantes devidas à presença de compostos fenólicos e, portanto, grande potencial para a elaboração de filmes bioativos com potencial aplicação como embalagens ativas. O emprego destas embalagens pode ser associado a outros métodos de conservação do produto acondicionado, como por exemplo, a radiação gama, esta por sua vez é indiretamente um tipo de radiação ionizante, cujos detalhes serão descritos na seção a seguir.

2.4 RADIAÇÃO IONIZANTE

Radiação de alta energia é compreendida pelo conjunto de radiações ionizantes, as quais apresentam energia quântica ou cinética maiores que a energia de dissociação das ligações químicas. Podem ser mencionados os raios-X, os feixes de nêutrons e de elétrons, a radiação gama também comumente classificada nesse grupo, entretanto, vale salientar que esta última é indiretamente ionizante (DE PAOLI, 2008). A incidência de raios gama em um material provoca colisões as quais removem elétrons dos átomos da matéria e formam íons (DA SILVA, et al. 2014).

A radiação ionizante pode modificar as propriedades físicas, químicas e biológicas dos materiais irradiados. As principais aplicações industriais de radiação compreendem a esterilização de produtos de saúde, incluindo produtos farmacêuticos, esterilização de alimentos e produtos, além da modificação de materiais poliméricos (DROBNY, 2012; FARKAS; EHLERMANN; MOHÁCSI-FARKAS, 2014; HAJI-SAEID; SAMPA; CHMIELEWSKI, 2007).

Um dos motivos da aplicação da radiação, em processos de esterilização, é a capacidade de alteração do DNA de microrganismos, que impede o processo de divisão celular. Além disso, o dano do material genético pode ser resultado da ação de moléculas reativas que se formaram como produtos da radiólise (FARKAS; EHLERMANN; MOHÁCSI-FARKAS, 2014).

2.4.1 Esterilização por radiação gama

A radiação é um método de esterilização que utiliza temperaturas baixas, consideradas ideal para desinfecção de materiais termosensíveis. A radiação gama é amplamente utilizada no processo de esterilização de alimentos, os raios gama são capazes de penetrar através da superfície incidente e, por isso, produtos pré-embalados são irradiados a fim de evitar problemas de contaminação pós-acondicionamento (FARKAS; EHLERMANN; MOHÁCSI-FARKAS, 2014; HAJI-SAEID; SAMPA; CHMIELEWSKI, 2007).

A radiação pode ser considerada como um tratamento não térmico, pois o produto irradiado apresenta um aumento de temperatura não significativo (FARKAS; EHLERMANN; MOHÁCSI-FARKAS, 2014). Tal característica é interessante para preservar a qualidade nutricional e sensorial dos alimentos sensíveis ao calor, como observado no estudo abaixo.

Inamura et al. (2012) avaliaram o efeito da radiação gama (3 kGy) em três diferentes grupos alimentares, alimentos desidratados, refeições e alimentos prontos para consumo. A maioria dos alimentos desidratados, exceto batatas com bacon e sopa de ervilha, foram aceitáveis sensorialmente. As refeições prontas para consumo não foram aceitáveis em teste realizado oito meses pós-irradiação. Já os alimentos prontos para consumo foram aceitos sensorialmente. A redução da contagem microbiológica dos produtos irradiados e a inexistência de contaminação pós-processamento demonstrou que a embalagem foi capaz de suportar a irradiação, mesmo após oito meses de armazenamento. Os autores concluíram que a dose e as condições de irradiação, além do material da embalagem devem ser consideradas para que o alimento seja aceito sensorialmente. É comum que os alimentos irradiados sejam identificados pelo símbolo da Radura, ilustrado na Figura 5.

Figura 5 – O logotipo internacional RADURA do Codex Alimentarius



Fonte: FAO/WHO (2007).

A palavra Radura deriva do nome radiação e “durus” em latim que significa duradouro. A Radura foi criada para identificar os produtos irradiados de uma empresa holandesa, como ferramenta de promoção para um produto de alta qualidade com prateleira prolongada. Em países como EUA tornam o seu uso obrigatório; alguns países permitem o uso opcional; outros, em particular os da União Europeia, não preveem o uso deste logotipo internacional (EHLERMANN, 2009).

No Brasil, conforme RDC nº 21 de 26 de janeiro de 2001, os alimentos irradiados devem apresentar no rótulo a seguinte descrição “ALIMENTO TRATADO POR PROCESSO DE IRRADIAÇÃO”, assegurando ao consumidor o direito à informação. A irradiação em alimentos é empregada com o propósito de aumentar a vida de prateleira do produto e garantir inocuidade através da eliminação de organismos vivos causadores de doenças e deterioração do produto (FARKAS; EHLERMANN; MOHÁCSI-FARKAS, 2014).

De modo geral, as doses de irradiação aplicadas em alimentos são inferiores a 10 kGy, exceto nos alimentos microbiologicamente estáveis por irradiação após congelamento (até 50 kGy), como pode ser visto no Quadro 1, página seguinte.

Quadro 1 – Propósitos e efeitos da irradiação de alimentos conforme a dose

Propósito e efeitos	Dose (kGy)
Inibição de germinação de tubérculos, raízes e bulbos armazenados.	0,05-0,15
Destruição de insetos em cereais armazenados, frutas secas, nozes, oleaginosas e legumes.	0,15-1,0
Retardo de amadurecimento e senescência de certas frutas e vegetais.	0,2-1,0
Aumento da vida útil de frutas e vegetais, carnes, aves, peixes e refeições prontas por redução de microrganismos deteriorantes.	0,5-3,0
Inativação/destruição de parasitas transmitidos por alimentos.	0,3-6,0
Destruição de bactérias patogênicas (<i>Salmonella</i> , <i>Campylobacter</i> , <i>Listeria</i>) em alimentos frescos ou congelados.	3,0-7,0
Redução de contagens microbiológicas em especiarias e outros ingredientes secos.	5,0-10
Produção de carnes, aves e refeições prontas para consumo embalados à vácuo, microbiologicamente estáveis por irradiação após o congelamento.	até 50

Fonte: Adaptado (FARKAS; EHLERMANN; MOHÁCSI-FARKAS, 2014).

Conforme demonstrado no Quadro 1, a inibição da germinação de raízes e tubérculos, a eliminação de insetos, o retardo do amadurecimento de vegetais, a redução da microbiota deteriorante de alimentos vegetais e cárneos e a destruição de bactérias patogênicas em alimentos frescos e congelados são alcançados mediante o emprego de dose de radiação gama até 10 kGy. Doses superiores até 50 kGy são utilizadas em alimentos processados e congelados que são microbiologicamente estáveis.

2.4.2 Efeito da radiação gama em materiais poliméricos

A interação da radiação gama com a matéria provoca a remoção de elétrons dos átomos dos materiais. Os elétrons ejetados apresentam energia suficiente para possibilitar a colisão com elétrons orbitais de outros átomos. Quando a energia emitida pelos raios gamas é superior àquela necessária para ejetar um elétron, ocorre o efeito Compton. Esse é o principal efeito causado no material irradiado (DA SILVA, *et al.* 2014).

Um efeito indireto sobre os materiais podem ocorrer, via formação de radicais químicos, altamente reativos, tais como radicais livres, íons e átomos em estado excitado

(DA SILVA, *et al.* 2014; HAJI-SAEID; SAMPA; CHMIELEWSKI, 2007). Quando um polímero é irradiado, tais radicais, são responsáveis por provocarem reações de reticulação, caracterizado pelo aumento da massa molecular, e de cisão, pelo decréscimo da massa molecular (HAJI-SAEID; SAMPA; CHMIELEWSKI, 2007; KOMOLPRASERT, 2016).

A formação de radicais livres é responsável por iniciar os processos de degradação polimérica, principalmente por reação de auto-oxidação. Esse tipo de reação caracteriza-se por dois aspectos, a autocatálise e a capacidade de ser inibida por agentes externos (aditivos, por exemplo, antioxidantes) (RABELLO, 2000).

Fatores como dose absorvida, taxa de dose, temperatura, concentração de oxigênio da atmosfera em que o polímero é irradiado e as interações com aditivos (como antioxidantes) presentes na composição polimérica podem influenciar na predominância do tipo de reação. Ambas as reações coexistem no processo de irradiação e ocorrem de forma aleatória. (KOMOLPRASERT, 2016).

Quando o polímero sofre reação de reticulação física ocasionada pela radiação gama, uma rede integrada mais forte pode ser obtida, em que as cadeias estão interligadas por ligações de hidrogênio (GARAVAND *et al.*, 2017). Como consequência, a elongação, a cristalinidade, a PVA e a solubilidade podem ser reduzidas, enquanto a resistência mecânica dos polímeros é aumentada (HAJI-SAEID; SAMPA; CHMIELEWSKI, 2007).

Por outro lado, as reações de cisão diminuem o comprimento da cadeia dos polímeros, ou seja, acelera a degradação polimérica (HAJI-SAEID; SAMPA; CHMIELEWSKI, 2007). Em caso de alimentos irradiados, moléculas de cadeia menores produzidas podem migrar para o produto, e este ter suas propriedades sensoriais alteradas e inocuidade comprometida (KOMOLPRASERT, 2016). No caso de filmes de amido, a migração não é considerada uma ameaça, visto que o filme polimérico é formado por componentes não tóxicos; sobretudo, as reações de cisão poderão comprometer a estrutura física polimérica e, consequentemente, a função de proteção dos filmes quando aplicados como embalagens.

A avaliação das propriedades mecânicas de filmes irradiados é uma forma de conhecer o impacto da radiação na estrutura polimérica, ou seja, se houve reações de reticulação e/ou cisão. Em estudos realizados por Ali e Ghaffar (2017) com blendas de poliestireno e amido, houve um aumento da resistência à tração para os filmes com até 5% de amido, irradiados até 5 kGy e para as demais blendas (10%, 15% e 20% de amido) irradiadas até 10kGy, justificado pela formação de uma estrutura reticulada. Entretanto, a resistência à tração foi reduzida com uma dose de 20 kGy. Isso aconteceu devido à degradação das blendas, em que aquela foi ocasionada pela quebra das cadeias com formação de radicais livres e redução da massa

molecular. A estabilidade térmica também foi estudada, os autores verificaram que em doses de até 5 kGy, a taxa de decomposição térmica diminuiu, enquanto a 20 kGy a taxa aumentou.

Um compósito de gelatina, policaprolactona (PCL) e 2-etilhexil acrilato (EHA), foi avaliado por Zaman e Beg (2015) quanto ao efeito da radiação gama (5-2,5 kGy). A resistência à tração aumentou com as doses de radiação e alcançou um valor máximo de 23,46 MPa a uma dose de 1,5 kGy, e acima dessa dose diminuiu. Em doses até 1,5 kGy, os radicais livres foram formados e estabilizados por reações de combinação; como resultado, ocorreu a reticulação. A reação entre EHA e gelatina dominou. Acima de 1,5 kGy, as cadeias principais foram quebradas e o polímero se degradou em fragmentos, tornando os filmes quebradiços e reduzindo propriedades de tração.

Estudos realizados em filmes de goma *guar* demonstraram o efeito da radiação gama nas propriedades mecânicas (SAURABH et al., 2013). Os filmes irradiados entre 1-25 kGy não apresentaram alteração significativa da resistência à tração, bem como àqueles irradiados entre 1-50 kGy não diferiram em relação ao módulo de elasticidade. A partir da dose de 25 kGy, houve uma redução de 28% da resistência à tração, e acima de 50 kGy, houve uma diminuição de 33% no módulo de elasticidade.

Filmes à base de amido foram irradiados com diferentes doses de radiação gama (3- 24 kGy) e avaliados por Kim et al. (2008). A maior resistência à tração foi encontrada para um dos tratamentos irradiados a 3 kGy, demonstrando uma melhoria desta propriedade comparada ao filme não irradiado.

Portanto, a radiação gama pode alterar significativamente a estrutura polimérica de filmes de forma a melhorar ou prejudicar o seu desempenho quando aplicado como embalagem. Através das técnicas de caracterização dos filmes é possível dimensionar os efeitos decorrentes da radiação gama sobre a matriz polimérica, como pode-se ver na seção seguinte.

2.5 CARACTERIZAÇÃO DOS FILMES

Nesta subseção, serão descritos os conceitos acerca das técnicas empregadas para caracterização de filmes poliméricos.

2.5.1 Espectroscopia de absorção no infravermelho com transformada de Fourier (FTIR)

A Espectroscopia tem como princípio fundamental estudar a interação da radiação eletromagnética com a matéria. Através do estudo das vibrações moleculares pela técnica

espectroscópica de absorção no infravermelho (doravante, IR) é possível prever a estrutura química das moléculas. Estas, por sua vez, são influenciadas pela estrutura molecular, cujas distâncias de ligação química e ângulos de ligações são bem definidos e específicos para cada molécula (CANEVAROLO, 2007).

As técnicas espectroscópicas de absorção no IR são utilizadas na indústria por ser uma técnica rápida que requer o mínimo necessário de preparo das amostras, as quais não são destruídas, de baixo custo e fácil execução do equipamento (REID; O'DONNELL; DOWNEY, 2006). Através da espectroscopia de IR, os compostos orgânicos são analisados de forma qualitativa, pois cada grupo apresenta vibrações características que provocam o aparecimento de bandas no espectro infravermelho em frequências específicas (ROHMAN et al., 2011).

A espectroscopia IR pode ser dividida em três regiões distintas: IR longínquo ou afastado ($10\text{-}400\text{ cm}^{-1}$), IR médio ($400\text{-}4000\text{ cm}^{-1}$) e IR próximo ($4000\text{-}12820\text{ cm}^{-1}$). A maioria dos estudos em IR é realizada na região média. A região de $400\text{-}1800\text{ cm}^{-1}$ é conhecida como região da “impressão digital” do espectro IR, pois é nessa região que aparecem a maior parte das frequências vibracionais fundamentais (CANEVAROLO, 2007).

As técnicas espectroscópicas com absorção de IR médio com transformada de Fourier (FTIR) são empregadas no estudo dos grupos funcionais existentes no amido. As pesquisas citadas a seguir encontraram espectros com bandas de absorção para amido de araruta semelhante aos amidos de outras origens botânicas encontrados na literatura.

Em pesquisa realizada por Cunha (2016), as bandas de 3305 cm^{-1} , para araruta redonda e para araruta seta, foram atribuídas aos grupos OH existentes nas moléculas do amido, que estão interagindo por ligações de hidrogênio. Já as bandas encontradas em 2922 cm^{-1} e 2929 cm^{-1} foram atribuídas à deformação axial da ligação C-H. Bandas de absorção em 1651 cm^{-1} foram relacionadas à vibração dos grupos OH pertencentes às moléculas de água ligadas à região amorfa dos grânulos de amido. As bandas de absorção em 1339 cm^{-1} a 1337 cm^{-1} são relacionadas a deformações de grupos C-OH.

Enquanto avaliava o amido de araruta seta, Gordillo et al. (2014) encontraram bandas semelhantes às citadas por Cunha (2016). Bandas de absorção entre 3200 cm^{-1} e 3589 cm^{-1} , associadas ao alongamento de grupos OH, 2940 cm^{-1} , alongamento de grupos CH, 1647 cm^{-1} , vibração de grupos OH da água existente no amido e em 1460 cm^{-1} a torção de grupos CH_2 . A banda de absorção registrada 860 cm^{-1} foi associada a vibrações de C-O-C, que é uma característica específica de alongamento simétrico em amidos.

Extratos naturais empregados na elaboração de filmes poliméricos também são avaliados através da espectroscopia FTIR, para identificar os principais grupos funcionais dos compostos presentes nos extratos que são capazes de interagir com a matriz polimérica, como podem ser observados a seguir.

Filmes à base de gelatina e própolis vermelha enriquecidos com óleo essencial de manjerição foram avaliados por espectroscopia de FTIR (MÉNDEZ, 2017). Os espectros para extrato de própolis demonstraram bandas características da presença de flavonoides e anéis aromáticos. A vibração de flexão assimétrica de grupos C=O pertencente aos lipídios, flavonoides e aminoácidos foi identificada em 1694 cm^{-1} . Alongamento – vibração assimétrica de C=C – pertencente aos grupos aromáticos, flavonoides e aminoácidos foi identificada em 1618 cm^{-1} . Foi verificado o alongamento de compostos aromáticos em flavonoides e anéis aromáticos em 1507 cm^{-1} . Além disso, verificou-se vibração de flexão nos grupos C-H de grupos CH_2 e CH_3 , aromáticos dos flavonoides e anéis aromáticos em 1445 cm^{-1} . Já a vibração de flexão de C-H de grupos CH_3 de aromáticos foi identificada pela banda de 1375 cm^{-1} . A vibração de alongamento (C-C) e flexão (C-OH) de flavonoides e de grupos alcoólicos secundários foram atribuídas à banda 1083 cm^{-1} .

Produtos naturais, tais como própolis de origem britânica e brasileira, romã, sangue de dragão e sálvia também foram avaliados por FTIR para identificar grupos funcionais relacionados aos componentes responsáveis pela ação antimicrobiana (OLIVEIRA et al., 2016a). Para própolis verde brasileira, foram encontradas bandas 3366 cm^{-1} e 3273 cm^{-1} relacionadas aos grupos OH; e uma banda a 3433 cm^{-1} relacionada à OH de compostos fenólicos. A vibração de estiramento de grupos C=C foi identificada em 1640 cm^{-1} em razão das deformações de anéis aromáticos presentes em flavonoides e aminoácidos. A banda a 1457 cm^{-1} poderia estar relacionada com CH_3 , CH_2 , de flavonoides e anéis aromáticos.

Aceves et al. (2015) caracterizaram o extrato etanólico de própolis e utilizaram, dentre as técnicas espectroscópicas, a de FTIR. Conforme bandas encontradas nos espectros, vale destacar aquelas correspondentes aos grupos existentes nos componentes responsáveis pela atividade do extrato, compostos fenólicos, flavonoides e anéis aromáticos. A vibração de flexão assimétrica de grupos C=O é de lipídios, flavonoides e aminoácidos, sendo identificada em 1653 cm^{-1} . Vibração de flexão também foi constatada nos grupos C-H do grupo CH_3 dos flavonoides em 1380 cm^{-1} . A banda 1087 cm^{-1} foi atribuída à vibração de alongamento (C-C) e flexão (C-OH) de flavonoides e de grupos alcoólicos secundários.

A caracterização qualitativa por meio da espectroscopia de FTIR em amido e extratos naturais é bastante útil quando estes componentes são empregados na elaboração de

bioplásticos. Espera-se que as bandas espectrais do bioplástico, também analisado por FTIR, obtidas sejam semelhantes àsquelas encontradas nos espectros dos componentes de origem, com possíveis alterações das intensidades devido às interações entre eles. Portanto, através da avaliação das bandas espectrais verifica-se a presença de cada componente do bioplástico.

2.5.2 Propriedades ativas

Nessa subseção serão abordadas as propriedades ativas, compreendidas pela atividades antioxidante e antimicrobiana dos compostos fenólicos.

2.5.2.1 Atividade antioxidante dos compostos fenólicos

Na natureza, são encontradas moléculas com capacidade antioxidante, dentre as quais os compostos fenólicos são considerados como potentes antioxidantes, comparados aos tocoferóis, ao ácido ascórbico e aos carotenoides (CAROCHO; MORALES; FERREIRA, 2018; RICE-EVANS; MILLER; PAGANGA, 1996).

Os compostos fenólicos são numerosos, sendo relatadas na literatura mais de 8.000 estruturas, são encontrados em todo reino vegetal e variam desde compostos com apenas um anel aromático até grandes moléculas complexas, tais como os taninos e polifenóis derivados (CROZIER; JAGANATH; CLIFFORD, 2009). Tais compostos ainda podem ser divididos em: flavonoides, ácidos fenólicos, álcoois fenólicos, estilbenos, lignanas e taninos, cujas estruturas químicas estão ilustradas no Quadro 2, veja na página seguinte (OLIVEIRA; CARVALHO; MELO, 2014; RICE-EVANS; MILLER; PAGANGA, 1997).

Os antioxidantes participam de reações de oxido-redução e o mecanismo destas reações é explicado por Leopoldini; Russo e Toscano (2011). Inicialmente, a molécula que apresenta o grupo fenol, o antioxidante, representado por ArOH, reage com o radical livre, R[•], através da transferência de átomos de hidrogênio como descrito pela reação química (Equação 1).

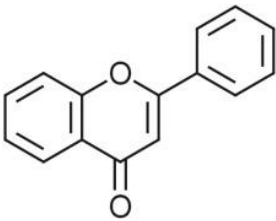
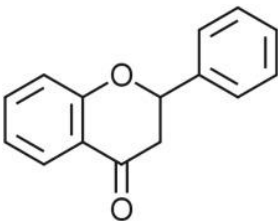
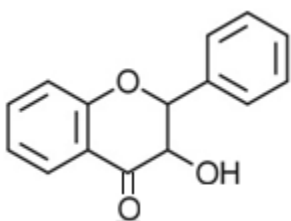
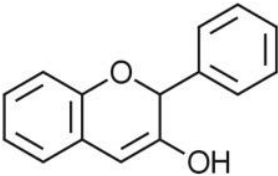
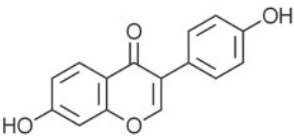
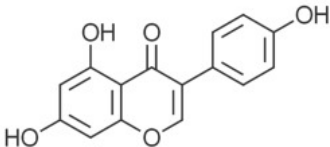
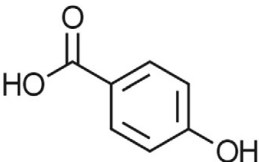
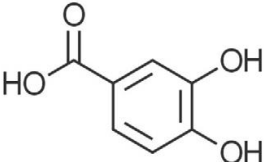
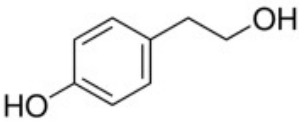
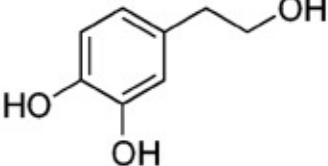
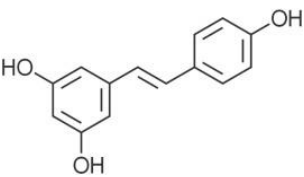
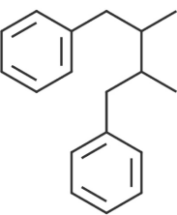
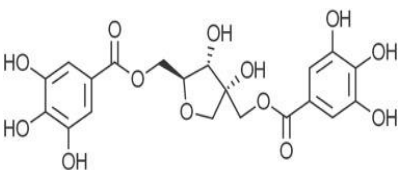


A seguir, em uma segunda reação, ocorre a transferência única de elétrons, ou seja, o oxidante doa um elétron para a molécula antioxidante (Equação 2).



Os produtos de ambas as reações são espécies não reativas (RH), um radical oxidado (ArO[•]), um radical cátion (ArOH^{+•}) e uma espécie energeticamente estável (R⁻).

Quadro 2 – Estrutura química dos compostos fenólicos

Flavonoides		
Flavonas 	Flavanonas 	Flavonóis 
Flavanóis 	Isoflavonas 	
Ácidos fenólicos		
		
Álcoois fenólicos		
		
Estilbenos 	Lignana 	Taninos 

Fonte: Adaptado (OROIAN; ESCRICHE, 2015).

Diante do mecanismo apresentado por Leopoldini; Russo e Toscano (2011), é possível verificar que a ação antioxidante apresentada pelos compostos fenólicos se dá pela capacidade de capturar radicais e torná-los espécies estáveis, desta forma as reações radicalares são interrompidas.

A atividade antioxidante dos compostos fenólicos pode ser medida por diferentes métodos descritos na literatura, sendo que os mais comuns empregados para avaliação em alimentos e amostras biológicas compreendem os métodos de captura do radical DPPH e/ou do radical ABTS e o método de determinação total de fenóis pelo Reagente Folin-Ciocalteu. Segundo Cömert e Gökmen (2018), esses métodos são baseados no mecanismo de transferência de elétrons e são bastante utilizados nas amostras citadas anteriormente devido à simplicidade, disponibilidade e estabilidade dos reagentes, além da reprodutibilidade em ampla faixa de concentração.

Na literatura, são encontrados estudos com filmes poliméricos aditivados com extratos naturais, os quais apresentam compostos fenólicos em sua composição e potencial ação antioxidante. Esses estudos avaliaram os filmes quanto ao teor de compostos fenólicos totais e quanto à atividade antioxidante e estão descritos a seguir.

Nos estudos realizados por Piñeros-Hernandez et al. (2017), os filmes de mandioca e glicerol apresentaram atividade antioxidante devido à adição do extrato de alecrim. O aumento da quantidade adicionada de extrato (5-20%, m/m de amido) às formulações contribuiu para o aumento da concentração de polifenóis nos filmes. Além disso, a atividade antioxidante dos filmes aumentou de 28,6% para 81,9% proporcionalmente ao teor de polifenóis (4,4 mg a 13,4 mg em ácido gálico/g de filme seco) das amostras.

Estudos realizados por Siripatrawan; Vitchayakitti (2016) em filmes de quitosana e extrato de própolis tailandesa (2,5%, 5%, 10% e 20%, m/m) comprovaram um aumento no conteúdo de compostos fenólicos e da atividade antioxidante dos filmes aditivados com extrato.

A estabilidade química dos compostos fenólicos, em filmes de amido de milho e carragena, contendo extrato de erva mate, foi verificada por Chang-Bravo; López-Córdoba e Martino (2014). Os filmes com erva-mate mantiveram seu conteúdo de polifenol ao longo do armazenamento por seis meses a 75% de umidade relativa, a 23 °C, porém, a capacidade de eliminação do radical DPPH aumentou em 50%.

Filmes à base de gelatina e própolis verde (brasileira), com diferentes concentrações de extrato (5%, 40% e 200%, m/m de gelatina) elaborados por Bodini et al. (2013) foram avaliados, durante 177 dias, quanto à estabilidade. Para o teor de fenólicos, foi observado que

estes foram preservados nos filmes ao longo do armazenamento, não obstante, nos filmes com extrato na concentração 5% (m/m de gelatina) demonstrou quantidade fenólica insuficiente para determinação.

Diante da comprovação da existência de compostos fenólicos na composição dos extratos naturais, é possível afirmar que estes são potenciais aditivos para o desenvolvimento de filmes com propriedades antioxidantes. O conteúdo do componente ativo sobretudo deve estar na matriz polimérica em quantidade suficiente para atuar como antioxidante.

2.5.2.2 Atividade antimicrobiana dos compostos fenólicos

Além da propriedade antioxidante atribuída aos compostos fenólicos, é atribuída a eles também a propriedade antimicrobiana encontrada em extratos naturais. Por isso, o uso de extratos naturais é comum na elaboração de filmes com propriedades antioxidante e antimicrobiana.

Mascheroni et al. (2010) estudaram a difusão de compostos de própolis no polímero poli (L-Ácido Lático), conhecido como PLA, em meio aquoso. Os autores verificaram que uma quantidade relevante dos ácidos fenólicos era liberada para água, enquanto outros compostos ativos, como os flavonoides, permaneciam na estrutura polimérica. Portanto, os ácidos fenólicos têm a capacidade de migrar para o meio e atuar como antimicrobiano.

Alguns mecanismos de ação da própolis frente a bactérias foram atribuídas por Mirzoeva; Grishanin e Calder (1997), tais como o aumento da permeabilidade da membrana plasmática e a alteração da capacidade motora celular. Enquanto Cushnie e Lamb (2005) atribuíram aos flavonoides a ação antimicrobiana pela capacidade de inibir a síntese de ácidos nucleicos da célula, a função da membrana citoplasmática e o metabolismo energético.

Em relação à atividade antimicrobiana, os estudos realizados por Siripatrawan e Vitchayakitti (2016) demonstraram que o extrato de própolis tailandesa foi mais eficaz frente a bactérias Gram-positivas (*Staphylococcus aureus*) do que frente a bactérias Gram-negativas (*Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* e *Salmonella enteritidis*), justificada pelas diferenças estruturais da parede celular bacteriana.

Nos estudos realizados por Bodini et al. (2013), ficou demonstrado que os filmes de gelatina e própolis verde apresentaram atividade antimicrobiana frente a *Staphylococcus aureus* ao longo do armazenamento (177 dias), como resultado da capacidade dos filmes de gelatina de preservar os compostos fenólicos.

Em estudos realizados por Torlak e Sert (2013), em filmes de polipropileno revestido com quitosana e própolis, foi verificado um aumento da atividade antimicrobiana, frente

Gram-positivas e Gram-negativas, pelos filmes aditivados com extrato etanólico de própolis (10g/100g, polímero-quitosana). O filme revestido com quitosana e própolis reduziu a contagem de patógenos em ciclos logarítmicos entre 3,87 log e 5,58 log em comparação com o filme controle durante o período de exposição de 24 horas.

Como pode ser observado, o extrato de própolis apresenta excelente capacidade antimicrobiana devido à presença de compostos fenólicos que por sua vez permanecem ativos quando empregados como aditivos em filmes poliméricos.

Os filmes poliméricos à base de amido de araruta aditivados com extrato de própolis verde e tratados com radiação gama não apresentam estudos na literatura, como demonstrado na Seção 2.5, que evidenciem os efeitos causados pelas diferentes concentrações do extrato ou pelas variadas doses de radiação gama na matriz polimérica. Sendo assim, tais efeitos foram avaliados no presente estudo, cuja metodologia empregada será descrita na subseção seguinte.

2.5.3 Massa molar dos polímeros

Os polímeros se destacam por apresentar moléculas de cadeias longas, ou seja, de alta massa molecular, acima $10.000 \text{ g.mol}^{-1}$, que influencia diretamente nas suas propriedades físico-químicas (CANEVAROLO, 2006). Na literatura, a massa molecular pode ser classificada em três tipos: massa molecular numérica média, massa molecular ponderal média e massa molecular viscosimétrica média. A determinação para todos os casos exige que o polímero esteja em solução (MANO; MENDES, 2004).

A medida viscosimétrica de soluções poliméricas diluídas pode fornecer de forma simples a massa molar média (dita viscosimétrica) dos polímeros (CANEVAROLO, 2006). Essa medida depende do número, do peso e também da forma das macromoléculas presentes na solução, matematicamente pode ser expressa pela Equação 3 (MANO; MENDES, 2004).

$$M_v = \frac{\left[\sum_{i=1}^{\alpha} n_i M_i^{1/a} \right]^{1/a}}{\sum_{i=1}^{\alpha} n_i M_i} \quad (3)$$

Sendo, M_v é a massa molar média viscosimétrica, n_i é número de moléculas da classe i , M_i é massa molar das moléculas da classe i , e a é a constante que depende do sistema polímero-solvente-temperatura.

Por meio da equação de Mark-Houwink (Equação 4), a viscosidade intrínseca (η) de uma solução polimérica diluída foi relacionada à massa molar média viscosimétrica (M_v) do polímero (GUILLET, 1985).

$$[\eta] = K(M_v)^a \quad (4)$$

Sendo, $K = 1,18 \times 10^{-3}$ e $\alpha = 0,89$, para o sistema amido-KOH ($1,0 \text{ mol.L}^{-1}$), a 30°C (FOSTER, 1965).

A viscosidade intrínseca pode ser determinada por algumas relações matemáticas a partir da medida da viscosidade de uma solução diluída empregando-se uma única concentração, conforme Equação 5 (QIAN, 1997) e Equação 6 (SOLOMO; CIUTA, 1962).

$$[\eta] = \frac{\eta_{sp}}{C(\eta_{rel})^{0,5}} \quad (5)$$

$$[\eta] = \frac{[2(\eta_{sp} - \ln \eta_{rel})]^{0,5}}{C} \quad (6)$$

As Equações 5-6 são utilizadas quando a constante de Huggins for $K_H > 0,5$, $0,3 > K_H > 0,4$, respectivamente.

Huggins propôs uma relação entre a viscosidade reduzida (η_{red}) e a concentração válida para soluções poliméricas diluídas ($1 < \eta_{red} < 2$) (ROSEN, 1993), assim tem-se a Equação 7.

$$\eta_{red} = [\eta] + K_H[\eta]^2 C \quad (7)$$

Sendo, K_H uma constante de proporcionalidade (constante de Huggins) próxima de 0,4 para diversos sistemas polímero-solvente.

A Equação 7 é linear, cuja inclinação da reta é obtida do gráfico plotado a partir da η_{red} em função da concentração. Enquanto, a $[\eta]$ pode ser, ainda, obtida pela extrapolação da viscosidade reduzida, quando a concentração da solução for zero (ROSEN, 1993).

$$[\eta] = \lim_{c \rightarrow 0} \eta_{red}$$

Dessa forma, a η_{red} também está relacionada com a viscosidade específica (η_{sp}), a qual está diretamente relacionada à viscosidade relativa (η_{rel}), como demonstrada pelas Equações 8-10 (GUILLET, 1985).

$$\eta_{rel} = \frac{t}{t_0} \quad (8)$$

$$\eta_{sp} = \eta_{rel} - 1 \quad (9)$$

$$\eta_{red} = \frac{\eta_{sp}}{C} \quad (10)$$

Sendo, t e t_0 , respectivamente, o tempo de escoamento da solução e do solvente, C concentração da solução polimérica.

A partir dos dados da M_v é possível estimar o número de cisões na cadeia principal por cada 100 eV de energia absorvida, representado pelo valor G . O valor G pode ser determinado pela relação matemática deduzida por ARAÚJO et al. (1998) (Equação 11).

$$\frac{10^6}{M_v} = \frac{10^6}{M_{v_0}} \pm \frac{0,104GD}{\Gamma(\alpha + 2)^{1/\alpha}} \quad (11)$$

Sendo, M_{v_0} e M_v as massas molares médias viscosimétricas antes e depois da irradiação, respectivamente. Γ é a função gama e α é a constante utilizada na Equação 4 de Mark-Houwink. A relação $10^6/M_v$ e D é linear e fornece o valor G da inclinação da reta. Uma inclinação positiva da reta indica o efeito de cisão predominante na cadeia principal, enquanto a inclinação negativa está relacionada ao efeito predominante de reticulação (SILVA et al., 2019). Assim, a Equação 11 torna-se a Equação 12 para sistemas amido-KOH com $\alpha = 0,89$.

$$\frac{10^6}{M_v} = \frac{10^6}{M_{v_0}} \pm 0,053GD \quad (12)$$

A Equação 12 é linear e a inclinação da reta do gráfico plotado a partir do inverso da M_v em função da dose de irradiação fornece o valor G (ARAÚJO et al., 1998).

Empregando-se os dados da massa molar média viscosimétrica das amostras irradiadas (M_v) e amostras não irradiadas (M_{v_0}), pode-se determinar o índice de degradação (ID), que representa o número de cisões por moléculas originais (ARAÚJO et al., 1998), conforme Equação 13.

$$ID = \left(\frac{M_{v_0}}{M_v} \right) - 1 \quad (13)$$

2.5.4 Difratometria de raios-X

A difratometria de raios-X é uma técnica que permite estudar a estrutura cristalina e sua fração percentual através do espalhamento dos raios-X por estruturas organizadas (CANEVAROLO, 2007).

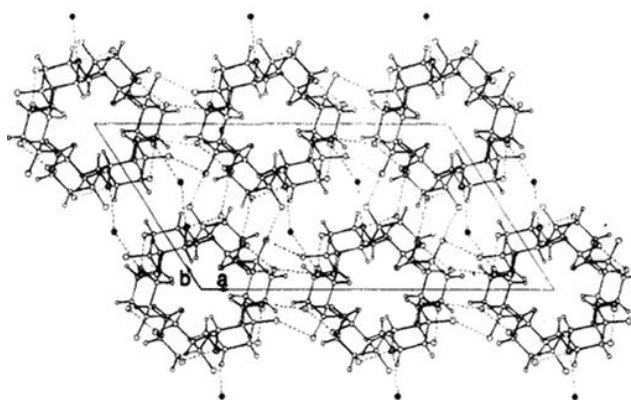
Os átomos e as moléculas podem se arranjar de forma cristalina ou amorfa. Com os grânulos de amido não seria diferente, sua organização estrutural define sua cristalinidade. Esta encontra-se associada às cadeias das ramificações da amilopectina (TANG; MITSUNAGA; KAWAMURA, 2006).

A cristalinidade influencia na estrutura espacial dos grânulos de amido nas características físico-químicas, como a susceptibilidade ao ataque enzimático e a solubilidade parcial em água fria (TANG; MITSUNAGA; KAWAMURA, 2006).

Segundo Moorthy (2002) os diferentes tipos de amido possuem o padrão 'A', 'B' ou 'C', sendo que este último é uma mistura de padrões 'A' e 'B'. Um padrão V (geralmente associado aos padrões A, B ou C) pode aparecer após a gelatinização devido à complexação da amilose, embora tais padrões também sejam relatados como existentes em amidos nativos (GALLANT et al., 1992).

Os amidos de cereais produzem um padrão de raios-X Tipo A, consistindo de duplas hélices em um arranjo monocíclico. O padrão tipo B é encontrado em amido de tubérculos e raízes tropicais, consistindo de uma estrutura aberta e altamente hidratada, com duplas hélices dispostas em arranjo hexagonal (GALLANT; BOUCHET; BALDWIN, 1997; IMBERTY et al., 1987), conforme Figura 6.

Figura 6 – Duplas hélices de amilose e das quatro moléculas de água (como pontos negros) em uma célula unitária



Fonte: Imberty et al. (1987).

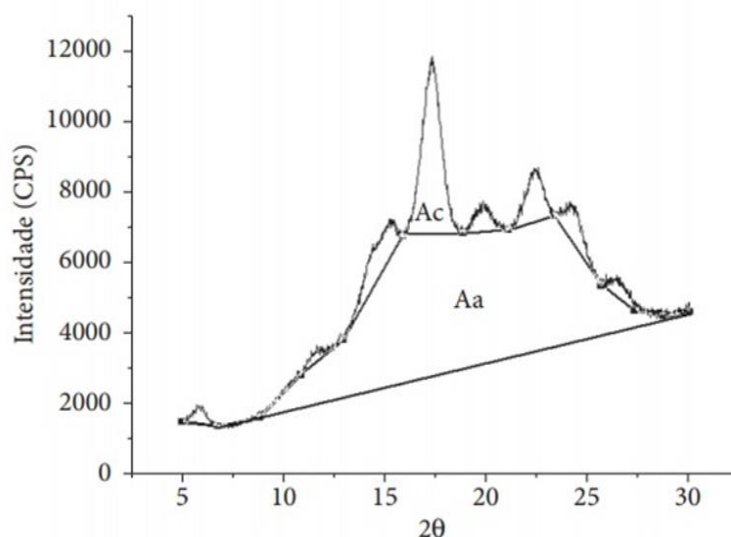
A origem botânica influencia no padrão de cristalinidade da amostra, amido extraído de raízes e tuberosas tem padrão de difração de raios-X do Tipo B, porém, existem algumas exceções, tais como os amidos de batata-doce (*Ipomoea batatas*) (A, C), de mandioca (*Manihot esculenta*) (A, C) e de inhame (*Discorea dumetorum*) (A) (HOOVER, 2001).

Amido com padrão Tipo A é composto por amilopectina com cadeias curtas ramificadas espalhadas entre as regiões cristalinas e amorfas. Essa característica confere maior densidade à molécula de amilopectina padrão Tipo A, comparada a amilopectinas padrão Tipo B e C. Isso porque no amido tipo B, a amilopectina apresenta poucas ramificações de cadeias longas aglomeradas nas regiões amorfas, e no amido Tipo C, as amilopectinas contêm ambos os comprimentos de ramificação, longos e curtos (MCPHERSON; JANE, 1999; YOO; JANE, 2002).

Conforme relatos da literatura, são encontrados diferentes padrões de cristalinidade para os grânulos de amido de araruta. Nogueira; Fakhouri e de Oliveira (2018) encontraram um padrão de mistura de polimorfos A ($2\theta = 15,42^\circ$) e B ($2\theta = 5,68^\circ, 17,42^\circ, 23,14^\circ$), sugerindo um padrão Tipo C. Villas-Boas e Franco (2016) encontraram um padrão de cristalinidade Tipo A, caracterizado por picos principais a $2\theta = 15^\circ, 17^\circ, 18^\circ$ e 23° . O padrão Tipo B para amido de araruta foi encontrado por Gordillo et al. (2014), com base nos picos observados a $2\theta = 5,7^\circ, 14,9^\circ, 17,3^\circ, 22^\circ, 24^\circ$.

Além dos ângulos do difratograma que caracterizam o padrão de cristalinidade da amostra de amido, é possível ainda determinar a cristalinidade residual. Segundo Rocha (2008), a cristalinidade residual, obtida em percentual, corresponde à razão entre as áreas da região cristalina e região amorfa, conforme esquema apresentado na Figura 7.

Figura 7 – Difratograma de raios-X descritivo do método de determinação da cristalinidade, adaptado à razão das intensidades difratadas



Fonte: Rocha et al. (2008).

Sendo, A_c a área da região cristalina e A_a a região da área amorfa.

Na literatura, são encontrados valores para cristalinidade residual da fécula de araruta. Nos estudos realizados por Cunha (2016), a cristalinidade da fécula de araruta redonda foi de 40,79%, enquanto para a araruta seta foi de 39,17%; Villas-Boas e Franco, (2016) encontraram 37,7 % para araruta produzida no estado de São Paulo; e Pepe (2011) encontrou 36,8% para araruta da variedade ‘Comum’, obtida em Minas Gerais.

Os filmes poliméricos obtidos do amido apresentam cristalinidade residual inferior ao grânulo de origem, pois durante seu processo de elaboração, a molécula de amido é gelatinizada e, conseqüentemente, ocorre a fusão da região cristalina. Parte da região

cristalina é restabelecida em virtude do fenômeno de retrogradação durante o processo de resfriamento do filme, pela capacidade de rearranjo da amilose (JIMÉNEZ et al., 2012). A amilopectina também contribui para o fenômeno a uma taxa mais lenta, sendo ela a responsável pelo aumento da cristalinidade dos filmes durante o armazenamento (DENARDIN; SILVA, 2009; MEDINA-JARAMILLO et al., 2016).

Além da retrogradação, a composição pode interferir na cristalinidade dos filmes de amido. Em estudos realizados por Medina-Jaramillo et al. (2016), filmes de amido de mandioca e extrato de erva mate apresentaram cristalinidade residual de 4% para o filme sem extrato, 3,3% para o filme contendo 5% de extrato e menor que 1% para o filme com 20% de extrato de erva-mate. Segundo os autores, o extrato de erva-mate foi capaz de retardar a retrogradação (recristalização) dos filmes de amido de mandioca, ou seja, o extrato apresentou ação plastificante que dificultou a atração entre as moléculas de amido.

2.5.5 Termogravimetria (TG)

A termogravimetria (TG) é uma técnica termoanalítica que acompanha a variação da massa (perda ou ganho) da amostra em função do tempo ou em função da temperatura (CANEVAROLO, 2007; CAVALHEIRO, 1995; DENARI; CAVALHEIRO, 2012).

As curvas TG fornecem informações quanto à estabilidade térmica da amostra, à composição e à estabilidade dos compostos intermediários e do produto final. Durante os eventos térmicos, a amostra deve liberar um produto volátil devido aos processos físicos ou químicos, tais como desidratação, vaporização, dessorção, oxidação, redução, etc.; ou deve interagir com o gás da atmosfera no interior do forno resultando em processos que envolvem ganho de massa, tais como: absorção, oxidação de ligas ou metais e óleos, etc. (CANEVAROLO, 2007).

A partir das curvas TG, pode-se obter a derivada primeira da variação de massa em relação ao tempo (dm/dt) e/ou em relação a temperatura (dm/dT), denominada DTG. A curva DTG fornece a mesma quantidade de informações que a curva TG, sobretudo as informações são mais facilmente visualizáveis. Ela permite a determinação direta em que a taxa de variação de massa é máxima, $T_{máx}$, e a área do pico é diretamente proporcional à variação da massa (CANEVAROLO et al., 2007; DENARI; CAVALHEIRO, 2012).

Estudos termogravimétricos de amido (GUINESE et al., 2006; LIU et al., 2010) verificaram dois eventos térmicos, cujas variações das massas foram atribuídas primeiro à evaporação das moléculas de água e segundo pela decomposição da molécula de carboidrato em questão, caracterizada pela despolimerização e degradação. A desidratação do amido

ocorre em temperaturas inferiores a 150 °C, a despolimerização abaixo de 300 °C e a degradação acima desta última temperatura.

Segundo Aggarwal e Dollimore (1998), a fase inicial da despolimerização altera a estrutura do amido para formar produtos solúveis em água fria, denominados dextrinas. À medida que a temperatura aumenta, a despolimerização das macromoléculas ocorre com a formação de β -(1,6) anidro D-glicopiranosose (levoglicosana), 2-furaldeído (furfural) e uma gama de produtos voláteis e de fragmentação gasosa de menor peso molecular, como CO e CO₂.

O uso da termogravimetria também é comum para avaliar a estabilidade térmica de filmes poliméricos. Nos estudos realizados em filme de amido de mandioca e extrato de alecrim por Piñeros-Hernandez et al. (2017), foram observados três eventos térmicos. No primeiro, entre 50 °C e 150 °C, houve uma perda de 10% da massa inicial, o segundo ocorreu entre 200 °C e 255 °C e o terceiro teve início em temperaturas superiores a 255 °C. A curva de TG demonstrou que os filmes com extrato de alecrim apresentaram menor temperatura de degradação térmica comparados ao filme sem extrato. Segundo os autores, a presença do extrato diminuiu as interações amido-glicerol.

Em pesquisas realizadas com filmes de amido de mandioca e extrato de erva-mate (MEDINA-JARAMILLO et al., 2016), o primeiro evento térmico relacionado a reações de desidratação não foi observado, justificado pela perda de 5% da massa dos filmes, valor considerado baixo para visualização na curva de TG. O segundo evento térmico ocorreu entre 160 °C e 260 °C, cuja perda de massa maior ocorreu para o filme com 20% de extrato, aproximadamente 7%. Foi percebido que nesse estágio houve perda de componentes de baixa massa molecular, confirmada pela curva de degradação do extrato que iniciou em 180 °C. Já o último evento iniciou-se em 240 °C para filmes com extrato e em 260 °C para o filme sem extrato. Os autores afirmaram que a presença do extrato de erva-mate, rico em polifenóis, diminuiu as interações amido-amido e fortaleceu as interações de hidrogênio dos componentes aromáticos com a matriz polimérica, resultando na redução da temperatura de decomposição térmica dos filmes.

De modo geral, a decomposição dos filmes poliméricos inicia-se por reações de desidratação, seguida pela decomposição dos demais componentes com maior estabilidade térmica. Observou-se, ainda, que adição de extratos naturais alterou as interações entre o polímero e o plastificante, com tendência a reduzir a temperatura de degradação dos filmes.

2.5.6 Propriedades mecânicas

A manutenção da integridade dos filmes depende da capacidade de suportar as tensões normais durante a sua aplicação, o transporte e o manuseio (GONTARD et al., 1994).

Algumas características mecânicas são desejáveis em filmes poliméricos e coberturas comestíveis. Estes devem ser resistentes à ruptura e à abrasão para que possam reforçar a estrutura do alimento e facilitar o seu manuseio; devem, também, ser flexíveis para que possam se adaptar às possíveis deformações sem se romper (VICENTINI, 2003).

As principais propriedades mecânicas a serem avaliadas nos bioplásticos são obtidas através de testes de resistência à tração, cujos resultados compreendem a tensão, a elongação e o módulo de elasticidade ou de Young. A determinação dessas propriedades permite comparar o desempenho mecânico dos filmes poliméricos, assim como avaliar os efeitos decorrentes da modificação do polímero-base (reforços, cargas, aditivos, plastificantes) (CANEVAROLO, 2007).

Os ensaios de resistência à tração são realizados através da aplicação de uma força em condições controladas. Geralmente, a deformação ocorre à velocidade constante até a ruptura do material.

A tensão expressa a razão entre força de tração (F) e a área da seção transversal (A_t) inicial do corpo de prova (Equação 14), expressa em MPa:

$$\sigma = \frac{F}{A_t} \quad (14)$$

A elongação (E) corresponde à relação entre a extensão do comprimento do corpo de prova após ensaio (L) e o comprimento inicial (L_0) (Equação 15) pode ser expresso em mm ou percentual:

$$E = \frac{L}{L_0} \quad (15)$$

A deformação é adimensional e pode ser determinada através da Equação 16:

$$\varepsilon = \frac{\Delta L}{L_0} = \frac{(L - L_0)}{L_0} \quad (16)$$

O módulo de elasticidade ou módulo de Young (Y) pode ser determinado através da razão entre a tensão e a deformação (ε), expresso em termos de força por unidade de área (MPa) (Equação 17):

$$Y = \frac{\sigma}{\varepsilon} \quad (17)$$

Na literatura, são encontrados estudos das propriedades mecânicas em filmes elaborados por diferentes biopolímeros aditivados com extrato etanólico de própolis. Dentre os biopolímeros, têm-se o amido de milho e carragena (CHANG-BRAVO; LÓPEZ-CÓRDOBA; MARTINO, 2014), a gelatina (BODINI et al., 2013) e o hidroxipropilmetilcelulose (PASTOR et al., 2010).

Em estudos realizados por Pastor et al. (2010), os resultados mostraram que a fração de extrato de própolis (0-1,5%, m/m) não afetou significativamente a resistência à tração e o módulo de elasticidade, mas a deformação no intervalo diminuiu significativamente quando a concentração de extrato aumentou nos filmes. Os autores afirmam que a possibilidade de formação de zonas cristalinas entre os componentes do extrato (resinas, bálsamos contendo flavonoides, ácidos fenólicos ou seus ésteres) e os grupos hidrofílicos ao longo da estrutura de celulose das moléculas de hidroxipropilmetilcelulose podem reduzir a flexibilidade e a capacidade de deformação do filme.

Em filmes de gelatina adicionados de extrato etanólico de própolis, Bodini et al. (2013) observaram que o aumento da concentração de 5% (m/m) de extrato para 200% (m/m) na composição dos filmes de gelatina, reduziu a resistência à tração de 45, MPa para 31,7 MPa, respectivamente. Os autores afirmaram que o extrato de própolis atuou como um agente plastificante, pois aumentou a mobilidade das cadeias da matriz polimérica.

Na pesquisa avaliada por Chang-Bravo; López-Córdoba e Martino (2014), os filmes de amido de milho e carragena foram aditivados com 6% (v/v) própolis vermelha cubana. Conforme resultados encontrados, a resistência à tração (25,7 MPa) e o módulo de elasticidade (10,4 MPa) dos filmes aditivados foram inferiores ao do filme controle (sem própolis), 53,3 MPa e 32,1 MPa, respectivamente. Os autores atribuíram este comportamento à forte interação entre o extrato de própolis e a matriz polimérica. De modo geral, observa-se que a composição dos filmes poliméricos influencia nas propriedades mecânicas dos mesmos.

2.5.7 Propriedades ópticas

Nessa subseção serão apresentadas as propriedades ópticas representadas pelas medidas de cor e transparência.

2.5.7.1 Medidas de cor

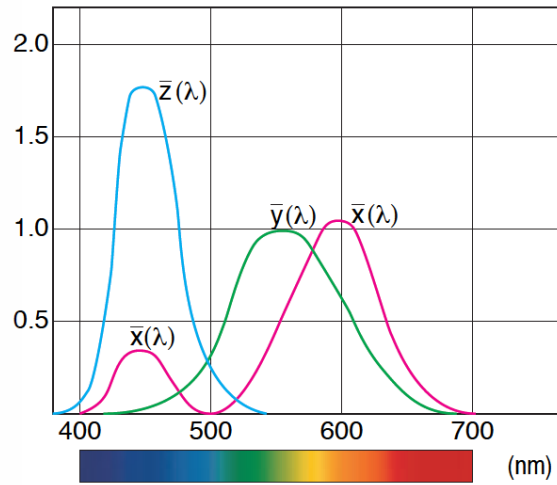
A cor é uma interpretação subjetiva da percepção humana. As sensações de cor por cada indivíduo são percebidas unicamente e são dependentes dos aspectos fisiológicos e psicológicos. A retina registra os estímulos de cor resultante da energia distribuída e das propriedades espectrais da luz visível que passa através, ou é refletida, por um objeto.

Partindo do princípio de que a cor é uma percepção subjetiva e individual, pode-se afirmar que duas pessoas olhando o mesmo objeto poderá expressar a cor utilizando as mais diferentes palavras, bem como referências diversas para expressá-la. Por outro lado, a cor precisa ser expressa de forma objetiva através de números (HUNTERLAB, 2015). Para tanto, foi necessário identificar as características mínimas para expressar uma cor, sendo elas: a tonalidade, a luminosidade e o grau de saturação (MELCHIADES; BOSHI, 1999).

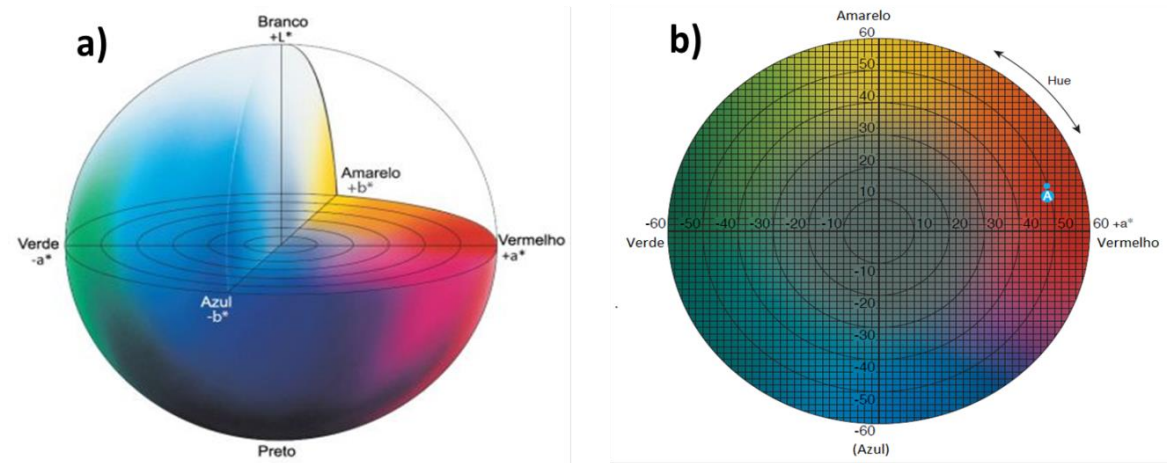
Os espaços colorimétricos são métodos empregados para representação da cor. A CIE (*Commission Internationale de l'Eclairage*, ou seja, Comissão Internacional de Iluminação) estabeleceu o espaço psicofísico tri-estímulos X, Y, Z, de difícil interpretação visual e os espaços psicométricos $L^*a^*b^*$ e $L^*C^*h^\circ$, respectivamente, representados em coordenadas cartesianas e cilíndricas (KONICA MINOLTA, 1998).

A coordenada L^* indica o grau de luminosidade e na escala de cor varia entre 0 (preto) e 100 (branco). As coordenadas a^* e b^* podem assumir valores positivos e negativos no espaço colorimétrico. Quando a^* assumir valores menores que zero ($-a^*$), a cor tende ao verde, enquanto valores de a^* maior que zero ($+a^*$) a cor tende ao vermelho. O mesmo raciocínio é válido para coordenada b^* , isto é, quando b^* assumir valores menores que zero ($-b^*$), a cor tende ao azul, enquanto valores de b^* maior que zero ($+b^*$), a cor tende ao amarelo. Cada cor corresponde um espectro característico a um comprimento de onda que pode ser visualizado na Figura 8, veja página seguinte (MELCHIADES; BOSHI, 1999).

No espaço $CIE\ L^*C^*h^\circ$, L^* também corresponde ao grau de luminosidade, C^* a saturação ou croma, cujas coordenadas são representadas por a^* e b^* , h° corresponde à tonalidade também conhecida com “hue” ou ângulo de matiz. O espaço colorimétrico $CIE\ L^*a^*b^*$ e $CIE\ L^*C^*h^\circ$ são representados pela Figura 9 que poder ser visualizada na seguinte página.

Figura 8 – Espectros correspondentes às cores

Fonte: Konica Minolta (1998).

Figura 9 – (a) Coordenadas de identificação de cor do espaço $L^*a^*b^*$; e (b) Diagrama de tonalidade e saturação do espaço colorimétrico $L^*C^*h^\circ$ 

Fonte: Konica Minolta (2016; 1998).

As Equações 18-22 do espaço colorimétrico CIEL*a*b* e CIEL*C*h°, abaixo, foram obtidas a partir dos valores X, Y e Z (tri-estímulos), sendo que o valor Y refere-se somente à luminosidade da amostra. Enquanto isso, os valores X_n , Y_n e Z_n são as coordenadas do branco padrão, no mesmo sistema (mesmo iluminante e mesmo observador) (CIE 15:2004).

$$L^* = 116 \left(\frac{Y}{Y_n} \right)^{\frac{1}{3}} - 16 \quad (18)$$

$$a^* = 500 \left[\left(\frac{X}{X_n} \right)^{\frac{1}{3}} - \left(\frac{Y}{Y_n} \right)^{\frac{1}{3}} \right] \quad (19)$$

$$b^* = 200 \left[\left(\frac{Y}{Y_n} \right)^{1/3} - \left(\frac{Z}{Z_n} \right)^{1/3} \right] \quad (20)$$

$$C^*_{ab} = \sqrt{a^{*2} + b^{*2}} \quad (21)$$

$$h^{\circ}_{ab} = \arctan \left(\frac{b^*}{a^*} \right) \quad (22)$$

A diferença de cor CIEL*a*b* é a distância no diagrama CIEL*a*b* entre a cor de um padrão referência e a cor medida, dada pela Equação 23 (CIE 15:2004).

$$\Delta E_{ab}^* = \sqrt{(\Delta L^*)^2 + (\Delta a^*)^2 + (\Delta b^*)^2} \quad (23)$$

Sendo:

$$\Delta L^* = L^*_{amostra} - L^*_{padrão}$$

$$\Delta a^* = a^*_{amostra} - a^*_{padrão}$$

$$\Delta b^* = b^*_{amostra} - b^*_{padrão}$$

No sistema CIEL*C*h°, a diferença de croma também pode ser determinada pela Equação 24.

$$\Delta C^*_{ab} = C^*_{amostra} - C^*_{padrão} \quad (24)$$

Enquanto isso, a diferença de tonalidade é medida, desde que seja considerada a diferença de cor, de luminosidade e de croma, pela Equação 25.

$$\Delta H_{ab}^* = \sqrt{(\Delta E^*_{ab})^2 + (\Delta L^*_{ab})^2 + (\Delta C^*_{ab})^2} \quad (25)$$

Na literatura, são encontrados estudos da cor em filmes para avaliar sua alteração em função da composição. A avaliação desta característica é importante, pois a cor do filme desenvolvida pode afetar a aceitabilidade do consumidor dos produtos ao aplicá-lo em alimentos de cor clara (SIRIPATRAWAN; VITCHAYAKITTI, 2016).

As coordenadas da cor, L^* , a^* e b^* foram avaliadas em filmes de quitosana aditivados com extrato de própolis (2,5-20%, m/m) e comparados com filmes sem extrato por Siripatrawan e Vitchayakitti (2016). Os autores observaram que os valores L^* dos filmes diminuíram, ao passo que os valores de a^* e b^* aumentaram proporcionalmente às concentrações de extrato de própolis. Esse comportamento foi atribuído à presença de compostos coloridos existentes no extrato.

A redução da luminosidade também foi observada em filmes de hidroxipropilmetilcelulose quando o conteúdo de extrato de própolis verde aumentou em paralelo ao aumento da saturação da cor (C^*_{ab}) (PASTOR et al., 2010). O aumento da saturação indica a maior presença de pigmentos e maior intensidade da cor, tornando os filmes mais escuros e menos luminosos. A tonalidade (h^*_{ab}) reduziu (mudou de amarelo para vermelho) com o aumento da fração de extrato, como consequência da presença de carotenoides.

2.5.7.2 Transparência

A aceitação do produto pelo consumidor é resultante da avaliação de vários aspectos, dentre eles o visual e a opacidade. A transparência dos filmes flexíveis faz com que o consumidor conheça exatamente o produto a ser adquirido, já filmes opacos podem ser utilizados como rótulos de produtos alimentícios (FAKHOURI, 2009).

A transparência é uma característica desejável aos filmes que podem ser empregados como revestimento comestível, considerando-se sua influência na aparência do produto e aceitabilidade pelo consumidor (GONTARD; GUILBERT; CUQ, 1992). Entretanto, é indesejável aos produtos sensíveis a luz.

Os filmes de amido em geral são transparentes, todavia, o nível da transparência é dependente da origem botânica, bem como da presença de outros componentes, tais como extratos naturais e plastificantes na sua composição.

Filmes de amido de ervilha em função da concentração de glicerol foram avaliados por Saberi et al. (2016). Os autores observaram que o aumento da concentração de glicerol (0%, 15%, 25% e 35%) contribuiu para redução da transparência dos filmes, de 14,5% para 8,9%.

Piñeros-Hernandez et al. (2017) avaliaram filmes de amido de mandioca adicionado de extrato de alecrim 5%, 10% e 20 % (m/m) e verificaram uma redução da transparência dos filmes de 7,3 % (filmes com 5% e 10% de extrato) para 5,7% (filmes com 20% de extrato).

A redução da transparência foi observada em filmes de hidroxipropilmetilcelulose por na presença de extrato de própolis (PASTOR et al., 2010). Os autores correlacionaram ao

aumento da opacidade provocado pela dispersão da luz com a presença de agregados (com um índice de refração diferente) distribuídos em toda a rede de filmes.

2.5.8 Solubilidade em água

A solubilidade em água é uma propriedade de interesse para aplicação dos filmes de amido. Filmes solúveis em água são aplicáveis em desenvolvimento de revestimentos comestíveis e encapsulamento de aditivos (BERTUZZI; ARMADA; GOTTIFREDI, 2007).

Durante elaboração dos filmes, a presença de plastificantes pode colaborar para o aumento da solubilidade em água, em contrapartida a adição de componentes hidrofóbicos pode minimizar este efeito.

Estudos realizados com filmes de amido de ervilha observaram que aqueles que não continham plastificante em sua composição apresentaram 2,2% de solubilidade em água (SABERI et al., 2016). Já os filmes contendo 15% e 35% (m/m) de plastificante (glicerol), a solubilidade foi de 11,8% e 26,7%, respectivamente. Dessa forma, a presença do plastificante contribuiu para o aumento da solubilidade dos filmes de amido de ervilha. Segundo os autores, no filme controle (sem plastificante) as hidroxilas do amido estavam envolvidas entre si para formar a estrutura polimérica, assim, estavam indisponíveis para interagir com as moléculas de água. Enquanto isso, os filmes com plastificante tiveram sua estrutura polimérica interrompida pela presença do glicerol que, por sua vez, contribuiu para aumento das regiões amorfas de modo a facilitar a permeação da água.

Bodini et al. (2013) avaliaram a solubilidade em água de filmes à base de gelatina e extrato etanólico de própolis (5%, 40% e 200%, m/m) e constataram que a propriedade em questão não foi alterada pela presença do extrato. Os autores concluíram que os componentes do extrato etanólico de própolis não alterou as características hidrofílicas do filme de gelatina. Portanto, a solubilidade apresentada pelo filme é determinada pela sua composição, entre outros fatores.

2.5.9 Permeabilidade ao vapor de água (PVA)

A embalagem pode atuar como barreira para limitar as transferências, ou trocas, entre os alimentos e o meio ambiente. As propriedades de barreira que uma embalagem oferece pode orientar sua aplicação (MALI; GROSSMANN; YAMASHITA, 2010).

Dentre as propriedades de barreira, tem-se a PVA que define se uma embalagem é adequada ao acondicionamento de produtos com elevada ou baixa atividade de água. Isto é, altos valores para a PVA indicam que a embalagem é recomendada para o acondicionamento

de produtos com elevada atividade de água. O contrário é válido para acondicionamento de alimentos desidratados.

A permeabilidade ao vapor de água, segundo a Norma ASTM E96-95, corresponde à taxa de transmissão do vapor de água por unidade de área de um material plano, com uma determinada espessura, induzida pela diferença de pressão de vapor entre duas faces, em condições específicas de temperatura e de umidade.

De acordo com Miller e Krochta (1997), as propriedades de transporte de massa através de um filme são descritas por três coeficientes: difusão, solubilidade e permeabilidade. A difusão pode ser descrita matematicamente pela lei de Fick. O fluxo (J), proporcional ao gradiente de concentração, pode ser expresso pela Equação 26:

$$J = - \frac{D \partial C}{\partial x} \quad (26)$$

Sendo, J o fluxo difusivo do permeante, D o coeficiente de difusão, C a concentração de permeante e x a espessura do filme. Considerando que a difusão ocorre no estado estacionário e a difusividade constante, o fluxo (J) é dado pela Equação 27:

$$J = D \frac{(C_1 - C_2)}{x} \quad (27)$$

Aplicando a lei de Henry ($C=Sp$), onde p é a pressão parcial do permeante e S o coeficiente de solubilidade, a Equação 6 torna-se a Equação 28:

$$J = DS \frac{(p_1 - p_2)}{x} \quad (28)$$

O produto DS corresponde ao coeficiente de permeabilidade (P). Rearranjando-se a Equação 28, tem-se a Equação 29:

$$J = P \frac{(p_1 - p_2)}{x} \quad (29)$$

Sendo:

$$J = \frac{Q}{A_p \cdot t} \quad (30)$$

Sendo, Q a quantidade do permeante, A a área de permeação e t o tempo. Igualando-se a Equação 29 e 30, tem-se a Equação 31:

$$\frac{Q}{A_p \cdot t} = P \frac{(p_1 - p_2)}{x} \quad (31)$$

Então, a permeabilidade pode ser calculada pela Equação 32:

$$P = \frac{Qx}{A_p t(\Delta P)} \quad (32)$$

Nas referências científicas, a permeabilidade de filmes poliméricos oriundo de fontes renováveis é avaliada e alguns estudos são citados a seguir. Em estudos realizados por Piñeros-Hernandez et al. (2017), a adição de até 5% de extrato de alecrim em filme de amido de mandioca não causou alteração da PVA; todavia, os filmes contendo 10% e 20% de extrato apresentaram um aumento da permeabilidade atribuído à existência de fissuras nos filmes, comprovadas por micrografias obtidas em microscópio eletrônico de varredura.

Em pesquisas realizadas por Bodini et al. (2013), houve uma redução da PVA (3,2 g.mm. h⁻¹.cm⁻². Pa⁻¹ para 2,3 g.mm. h⁻¹.cm⁻². Pa⁻¹), mas não foi possível correlacioná-la com o aumento da concentração de extrato de própolis. Já os filmes que continham concentrações intermediárias de extrato (5% e 40%) diferiram significativamente (p<0,05), porém, os filmes contendo 5% não diferiram daqueles, cuja concentração máxima foi 200%.

Em estudos realizados por Siripatrawan e Vitchayakitti (2016), a adição de extrato de própolis (0% a 20%) em filmes de quitosana provocou uma redução de 28,6% nos valores de PVA (0,7 g.mm. d⁻¹.m⁻². Pa⁻¹ para 0,5 g.mm. d⁻¹.m⁻². Pa⁻¹), sobretudo, foi empregado um extrato contendo 30% de sólidos, isto é, os componentes hidrofóbicos existentes estavam em maior concentração.

A permeabilidade é um fenômeno resultante dos efeitos combinados da difusão e da solubilização do permeante através da matriz polimérica (MILLER; KROCHTA 1997). Essa permeabilidade é influenciada pelos seguintes fatores: da relação hidrófila/hidrofóbica dos componentes do filme, da cristalinidade, da tortuosidade do percurso e da presença de defeitos superficiais ou estruturais (LUDUEÑA; VÁZQUEZ; ALVAREZ, 2012; VERSINO; GARCÍA, 2014).

Filmes altamente hidrofílicos, como aqueles de polissacarídeos e proteínas, exibem altos valores para PVA. Por outro lado, materiais à base de componentes hidrofóbicos, como os lipídios, apresentam efeito inverso, ou seja, são excelentes barreiras ao vapor de água (MALI; GROSSMANN; YAMASHITA, 2010). Desta forma, a determinação da permeabilidade ao vapor de água pode sugerir a aplicação do filme como embalagem, conforme propriedades desejadas ao acondicionamento do produto.

3 MATERIAIS E MÉTODOS

No presente capítulo, serão abordados os materiais e métodos desenvolvidos na pesquisa em questão. É interessante notar que a fécula de araruta será denominada ao longo do texto apenas de “araruta” e o extrato etanólico de própolis verde, apenas de “extrato de própolis”. Nessa parte do trabalho, haverá duas seções nas quais serão demonstrados os materiais e métodos utilizados, sendo estes últimos detalhados em novas subseções.

3.1 MATERIAIS

Para a preparação dos filmes foram utilizados os seguintes materiais.

(a) Extrato etanólico de própolis verde, com 11% (m/v) de sólidos, conforme descrição do fabricante Apis Flora que pode ser visualizada no Apêndice A.

(b) Fécula de araruta, variedade “Comum”, proveniente da cidade de Conceição do Almeida-BA, adquirida da empresa Araruta Bahia.

(c) Glicerina P.A., 97%, Química Moderna.

3.2 MÉTODOS

Nas subseções a seguir, serão detalhados os métodos utilizados para a realização da pesquisa, tais como a preparação dos filmes de araruta, as análises das matérias-primas, a caracterização dos filmes de araruta, a irradiação dos filmes, a caracterização dos filmes irradiados e a análise estatística.

3.2.1 Preparação dos filmes de araruta

As matérias-primas utilizadas para a preparação dos filmes foram as seguintes: araruta, glicerina e água. A concentração de araruta empregada no preparo foi determinada previamente e fixada em 5% (m/m) em relação à massa de solução. Já a glicerina foi utilizada com a função plastificante em uma proporção de 30% (m/m) no que diz respeito à massa de araruta e, quanto a água destilada, esta foi empregada como solvente em quantidade suficiente para completar a massa final de solução requerida. Desse modo, foram preparadas três formulações distintas para os filmes de araruta com base na concentração de extrato de própolis (3%, 10% e 20%, m/m). Estas concentrações foram estabelecidas em relação à matriz polimérica, ou seja, a araruta. Para melhor compreensão das formulações dos filmes de araruta, elas são descritas na Tabela 1.

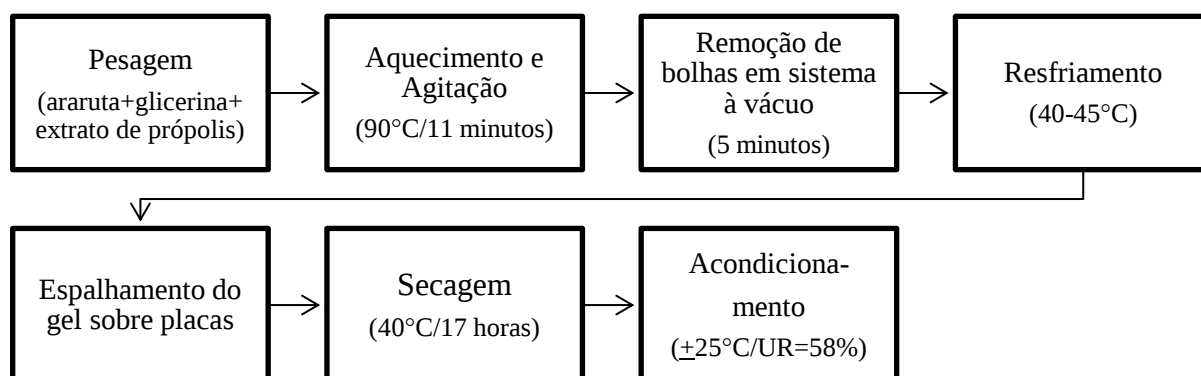
Tabela 1 – Formulações dos filmes de araruta com base na concentração de extrato de própolis

Filmes*	Araruta (g)	Glicerina (g)	Extrato de Própolis (g)	Água (g)	Total (g)
FA	9	2,7	0	168,30	180
FA3%EP	9	2,7	0,27	168,03	180
FA10%EP	9	2,7	0,9	167,40	180
FA20%EP	9	2,7	1,8	166,50	180

*FA = Filme de Araruta; FA3%EP = Filme de Araruta com 3% de Extrato de Própolis; Filme de Araruta com 10% de Extrato de Própolis; Filme de Araruta com 20% de Extrato de Própolis.

Fonte: A Autora (2019).

Quanto à sua elaboração, os filmes foram preparados através da técnica de evaporação do solvente (*Solution Casting*), adaptada da metodologia descrita por Chang-Bravo, López-Córdoba e Martino (2014). O fluxograma com as etapas da preparação dos filmes pode ser visualizado na Figura 10.

Figura 10 – Fluxograma de preparação dos filmes de araruta

Fonte: A Autora (2019).

Pode-se verificar que foram sete as etapas da preparação dos filmes. A seguir, cada uma delas será detalhada para melhor compreensão desse procedimento.

(a) A araruta e a glicerina foram misturadas em meio aquoso, a mistura foi aquecida em banho termostático (Fanem, 116), a 90°C, durante 10 minutos, em agitação mecânica constante para formação do gel.

(b) O extrato de própolis foi adicionado ao gel, o qual foi mantido em aquecimento e agitação por mais 1 minuto.

(c) Para a remoção das bolhas, incorporadas devido à agitação, o béquer, contendo o gel, foi colocado dentro de dessecador conectado a uma bomba de vácuo por 5 minutos.

(d) Em seguida, o gel foi resfriado (40-45°C), vertido e espalhado, com auxílio de um bastão de vidro, sobre placas de vidro (30x40 cm²), cobertas com folha de acetato.

(e) As placas contendo o gel foram levadas para secagem em estufa com circulação de ar (Quimis, Q-314 M242), a 40°C, durante 17 horas.

(f) E, por fim, os filmes secos foram acondicionados em sacos de polietileno e armazenados em dessecadores contendo solução saturada de brometo de sódio (NaBr), o qual proporcionou um ambiente com umidade relativa de 58%.

3.2.2 Análises das matérias-primas

Os grupos funcionais existentes na estrutura molecular da araruta, da glicerina e do extrato de própolis foram identificados por meio da técnica espectroscópica de absorção de infravermelho com transformada de Fourier (FTIR).

A araruta e a glicerina foram avaliadas quanto à estabilidade térmica por meio de análise termogravimétrica (TGA). A cristalinidade da araruta foi avaliada por difratometria de raios-X (DRX). O extrato de própolis foi avaliado quanto ao teor de flavonoides e fenólicos totais e quanto às suas propriedades antioxidantes.

As análises supracitadas estão descritas nas subseções a seguir.

3.2.2.1 Espectroscopia de infravermelho com transformada de Fourier (FTIR)

Os espectros foram obtidos por espectroscopia de absorção de infravermelho com transformada de Fourier, na região do infravermelho médio, no intervalo entre 500-4000 cm⁻¹, a partir de 16 varreduras em um Espectrofotômetro de Infravermelho por Transformada de Fourier (FTIR) (Shimadzu-IR, Prestige 21). As análises foram realizadas no Laboratório de Cristaloquímica e Micromorfologia do Solo, o qual está localizado no Centro Laboratorial de Apoio à Pesquisa (doravante CENLAG) da Unidade Acadêmica de Garanhuns (doravante UAG), em Garanhuns, Pernambuco, pertencente à Universidade Federal Rural de Pernambuco (doravante, UFRPE).

Para o extrato de própolis, utilizou-se o espectrofotômetro com acessório de refletância total atenuada (ATR). A absorbância de fundo das amostras foi corrigida utilizando espectro da água.

A araruta foi caracterizada a partir de pastilhas de brometo de potássio (KBr). Para o preparo das pastilhas, a araruta previamente seca por 24 horas em estufa (Solab, SL-100), a 105 °C, sendo em seguida macerada em almofariz de pedra de ágata. O KBr, previamente seco a 105 °C por 30 minutos, foi utilizado para preparo de uma pastilha, o qual foi misturado

com a araruta numa proporção de 1:100, araruta/KBr (m/m). As pastilhas de araruta/KBr foram caracterizadas no espectrofotômetro. A absorbância de fundo das amostras foi corrigida utilizando espectro da pastilha de KBr em uma resolução de 4 cm^{-1} , sendo os dados processados no software IRSolution.

3.2.2.2 Determinação de flavonoides

O teor de flavonoides do extrato de própolis foi determinado pelo método de complexação por cloreto de alumínio, que é específico para flavonas e flavonóis. A metodologia foi adaptada de Oliveira et al. (2016b) e Woisky e Salatino (1998). O extrato foi diluído em etanol formando uma solução com concentração de $1000\text{ }\mu\text{g.mL}^{-1}$. Um volume de 2 mL desta solução foi misturado com 1 mL da solução metanólica de cloreto de alumínio 5% (m/v) e 2 mL de metanol. A mistura reacional ficou em repouso por 30 minutos na ausência de luz e procedeu-se à leitura em espectrofotômetro UV-visível (Spectrum, 1105) a $\lambda=420\text{ nm}$. Todas as amostras foram realizadas em quintuplicatas e para o branco foi preparado o sistema substituindo a solução etanólica de extrato de própolis por metanol. A curva de calibração foi preparada com quercetina. Quanto aos resultados, estes foram expressos em $\text{mg E}_Q.\text{mL}^{-1}$ (mg de equivalente em quercetina por mL de amostra).

3.2.2.3 Determinação de fenólicos totais

O teor de fenólicos totais do extrato de própolis foi determinado pelo método descrito por Vieira et al. (2011). O extrato foi diluído em etanol formando uma solução com concentração de $1000\text{ }\mu\text{g.mL}^{-1}$. Um volume de 0,5 mL desta solução foi misturado com 8 mL de água destilada, 0,5 mL do reagente Folin Ciocalteu, e 1 mL da solução saturada de carbonato de sódio (Na_2CO_3). A mistura reacional ficou em repouso por 60 minutos na ausência da luz e procedeu-se a leitura em espectrofotômetro UV-visível (Spectrum, 1105) a $\lambda=720\text{ nm}$. Todas as amostras foram realizadas em quintuplicatas e para o branco foi preparado o sistema substituindo a solução etanólica de extrato de própolis por etanol. A curva de calibração foi preparada com ácido gálico.

3.2.2.4 Atividade antioxidante

A atividade antioxidante foi realizada pelos métodos de eliminação do radical DPPH (1,1-difenil-2-picrilidrazilo), segundo metodologia descrita por Brand-williams, Cuvelier e Berset (1995) e do radical catiônico ABTS (2,2'-azino-bis [3-etilbenzotiazolina-6-sulfônico]), descrita por RE et al. (1999).

O extrato de própolis foi diluído em etanol, em uma proporção de 1:10. Para a determinação da atividade antioxidante por DPPH, um volume de 0,1 mL da solução de extrato de própolis foi misturado com 3,9 mL de solução de metanol (25 mg.L^{-1}), contendo o radical DPPH. A absorbância foi determinada em um comprimento de onda correspondente a $\lambda=515 \text{ nm}$ após 30 minutos de repouso da mistura reacional na ausência de luz. A atividade de eliminação do radical DPPH foi expressa como a percentagem de inibição do radical, conforme Equação 33:

$$\% \text{ Inibição DPPH} = \left(\frac{Abs_{b(\lambda)} - Abs_{a(\lambda)}}{Abs_{b(\lambda)}} \right) \times 100 \quad (33)$$

Sendo, Abs_b a absorbância da amostra branca e Abs_a a absorbância da amostra teste.

Para a determinação da atividade antioxidante por ABTS, o ácido 2,2'-azino-bis [3-etilbenzotiazolina-6-sulfônico] foi dissolvido em água até uma concentração de 7mM, o qual reagiu com uma solução de persulfato de potássio 2,45 mM (concentração final) durante 16 horas ao abrigo da luz. O radical catiônico ABTS, um cromóforo azul, foi produzido durante esse período. A solução ABTS foi diluída com etanol até uma absorbância inicial de 0,70 ($\pm 0,02$) a um comprimento de onda correspondente a $\lambda=734 \text{ nm}$ (A_0). Uma alíquota de 50 μL da amostra a ser analisada foi adicionada a 950 μL da solução de ABTS obtida e a percentagem de redução de absorbância, após 6 minutos em banho-maria (30°C), foi registrada. A atividade de eliminação do radical ABTS de cada amostra foi expressa como a percentagem de inibição calculada conforme Equação 34:

$$\% \text{ Inibição ABTS} = \left(\frac{Abs_{b(\lambda)} - Abs_{a(\lambda)}}{Abs_{b(\lambda)}} \right) \times 100 \quad (34)$$

Sendo, Abs_b a absorbância da amostra branca e Abs_a a absorbância da amostra teste.

Assim, todas as medidas de absorbância, pelo método de DPPH e ABTS, foram realizadas em um espectrofotômetro (Biochrom Libra, S22), utilizando a água destilada como amostra branca. As análises foram realizadas no Laboratório de Biotecnologia, localizado no CENLAG – UAG – UFRPE.

3.2.2.5 Análise por difratometria de raios-X (DRX)

Amostras de araruta foram previamente secas em estufa por 24 horas a 105°C , posteriormente maceradas. As análises foram realizadas no intervalo angular de 2θ de $5-50^\circ$

em um difratômetro universal de raios-X (Shimadzu, XRD-6100) com eletrodo de cobre, operando com potência de 40 kV/30 mA, a uma velocidade de 1 °C. min⁻¹ e $\lambda=1,5418\text{\AA}$.

A estimativa da cristalinidade em percentual, para araruta, foi proposta por Hayakawa et al. (1997). A cristalinidade foi definida como a razão entre a área da região cristalina e a área observada coberta pela curva do difratograma, definidas conforme demonstrado na Figura 7. A área cristalina é composta pela diferença entre as áreas observada e amorfa encontradas no difratograma, conforme Equação 35:

$$\text{Cristalinidade (\%)} = \left(\frac{A_{obs} - A_a}{A_{obs}} \right) \times 100 \quad (35)$$

Sendo, A_{obs} a área observada e A_a a área da região amorfa.

3.2.2.6 Análise termogravimétrica (TGA)

A análise termogravimétrica foi realizada na Central Analítica do Departamento de Química Fundamental (DQF), localizado na Universidade Federal de Pernambuco (doravante UFPE), utilizando uma termobalança (Shimadzu, DTG-60). Foram pesadas amostras de araruta e glicerina com aproximadamente 20 mg, as quais foram aquecidas em uma faixa de 35–600°C, 10° C/minuto sob fluxo de 20 mL/minuto de nitrogênio.

A partir dos termogramas obtidos, foi possível obter a derivada primeira da variação de massa em relação à temperatura (dm/dT), denominada DTG.

3.2.3 Caracterização dos filmes de araruta

Nesta subseção serão descritos os métodos utilizados para caracterizar os filmes de araruta.

3.2.3.1 Análise por espectroscopia de infravermelho com transformada de Fourier (FTIR)

A fim de avaliar a presença dos grupos funcionais presentes nos compostos orgânicos contidos nos filmes de araruta e para certificar a incorporação do extrato de própolis à matriz polimérica, foram obtidos espectros das amostras de filmes de araruta e extrato de própolis por espectroscopia de absorção de infravermelho com transformada de Fourier, na região do infravermelho médio, no intervalo de 500 a 4000 cm⁻¹, a partir de 16 varreduras em um Espectrofotômetro de Infravermelho por Transformada de Fourier (FTIR) (Perkin Elmer, Spectrum 400). As análises foram realizadas no Laboratório de Análise de Combustíveis (LAC) – UFPE.

3.2.3.2 Determinação de flavonoides, fenólicos totais e atividade antioxidante

As amostras de filmes de araruta e extrato de própolis, com massa aproximadamente 100 mg, foram solubilizadas em 12 mL de água e levadas ao banho-maria (Tecnal, TE-054) a 50 °C por 30 minutos. Após esse período, as amostras foram filtradas, sendo o sobrenadante analisado quanto ao teor de flavonoides, fenólicos totais e atividade antioxidante, conforme foi descrito, respectivamente, nas Subseções 3.4.2.2, 3.4.2.3 e 3.4.2.4.

3.2.3.3 Atividade antimicrobiana

Cepas de *Staphylococcus aureus* ATCC 25293, mantidas em caldo soja tripticaseína (TSB) suplementado com 20% de glicerol e armazenadas a -18 °C, foram empregadas para realização das análises antimicrobiana. As células para o preparo do inóculo foram repicadas em meio inclinado agar nutritivo e mantidas em refrigeração (± 10 °C). As suspensões de células de microrganismos foram preparadas e ajustadas em caldo nutriente (1:500) para uma densidade celular de aproximadamente 5×10^8 UFC/mL, correspondente à solução padrão 0,5 de McFarland, cuja absorbância varia entre 0,08 a 0,10 ($\lambda=600$ nm). Foram efetuadas diluições seriadas da suspensão celular até a ordem de 10^5 UFC/mL para obtenção do inóculo utilizado para determinação atividade antimicrobiana *in vitro*.

A atividade antimicrobiana de filmes de araruta e extrato de própolis foi determinada por meio da contagem de bactérias sobreviventes, que foram mantidas em contato íntimo durante 24 horas a 37 °C, de acordo com a norma JIS Z 2801. O filme que não continha extrato (FA) foi utilizado como controle positivo.

As amostras de filme medindo 50 mm x 50 mm foram colocadas em placas de Petri estéreis, tratadas por luz UV (20 minutos de exposição em cada lado). Uma alíquota de 400 μ L de inóculo foi pipetada sobre as amostras de filmes tratados anteriormente com luz UV. Em seguida, as amostras de filme inoculadas foram cobertas com um pedaço de película de polietileno medindo 40 mm x 40 mm, também tratado previamente por radiação UV. As placas de Petri contendo as amostras inoculadas e cobertas foram incubadas a 37 °C em estufa, tipo B.O.D (Marconi, MA 402/1).

As contagens microbiológicas foram realizadas nas amostras de filme imediatamente após a inoculação, apenas para FA, como medida de controle da contagem inicial do inóculo, e após 24 horas de incubação para os filmes FA3%EP, FA10%EP e FA20%EP. Os microrganismos foram recuperados das amostras de filme através de lavagem, empregando-se caldo nutriente, o qual foi utilizado nas diluições seriadas em água peptonada 0,1% (m/v). Uma alíquota de 1,0 mL de cada diluição foi plaqueada em duplicata, em placas de agar para

contagem em placa. Após incubação a 37 °C por 48 horas, as colônias cultivadas em placas foram contadas e calculadas conforme Equações 36-38:

$$N_c = \frac{C_n \times V}{d} \quad (36)$$

Sendo, N_c o número de células viáveis, C_n o número médio de colônias encontrado nas duas placas e V o volume de meio empregado nas lavagens e da razão da diluição referente à placa empregada na contagem.

$$Redução \log_{10} = \log \left(\frac{A}{B} \right) \quad (37)$$

$$\% Redução = \left(\frac{B - A}{B} \right) \times 100 \quad (38)$$

Sendo, A correspondente a média do número de células viáveis do filme FA após 24 horas e B a média do número de células viáveis dos filmes com antimicrobiano após 24 horas (FA3%EP; FA10%EP; FA20%EP).

3.2.3.4 Análise por difratometria de raios-X (DRX)

Os filmes de araruta medido 40 x 35 mm² foram dispostos em porta-amostras de vidro e submetidos à análise por difratometria de raios-X, conforme metodologia que foi descrita na Subseção 3.4.2.5.

3.2.3.5 Análise termogravimétrica (TGA)

Para melhor compreensão dessa subseção, a estabilidade térmica dos filmes de araruta foi avaliada por análise termogravimétrica conforme metodologia descrita anteriormente na Subseção 3.4.2.6.

3.2.3.6 Análise das propriedades mecânicas

As propriedades mecânicas dos filmes de araruta foram determinadas mediante os ensaios de tração em um equipamento universal (EMIC, CCE500N), conforme a norma da ASTM 882-12, à temperatura ambiente, ± 25 °C, sem controle de umidade. A velocidade da garra foi de 5 mm/minuto, a distância inicial entre garras de 40 mm e a dimensão do corpo de prova foi de 2,5 x 7,5 cm². Os ensaios foram realizados nove vezes para cada formulação, FA, FA3%EP, FA10%EP e FA20%EP.

3.2.3.7 Análise de cor

A cor dos filmes foi determinada com base na reflectância no espaço de cor CIELab, utilizando um colorímetro (Konica Minolta, CR-10), com iluminante padrão D65 e ângulo de observação de 10°, seguindo as orientações do fabricante (Konica Minolta, 1998). As leituras foram realizadas em locais aleatórios de cada filme. O instrumento foi calibrado antes das medições utilizando superfície branca e preta como padrão. Foram realizadas sete leituras, para cada formulação de filme, as quais foram realizadas com os filmes posicionados sobre uma superfície branca como plano de fundo.

3.2.3.8 Análise de transparência

A transparência dos filmes foi medida segundo metodologia proposta por Han e Floros (1997). As medidas foram realizadas em quintuplicata. Os filmes foram cortados em retângulos (50 mm x 10 mm) e colocados no lado interno de uma cubeta de quartzo. A percentagem de transmitância de luz a 600 nm foi medida utilizando um espectrofotômetro UV-visível (Spectrum, 1105) e a transparência foi calculada conforme a Equação 39:

$$Transparência (\%) = \frac{LogT(\lambda)}{x} \quad (39)$$

Sendo, T a transmitância dada em (%) e, x a espessura (mm) de cada filme.

3.2.3.9 Análise de solubilidade em água

A análise da solubilidade em água dos filmes de araruta foi realizada segundo metodologia proposta por Gontard et al. (1994), como pode ser visualizada na Figura 11.

Figura 11 – Análise de solubilidade em água dos filmes de araruta aditivados com extrato de própolis



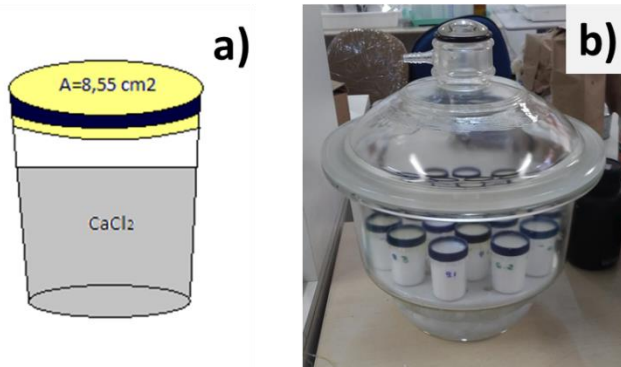
Fonte: A Autora (2019).

Amostras de filme com diâmetro igual a 4 cm foram pré-secadas em estufa (Solab, SL-100), a 90 °C, durante 24 horas e pesadas. Após esse período, as amostras foram imersas, cada uma, em 50 mL de água destilada e mantidas em mesa agitadora (Tecnal, TE-1401), a 127 rpm, por 24 horas, a 25 °C. Após esse período, as amostras foram secas em estufa a 105 °C durante 24 horas e pesadas novamente. A massa seca final das amostras foi então determinada e a solubilidade foi expressa em termos de massa seca dissolvida.

3.2.3.10 Análise de permeabilidade ao vapor de água (PVA)

A transmissão de vapor de água dos filmes foi determinada gravimetricamente conforme o procedimento ASTM E96-95 com um gradiente de 75% de umidade relativa a 25 °C. Os filmes foram fixados por meio de um anel perfurado em células de poliestireno, contendo área circular (8,55 cm²), expostas ao cloreto de cálcio (0% de umidade relativa). Essas células foram colocadas em dessecadores contendo uma solução saturada de cloreto de sódio (75% umidade relativa). O ensaio foi realizado em triplicata. O esquema de célula, empregada para análise da PVA, é ilustrada na Figura 12.

Figura 12 – (a) Esquema de célula coberta com o filme empregada na análise da PVA; e (b) Amostras durante as análises da PVA



Fonte: A Autora (2019).

O ganho de massa no sistema (célula/filme) foi determinado em intervalos regulares de 24 horas, totalizando um período de 168 horas. A PVA foi calculada mediante Equação 40:

$$PVA = \frac{G \cdot x}{t x A_e x P_0 (UR_1 - UR_2)} \quad (40)$$

Sendo, x a espessura média (mm) do filme, A_e a área exposta (cm²), P_0 a pressão de vapor da água (Pa) na temperatura de 25 °C, $(UR_1 - UR_2)$ corresponde à diferença de umidade relativa (%) e o termo G/t (g/hora) corresponde ao coeficiente angular da regressão linear da reta de ganho de massa do sistema *versus* tempo.

3.2.4 Irradiação dos filmes

Os filmes de araruta e extrato de própolis, selecionados na primeira etapa do trabalho, a partir dos melhores resultados das propriedades ativas, antimicrobiana e antioxidante, foram irradiados no Laboratório Gamalab, localizado no Departamento de Energia Nuclear (doravante, DEN) – UFPE. Utilizou-se uma fonte de ^{60}Co do tipo Gammacell, com taxa de dose de 1,933 kGy/h. As irradiações foram realizadas à temperatura ambiente e no ar atmosférico nas doses de 5 kGy, 10 kGy, 25 kGy e 50 kGy. Filmes de araruta sem extrato de própolis sofreram o mesmo processo daqueles com extrato. Todos os ensaios utilizando amostras irradiadas foram comparados com amostras não irradiadas.

3.2.5 Caracterização dos filmes irradiados

O efeito da irradiação nos filmes de araruta foi avaliado quanto aos teor de flavonoides, fenólicos totais e atividade antioxidante e através das técnicas de caracterização por análise termogravimétrica, análise das propriedades mecânicas, análise por difratometria de raios-X e análise de cor, conforme metodologias descritas na Subseção 3.4.3, e por análise viscosimétrica para determinação da massa molar média viscosimétrica.

3.2.5.1 Análises viscosimétricas

As análises viscosimétricas dos filmes foram realizadas no Laboratório de Polímeros e Nanoestruturas localizado no DEN – UFPE.

As amostras de filmes irradiados foram diluídas em solução de KOH (0,1 mol.L⁻¹). As medidas foram realizadas em um viscosímetro capilar do tipo Ostwald n° 100, equilibrado a 30±1,0 °C.

Para obtenção da viscosidade reduzida, foi utilizado o método D-otimizado o qual considera dois níveis de concentração, que são os extremos do gráfico (PIMENTEL; NETO, 1995). Assim, foram consideradas duas concentrações (idênticas) na extremidade inferior e duas na extremidade superior do gráfico. A escolha dos dois níveis de concentração foi baseada na condição de Huggins, na qual o limite inferior da viscosidade relativa é maior e próximo de 1, e o limite superior é menor e próximo de 2.

Os resultados das viscosidades relativa (η_{rel}), específica (η_{sp}) e reduzida (η_{red}) foram empregados para obtenção da viscosidade intrínseca $[\eta]$, conforme equações 8, 9 e 10, respectivamente, descritas na Subseção 2.5.3.

A massa molar média viscosimétrica (M_v) da equação de Mark-Houwink (Equação 4), também descrita da Subseção 2.5.3. Para tanto, fez-se necessária determinar $[\eta]$ através das relações matemáticas (Equações 5-6, Subseção 2.5.3) propostas por Qian ou Solomon-Ciuta.

O efeito da radiação gama sobre a estrutura polimérica dos filmes foi avaliado mediante resultados obtidos a partir das Equações 12-13, cujos valores referem-se ao valor G e ID, respectivamente.

3.2.6 Análise estatística

O experimento foi realizado utilizando-se o Delineamento Inteiramente Casualizado (DIC) com três repetições. Para análise dos resultados, empregou-se a Análise de Variância (ANOVA) e, quando necessário, fez-se o Teste Tukey para comparação entre as médias ($p < 0,05$).

A análise por componentes principais (doravante, PCA) foi associada à espectroscopia de infravermelho para tratamento dos dados espectrais e posterior avaliação da incorporação do extrato de própolis à estrutura dos filmes de araruta, com auxílio do *Software Unscrambler*.

Nesse capítulo, foram abordados os materiais utilizados para a preparação dos filmes de araruta e extrato de própolis. Foram também demonstrados os métodos aplicados à sua obtenção e caracterização. As matérias-primas empregadas foram analisadas de modo a facilitar a compreensão do efeito das variáveis estudadas sobre os filmes obtidos.

No capítulo seguinte, serão apresentados os resultados encontrados para a caracterização dos filmes de araruta aditivados com extrato de própolis e suas respectivas matérias-primas, quando pertinentes.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Nesse capítulo, serão apresentados os resultados e a discussão da pesquisa realizada. Nessa parte do trabalho, haverá três seções nas quais serão demonstrados os aspectos gerais dos filmes de araruta, a caracterização das matérias-primas e dos filmes de araruta e a caracterização dos filmes de araruta irradiados. Cada seção será detalhada em novas subseções.

4.1 ASPECTOS GERAIS DOS FILMES DE ARARUTA

Foi observado na tabela seguinte que o aumento da concentração de extrato de própolis contribuiu significativamente ($p < 0,05$) para alterar a espessura dos filmes FA10%EP e FA20%EP, comparados aos filmes FA. Todavia, essa diferença pode ser considerada irrelevante. Quanto à umidade, não foram observadas diferenças significativas entre os filmes analisados. Dessa forma, verificou-se certa uniformidade do processo de preparação dos filmes de araruta aditivados com extrato de própolis. Os resultados da espessura desses filmes estão apresentados na Tabela 2.

Tabela 2 – Espessura e umidade dos filmes de araruta aditivados com extrato de própolis

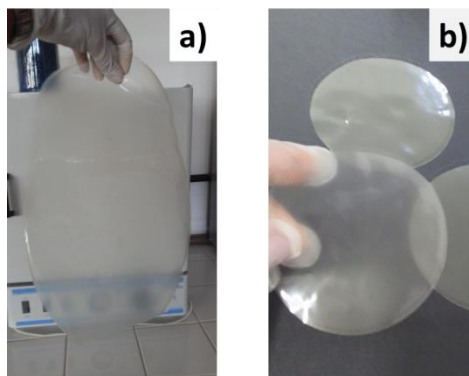
Filmes	Espessura (mm)*	Umidade (%)*
FA	0,128 $\pm$ 0,001 ^A	13,321 $\pm$ 0,935 ^A
FA3%EP	0,126 $\pm$ 0,002 ^{AB}	12,400 $\pm$ 0,587 ^A
FA10%EP	0,123 $\pm$ 0,000 ^B	12,061 $\pm$ 0,406 ^A
FA20%EP	0,124 $\pm$ 0,002 ^B	12,993 $\pm$ 0,111 ^A

*Médias seguidas por letras iguais na mesma coluna não diferem significativamente ($p < 0,05$) pelo teste de Tukey.

Fonte: A Autora (2019).

Os filmes de araruta obtidos apresentaram-se como uma película contínua e homogênea, de aspecto brilhante e claro, com aparência translúcida e com aroma característico de extrato de própolis, exceto para o filme que não continha extrato na sua composição. A Figura 13 ilustra o filme FA3%EP.

Figura 13 – Filme de araruta contendo 3% de extrato de própolis: (a) retirado do suporte após secagem; e (b) amostras empregadas na análise da PVA



Fonte: A Autora (2019).

As demais composições dos filmes de araruta, FA, FA10%EP e FA20%EP, não foram ilustradas na Figura 3, sobretudo, elas foram semelhantes quanto aos aspectos citados nesta seção. As diferenças entre tais composições serão apresentadas e melhor avaliadas na próxima seção.

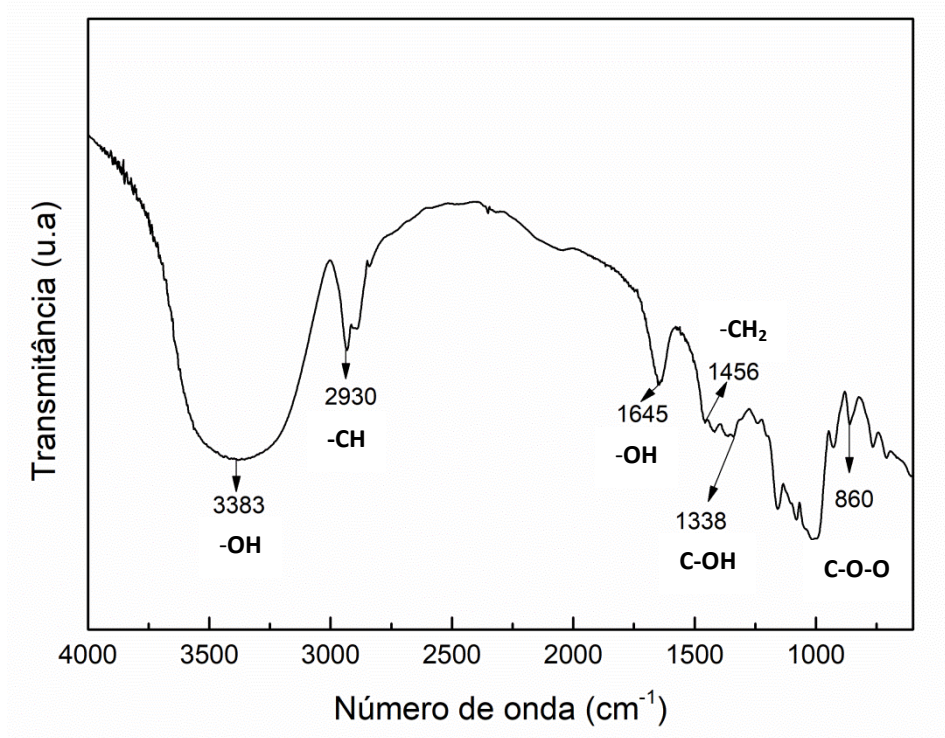
4.2 CARACTERIZAÇÃO DAS MATÉRIAS-PRIMAS E DOS FILMES DE ARARUTA

Como foi dito no início desse trabalho, a pesquisa foi realizada em duas etapas. Nas subseções que seguirão, serão apresentados os resultados e discussão relacionados à primeira etapa, correspondente à avaliação dos filmes de araruta em função da concentração de extrato de própolis. Quanto à segunda etapa, será abordada em uma nova seção.

4.2.1 Análise por espectroscopia de infravermelho com transformada de Fourier (FTIR)

As amostras de araruta, de extrato de própolis e de filmes de araruta aditivados com extrato de própolis foram avaliadas por espectroscopia FTIR. Os espectros obtidos das respectivas amostras estão ilustrados nas Figuras 14, 15 e 16.

Foram observadas na Figura 14 as seguintes bandas espectrais: (a) 3383 cm^{-1} referente às hidroxilas existentes nas moléculas de amido e envolvidas nas ligações de hidrogênio (CUNHA, 2016); (b) 2930 cm^{-1} referente à deformação axial do grupo $-\text{CH}$; (c) 1645 cm^{-1} referente a vibração de grupos $-\text{OH}$ existentes nas moléculas de água aprisionadas nas regiões amorfa do amido; (d) 1456 cm^{-1} referente à torção do grupo $-\text{CH}_2$; (e) 1338 cm^{-1} referente à deformação de grupos $\text{C}-\text{OH}$; e (f) 860 cm^{-1} referente às vibrações associadas aos grupos $\text{C}-\text{O}-\text{C}$ específicos de alongamento simétrico no amido (CUNHA, 2016; GORDILLO et al., 2014).

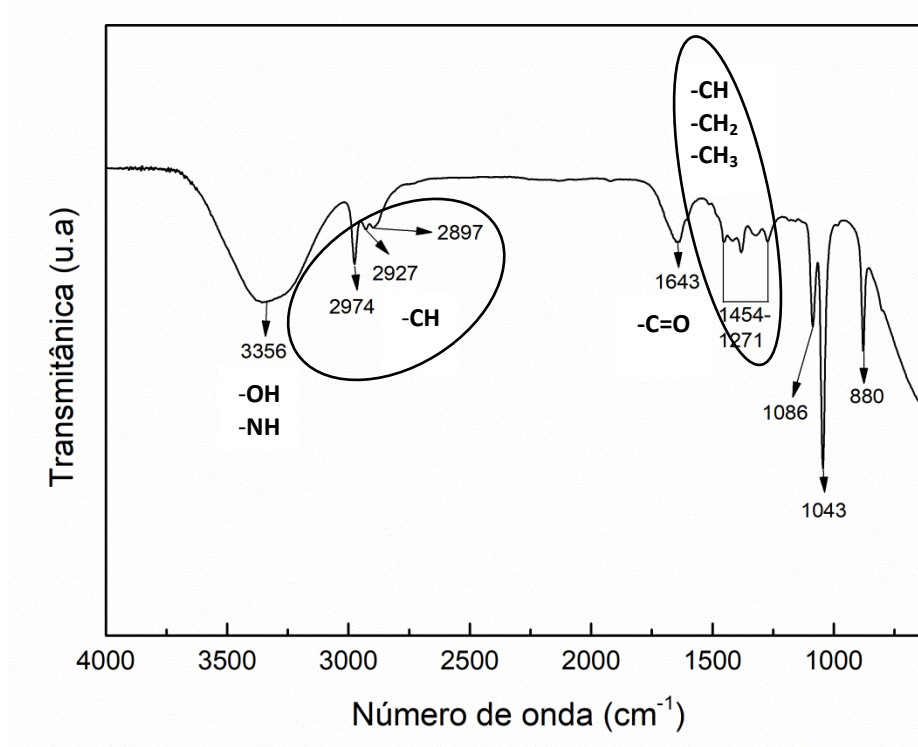
Figura 14 – Espectro FTIR da araruta

Fonte: A Autora (2019).

Em relação à Figura 15 localizada na página seguinte, é ilustrado o espectro do extrato de própolis, como pode ser visualizado logo após a descrição das seguintes bandas espectrais: (a) 3356 cm^{-1} referente ao alongamento O-H e N-H de grupos hidroxilas e de aminas, respectivamente; e (b) as bandas compreendidas entre $2974\text{--}2897\text{ cm}^{-1}$ são referentes aos alongamentos assimétricos de grupo C-H, pertencente aos grupos CH_2 de saturação em lipídios e hidrocarbonetos (ACEVES et al., 2015; MÉNDEZ, 2017; OLIVEIRA et al., 2016a).

Ainda na Figura 15, foram observadas as bandas entre $1800\text{--}400\text{ cm}^{-1}$ que correspondem à “impressão digital”, cuja faixa aparece a maior parte das frequências vibracionais fundamentais (CANEVAROLO et al., 2007; OLIVEIRA et al., 2016a). As bandas espectrais dessa faixa para o extrato de própolis caracterizam a presença dos compostos aromáticos e flavonoides conforme as seguintes frequências: (a) 1643 cm^{-1} referente à vibração de flexão assimétrica de C=O pertencente aos lipídios, flavonoides e aminoácidos; (b) 1515 cm^{-1} referente ao alongamento de anéis aromáticos de flavonoides; (c) 1454 cm^{-1} corresponde à vibração de flexão de CH de grupos CH_2 , CH_3 e aromáticos de flavonoides e anéis aromáticos; e (d) 1380 cm^{-1} referente à vibração de flexão de CH de grupos CH_3 de aromáticos (ACEVES et al., 2015; MÉNDEZ, 2017; OLIVEIRA et al., 2016a).

Figura 15 – Espectro FTIR-ATR do extrato de própolis



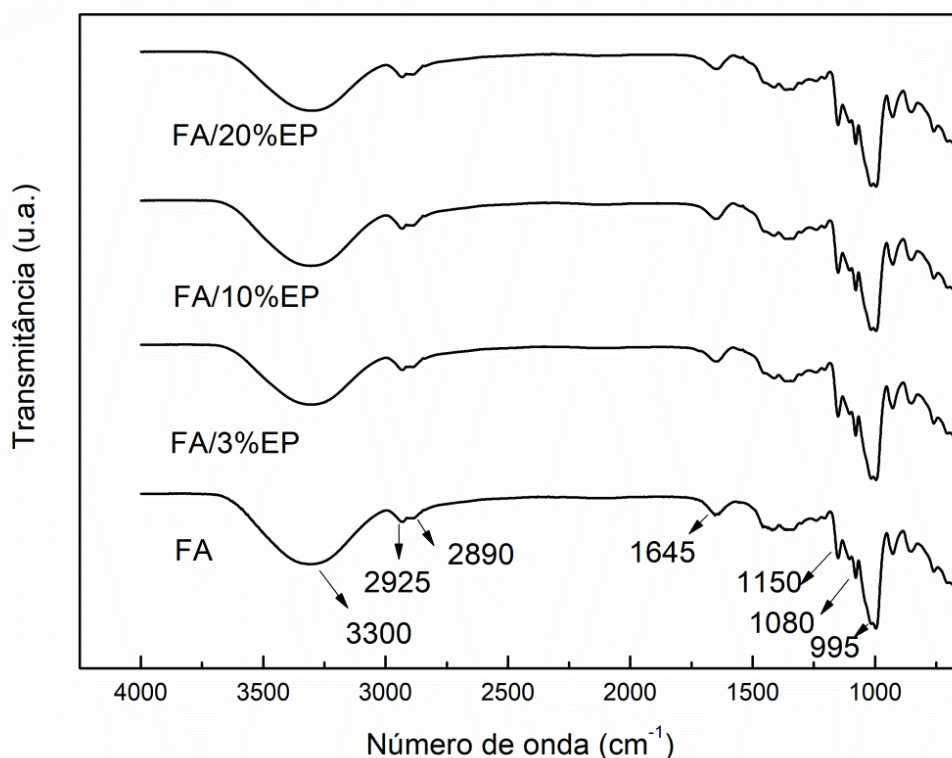
Fonte: A Autora (2019).

O espectro do extrato de própolis (Figura 15) apresentou bandas entre 1086-880 cm^{-1} , as quais foram relacionadas aos grupos funcionais pertencentes aos álcoois primários e secundários, já esperados por se tratar de um extrato alcoólico (ACEVES et al., 2015; OLIVEIRA et al., 2016a).

No que refere-se à Figura 16 adiante, são ilustrados os espectros dos filmes de araruta (FA) e filmes aditivados com extrato de própolis nas respectivas concentrações 3% (FA/3%EP), 10% (FA/10%EP) e 20% (FA/20%EP). Com base nos espectros FTIR, foi possível verificar as bandas características da araruta observadas anteriormente na Figura 14.

Na Figura 16, também pode-se notar que a banda 3300 cm^{-1} encontrada nos espectros FTIR dos filmes de araruta correspondem às hidroxilas envolvidas nas ligações de hidrogênio (CUNHA, 2016), estas apresentaram um deslocamento da intensidade relacionada à banda 3383 cm^{-1} a qual foi encontrada no espectro da araruta (Figura 14). Esse deslocamento, provavelmente, é um indicativo de que os grupos -OH estão menos disponíveis nos filmes de araruta em função da presença de outros componentes, tais como a glicerina, a qual, por sua vez, interage com amido por ligações de hidrogênio (JIMÉNEZ et al., 2012; MALI; GROSSMANN; YAMASHITA, 2010; MALI et al., 2005). Analise a figura a seguir.

Figura 16 – Espectros FTIR-ATR dos filmes de araruta aditivados com extrato de própolis



Fonte: A Autora (2019).

Ainda na Figura 16, a banda 1645 cm^{-1} foi relacionada aos grupos -OH pertencentes às moléculas de água existentes na região amorfa (CUNHA, 2016; GORDILLO et al., 2014), como demonstrado no espectro da araruta (Figura 14). Essa banda foi observada nos filmes de araruta para as diferentes composições.

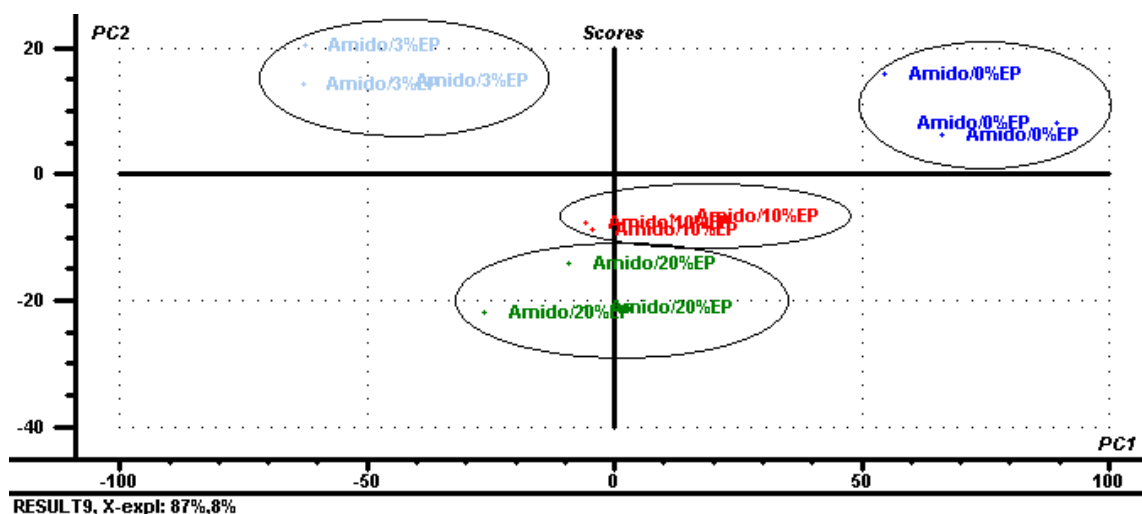
No que tange à Figura 15, observada anteriormente, a banda 1643 cm^{-1} encontrada no espectro do extrato de própolis, característica de flavonoides e compostos aromáticos (ACEVES et al., 2015; MÉNDEZ, 2017; OLIVEIRA et al., 2016a), não foi identificada no espectro dos filmes de araruta aditivados com extrato (Figura 16), possivelmente, por causa da sobreposição da banda 1645 cm^{-1} , atribuída às hidroxilas.

De modo geral, as bandas espectrais apresentadas pelos filmes de araruta aditivados com extrato de própolis foram bem semelhantes àsquelas encontradas para o filme não aditivado. É provável que a sobreposição de bandas características da araruta e do extrato de própolis tenha dificultado a identificação de alterações espectrais, as quais permitam a diferenciação dos filmes de araruta em relação à composição. Por isso, foi necessária a realização de uma PCA dos espectros FTIR dos filmes.

Na Figura 17, está ilustrado o gráfico dos *scores* da PCA. Mediante a PCA, foi demonstrado que duas componentes principais são responsáveis pela distinção entre as

amostras de filmes de araruta. A primeira Componente Principal (PC1) descreveu 87% da variância dos dados, enquanto a segunda Componente Principal (PC2) descreveu 8%.

Figura 17 – Gráfico dos *scores* da PCA dos espectros FTIR dos filmes de araruta aditivados com extrato de própolis



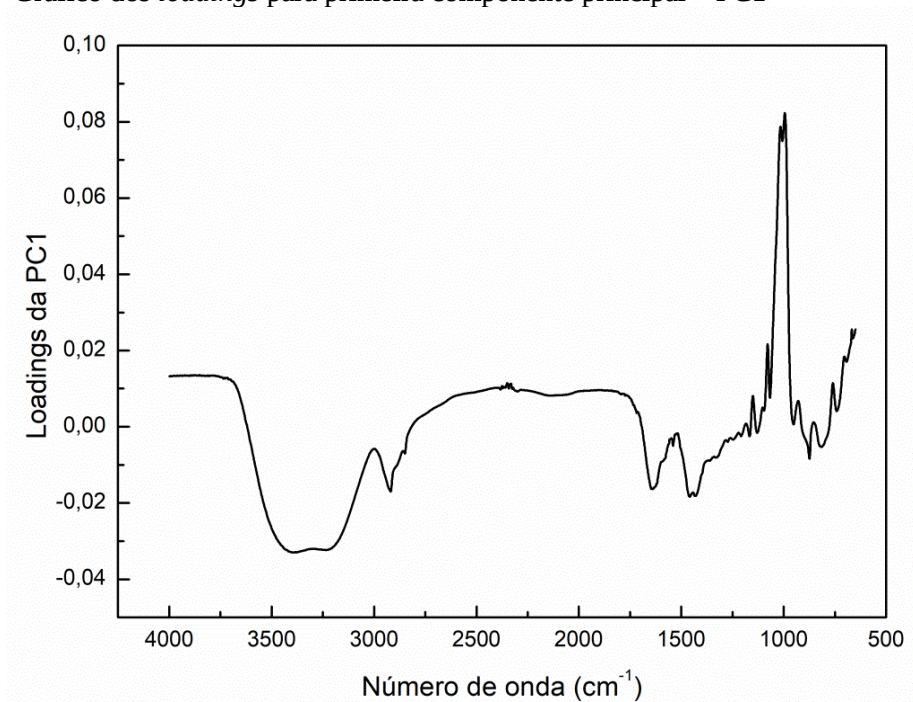
Amido/0% EP: Filmes de araruta sem extrato de própolis; Amido/3% EP: Filmes de araruta com 3% de extrato de própolis; Amido/10% EP: Filmes de araruta com 10% de extrato de própolis; Amido/20% EP: Filmes de araruta com 20% de extrato de própolis.

Fonte: A Autora (2019).

A análise de *scores* da PC1 versus PC2 (Figura 17) mostra que houve uma separação das amostras de filmes de araruta de acordo com a concentração percentual do extrato de própolis na matriz polimérica, confirmando, dessa forma, a incorporação dos componentes orgânicos do extrato à estrutura do filme.

Na Figura 18, está ilustrado o gráfico dos *loadings* da PC1. Através dos valores dos *loadings*, verificou-se que os valores mais positivos ocorrem em regiões correspondentes aos números de onda 1019 cm^{-1} e 998 cm^{-1} , mostrando, assim, que as bandas localizadas nessa região espectral, foram as que mais contribuíram na construção da PCA. As bandas que se encontram nessa região podem ser correlacionadas às bandas de 1043 cm^{-1} e 880 cm^{-1} , presentes no espectro original do extrato de própolis (Figura 15) e referem-se aos álcoois primários e secundários (ACEVES et al., 2015; OLIVEIRA et al., 2016a), característico de um extrato alcoólico.

Figura 18 – Gráfico dos *loadings* para primeira componente principal – PC1

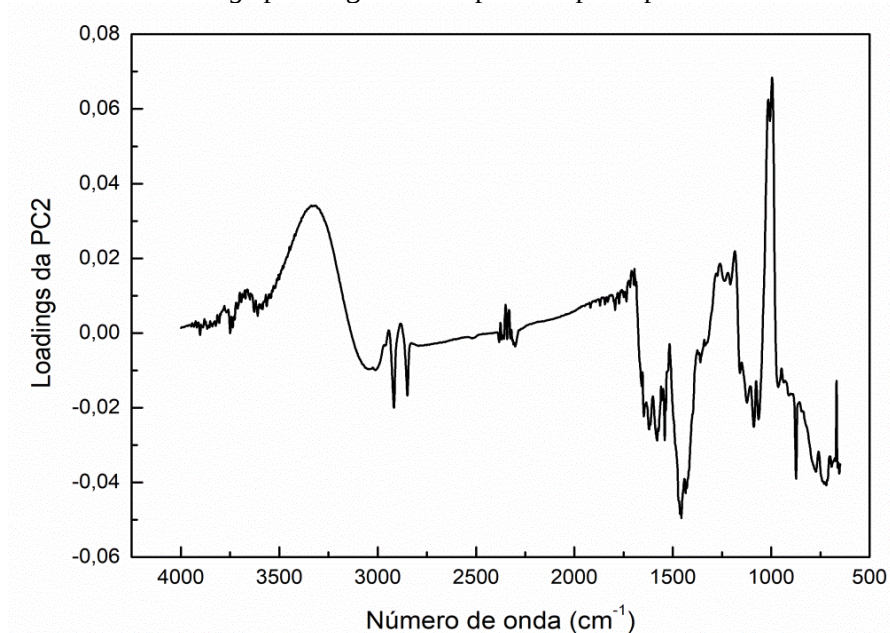


Fonte: A Autora (2019).

Verificou-se ainda na Figura 18 que os valores mais negativos dos *loadings* para a PC1 ocorrem em sinais correspondentes aos números de onda 1640 cm^{-1} e 1452 cm^{-1} . Estes sinais podem corresponder às bandas 1643 cm^{-1} e 1454 cm^{-1} que caracterizaram a presença de flavonoides e compostos aromáticos no extrato de própolis (ACEVES et al., 2015; MÉNDEZ, 2017; OLIVEIRA et al., 2016a), segundo espectro FTIR ilustrado na Figura 15.

No que diz respeito ao gráfico dos *loadings* da PC2, este pode ser visualizado na Figura 19, adiante. Conforme valores dos *loadings* da PC2, verificou-se que dentre os valores mais positivos encontrados, merece destaque o sinal correspondente ao número de onda 998 cm^{-1} e dentre os valores negativos, o sinal referente ao número de onda de 1456 cm^{-1} . Ambos os sinais mencionados já haviam se destacado no gráfico do *loadings* da primeira componente principal (Figura 18).

Figura 19 – Gráfico dos *loadings* para segunda componente principal – PC2



Fonte: A Autora (2019).

Conforme análise espectral dos filmes de araruta aditivados com extrato de própolis (Figura 16), a região espectral de maior importância para a discriminação dos filmes analisados (valores positivos e negativos dos *loadings*) se localiza entre os números de onda 1640 e 998 cm^{-1} , que corresponde à região da “impressão digital” do extrato de própolis (OLIVEIRA et al., 2016a).

4.2.2 Determinação de flavonoides e fenólicos totais

O extrato de própolis apresentou um teor de flavonoides de $7,94 \text{ mg E}_Q.\text{mL}^{-1}$ ($\pm 0,11$) (mg em equivalente em quercetina por mL de amostra) que corresponde a $0,87\%$ ($\pm 0,01$). Esse teor, em percentual, está de acordo com o padrão estabelecido pela legislação brasileira, cujo parâmetro mínimo é de $0,25\%$ (BRASIL, 2001).

Segundo a literatura, o teor de flavonoides de um extrato de própolis depende da composição química da própolis de origem. Esta, por sua vez, é influenciada pela localização geográfica e a vegetação de onde a própolis foi extraída, da época da colheita e da espécie da abelha (PARK; ALENCAR; AGUIAR; 2002; PEREIRA; SEIXAS; DE AQUINO NETO; 2002). Ademais, o teor de flavonoides pode variar consoante o método de extração utilizado para obtenção do extrato (SALGUEIRO; CASTRO, 2016).

No que refere-se ao teor de fenólicos totais do extrato de própolis, foi determinado o valor de $17,16 \text{ mg}.\text{mL}^{-1}$ ($\pm 0,38$) que correspondeu a $1,88\%$. Este valor está de acordo com a legislação brasileira, cujo parâmetro mínimo é de $0,5\%$ (BRASIL, 2001).

O teor de flavonoides e fenólicos totais também foram determinados para os filmes de araruta aditivados com extrato de própolis e está apresentado na Tabela 3.

Tabela 3 – Teor de flavonoides e fenólicos totais dos filmes de araruta aditivados com extrato de própolis

Filmes	Flavonoides* (mg/g de filme)	Fenólicos Totais** (mg/g de filme)
FA3%EP	0,55 $\pm$ 0,00 ^C	0,65 $\pm$ 0,03 ^C
FA10%EP	1,35 $\pm$ 0,00 ^B	1,40 $\pm$ 0,02 ^B
FA20%EP	1,45 $\pm$ 0,01 ^A	2,41 $\pm$ 0,01 ^A

*Médias seguidas por letras iguais na mesma coluna não diferem significativamente ($p < 0,05$) pelo teste de Tukey.

Fonte: A Autora (2019).

Foi observado na Tabela 3 que o aumento do teor de flavonoides e fenólicos totais é proporcional à concentração de extrato de própolis existentes na matriz polimérica. O aumento dos compostos fenólicos também foi verificado nos estudos realizados por Siripatrawan e Vitchayakitti (2016) em filmes de quitosana e extrato de própolis.

Os flavonoides e os ácidos fenólicos são responsáveis pelas principais atividades biológicas apresentadas pela própolis, como por exemplo, a atividade antioxidante e antimicrobiana (FUNARI; FERRO, 2006; SALGUEIRO; CASTRO, 2016). A existência desses componentes aromáticos nos filmes é fundamental para que estes apresentem atividade biológica e possam ser destinados à produção de embalagens ativas.

4.2.3 Atividade antioxidante

Os resultados para atividade antioxidante do extrato de própolis, tanto pelo método DPPH quanto pelo método ABTS, demonstraram valores elevados, 90% ($\pm 0,22$) e 89,3% ($\pm 0,17$), respectivamente e não diferiram significativamente ($p < 0,05$). Assim, verificou-se que ambos os radicais, DPPH e ABTS, foram sensíveis aos compostos aromáticos presentes na amostra de extrato de própolis. A atividade antioxidante referida é resultante da presença dos flavonoides e fenólicos totais comprovada mediante resultados apresentados na subseção anterior.

Os compostos fenólicos são considerados como potentes antioxidantes (CAROCHO; MORALES; FERREIRA, 2018; RICE-EVANS; MILLER; PAGANGA, 1996), pois apresentam em sua estrutura um ou mais anéis aromáticos (CROZIER; JAGANATH;

CLIFFORD, 2009) capazes de participar de reações de oxido-redução (LEOPOLDINI; RUSSO; TOSCANO, 2011).

Estudos realizados sobre extrato de própolis da região Sudeste pelo método de eliminação do radical DPPH por Oliveira et al. (2016a) e De-Melo et al. (2014) encontraram valores semelhantes ao presente estudo, 88,2% e 83,7-90,5%, respectivamente.

Outrossim, a atividade antioxidante dos filmes de araruta foi determinada apenas naqueles que continham extrato de própolis em sua composição, FA3%EP, FA10%EP, FA20%EP. Isso porque os demais componentes dos filmes, araruta e glicerina, não apresentam atividade antioxidante. Tal atividade foi mensurada pelos métodos de eliminação dos radicais ABTS e DPPH para os filmes de araruta aditivados com extrato de própolis e pode ser visualizada na Tabela 4.

Tabela 4 – Atividade antioxidante dos filmes de araruta aditivados com extrato de própolis

Filmes	ABTS (%)*	DPPH (%)*
FA3%EP	12,59 $\pm$ 1,06 ^{Cb}	18,42 $\pm$ 0,00 ^{Ca}
FA10%EP	27,93 $\pm$ 0,68 ^{Bb}	39,61 $\pm$ 0,16 ^{Ba}
FA20%EP	36,29 $\pm$ 0,21 ^{Ab}	74,41 $\pm$ 0,76 ^{Aa}

*Médias seguidas por letras minúsculas (a,b) iguais na mesma linha e maiúsculas (A, B, C) na mesma coluna não diferem significativamente (p<0,05) pelo teste de Tukey.

Fonte: A Autora (2019).

Na Tabela 4, pode-se verificar que atividade antioxidante dos filmes de araruta, por ambos os métodos avaliados, DPPH e ABTS, aumentou com a concentração de extrato de própolis. Uma maior quantidade de extrato na composição do filme implica em um aumento do teor de compostos fenólicos e flavonoides, os quais são responsáveis pela atividade antioxidante do extrato de própolis (FUNARI; FERRO, 2006; SALGUEIRO; CASTRO, 2016), corroborando com os resultados encontrados para flavonoides e fenólicos totais demonstrados na Subseção 4.2.2.

Os resultados da atividade antioxidante dos filmes de araruta pelo método de eliminação do radical DPPH foram superiores àqueles encontrados pelo método de eliminação do radical ABTS em todas as concentrações de extrato de própolis (Tabela 4). Isso revelou uma maior sensibilidade do radical DPPH aos componentes da própolis extraídos da matriz polimérica em relação ao radical ABTS. Essa comparação foi interessante, visto que a análise de atividade antioxidante realizada no extrato de própolis pelos métodos referidos foram

eficazes. Todavia, a quantidade de compostos fenólicos e flavonoides nos filmes foi inferior àquela encontrada no extrato empregado como aditivo, por isso, um método mais sensível é de fundamental importância para quantificá-la.

É necessário ressaltar que o método de eliminação do radical DPPH tem sido utilizado para determinar atividade antioxidante em filmes aditivados com extrato naturais. Nos estudos realizados por Piñeros-Hernandez et al. (2017), os filmes de mandioca apresentaram atividade antioxidante devido à adição do extrato de alecrim. O aumento de 5% para 20% (m/m de amido) de extrato às formulações de filmes contribuiu para o aumento da atividade antioxidante de 28,6% para 82%.

Já em experimentos realizados por Siripatrawan e Vitchayakitti (2016) sobre filmes de quitosana e extrato de própolis tailandesa (2,5%, 5,0%, 10% e 20%, m/m), os autores comprovaram o aumento da atividade antioxidante dos filmes aditivados com extrato em relação ao filme sem extrato.

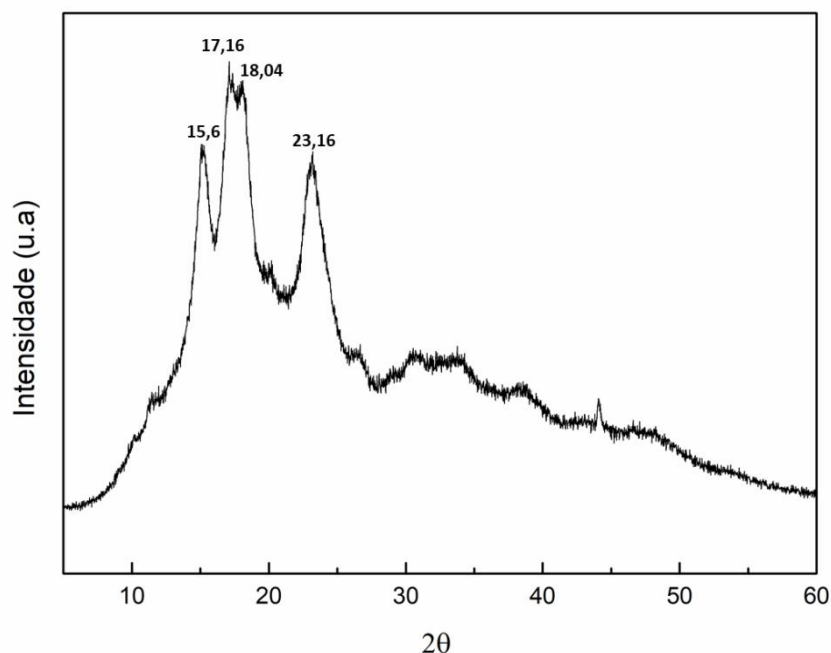
Ambas as pesquisas supracitadas atribuíram o aumento da atividade antioxidante dos filmes aditivados com extratos naturais em razão da maior concentração de compostos fenólicos de acordo com a composição dos filmes.

Ao final desta subseção, avaliando-se os resultados encontrados para atividade antioxidante, pode-se inferir que tal atividade nos filmes de araruta foi preservada após etapas de aquecimento durante a preparação dos filmes. A preservação dessa propriedade é desejável nos filmes bioativos com potencial função antioxidante.

4.2.4 Análise por difratometria de raios-X (DRX)

A Figura 20, na página seguinte, ilustra o difratograma de raios-X da araruta. Consoante aos picos cristalinos encontrados para $2\theta = 15,6^\circ$, $17,16^\circ$, $18,04^\circ$ e $23,16^\circ$, a araruta apresentou um padrão cristalino Tipo A. Este padrão é característico de amido de cereais (GALLANT; BOUCHET; BALDWIN, 1997; IMBERTY et al., 1987).

O padrão de cristalinidade Tipo A sugere que o amido apresenta amilopectina bastante ramificada, com cadeias curtas distribuídas entre as regiões cristalinas e amorfas do grânulo. Logo, tem-se uma molécula altamente compacta e densa em comparação aos amidos de raízes e aos de tubérculos, onde ambos apresentam, normalmente, um padrão de difração de raios-X Tipos B e C (MCPHERSON; JANE, 1999; YOO e JANE, 2002).

Figura 20 – Difratoograma de raios-X da araruta

Fonte: A Autora (2019).

O padrão cristalino Tipo A também foi observado em estudos sobre amido de araruta por Hoover (2001), Moorthy (2002), Villas-Boas e Franco (2016). Já Nogueira, Fakhouri e de Oliveira (2018) identificaram um padrão Tipo C. Esses autores encontraram picos $2\theta = 15,42^\circ$ (típico do padrão Tipo A), $5,68^\circ$, $17,42^\circ$ e $23,14^\circ$ (típico do padrão Tipo B). Nesse sentido, o padrão Tipo C resulta da mistura dos padrões cristalinos A e B.

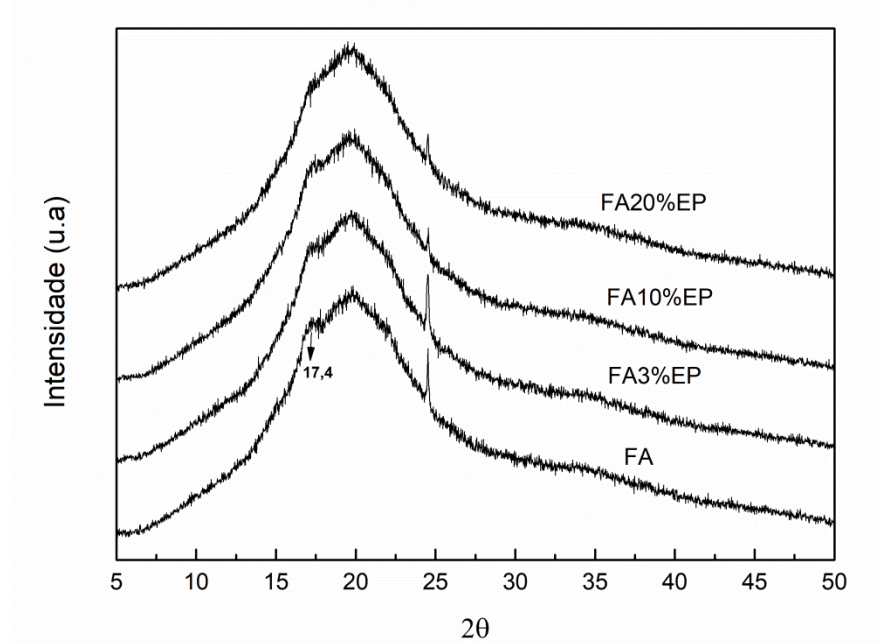
A cristalinidade apresentada pela araruta foi 36%, a determinação deste valor é ilustrada no APÊNDICE B, a partir da diferença entre a área observada do difratograma e a área amorfa. Esse valor referente à região cristalina está coerente com a maioria dos amidos, cujo valor situa-se entre 15% e 45% (CAZÓN et al., 2017; HOOVER, 2001). O grau de organização molecular do grânulo de amido é devido à existência das cadeias curtas das ramificações da amilopectina (MCPHERSON; JANE, 1999; YOO e JANE, 2002).

Em estudos realizados com fécula de araruta, foram encontrados valores próximos ao presente estudo quanto à cristalinidade. Cunha (2016) encontrou 40,79% para fécula de araruta redonda e 39,17% para a araruta seta; Villas-Boas e Franco (2016) encontraram 37,7% para araruta produzida no estado de São Paulo; e Pepe (2011) encontrou 36,8% para araruta da variedade Comum, obtida em Minas Gerais.

Foi observado que apenas o pico cristalino $2\theta = 17,16^\circ$, anteriormente demonstrado para araruta (Figura 20), permaneceu nos filmes, confirmado pela presença do pico $2\theta = 17,4^\circ$ (Figura 21 a seguir). Observou-se ainda nesta última figura, um novo pico largo em torno de

$2\theta = 20,0^\circ$, característico de material amorfo, sobretudo, os filmes mantiveram o padrão cristalino Tipo A.

Figura 21 – Difratoograma de raios-X dos filmes de araruta aditivados com extrato de própolis



Fonte: A Autora (2019).

Verificou-se que os filmes de araruta apresentaram cristalinidade residual entre 2,28-4,32% (Tabela 5, na página seguinte), valores inferiores a 36% correspondentes à cristalinidade da araruta determinada no presente estudo. Esse comportamento era esperado, devido à fusão da região cristalina dos grânulos de amido de araruta durante a gelatinização ocorrida no processo de elaboração dos filmes. Durante o resfriamento do gel para a formação dos filmes, o fenômeno da retrogradação pode ocorrer mediante a capacidade de rearranjo da amilose de forma a restabelecer a região cristalina (JIMÉNEZ et al., 2012).

Em relação à composição dos filmes de araruta, pode ser observado também na Tabela 5 que a cristalinidade diferiu significativamente ($p < 0,05$). Comparado ao filme FA ($4,32 \pm 0,15^A$), o filme FA20%EP apresentou uma redução de 47% ($2,28 \pm 0,18^B$) da cristalinidade. Na concentração de 20%, os componentes do extrato dificultaram o fenômeno de retrogradação e, conseqüentemente, o restabelecimento da região cristalina dos filmes de araruta. Dessa forma, o extrato de própolis contribuiu para o efeito plastificante nos filmes.

Tabela 5 – Cristalinidade dos filmes de araruta aditivados com extrato de própolis

Filmes	Cristalinidade* (%)
FA	4,32 $\pm$ 0,15 ^A
FA3%EP	3,71 $\pm$ 0,10 ^A
FA10%EP	3,61 $\pm$ 0,25 ^A
FA20%EP	2,28 $\pm$ 0,18 ^B

*Médias seguidas por letras iguais (A, B) na mesma coluna não diferem significativamente (p<0,05) pelo teste de Tukey.

Fonte: A Autora (2019).

Comportamento semelhante dessa subseção foi encontrado no trabalho realizado por Medina-Jaramillo et al. (2016). Esses autores avaliaram filme de amido de mandioca aditivado com 20% de extrato de erva mate que apresentou uma redução de 75% da cristalinidade, quando comparado ao filme sem extrato. Eles também inferiram que o extrato de erva mate foi capaz de retardar a retrogradação dos filmes, pois apresentou ação plastificante e dificultou a atração entre as moléculas de amido e o reestabelecimento das zonas cristalinas.

4.2.5 Análise termogravimétrica (TGA)

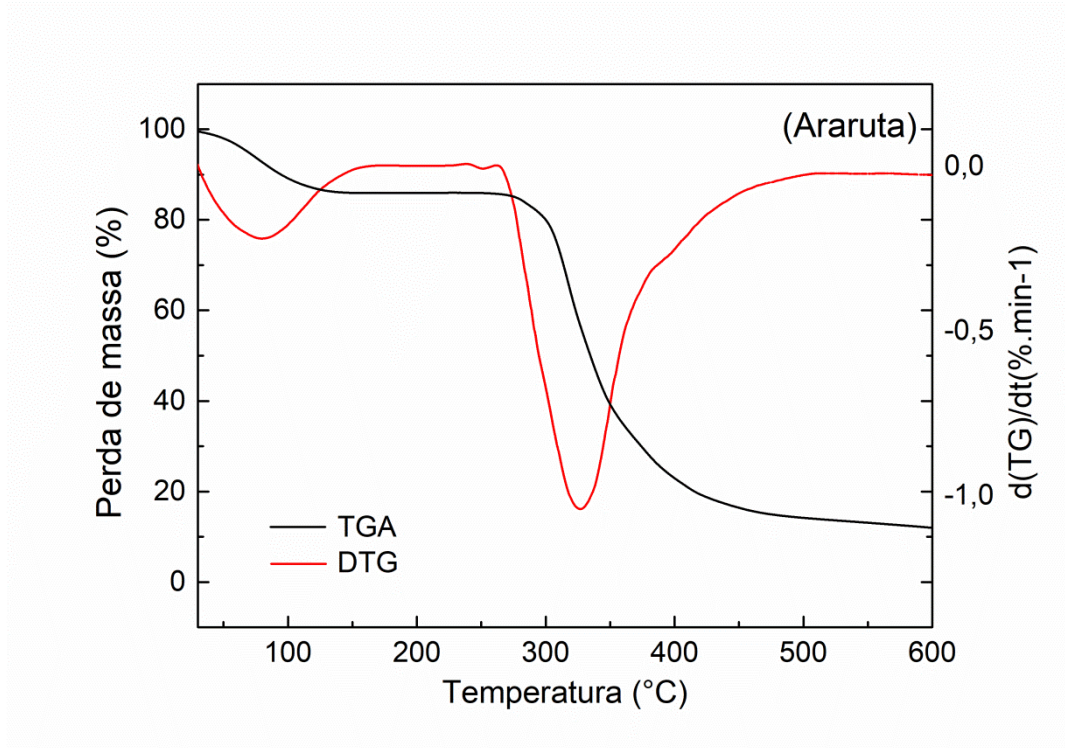
As matérias-primas empregadas para a elaboração dos filmes de araruta foram caracterizadas quanto à estabilidade térmica, exceto o extrato de própolis, visto que se trata de um extrato alcoólico, cujo baixo ponto de ebulição impossibilitou a realização da análise.

Os resultados da TGA para a araruta, demonstraram dois estágios térmicos compreendidos entre 30-600 °C. O primeiro estágio teve início logo após o aquecimento e terminou em 130 °C, este estágio correspondeu à evaporação da água, cuja perda de massa foi de 14%. O segundo estágio ocorreu entre a faixa 298-414 °C devido à despolimerização e degradação das moléculas de amido (AGGARWAL; DOLLIMORE, 1998; LIU et al., 2008; LIU et al., 2009; NOGUEIRA; FAKHOURI; DE OLIVEIRA, 2018), cuja perda de massa foi de 69%.

Durante a despolimerização das moléculas de amido são formados produto solúveis em água fria, denominados dextrina. Acima de 300 °C, ocorre com a formação de β -(1,6) anidro D-glicopirranose (levoglicosana), 2-furaldeído (furfural) e uma gama de produtos voláteis e de fragmentação gasosa de menor peso molecular, como CO e CO₂ (AGGARWAL;

DOLLIMORE, 1998). Na Figura 22, podem ser visualizadas as curvas TGA e DTG para a araruta.

Figura 22 – Curva da análise termogravimétrica (TGA) e derivada correspondente (DTG) da araruta



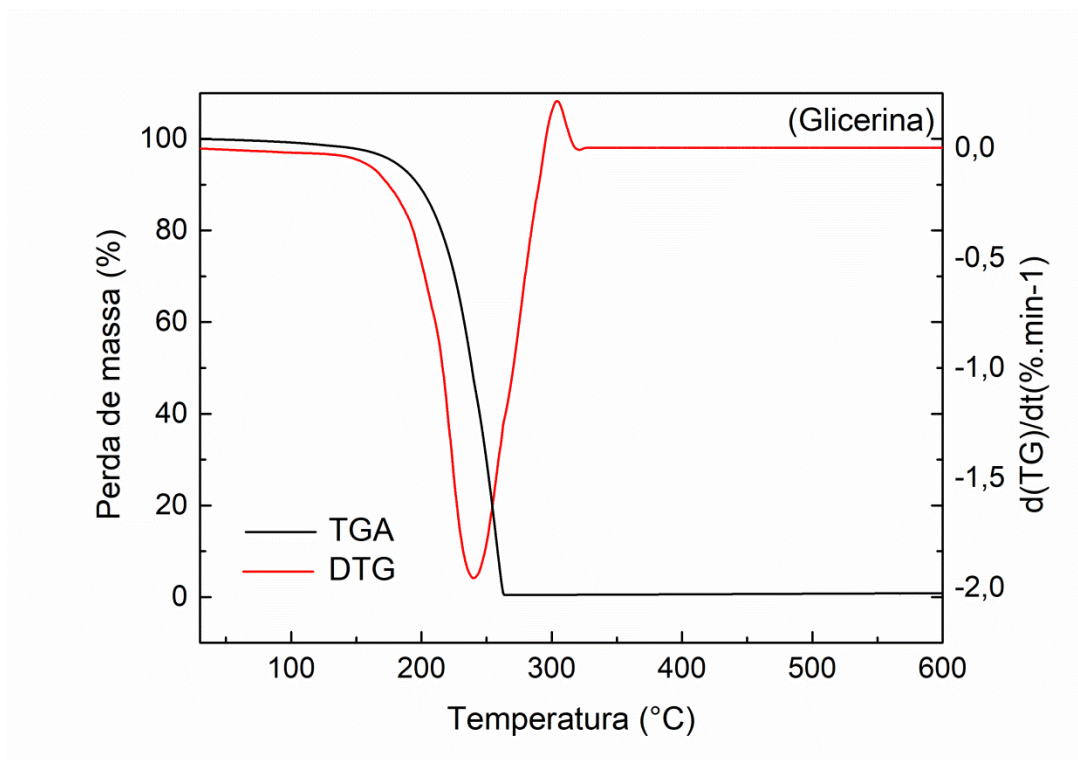
Fonte: A Autora (2019).

Estudos realizados com amido de milho demonstraram que a decomposição térmica ocorreu a partir de 300 °C (LIU et al., 2008; LIU et al., 2009). Nogueira, Fakhouri e de Oliveira (2018) avaliaram a estabilidade térmica do amido de araruta e verificaram que a degradação desse amido ocorreu entre 330-440 °C.

Avaliando a curva DTG na Figura 22 para araruta, a temperatura máxima ($T_{\text{máx}}$), cuja variação de massa em relação ao tempo é máxima, foi de 327 °C. A $T_{\text{máx}}$ é também conhecida como temperatura de decomposição térmica (DENARI; CAVALHEIRO, 2012; CANEVAROLO et al., 2007).

Em relação à glicerina, verificou-se um único estágio entre 30-600 °C, o evento térmico ocorreu entre 201 °C e 263 °C devido à degradação da glicerina relativa a 83,5% da perda de massa. A temperatura máxima de decomposição térmica, representada por $T_{\text{máx}}$, ocorreu em 240 °C. Veja a Figura 23.

Figura 23 – Curva da análise termogravimétrica (TGA) e derivada correspondente (DTG) da glicerina



Fonte: A Autora (2019).

As temperaturas de início (T_{onset}), de final (T_{offset}) e de máxima ($T_{\text{máx}}$) para cada estágio térmico apresentado pela araruta e um único estágio para glicerina são apresentadas na Tabela 6.

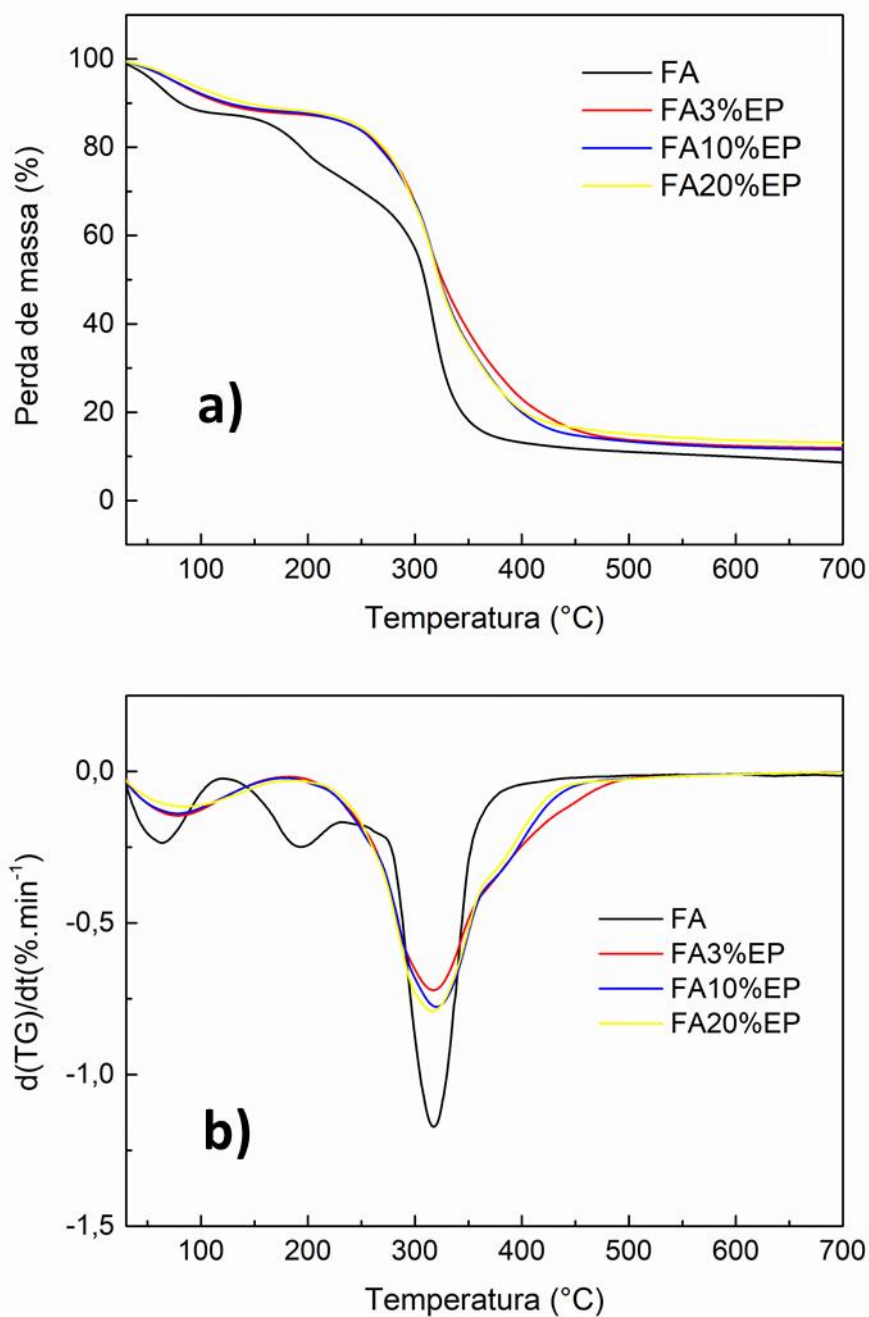
Tabela 6 – Temperaturas de início (T_{onset}), de final (T_{offset}) e de máxima ($T_{\text{máx}}$) da araruta e glicerina durante análise termogravimétrica

	T_{onset} (°C)		T_{offset} (°C)		$T_{\text{máx}}$ (°C)	Resíduo (%)
	1°	2°	1°	2°		
Araruta	30	298	130	414	327	20,0
Glicerina	201	-	263	-	240	16,5

Fonte: A Autora (2019).

Os filmes elaborados a partir da araruta, glicerina e extrato de própolis foram também caracterizados quanto à estabilidade térmica. As curvas termogravimétricas e suas respectivas derivadas para os filmes FA, FA3%EP, FA10%EP e FA20%EP estão ilustradas na Figura 24.

Figura 24 – Degradação térmica dos filmes de araruta aditivados com extrato de própolis: (a) curva da análise termogravimétrica – TGA; e (b) derivada correspondente – DTG.



Fonte: A Autora (2019).

Como pode ser observada na Figura 24.b, a decomposição térmica do filme FA ocorreu em três estágios principais, já os filmes FA3%EP, FA10%EP e FA20%EP apresentaram apenas dois estágios térmicos. Os valores de temperaturas referentes aos eventos térmicos para todas as composições dos filmes de araruta estão descritos na Tabela 7.

Tabela 7 – Temperaturas de início (T_{onset}), de final (T_{offset}) e de máxima ($T_{máx}$) dos filmes de araruta aditivados com extrato de própolis durante análise termogravimétrica

Filmes	T_{onset} (°C)			T_{offset} (°C)			$T_{máx}$ (°C)
	1°	2°	3°	1°	2°	3°	
FA	30	154	295	91	295	353	317
FA3%EP	30	262	-	138	444	-	317
FA10%EP	30	244	-	143	417	-	320
FA20%EP	30	244	-	142	406	-	317

Fonte: A Autora (2019).

Ao observar a Tabela 7, para o filme FA, o primeiro estágio ocorreu entre 30 °C e 91 °C devido à desidratação do filme. O segundo estágio compreendeu a faixa de 154-295 °C. Esse estágio, possivelmente, está relacionado à fusão dos cristalitos resultantes do fenômeno de retrogradação apresentado pelo filme FA (MEDINA-JARAMILLO et al., 2017). Ainda no segundo estágio, a partir de 200 °C, tem-se o início da decomposição da glicerina existente no filme, como demonstrado nesta subseção. Esse componente iniciou sua degradação em 201 °C (Tabela 6). O terceiro estágio, para FA, observado na Tabela 7, ocorreu entre 295-353°C, faixa que compreendeu a temperatura máxima de degradação da araruta e da glicerina, respectivamente, $T_{máx} = 327$ °C e $T_{máx} = 240$ °C, visto também na Tabela 6.

Comportamento semelhante ao supracitado foi encontrado na literatura, avaliando-se a degradação térmica em filmes de amido. Piñeros-Hernandez et al. (2017) encontraram para filmes aditivados com extrato de alecrim três estágios térmicos. O primeiro estágio entre 50-150 °C, o segundo entre 200-255 °C e o terceiro ocorreu acima de 255 °C. Segundo esses autores, o primeiro evento térmico foi devido à evaporação da água, o segundo, por causa da degradação do glicerol e o terceiro, consistiu na degradação do amido. Já em filmes aditivados com extrato de erva-mate, o primeiro estágio foi entre 100-150 °C, o segundo entre 180-260 °C e o terceiro entre 250-350 °C (MEDINA- JARAMILLO et al., 2016).

Ainda na Tabela 7, verificou-se um aumento para T_{offset} , referente ao primeiro estágio dos filmes FA3%EP, FA10%EP e FA20%EP, proporcional à concentração de extrato de própolis. Esse comportamento sugere que a água estava mais intimamente ligada aos componentes dos filmes aditivados comparados ao filme sem extrato (FA). Para isso, fez-se necessário mais energia para remover a água dos filmes pela evaporação.

Em relação ao segundo estágio apresentado pelos filmes FA3%EP, FA10%EP e FA20%EP, observou-se que ele ocorreu entre 244 °C e 444 °C (Tabela 7). Esse intervalo compreende as temperaturas de decomposição térmica da araruta e da glicerina, $T_{\text{máx}} = 327$ °C e $T_{\text{máx}} = 240$ °C, respectivamente, observadas anteriormente na Tabela 6.

Avaliando-se apenas a região do 2º evento térmico, observou-se que a T_{onset} para os filmes FA3%EP, FA10%EP e FA20%EP foram superiores ao filme FA. O aumento da temperatura de degradação térmica provavelmente ocorreu devido à diminuição das interações moleculares entre as cadeias de amido em detrimento ao fortalecimento das interações entre o amido e os compostos fenólicos. Esse comportamento caracteriza o efeito plastificante do extrato de própolis na matriz polimérica (BODINI et al., 2013; MEDINA-JARAMILLO et al., 2016).

Nos filmes aditivados com extrato de própolis, pode estar ocorrendo a proteção térmica das cadeias de amido através das interações destas com os compostos fenólicos. Essas interações são mais fortes e, portanto, precisam de mais energia para serem rompidas. Mediante análise da PCA dos espectros-FTIR, demonstrada na Subseção 4.2.1, foram confirmadas a existência de tais interações. A ausência do terceiro estágio para os filmes aditivados, reforça, também, o efeito plastificante do extrato, o qual dificultou a interação entre as cadeias de amido (JIMÉNEZ et al., 2012).

Para cada estágio térmico apresentado nas análises termogravimétricas dos filmes de araruta, determinou-se a variação das perdas de massa que estão descritas na Tabela 8. Conforme os resultados dessa tabela, a perda de massa por evaporação ocorrida no primeiro estágio para os filmes FA e FA3%EP, respectivamente, foi 12% e 13%. Para os filmes FA10%EP e FA20%EP, a variação da perda de massa foi 11%.

Tabela 8 – Percentual de perda de massa dos filmes de araruta aditivados com extrato de própolis

Filmes	Perda de Massa		
	1º	2º	3º
FA	12%	23,5%	45%
FA3%EP	13%	72%	-
FA10%EP	11%	73,5%	-
FA20%EP	11%	69%	-

Fonte: A Autora (2019).

Na Tabela 8, constatou-se também que a maior degradação do filme FA ocorreu no terceiro estágio, relativo à degradação da araruta. Os filmes de araruta aditivados com extrato apresentaram máxima degradação térmica no segundo estágio, em razão da degradação da glicerina, do extrato de própolis e da araruta.

4.2.6 Propriedades mecânicas

As propriedades mecânicas dos filmes de araruta foram representadas pelas medidas de tensão máxima (MPa), deformação específica (%) e módulo de elasticidade (MPa), apresentadas na Tabela 9.

Tabela 9 – Propriedades mecânicas dos filmes de araruta aditivados com extrato de própolis

Filmes	Tensão Máxima (MPa) *	Deformação Específica Máxima (%)*	Módulo de Elasticidade (MPa)*
FA	5,64 $\pm$ 0,64 ^B	56,20 $\pm$ 6,15 ^A	72,82 $\pm$ 13,80 ^B
FA3%EP	6,98 $\pm$ 0,16 ^A	11,17 $\pm$ 0,36 ^B	164,33 $\pm$ 4,71 ^A
FA10%EP	4,67 $\pm$ 0,57 ^B	57,27 $\pm$ 6,68 ^A	71,94 $\pm$ 7,02 ^B
FA20%EP	4,52 $\pm$ 0,37 ^B	67,48 $\pm$ 8,64 ^A	40,92 $\pm$ 9,66 ^C

*Médias seguidas por letras iguais na mesma coluna não diferem significativamente ($p < 0,05$) pelo teste de Tukey.

Fonte: A Autora (2019).

Na Tabela 9, verificou-se para o filme FA20%EP (40,92 MPa) uma redução de 56% do módulo de elasticidade em relação ao filme FA (72,82 MPa). A adição de até 20% de extrato de própolis contribuiu para melhoria da flexibilidade dos filmes de araruta. Esse fenômeno pode ser atribuído ao aumento da mobilidade da matriz polimérica, em função do efeito plastificante do extrato de própolis (BODINI et al., 2013). Esse efeito no filme FA20%EP pode ser confirmado com base do menor valor apresentado para cristalinidade residual observado na Subseção 4.2.4: o filme FA20%EP apresentou 2,28%, enquanto o filme FA, 4,32% de cristalinidade residual.

A pesquisa com filmes de amido de milho e carragena aditivados com 6% (v/v) de própolis vermelha cubana (CHANG-BRAVO; LÓPEZ-CÓRDOBA; MARTINO 2014) da mesma forma verificou que o módulo de elasticidade dos filmes aditivados (10,4 MPa) foi inferior ao filme não aditivado (32,1 MPa). Os autores atribuíram esse comportamento à forte interação entre o extrato de própolis e a matriz polimérica. Isso porque a função plastificante

influencia no afastamento entre as cadeias poliméricas devido ao aumento da mobilidade intermolecular, o qual contribui para maior flexibilidade dos filmes e redução da rigidez, caracterizada pela diminuição do módulo de elasticidade (JIMÉNEZ et al., 2012).

A presença de até 3% de extrato contribuiu para o aumento da tensão máxima e do módulo de elasticidade e para a redução da deformação específica dos filmes FA3%EP quando comparados ao filme FA (Tabela 9). Esse comportamento foi incoerente com os demais filmes aditivados e com o resultado apresentado pela cristalinidade, demonstrado na Subseção 4.2.4 para o filme FA3%EP. Sendo assim, não foi possível avaliar o comportamento mecânico desse filme.

4.2.7 Propriedades ópticas

Em consonância com os resultados da transparência dos filmes de araruta encontrados na tabela seguinte, foi observado que a adição de 20% de extrato de própolis reduziu significativamente ($p < 0,05$) a transparência do filme FA20%EP, comparado ao filme FA. Essa redução pode ter sido causada pela presença de maior quantidade de agregados que provocaram a dispersão da luz e o aumento da opacidade dos filmes de araruta (PASTOR et al. 2010). Veja a Tabela 10. A formação de agregados pode ter ocorrido, possivelmente na região amorfa dos filmes aditivados, visto que estes apresentaram uma redução da cristalinidade, como demonstrada na Subseção 4.2.4.

No trabalho realizado por Pastor et al. (2010), foi constatado que a transparência dos filmes de hidroxipropilmetilcelulose reduziu à medida que a concentração de extrato de própolis verde aumentava na formulação do filme. A redução da transparência também foi verificada nos estudos com filmes de amido de mandioca e extrato de alecrim realizados por Piñeros-Hernandez et al. (2017): os filmes contendo 5% e 10% de extrato apresentaram 7,3% de transparência, enquanto os filmes contendo 20% apresentaram 5,7% da referida variável.

A aplicação de um filme transparente como embalagem permite a visualização do produto acondicionado, sendo essa uma característica de aceitação do produto pelo consumidor (FAKHOURI, 2009). A transparência é desejável aos filmes que podem ser empregados como revestimento comestível, considerando que a aparência do produto se mantém semelhante àquela inicial (GONTARD; GUILBERT; CUQ, 1992).

Tabela 10 – Propriedades ópticas dos filmes de araruta aditivados com extrato de própolis

Filmes	Transparência (%) ⁺	(L*) ⁺	(a*) ⁺	(b*) ⁺	ΔE_{ab}^{*+}	ΔC_{ab}^{*+}	ΔH_{ab}^{*+}
FA	14,5 ^A ± 0,1	90,0 ^A ± 0,1	3,6 ^A ± 0,0	-7,5 ^D ± 0,1	-	-	-
FA3%EP	14,5 ^A ± 0,1	88,3 ^B ± 0,2	2,0 ^B ± 0,1	-1,0 ^C ± 0,1	6,1 ^C ± 0,1	-6,1 ^C ± 0,1	2,8 ^C ± 0,2
FA10%EP	14,3 ^A ± 0,2	85,4 ^C ± 0,5	-0,2 ^C ± 0,0	14,2 ^A ± 0,8	22,4 ^A ± 0,7	5,7 ^A ± 0,7	21,2 ^A ± 0,5
FA20%EP	13,9 ^B ± 0,2	85,9 ^C ± 0,4	-0,2 ^C ± 0,1	12,8 ^B ± 0,8	21,1 ^B ± 0,7	4,4 ^B ± 0,7	20,2 ^B ± 0,5

⁺Médias seguidas por letras iguais na mesma coluna não diferem significativamente (p<0,05) pelo teste de Tukey.

Fonte: A Autora (2019).

No que tange à cor dos filmes de araruta aditivados com extrato de própolis, esta propriedade foi avaliada a partir das coordenadas L*, a* e b*, diferença total de cor (ΔE_{ab}^{*}), diferença de saturação (ΔC_{ab}^{*}) e diferença de tonalidade (ΔH_{ab}^{*}), conforme resultados já apresentados na Tabela 10.

Verificou-se na Tabela 10, que a coordenada L* (luminosidade) dos filmes reduziu significativamente (p<0,05) com a adição do extrato de própolis. Os resultados para essa coordenada variaram entre 85 e 90, que podem ser considerados elevados, próximos de 100 (branco absoluto), confirmando o aspecto claro dos filmes, independente da composição (MORENO; ATARÉS; CHIRALT, 2015). Esses resultados corroboram com aqueles apresentados para transparência nesta subseção, os filmes aditivados com extrato foram mais opacos e mais escuros. Filmes claros provoca interferência mínima na aparência do produto quando aplicado como revestimento comestível. A aparência é a característica inicial avaliada pelo consumidor.

Em relação à coordenada a* (-a* verde, +a* vermelho) dos filmes de araruta observados na Tabela 10, os filmes FA e FA3%EP apresentaram valores positivos 3,6 e 2,0, respectivamente. Enquanto os filmes FA10%EP e FA20%EP apresentaram valores negativos iguais a -0,2. Esses resultados informam que a adição de extrato de própolis aos filmes de araruta contribuiu para a formação de filmes com uma coloração que tende para a cor verde.

Já a coordenada b* (-b* azul, +b* amarelo) dos filmes de araruta aumentou significativamente até a concentração de 10% de extrato de própolis e reduziu quando a

adição de extrato alcançou 20% (Tabela 10). Os filmes FA e FA3%EP apresentaram valores negativos, -7,5 e -1,0, respectivamente, enquanto os filmes FA10%EP e FA20%EP apresentaram valores positivos, 14,1 e 12,8, respectivamente. Os valores positivos da coordenada b^* sugerem a cor amarela, enquanto os valores negativos sugerem a cor azul aos filmes de araruta. Considerando que os valores para a coordenada b^* foram superiores aos valores encontrados para coordenada a^* , pode-se admitir que os filmes de araruta aditivados com 10% e 20% de extrato de própolis, apresentam-se visualmente com a cor tendendo ao amarelo.

A cor do filme aplicado como embalagem pode afetar a aceitabilidade do produto pelo consumidor, segundo Siripatrawan e Vitchayakitti (2016). Entretanto, isso também vai depender da cor do produto a ser embalado, uma cor de uma embalagem, por exemplo, levemente verde pode ser apropriada para embalagens de vegetais, enquanto que para queijos brancos, o ideal será uma embalagem sem cor. Considerando a cor amarelada identificado nos filmes nesta subseção, sugere-se a sua aplicação em queijos amarelos.

A análise de cor foi relatada por Siripatrawane Vitchayakitti (2016) para filmes de quitosana aditivados com extrato de própolis. A adição desse extrato aos filmes reduziu os valores de L^* , em contrapartida os valores de a^* e b^* aumentaram proporcionalmente até 20% de extrato na composição da matriz polimérica.

Os filmes de araruta aditivados com extrato de própolis da mesma forma foram avaliados quanto ao ΔE_{ab}^* , ΔC_{ab}^* e ΔH_{ab}^* . O filme FA foi utilizado como referência para determinação dos respectivos valores de Δ , conforme estão apresentados na Tabela 10.

Foram observados na Tabela 10, aumentos significativos ($p < 0,05$) para ΔE_{ab}^* , ΔC_{ab}^* e ΔH_{ab}^* até a concentração de 10% de extrato de própolis, seguido de uma redução à concentração de 20%. A alteração da cor foi mais intensa para os filmes FA10%EP e FA20%EP, confirmado pelos altos valores de Δ . Os filmes com maiores concentrações de extrato são mais saturados, ou seja, apresentam maiores concentrações de pigmentos responsáveis pela tonalidade e intensidade da cor. O aumento da tonalidade sugere a mudança da cor vermelha para amarela, característica da presença de carotenoides (PASTOR et al., 2010).

4.2.8 Análise da solubilidade em água e da permeabilidade ao vapor de água (PVA)

Os resultados da solubilidade em água e da PVA dos filmes de araruta estão apresentados na Tabela 11. Foi verificada que a adição de extrato de própolis provocou um

efeito significativo ($p < 0,05$) na diminuição da solubilidade em água dos filmes FA3%EP, FA10%EP, FA20%EP comparados ao filme FA.

Tabela 11 – Resultados da análise de solubilidade em água e PVA dos filmes de araruta aditivados com extrato de própolis

Filmes	Solubilidade em Água (%) [*]	PVA (g.mm. h ⁻¹ .m ⁻² . kPa ⁻¹) [*]
FA	40,158 $\pm$ 1,202 ^A	11,061 $\pm$ 0,628 ^A
FA3%EP	32,227 $\pm$ 1,573 ^B	11,362 $\pm$ 0,660 ^A
FA10%EP	27,778 $\pm$ 2,723 ^{BC}	11,451 $\pm$ 0,470 ^A
FA20%EP	26,855 $\pm$ 1,333 ^C	11,355 $\pm$ 0,641 ^A

^{*}Médias seguidas por letras maiúsculas iguais na mesma coluna não diferem significativamente ($p < 0,05$) pelo teste de Tukey.

Fonte: A Autora (2019).

A redução da solubilidade em água dos filmes aditivados com extrato de própolis, comparados ao filme não aditivado era esperada em razão do aumento da presença de componentes hidrofóbicos oriundos do extrato, tais como material resinoso, flavonoides, óleos essenciais e outros compostos orgânicos (BANKOVA, 2005; PARK; ALENCAR; AGUIAR, 2002).

Segundo os resultados para PVA apresentados na Tabela 11, não foram identificadas alterações significativas ($p < 0,05$). Portanto, a adição de extrato de própolis aos filmes de araruta não modificou a propriedade de barreira ao vapor de água.

Embora houvesse a redução da solubilidade dos filmes de araruta com a adição de extrato de própolis, a relação hidrofílica/hidrofóbica não foi modificada de tal forma que influenciasse a PVA (Tabela 11).

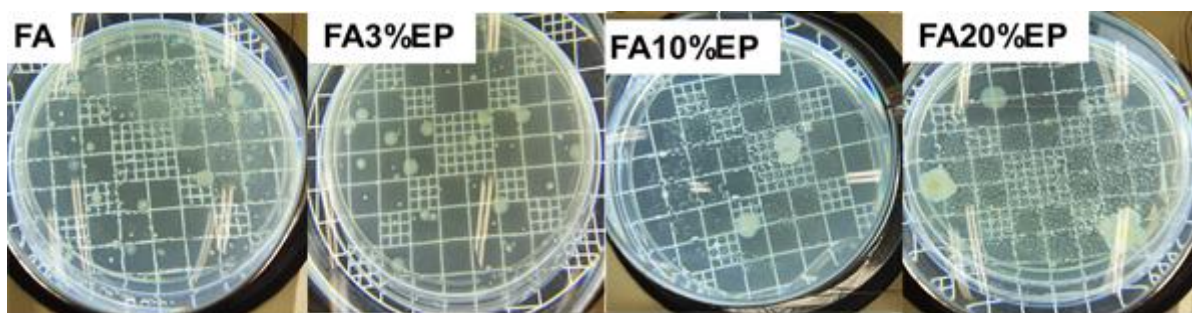
Alguns estudos científicos mostraram alterações na propriedades de barreira ao vapor de água em filmes de amido aditivados com extratos naturais. Nos estudos realizados por Piñeros-Hernandez et al. (2017), a redução da PVA em filmes de amido de mandioca aditivados com 10% e 20% de extrato de alecrim ocorreu por causa da presença de defeitos superficiais da película, sendo que tal comportamento não foi identificado naqueles aditivados com 5% de extrato. Logo, a alteração da PVA não foi relacionada à composição dos filmes de mandioca, mas pelos aspectos físicos.

Já na pesquisa feita por Siripatrawan e Vitchayakitti (2016), a adição de até 20% de extrato de própolis em filmes de quitosana provocou uma redução de 28,6 % nos valores da PVA (0,7 para 0,5 g.mm. d⁻¹.m⁻². Pa⁻¹). Dessa forma, a relação hidrofílica/hidrofóbica do último estudo foi modificada, sendo este um comportamento não verificado nos resultados discutidos na presente pesquisa.

4.2.9 Atividade antimicrobiana

A atividade antimicrobiana dos filmes de araruta foi avaliada frente às células da bactéria *Staphylococcus aureus*. As células bacterianas sobreviventes após 24 horas da inoculação dos filmes FA, FA3%EP, FA10%EP e FA20%EP podem ser visualizadas na Figura 25.

Figura 25 – Placas de contagem de *Staphylococcus aureus* após 24 horas de contato com filmes de araruta aditivados com extrato de própolis



Fonte: A Autora (2019).

Pode-se observar na Figura 25 que as placas referentes aos filmes FA e FA3% apresentaram maior crescimento de colônias de *S. aureus* comparadas às placas FA10%EP e FA20%EP. O máximo crescimento bacteriano era esperado na placa FA, visto que a composição deste filme não continha extrato e, por isso, foi considerado como controle positivo. Todavia, o filme FA3%EP não apresentou quantidade de fenólicos totais e flavonoides, demonstrado na Seção 4.2.2, suficiente para inibir crescimento das células de *S. aureus*. A contagem das colônias sobreviventes de *S. aureus* em contato com os filmes FA e FA3%EP, FA10%EP e FA20%EP está apresentada na Tabela 12.

Tabela 12 – Contagem de *S. aureus* após 24 horas de contato com os filmes de araruta aditivados com extrato de própolis

Filmes	N (UFC.mL ⁻¹)	Log de Redução (>2Log10)	%Redução (99,0)
FA	8,15 x 10 ⁷ ±2,19	-----	-----
FA3%EP	1,27 x 10 ⁷ ±0,19	0,8	84,4
FA10%EP	1,5 x 10 ¹ ±7,07	6,7	99,9
FA20%EP	7,5 x 10 ¹ ±7,07	6,7	99,9

Fonte: A Autora (2019).

Observou-se ainda na Tabela 12 para os filmes FA10%EP e FA20%EP contagens de *S. aureus* na ordem de 10¹, enquanto os filmes FA e FA3%EP apresentaram contagens na ordem de 10⁷. A redução das contagens bacterianas para os filmes contendo 10% e 20% de extrato de própolis é devida às maiores concentrações de flavonoides e fenólicos totais presentes na matriz polimérica, corroborando com os resultados apresentados na Subseção 4.2.2.

A comunidade científica atribui o poder antimicrobiano da própolis à presença dos ácidos fenólicos (AZIZ; KARBOUNE, 2016), principalmente o ácido 3,5 diprenil-4-hidroxicinâmico (Artepillin C), um marcador químico do Grupo 12 (FUNARI; FERRO, 2006; PARK et al., 2004). Em outras palavras, o grupo que pertence à própolis verde utilizada no presente estudo. O teor de fenólicos totais dos filmes FA10%EP (1,40±0,02) e FA20%EP (2,41±0,01) foram superiores ao filme FA3%EP (0,65±0,03), visto na Subseção 4.2.2.

Em estudos realizados por Mascheroni et al. (2010), foi verificado que uma quantidade relevante dos ácidos fenólicos era liberada da matriz polimérica para água, enquanto outros compostos ativos, como os flavonoides, permaneciam na matriz. Portanto, os ácidos fenólicos têm a capacidade de migrar para o meio e atuar como agente antibacteriano.

Segundo a literatura, os flavonoides apresentam ação antibacteriana pela sua capacidade de alterar a permeabilidade da membrana e a mobilidade celular, inibir a síntese de ácidos nucléicos, alterar a função da membrana citoplasmática e do metabolismo energético (CUSHNIE; LAMB, 2005; MIRZOEVA; GRISHANIN, 1997). O teor de flavonoides nos filmes FA10%EP (1,35±0,00) e FA20%EP (1,45±0,01) foi superior ao filme FA3%EP (0,55±0,00), discutido na Subseção 4.2.2. Logo, os filmes com maiores

concentrações de extrato apresentaram flavonoides em quantidade suficiente para inibir do crescimento de *S. aureus*.

Em conformidade com a norma JIS Z 2801, filmes com atividade antimicrobiana devem apresentar uma redução do ciclo logarítmico maior que 2 e a redução da contagem microbiológica superior a 99%. Os filmes FA10%EP e FA20%EP atendem aos parâmetros estabelecidos pela norma em questão, uma vez que apresentaram uma redução de 6,7 ciclos logarítmicos do crescimento de *S. aureus*. Essa redução equivale a uma redução superior a 99% (Tabela 12). Então, os filmes FA10%EP e FA20%EP podem ser considerados como filmes com propriedades antimicrobianas, mais especificamente frente a *S. aureus*.

Encontrou-se na literatura um trabalho, de Torlak e Sert (2013), que avaliou a atividade antimicrobiana em filmes de polipropileno revestidos com quitosana aditivados com extrato de própolis contra bactérias Gram-positivas e Gram-negativas. O filme contendo 10% (m/m) de própolis reduziu a contagem de patógenos entre 3,87 e 5,58 ciclos logarítmicos em comparação com o filme sem extrato, durante um período de exposição de 24 horas.

Com base nas semelhanças apresentadas pelos filmes FA10%EP e FA20%EP no que tange à atividade antimicrobiana, a formulação com 10% foi selecionada, haja vista que nesta concentração, os filmes de araruta aditivados com extrato de própolis foram efetivos frente a *S. aureus*. Sendo assim, os filmes FA10%EP foram submetidos aos estudos que avaliaram o efeito da dose da radiação gama e os resultados destes estudos serão apresentados na Seção 4.3.

4.3 CARACTERIZAÇÃO DOS FILMES DE ARARUTA IRRADIADOS

Nesta seção, serão apresentados os resultados e a discussão da pesquisa em relação aos filmes FA10%EP submetidos às diferentes doses de radiação gama. Nessa parte do trabalho, haverá seis subseções nas quais serão demonstradas os resultados das análises viscosimétricas, da análise por difratometria de raios-X, da análise termogravimétrica e derivada correspondente, das propriedades mecânicas, da análise de cor e, por fim, da determinação de flavonoides, fenólicos totais e atividade antioxidante.

4.3.1 Análises viscosimétricas

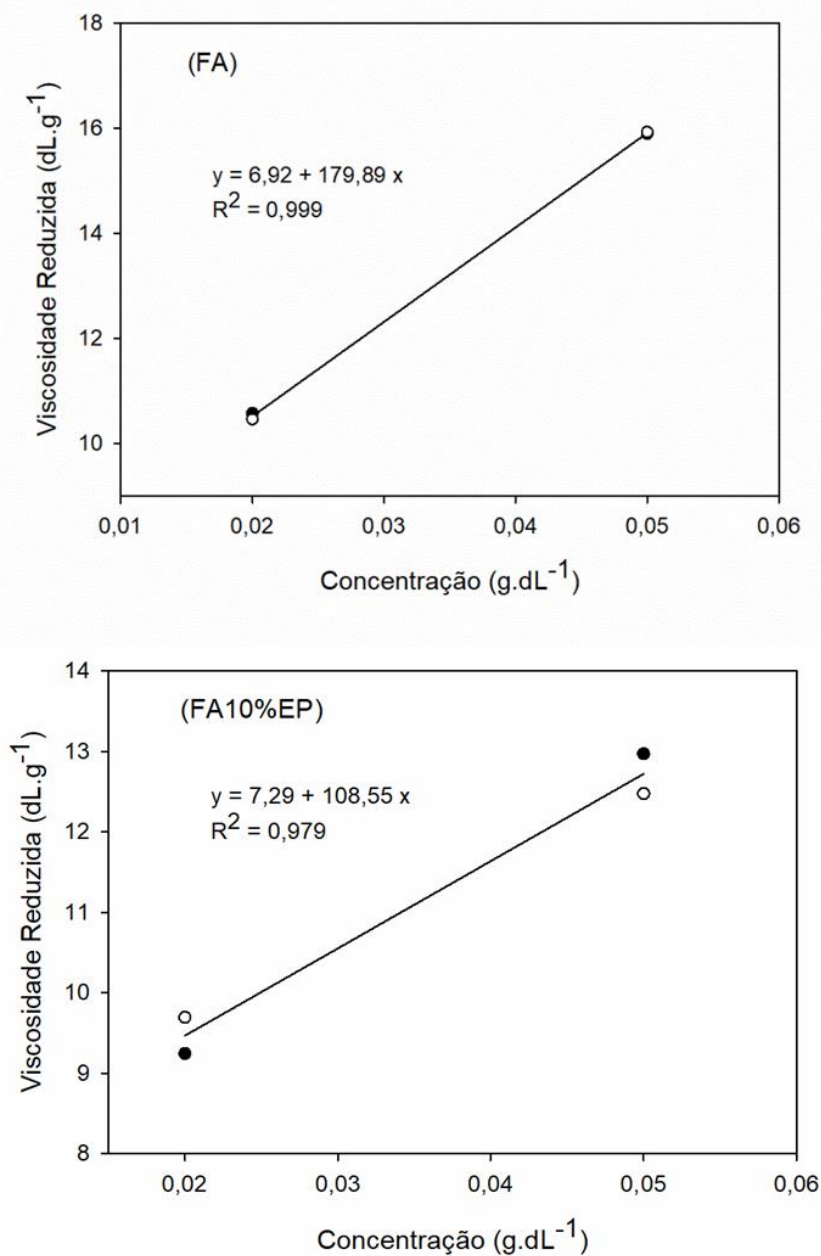
A concentração de $0,4 \text{ g.dL}^{-1}$ foi estabelecida com base nos resultados plotados da viscosidade reduzida (η_{red}) em função da concentração, considerando a condição de Huggins para uma solução polimérica diluída ($1 < \eta_{red} < 2$), veja a Figura 26 na página a seguir.

As constantes de Huggins para os sistemas poliméricos, FA e FA10%EP, foram 3,76 e 2,04, respectivamente. Em consonância ao que foi apresentado na Seção 2.5.3, utilizou-se a Equação 5 para mensurar as viscosidades intrínsecas (QIAN, 1997), as quais foram empregadas para a determinação das massas moleculares médias viscosimétricas por meio da equação de Mark-Houwink (Equação 4).

Os resultados da viscosidade intrínseca $[\eta]$ e das massas moleculares médias viscosimétricas (M_v) para os filmes FA e FA10%EP, ambos irradiados entre 5-50 kGy, estão apresentados na Tabela 13, mais adiante. No que refere-se aos resultados descritos nesta tabela, a redução significativa ($p < 0,05$) da $[\eta]$ e da M_v foi observada para o filme FA10%EP, comparado ao filme FA, ambos não irradiados. Esses resultados indicam que houve a contração da molécula da araruta em solução em razão da presença dos compostos fenólicos do extrato de própolis. Assim, a molécula de araruta contraída (do filme FA10%EP) apresentou um volume hidrodinâmico mais baixo e, por isso, facilitou a passagem da solução de polímero através do tubo capilar viscosimétrico e diminuiu sua viscosidade. Observe a Tabela 13.

Com relação ao efeito das doses da radiação gama, verificou-se também na Tabela 13, a redução significativa ($p < 0,05$) da $[\eta]$ para os filmes FA, irradiados em todas as doses, comparados aos filmes de mesma composição não irradiados. A maior redução foi verificada para os filmes FA irradiados a 50 kGy, cuja viscosidade intrínseca foi de $2,18 \text{ dL.g}^{-1}$, que corresponde a uma redução de 82% da viscosidade inicial apresentada por FA não irradiado, $11,97 \text{ dL.g}^{-1}$. Esse comportamento decorre da redução das M_v em função da dose irradiada (5-50 kGy). Veja a Tabela 13.

Figura 26 – Representação gráfica da viscosidade reduzida em função da concentração para determinação da constante de Huggins: (FA) filme de araruta, (FA10%EP) filme de araruta aditivado com 10% de extrato de própolis



Fonte: A Autora (2019).

Tabela 13 – Viscosidade intrínseca $[\eta]$ e massa molar média viscosimétrica (M_v) dos filmes de araruta (FA) e filmes de araruta aditivados com 10% de extrato de própolis (FA10%EP)

	$[\eta]$ ($\text{dL}\cdot\text{g}^{-1}$)**		M_v ($\text{g}\cdot\text{mol}^{-1}$)**	
	FA	FA10%EP	FA	FA10%EP
NI*	11,97 ^{Aa}	8,66 ^{Ab}	31.722,07 ^{Aa}	22.041,89 ^{Aa}
	$\pm 0,04$	$\pm 0,00$	$\pm 118,35$	$\pm 0,78$
5 kGy	8,37 ^{Ba}	8,79 ^{Aa}	21.232,95 ^{Ba}	22.412,17 ^{Aa}
	$\pm 0,22$	$\pm 0,00$	$\pm 630,91$	$\pm 0,00$
10 kGy	6,1 ^{Ca}	6,83 ^{Ba}	14.875,99 ^{Ca}	1.6879,77 ^{Ba}
	$\pm 0,38$	$\pm 0,06$	$\pm 1046,63$	$\pm 157,05$
25 kGy	3,45 ^{Da}	3,78 ^{Ca}	7.844,24 ^{Da}	8.678,25 ^{Ca}
	$\pm 0,09$	$\pm 0,13$	$\pm 225,88$	$\pm 327,08$
50 kGy	2,18 ^{Ea}	2,33 ^{Da}	4.687,15 ^{Ea}	5.048,80 ^{Da}
	$\pm 0,05$	$\pm 0,07$	$\pm 121,22$	$\pm 158,73$

*Não Irradiado.

**Médias seguidas por letras minúsculas (a, b) iguais na mesma linha e na mesma análise e maiúsculas (A-D) na mesma coluna não diferem significativamente ($p < 0,05$) pelo teste de Tukey.

Fonte: A Autora (2019).

Segundo o comportamento apresentado pelos resultados da Tabela 13, pode-se inferir que a redução das massas molares em polímeros irradiados foi devida ao efeito das reações de cisão, as quais foram provocadas pela radiação gama na estrutura do filme (HAJI-SAEID; SAMPA; CHMIELEWSKI, 2007; KOMOLPRASERT, 2016).

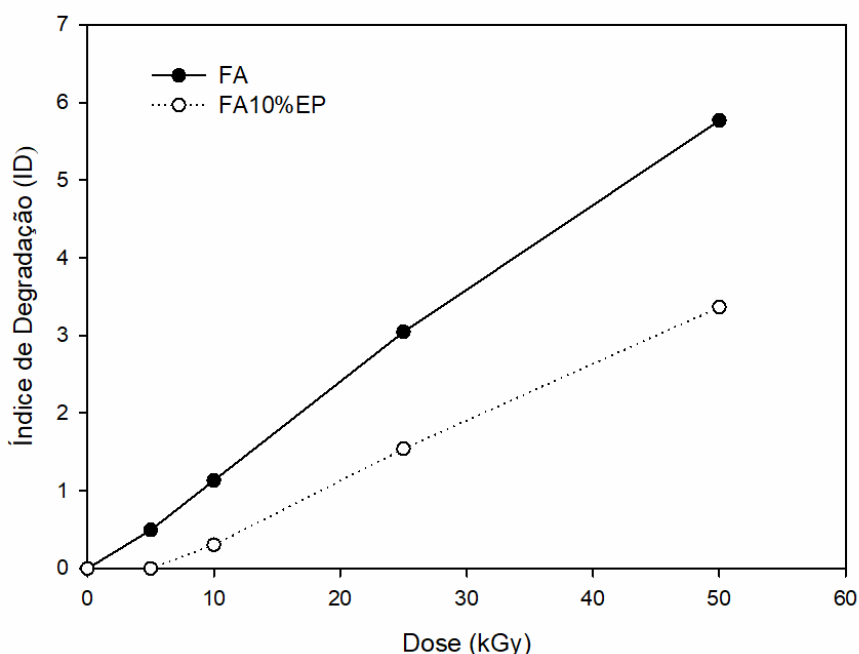
No que tange aos filmes FA10%EP, o efeito significativo da radiação gama sobre a viscosidade intrínseca e as massas moleculares médias viscosimétricas deu-se a partir da dose 10 kGy (Tabela 13). Podendo-se inferir que nessa dose de radiação gama, ocorreram as reações de cisão de cadeia principal para os filmes FA10%EP. Esse comportamento deve-se à presença dos compostos fenólicos existentes no extrato de própolis, o qual foi utilizado para aditar o filme de araruta. Dessa forma, os compostos fenólicos atuaram como antioxidante e protegeram a degradação da matriz polimérica até 5 kGy.

O número de cisões da cadeia principal por cada 100 eV de energia absorvida (valor G) foi determinado no intervalo entre 10-50 kGy, região linear do gráfico do inverso da massa molecular média viscosimétrica em função da dose de irradiação, observado no gráfico

apresentado no Apêndice C. Sendo assim, o valor G para FA e FA10%EP foi 68,47 e 65,23, respectivamente. Esses valores serão discutidos a seguir com o índice de degradação.

Na Figura 27, pode ser observado o índice de degradação dos filmes de araruta em função da dose irradiada. Esse índice reflete o número de cisões por moléculas iniciais, em que os filmes FA10%EP apresentaram menores valores comparados aos filmes FA, visualizados na referida figura. Esse comportamento corrobora com os valores G, os quais mostraram um menor número de cisões na cadeia principal por cada 100 eV de energia absorvida para os filmes FA10%EP comparados aos filmes FA irradiados.

Figura 27 – Índice de degradação do filme de araruta (FA) e filme de araruta aditivados com 10% de extrato de própolis (FA10%EP) em função da dose de irradiação



Fonte: A Autora (2019).

Em geral, a presença do extrato de própolis na composição dos filmes de araruta contribuiu de forma positiva para minimização dos efeitos da radiação gama sobre a massa molecular média viscosimétrica, como demonstrado na Figura 27. Todavia, o efeito protetor radiolítico foi constatado efetivamente até a dose 5 kGy.

4.3.2 Determinação de flavonoides, fenólicos totais e atividade antioxidante

Os resultados para determinação de flavonoides, fenólicos totais e atividade antioxidante dos filmes FA10%EP irradiados são apresentados na Tabela 14, mais adiante. Os valores para flavonoides para os filmes irradiados foram considerados baixos ($\leq 0,03 \mu\text{g.g}^{-1}$ de filme), de forma que não foi possível quantificá-los, pois as leituras das absorbâncias foram

em média ABS = 0,036 e, portanto, menor que o limite inferior (Abs = 0,127) da curva padrão de quercetina, visualizada no Apêndice D. Quanto ao conteúdo de fenólicos totais, os valores para os filmes irradiados foram menores significativamente ($p < 0,05$) quando comparados aos filmes não irradiados, podendo-se inferir que esses compostos participaram de reações de oxidorredução com os radicais gerados do processo de radiação gama, veja a Tabela 14.

Tabela 14 – Teor de flavonoides, fenólicos totais e atividade antioxidante dos filmes de araruta aditivados com 10% de extrato de própolis (FA10%EP)

FA10%EP	Flavonoides** ($\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ de filme)	Fenólicos Totais ** ($\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$ de filme)	DPPH** (%)
NI*	0,03 $\pm$ 0,00	2,06 $\pm$ 0,04 ^A	9,06 $\pm$ 0,00 ^A
5 kGy	< 0,03	0,97 $\pm$ 0,01 ^D	4,13 $\pm$ 0,45 ^B
10 kGy	< 0,03	1,23 $\pm$ 0,02 ^B	4,58 $\pm$ 0,30 ^B
25 kGy	< 0,03	1,10 $\pm$ 0,04 ^C	4,36 $\pm$ 0,22 ^B
50 kGy	< 0,03	1,20 $\pm$ 0,04 ^B	4,65 $\pm$ 0,07 ^B

*Não irradiado.

**Médias seguidas por letras maiúsculas iguais na mesma coluna não diferem significativamente ($p < 0,05$) pelo teste de Tukey.

Fonte: A Autora (2019).

Os compostos fenólicos, incluindo os flavonoides, são potentes antioxidantes naturais capazes de evitar ou interromper reações de oxidorredução (CAROCHO; MORALES; FERREIRA, 2018). Durante a irradiação dos filmes de araruta, os produtos reativos podem ter interagido com os fenólicos da matriz polimérica através da captura de radicais livres (HAJI-SAEID; SAMPA; CHMIELEWSKI, 2007).

As moléculas que apresentam o grupo fenol reagem com os radicais livres através da transferência de átomos de hidrogênio e, por conseguinte, ocorre a transferência única de elétrons. Os produtos de ambas as reações são espécies não reativas e energeticamente estáveis (CÖMERT; GÖKMEN, 2018; LEOPOLDINI; RUSSO; TOSCANO, 2011)

Os filmes FA10%EP irradiados também demonstraram que sua capacidade antioxidante foi reduzida (Tabela 14), comparados aos filmes não irradiados, sobretudo, não houve diferença significativa entre as doses empregadas. Logo, a atividade antioxidante dos filmes FA10%EP mantiveram 48,7% da atividade inicial, 9,06%, podendo-se inferir que a presença dos compostos fenólicos existentes no extrato de própolis contribuiu para estabilização da estrutura da matriz polimérica, impedindo maiores degradações por cisão.

Ficou demonstrado na Subseção 4.3.1 que o número de cisões por 100 eV para os filmes FA10%EP (65,23) foi inferior aos filmes FA (68,47), sendo que os filmes FA10%EP irradiados a dose 5 kGy não sofreram degradação. Desse modo, a presença do extrato atuou como estabilizante radiolítico aos filmes de araruta, os quais podem ser destinados para a aplicação como embalagens esterilizadas por radiação gama até 5 kGy.

Os filmes de araruta aditivados com extrato de própolis foram analisados quanto ao teor de fenólicos totais e de flavonoides e quanto à atividade antioxidante após 45 dias da sua elaboração. Os baixos valores encontrados para flavonoides ($\leq 0,03 \mu\text{g.g}^{-1}$ de filme) e atividade antioxidante (9,06 %) para o filme que não sofreu irradiação sugerem que houve degradação desses compostos durante o armazenamento do filme.

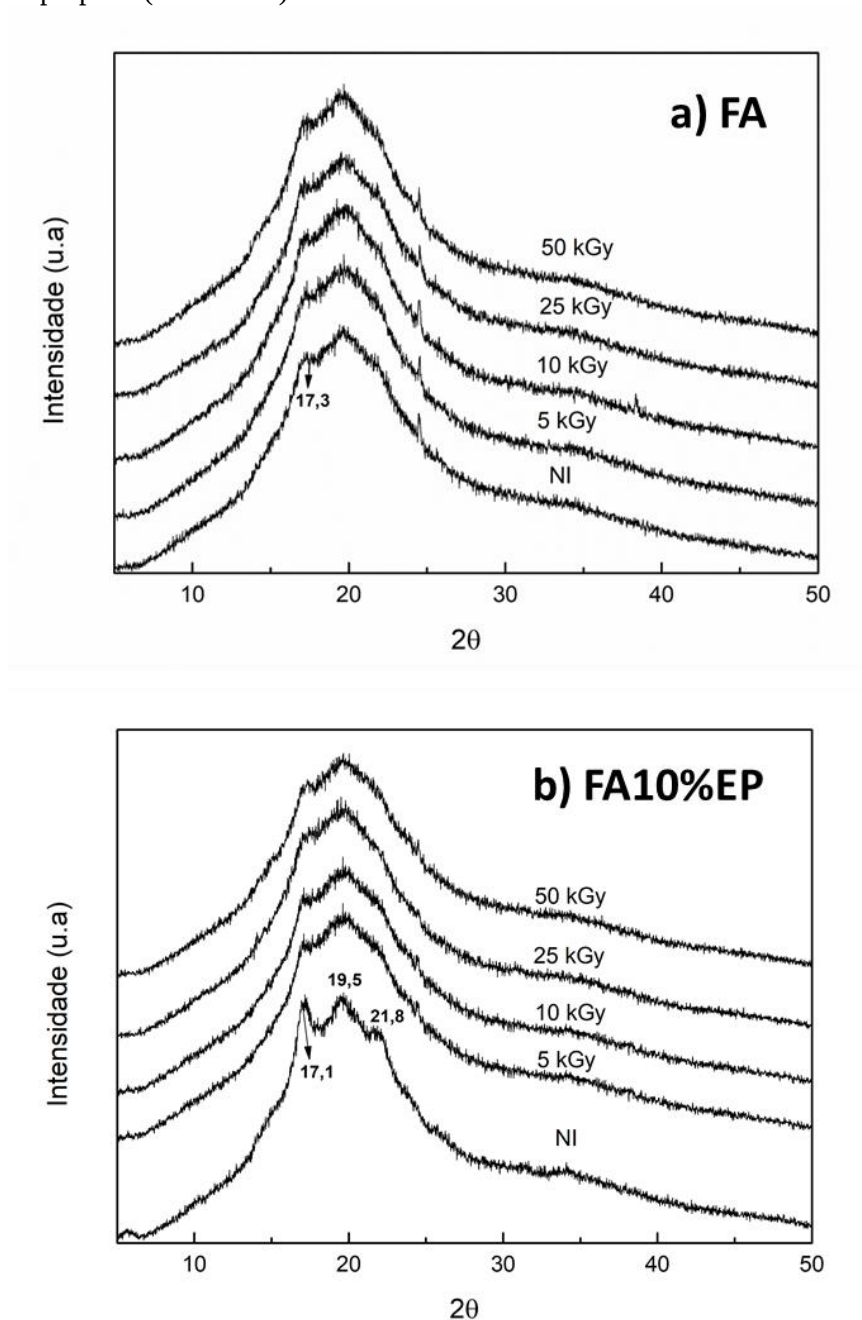
Na Subseção 4.2.2, para o filme FA10%EP, os resultados foram obtidos após uma semana da elaboração desses filmes e apresentaram teor de flavonoides ($1,35 \text{ mg.g}^{-1}$ de filme) e atividade antioxidante (39,61%), valores estes superiores àqueles apresentados pelos filmes, de mesma composição, irradiados e discutidos nessa subseção. Portanto, estes filmes, além da radiação gama, o tempo de armazenamento também pode ter sido um fator significativo para a degradação dos flavonoides e consequente redução da atividade antioxidante. No entanto, para confirmação dessa hipótese serão necessários estudos de estabilidade dos filmes irradiados e aditivados com 10% de extrato de própolis em função do tempo de armazenamento.

4.3.3 Análise por difratometria de raios-X (DRX)

Os padrões de difração de raios-X para os filmes de araruta irradiados entre 5-50 kGy estão apresentados mais adiante na Figura 28. Pode-se observar na Figura 28.a que os filmes FA apresentaram apenas um pico cristalino $2\theta = 17,3^\circ$, característico do padrão cristalino tipo A. Esse tipo de padrão de cristalinidade era esperado, haja vista os resultados encontrados para araruta discutidos na Subseção 4.2.4.

Ainda na Figura 28.a, um pico largo, característico de material amorfo foi encontrado em torno de $2\theta = 20,0^\circ$. Já na Figura 28.b, foram observados os seguintes picos cristalinos $2\theta = 17,1^\circ$, $19,5^\circ$ e $21,8^\circ$ para o filme FA10%EP não irradiado, enquanto os demais filmes FA10%EP irradiados (5-50 kGy) apresentaram um pico $2\theta = 17,1^\circ$ e um pico largo em torno de $2\theta = 20,0^\circ$.

Figura 28 – Difratoograma de raios-X dos filmes de araruta (FA) e filmes de araruta aditivados com 10% de extrato de própolis (FA10%EP)



*NI=Não irradiado.

Fonte: A Autora (2019).

De acordo com os resultados apresentados para os filmes FA e FA10%EP, a irradiação não provocou alterações do padrão de difração de raios-X destes, comparados aos filmes de mesma composição não irradiados. Entretanto, os filmes FA e FA10%EP irradiados em todas as doses apresentaram menor cristalinidade que os filmes de mesma composição não irradiados, como poder ser visualizada na Tabela 15.

Tabela 15 – Cristalinidade dos filmes de araruta (FA) e filmes de araruta aditivados com 10% de extrato de própolis (FA10%EP)

	Cristalinidade (%)	
	FA**	FA10%EP**
NI*	4,47 ($\pm 0,38$) ^{Aa}	3,81 ($\pm 0,25$) ^{Ab}
5 kGy	2,90 ($\pm 0,44$) ^{Ba}	2,79 ($\pm 0,30$) ^{Ba}
10 kGy	2,66 ($\pm 0,34$) ^{Ba}	2,05 ($\pm 0,32$) ^{Ca}
25 kGy	3,07 ($\pm 0,19$) ^{Ba}	2,02 ($\pm 0,15$) ^{Cb}
50 kGy	2,66 ($\pm 0,44$) ^{Ba}	2,51 ($\pm 0,11$) ^{BCa}

*Não irradiado.

**Médias seguidas por letras minúsculas (a,b) iguais na mesma linha e maiúsculas (A, B, C) na mesma coluna não diferem significativamente ($p < 0,05$) pelo teste de Tukey.

Fonte: A Autora (2019).

Como pode ser verificado na Tabela 15, a cristalinidade dos filmes FA irradiados não apresentou diferenças significativas ($p < 0,05$) entre as doses empregadas, porém, os valores da cristalinidade foram inferiores àqueles apresentados pelos filmes FA não irradiados. Sendo assim, a radiação tornou os filmes mais amorfos independente da dose empregada.

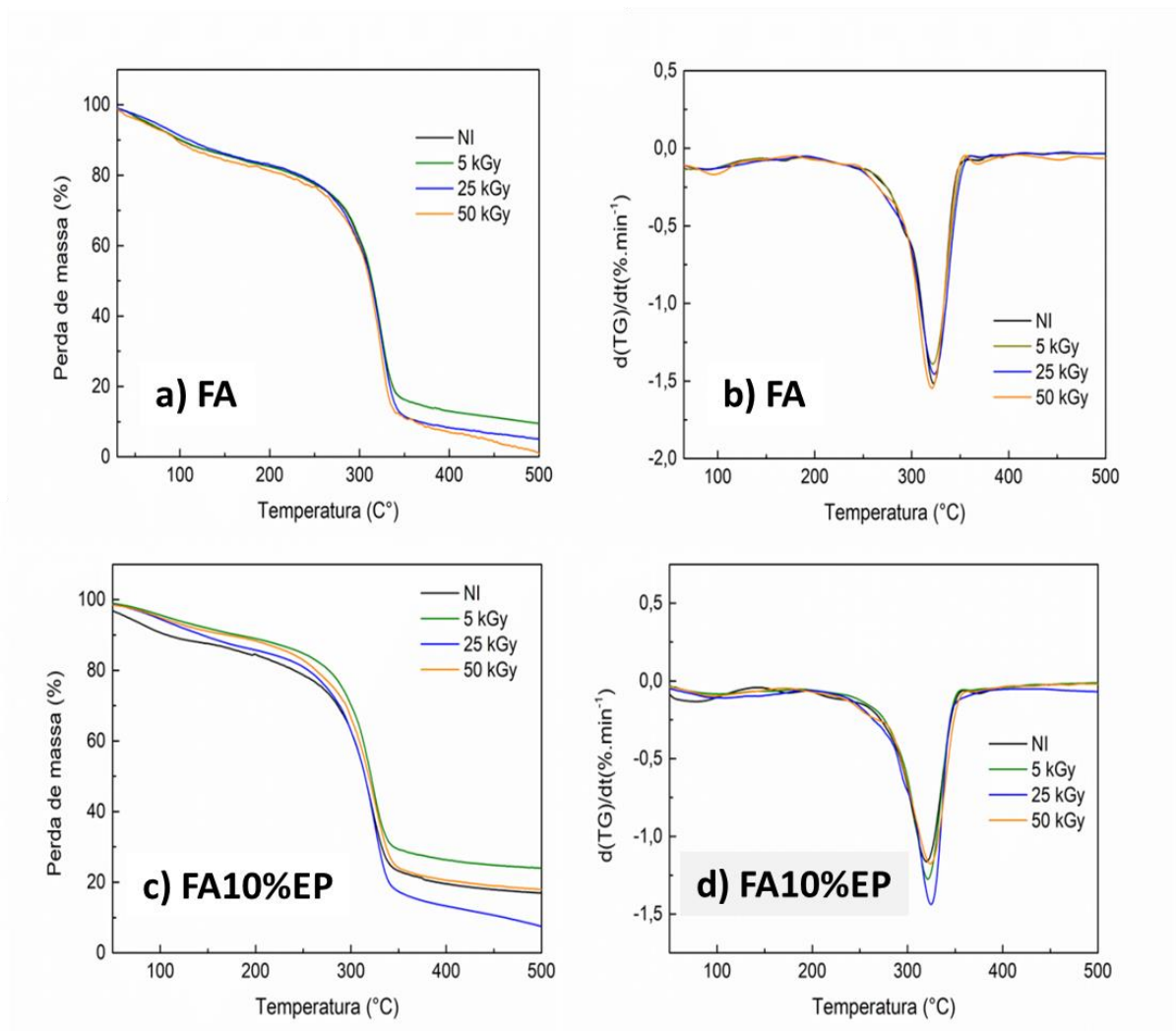
No que diz respeito aos filmes FA10%EP, a radiação gama reduziu significamente as zonas cristalinas destes, segundo resultados encontrados para cristalinidade residual na Tabela 15. Tal redução ocorreu de forma não linear, visto que os valores para cristalinidade dos filmes FA10%EP nas doses 5 kGy e 50 kGy não diferiram significativamente ($p < 0,05$) e aqueles irradiados entre 10 kGy e 50 kGy também não diferiram.

Conforme discutido na Subseção 4.4.1, os filmes de araruta irradiados, independente da composição, apresentaram uma redução das massas moleculares médias viscosimétricas. As reações de cisão ocorreram de forma aleatória na matriz polimérica, fato que pode ter contribuído para redução da cristalinidade e aumento da região amorfa dos filmes irradiados de forma não linear, comentada no parágrafo anterior.

4.3.4 Análise termogravimétrica (TGA)

A degradação térmica dos filmes irradiados FA e FA10%EP é ilustrada pela Figura 29.a-b e Figura 29.c-d.

Figura 29 – Curva da análise termogravimétrica-TGA e derivada correspondente-DTG dos filmes de araruta irradiados (FA) e filmes de araruta aditivados com 10% extrato de própolis (FA10%EP)



*NI=Não irradiado.

Fonte: A Autora (2019).

De acordo com a análise das curvas termogravimétricas e suas respectivas derivadas (Figura 29.a-d), os filmes de araruta apresentaram dois estágios térmicos. As temperaturas de degradação térmica para cada estágio estão apresentadas na Tabela 16.

Tabela 16 – Temperaturas de degradação térmica dos filmes de araruta (FA) e filmes de araruta aditivados com 10% (m/m) de extrato de própolis (FA10%EP)

		T_{onset} (°C)		T_{offset} (°C)		T_{pico} (°C)	Resíduo (%)
		1°	2°	1°	2°		
FA	NI*	30	272,67	130,03	340,73	323,83	14,2
	5 kGy	30	266,83	130,42	340,85	322,11	14,8
	25 kGy	30	267,55	185,03	339,46	323,77	11,0
	50 kGy	30	267,63	127,46	337,09	320,81	10,8
FA10%EP	NI*	30	278,34	131,35	341,43	320,81	21,1
	5 kGy	30	283,64	135,24	335,96	322,63	27,3
	25 kGy	30	281,63	186,01	340,81	325,24	16,5
	50 kGy	30	289,45	161,20	341,65	325,04	22,5

*Não irradiado.

Fonte: A Autora (2019).

Na Tabela 16, o primeiro estágio para os filmes de araruta estudados nesta subseção, o primeiro estágio ocorreu entre 30°C e 186°C, o qual foi atribuído à evaporação da água (MEDINA- JARAMILLO et al., 2016; PIÑEROS-HERNANDEZ et al. 2017). No que tange ao segundo estágio, ele iniciou em torno de 266°C e terminou próximo de 340°C. Essa faixa compreende as temperaturas de decomposição térmica do amido de araruta (NOGUEIRA; FAKHOURI; DE OLIVEIRA, 2018), da glicerina (MEDINA-JARAMILLO et al., 2017) e do extrato de própolis (COSTA, 2018), haja vista a discussão dos resultados apresentados na Subseção 4.2.5.

Verificou-se ainda na Tabela 16 que o filme FA10%EP a dose 50 kGy apresentou um de 11,1 °C da T_{onset} do 2° estágio. Essa alteração decorre da redução do tamanho das cadeias poliméricas, como consequência das reações de cisão induzidas pela energia ionizante (HAJI-SAEID; SAMPA; CHMIELEWSKI, 2007; KOMOLPRASERT, 2016). Com o aumento da dose irradiada, a redução da massa molecular dos filmes de araruta, no presente estudo, foi verificada na Subseção 4.3.1.

Após análise dos resultados para TGA dos filmes irradiados, FA e FA10%EP, observou-se que as transformações da estrutura desses filmes podem ter ocorrido de formas distintas, sejam elas em função da composição da estrutura dos filmes ou da dose absorvida. Geralmente, os produtos reativos da radiação gama em materiais poliméricos, como os radicais livres, íons e átomos em estados excitados podem seguir vários caminhos da reação, geralmente intermediários aleatórios, inclusive rearranjos e/ou a formação de novas ligações (HAJI-SAEID; SAMPA; CHMIELEWSKI, 2007; KOMOLPRASERT, 2016).

Nesse sentido, os filmes FA10%EP foram mais sensíveis às alterações das temperaturas de degradação térmica em função da dose irradiada. A presença do extrato de própolis contribuiu para o aumento das temperaturas de início e de máxima degradação térmica, podendo-se inferir que os filmes aditivados e irradiados foram mais estáveis termicamente comparados ao filme de mesma composição não irradiado.

4.3.5 Propriedades mecânicas

As propriedades mecânicas dos filmes irradiados FA e FA10%EP foram representadas pelas medidas de tensão máxima (MPa), deformação específica (%) e módulo de elasticidade (MPa), as quais serão analisadas logo adiante.

Os filmes FA irradiados apresentaram uma redução significativa ($p < 0,05$) da tensão máxima comparados aos filmes de mesma composição não irradiados – vale salientar que aquele irradiado a 10 kGy apresentou o menor valor, 1,41 MPa. Um comportamento semelhante ao descrito até então foi observado para os filmes FA10%EP irradiados, cujos valores de tensão máxima nas doses 5 kGy (2,55 MPa), 10 kGy (0,93 MPa) e 50 kGy (2,85 MPa) foram inferiores ao filme FA10%EP não irradiado (4,67 MPa), com exceção do filme FA10%EP irradiado a 25 kGy (4,10 MPa) que, por sua vez, não diferiu significativamente ($p < 0,05$) do filme FA10%EP não irradiado. O efeito da radiação gama sobre as propriedades mecânicas dos filmes de araruta pode ser visualizado na Tabela 17, adiante.

Ainda na Tabela 17, como puderam ser analisados os resultados das propriedades mecânicas dos filmes irradiados, FA e FA10%EP, constatou-se que a ação da radiação gama sobre a estrutura polimérica destes filmes ocorreu de formas distintas. É interessante ressaltar que os filmes de araruta, independente da composição, quando irradiados, exceto a dose 25 kGy para o filme FA10%EP, tornaram-se menos resistentes à tração, haja vista a redução dos valores da tensão máxima comparados aos filmes de mesma composição não irradiados.

Tabela 17 – Propriedades mecânica dos filmes de araruta (FA) e filmes de araruta contendo 10% de extrato de própolis (FA10%EP)

	Tensão Máxima (MPa)**		Deformação Específica Máxima (%)**		Módulo de Elástico (MPa)**	
	FA	FA10%EP	FA	FA10%EP	FA	FA10%EP
NI*	5,64 ^{Aa} ±0,64	4,67 ^{Aa} ±0,57	56,20 ^{Ca} ±6,15	57,27 ^{Da} ±6,68	72,82 ^{Aa} ±13,80	71,94 ^{Aa} ±7,02
5 kGy	2,35 ^{Ba} ±0,11	2,55 ^{Ba} ±0,17	107,50 ^{ABa} ±2,59	111,33 ^{Ba} ±1,94	21,80 ^{BCa} ±4,06	25,99 ^{Ba} ±3,29
10 kGy	1,41 ^{Ca} ±0,04	0,93 ^{Cb} ±0,03	117,90 ^{Ab} ±2,52	130,13 ^{Aa} ±4,13	14,59 ^{Ca} ±2,57	4,94 ^{Cb} ±0,39
25 kGy	2,57 ^{Bb} ±0,18	4,10 ^{Aa} ±0,12	96,92 ^{Ba} ±0,77	57,62 ^{Db} ±10,59	27,30 ^{Bb} ±0,98	58,03 ^{Aa} ±9,42
50 kGy	2,67 ^{Ba} ±0,18	2,85 ^{Ba} ±0,32	92,72 ^{Ba} ±12,34	90,68 ^{Ca} ±0,36	22,46 ^{BCa} ±2,67	18,42 ^{Ba} ±7,04

*Não irradiado.

**Médias seguidas por letras minúsculas (a,b) iguais na mesma linha e na mesma propriedade e maiúsculas (A-D) na mesma coluna não diferem significativamente ($p < 0,05$) pelo teste de Tukey.

Fonte: A Autora (2019).

Segundo Byun et al. (2008), geralmente, a extensão da degradação dos polissacarídeos não é linearmente proporcional à dosagem da radiação ionizante. Essa degradação pode ser maior em doses consideradas baixas e, portanto, são consideradas críticas para os efeitos da radiação ionizante. Conforme resultados mencionados anteriormente, nesta subseção, a dose 10 kGy pode ser considerada como dose crítica para os filmes de araruta, pois a tensão máxima foi mínima tanto para o filme FA quanto para o filme FA10%EP.

O efeito da radiação ionizante sobre a tensão máxima dos filmes também foi verificado nos estudos realizados Saurabh et al. (2013). Esses autores encontraram 32% da redução da resistência à tração dos filmes de goma-guar irradiados na dose 50 kGy.

No que tange à deformação específica máxima dos filmes FA irradiados entre 5-50 kGy, observou-se na Tabela 17 valores superiores aos filmes de mesma composição não irradiados. O mesmo comportamento foi constatado para os valores da deformação específica dos filmes FA10%EP irradiados, exceto para aqueles irradiados a 25 kGy (57,62 Mpa), os quais não diferiram significativamente ($p < 0,05$) dos filmes FA10%EP não irradiados (57,27 MPa).

A deformação específica é a medida da flexibilidade dos filmes (KIM et al., 2008; SAURABH et al. 2013), conforme análise dos resultados descritos acima, os filmes FA e

FA10%EP irradiados a 10 kGy apresentaram os maiores valores para deformação específica máxima, como consequência de uma maior flexibilidade na referida dose. Possivelmente, devido à redução da massa molecular média viscosimétrica, como discutido na Subseção 4.3.1, que possibilita maior movimentação molecular da estrutura polimérica.

No que diz respeito ao módulo de elasticidade, propriedade esta que mede a rigidez do material, cujos resultados foram descritos na Tabela 17, verificou-se uma redução significativa ($p < 0,05$) dos valores para os filmes irradiados FA e FA10%EP. Uma exceção foi observada para o filme FA10%EP irradiado na dose 25 kGy, em que o valor do módulo de elasticidade não diferiu significativamente do filme de mesma composição não irradiado. Em síntese, a irradiação reduziu a rigidez dos filmes de araruta, exceto para o filme FA10%EP irradiado na dose de 25 kGy.

Para as três propriedades mecânicas analisadas nos filmes FA10%EP irradiados na dose 25 kGy, constatou-se que estas propriedades não diferiram, comparados ao filme FA10%EP não irradiado. Isso porque durante a irradiação nessa dose pode ter ocorrido o aumento da exposição de grupos funcionais da estrutura polimérica que interagiram com os componentes existentes no extrato de própolis, formando estruturas interligadas (PASTOR et al., 2010), as quais contribuíram para manutenção da resistência à tração, flexibilidade e rigidez dos filmes FA10%EP.

4.3.6 Análise de cor

As coordenadas que caracterizam a cor, L^* (luminosidade: 0 = preto, 100=branco), a^* (- verde, $+a^*$ vermelho), b^* (- b^* amarelo, $+ b^*$ azul), diferença de cor (ΔE_{ab}^*), diferença de saturação (ΔC_{ab}^*) e diferença de tonalidade (ΔH_{ab}^*) estão apresentadas na Tabela 18.

Tabela 18 – Coordenadas de cor L*, a*, b*, diferença de cor (ΔE_{ab}^*), diferença de saturação (ΔC_{ab}^*) e diferença de tonalidade (ΔH_{ab}^*) em filmes de araruta (FA) e filmes de araruta aditivados com 10% de extrato de própolis (FA10%EP)

	L*		a*		b*		ΔE_{ab}^*		ΔC_{ab}^*		ΔH_{ab}^*	
	FA ⁺⁺	FA10%EP ⁺⁺	FA ⁺⁺	FA10%EP ⁺⁺	FA ⁺⁺	FA10%EP ⁺⁺	FA ⁺⁺	FA10%EP ⁺⁺	FA ⁺⁺	FA10%EP ⁺⁺	FA ⁺⁺	FA10%EP ⁺⁺
NI ⁺	90,0 ^{Aa} ± 0,3	85,4 ^{Bb} ± 0,4	3,6 ^{Aa} ± 0,0	-0,2 ^{Db} ± 0,0	-7,5 ^{Db} ± 0,1	14,1 ^{Aa} ± 0,5	----	----	----	----	----	----
5kGy	90,1 ^{Aa} ± 0,1	88,2 ^{Ab} ± 0,3	3,5 ^{ABa} ± 0,1	1,2 ^{Bb} ± 0,0	-7,5 ^{CDb} ± 0,1	4,2 ^{Ba} ± 0,1	0,2 ^{Cb} ± 0,1	11,8 ^{Ba} ± 0,4	- 0,1 ^{Aa} ± 0,1	- 11,1 ^{Bb} ± 0,4	0,1 ^{Ab} ± 0,1	2,8 ^{Ba} ± 0,2
10kGy	90,2 ^{Aa} ± 0,2	88,1 ^{Ab} ± 0,2	3,6 ^{ABa} ± 0,1	1,1 ^{Cb} ± 0,1	-7,4 ^{Cb} ± 0,1	4,3 ^{Ba} ± 0,2	0,3 ^{Cb} ± 0,1	11,6 ^{BCa} ± 0,2	-0,2 ^{Aa} ± 0,1	- 11,0 ^{Bb} ± 0,2	0,1 ^{Ab} ± 0,1	2,5 ^{Ca} ± 0,2
25kGy	90,3 ^{Aa} ± 0,2	88,4 ^{Ab} ± 0,3	3,5 ^{BCa} ± 0,1	1,3 ^{Ab} ± 0,1	-7,1 ^{Bb} ± 0,1	3,5 ^{Ca} ± 0,3	0,6 ^{Bb} ± 0,1	12,3 ^{Aa} ± 0,2	-0,5 ^{Ba} ± 0,1	-11,5 ^{Cb} ± 0,2	0,1 ^{Ab} ± 0,1	3,2 ^{Aa} ± 0,2
50kGy	90,0 ^{Aa} ± 0,1	88,0 ^{Ab} ± 0,2	3,4 ^{Ca} ± 0,1	1,2 ^{Bb} ± 0,0	-6,7 ^{Ab} ± 0,1	4,1 ^{Ba} ± 0,1	0,9 ^{Ab} ± 0,1	11,2 ^{Ca} ± 0,3	-0,9 ^{Ca} ± 0,1	-10,5 ^{Ab} ± 0,2	0,1 ^{Ab} ± 0,1	2,6 ^{BCa} ± 0,2

⁺Não irradiado.

⁺⁺Médias seguidas por letras minúsculas (a, b) iguais na mesma linha e na mesma coordenada e maiúsculas (A-E) na mesma coluna não diferem significativamente (p<0,05) pelo teste de Tukey.

Fonte: A Autora (2019).

Observou-se na Tabela 18 que a irradiação não alterou os valores de L^* para os filmes FA, independente da dose empregada, e esses valores foram maiores, sobretudo, que os apresentados pelos filmes FA10%EP. Por isso, os filmes FA foram considerados mais claros que os FA10%EP, uma vez que a presença do extrato de própolis destes últimos provocou uma alteração da luminosidade.

A irradiação dos filmes FA10%EP provocou um aumento significativo dos valores de L^* , entretanto, esses valores não diferiram entre si em função da dose. Desse modo, pode-se inferir que a radiação gama provocou alterações dos pigmentos, existentes no extrato de própolis, responsáveis pela cor, as quais aumentaram a refletância da luz pelos filmes aditivados com esse extrato.

Ainda na Tabela 18, avaliando-se a coordenada a^* para os filmes FA, o efeito da irradiação foi semelhante entre esses filmes nas diferentes doses, exceto a dose 50 kGy, cujo efeito foi maior. Já, para os filmes FA10%EP, a dose de 25 kGy foi mais efetiva, cujo valor da referida coordenada foi o maior entre os filmes irradiados. Os valores positivos encontrados para coordenada a^* em questão, para ambos os filmes irradiados, FA e FA10%EP, apresentaram tendência à cor vermelha.

Ao analisar a coordenada b^* na Tabela 18 para os filmes FA, notou-se um aumento dos valores proporcional à dose de irradiação, com destaque para aqueles dos filmes irradiados nas doses entre 25 kGy e 50 kGy. Esse aumento sugere que a radiação gama provocou um amarelecimento dos filmes de araruta.

Os valores de b^* para os filmes irradiados FA10%EP (Tabela 18) reduziram significativamente ($p < 0,05$) em relação ao filme de mesma composição não irradiado, com destaque para aqueles irradiados na dose de 25 kGy. Esse comportamento foi inverso aos filmes FA, discutido acima, possivelmente pela degradação dos compostos responsáveis pela cor amarela dos filmes aditivados com 10% de extrato de própolis. Em resumo, os filmes FA10%EP permaneceram com tendência à cor amarela, visto que os valores de b^* foram superiores aos de a^* .

As alterações das coordenadas de cor L^* , a^* e b^* serão melhor analisadas mediante discussão dos resultados da diferença de cor (ΔE_{ab}^*), diferença de saturação (ΔC_{ab}^*) e diferença de tonalidade (ΔH). Os filmes não irradiados, FA e FA10%EP, foram considerados como padrão de referência para determinação de ΔE_{ab}^* , ΔC_{ab}^* e ΔH_{ab}^* para os filmes FA e FA10%EP irradiados entre 5-50 kGy, descritos na Tabela 18.

Na Tabela 18, houve um aumento nos valores de ΔE_{ab}^* em função da dose irradiada para os filmes FA, em consequência do aumento da coordenada b^* , visto anteriormente, cujas

doses entre 25 kGy e 50 kGy foram mais relevantes para a alteração da cor desses filmes. Em relação ao FA10%EP, a dose 25 kGy apresentou maior alteração da cor, conforme valor máximo apresentado para ΔE_{ab}^* (12,3). Isso porque, como discutido nessa subseção, para os filmes FA10%EP, na dose 25 kGy, o aumento da coordenada a^* e a redução da coordenada b^* foram significativos entre as doses estudadas.

Os valores encontrados para ΔC_{ab}^* (Tabela 18) foram negativos, indicando assim que a cromaticidade ou saturação das amostras referência, FA e FA10%EP não irradiados, são superiores numericamente à saturação dos filmes irradiados. Dessa forma, a irradiação tornou os filmes FA e FA10%EP mais pálidos, comparados aos filmes não irradiados. Para os filmes FA, a perda da saturação foi maior nas doses entre 25-50 kGy, como demonstrado na tendência ao amarelecimento desses filmes verificada na análise dos resultados para coordenada b^* nessa subseção. O efeito da perda da saturação dos filmes FA10%EP foi verificado mais efetivamente na dose 25 kGy, ΔC_{ab}^* (11,5).

A tonalidade dos filmes FA, representada pelos valores ΔH_{ab}^* (Tabela 18), não foi alterada significativamente em função das doses irradiadas empregadas. Comportamento diferente foi observado para os filmes FA10%EP, os quais apresentaram maiores alterações da tonalidade naqueles irradiados a 25 kGy, ΔH_{ab}^* (3,2). Isso vem corroborar com o menor resultado da coordenada b^* (3,5), discutido anteriormente para o filme FA10%EP irradiado a 25 kGy, correspondente à tendência da perda da cor amarela comparados aos filmes de mesma composição não irradiados e irradiados às doses 5 kGy, 10 kGy e 50 kGy.

Nesse sentido, a radiação gama provocou alterações pouco significativas aos filmes FA, mencionadas como leve amarelecimento. Enquanto isso, as modificações relatadas para os filmes FA10%EP em função da dose irradiada podem ser consideradas como um desbotamento, pela perda de pigmentos, devido ao efeito da radiação gama, principalmente na dose 25 kGy.

5 CONCLUSÕES

Mediante os estudos realizados, foi possível verificar que a técnica *Solution Casting* mostrou-se adequada para a elaboração de filmes de araruta aditivados com extrato de própolis. Os principais efeitos observados para os filmes aditivados foram o aumento da estabilidade térmica, a plastificação daqueles aditivados com 20%, a atividade antioxidante e antimicrobiana dos filmes aditivados com 10% e 20% de extrato de própolis.

Em relação aos estudos frente a radiação gama, pode-se concluir que os filmes de araruta não aditivados sofreram alterações das propriedades analisadas independente da dose de radiação empregada. Por outro lado, a presença do extrato de própolis nos filmes aditivados foi a responsável pela proteção radiolítica até a dose de 5 kGy, tendo em vista a minimização dos efeitos da radiação gama sobre a massa molecular média viscosimétrica, número de cisões e índice de degradação dos filmes FA10%EP (única concentração avaliada nessa etapa). O efeito protetor radiolítico foi atribuído à participação dos flavonoides e fenólicos totais, consumidos durante as reações de oxido-redução com os produtos reativos que se formaram durante a irradiação dos filmes.

A irradiação tornou os filmes de araruta mais amorfos, independente da composição, sejam eles aditivados ou não com extrato de própolis. A melhoria das propriedades mecânicas também foram observadas para os filmes de araruta irradiados, independente da composição. Os filmes irradiados reduziram a resistência à tração e a rigidez da estrutura polimérica e aumentaram a flexibilidade. Ressalta-se que os filmes aditivados com 10% de extrato de própolis não sofreram alterações das propriedades mecânicas, quando irradiados na dose de 25 kGy (dose de esterilização).

Os filmes aditivados com 10% de extrato de própolis e irradiados foram mais estáveis termicamente comparados aos filmes não aditivados, de forma que esta estabilidade foi atribuída à presença do extrato na matriz polimérica. A radiação gama também alterou a cor dos filmes de araruta, provocando uma maior alteração no amarelecimento dos filmes não aditivados em comparação com os filmes aditivados com extrato de própolis.

Nesse contexto, a presença do extrato de própolis na composição dos filmes de araruta propõe que estes filmes tem potencial aplicação como embalagem ativas, revestimento comestível e embalagem esterilizada por radiação gama.

6 PERSPECTIVAS

Realizar teste de migração dos filmes em meios que simulam a composição de alimentos.

Avaliar a estabilidade dos compostos fenólicos na matriz polimérica ao longo do tempo de armazenamento.

Aplicar os filmes de araruta aditivados com extrato de própolis em um alimento e avaliar a vida de prateleira deste último.

REFERÊNCIAS

- ACEVES, M. de L. D.; ORTEGA, J. A. A.; BARRAGÁN, C. A. R.. Caracterización físicoquímica de propóleos colectados en el Bosque La Primavera Zapopan, Jalisco Physical-chemical description of propolis collected in. **Revista Mexicana de Ciencias Forestales**, v. 6, n. 28, p. 74–87, 2015.
- AGGARWAL, P.; DOLLIMORE, D. A thermal analysis investigation of partially hydrolyzed starch. **Thermochimica Acta**, v. 319, p. 17-25, 1998.
- AHMED, I.; LIN, H.; ZOU, L.; BRODY, A. L.; LI, Z.; QAZI, I. M.; PAVASE, T. R.; LV, L. A comprehensive review on the application of active packaging technologies to muscle foods. **Food Control**, v. 82, p. 163–178, 2017.
- ALI, H. E.; GHAFAR, A. M. A. Preparation and Effect of Gamma Radiation on The Properties and Biodegradability of Poly (Styrene / Starch) Blends. **Radiation Physics and Chemistry**, v. 130, p. 411–420, 2017.
- AMERICAN SOCIETY FOR TESTING AND MATERIALS. **ASTM. D882-12**: standard test method for tensile properties of thin plastic sheeting, 2012.
- AMERICAN SOCIETY FOR TESTING AND MATERIALS. **ASTM. E96-95**: standard test method for water vapor transmission of materials, 1995.
- FAO/WHO. Labelling of prepacked food. In: CODEX Alimentarius. **Food Labelling**. 5. ed. Roma, 2007. (CODEX STAN 1-1985). Disponível em: http://www.codexalimentarius.net/download/standards/32/CXS_001e.pdf. Acesso em: fev. 2018.
- AZNAR, M.; ALFARO, P.; NERÍN, C.; JONES, E.; RICHES, E. Progress in mass spectrometry for the analysis of set-off phenomena in plastic food packaging materials. **Journal of Chromatography A**, v. 1453, p. 124–133, 2016.
- ARAÚJO, E. S.; KHOURY, H. J.; SILVEIRA, S.V. Effects of gamma-irradiation on some properties of durolon polycarbonate. **Radiation Physics and Chemistry**, v.53, p. 79-84, 1998.
- AVEROUS, L., BOQUILLON, N. Biocomposites based on plasticized starch. **Biofuels, Bioproducts and Biorefining**, v. 3, n. 3, p. 329–343, 2004.
- AWADHIYA, A.; KUMAR, D.; VERMA, V. Crosslinking of agarose bioplastic using citric acid. **Carbohydrate Polymers**, v. 151, p. 60–67, 2017.
- AZIZ, M.; KARBOUNE, S. Natural Antimicrobial/Antioxidant Agents in Meat and Poultry Products as Well as Fruits and Vegetables: A Review. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, p. 486-511, 2016.
- BANKOVA, V. Chemical diversity of propolis and the problem of standardization. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 100, n. 1–2, p. 114–117, 2005.
- BERTUZZI, M. A.; ARMADA, M.; GOTTIFREDI, J. C. Physicochemical characterization of starch based films. **Journal of Food Engineering**, v. 82, n. 1, p. 17–25, 2007.

BILIADERIS, C. G.; LAZARIDOU, A.; ARVANITOYANNIS, I. Glass transition and physical properties of polyol-plasticized pullulan-starch blends at low moisture. **Carbohydrate Polymers**, v. 40, n. 1, p. 29–47, 1999.

BODINI, R. B.; SOBRAL, P. J. A.; FAVARO-TRINDADE, C. S.; CARVALHO, R. A. Properties of gelatin-based films with added ethanol-propolis extract. **LWT – Food Science and Technology**, v. 51, n. 1, p. 104–110, 2013.

BORDES, P.; POLLET, E.; AVÉROUS, L. Nano-biocomposites: biodegradable polyester/nanoclay systems. **Progress in Polymer Science**, v. 34, n. 2, p. 125–155, 2009.

BRAND-WILLIAMS, W.; CUVELIER, M. E.; BERSET, C. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. **LWT – Food Science and Technology**, v. 28, n. 1, p. 25–30, 1995.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Secretaria de Desenvolvimento Agropecuário e Cooperativismo. **Manual de hortaliças não-convencionais**. Brasília: Mapa/ACS, 2010. 92 p.

BRASIL. Ministério da Agricultura. Instrução Normativa nº 3 – ANEXO VI – Regulamento técnico para fixação de identidade e qualidade de própolis. **Diário Oficial da República Federativa do Brasil**. Brasília, 19 jan. 2001.

BYUN, E. H.; KIM, J. H.; SUNG, N. Y.; CHOI, J. il; LIM, S. T.; KIM, K. H.; YOOK, H. S.; BYUN, M. W.; LEE, J. W. Effects of gamma irradiation on the physical and structural properties of β -glucan. **Radiation Physics and Chemistry**, v. 77, n. 6, p. 781–786, 2008.

CANEVAROLO JUNIOR, S. V. **Ciência dos Polímeros: um texto básico para tecnólogos e engenheiros**. 2. ed. São Paulo: Artliber, 2006. 280 p.

CANEVAROLO JUNIOR, S. V. **Técnicas de Caracterização de Polímeros**. São Paulo: Artliber, 2007. 448 p.

CAROCHO, M.; MORALES, P.; FERREIRA, I. C. F. R. Antioxidants: Reviewing the chemistry, food applications, legislation and role as preservatives. **Trends in Food Science and Technology**, v. 71, Nov., 2017, p. 107–120, 2018.

CASTRO-ROSAS, J.; CRUZ-GALVEZ, A. M.; GOMEZ-ALDAPA, C. A.; FALFAN-CORTES, R. N.; GUZMAN-ORTIZ, F. A.; RODRÍGUEZ-MARÍN, M. L. Biopolymer films and the effects of added lipids, nanoparticles and antimicrobials on their mechanical and barrier properties: a review. **International Journal of Food Science and Technology**, v. 51, n. 9, p. 1967–1978, 2016.

CAVALHEIRO, G. A Influência de Fatores Experimentais nas Análises Termogravimétricas. **Química Nova**, v. 18, n. 3, 1995.

CAZÓN, P.; VELAZQUEZ, G.; RAMÍREZ, J. A.; VÁZQUEZ, M. Polysaccharide-based films and coatings for food packaging: A review. **Food Hydrocolloids**, v. 68, p. 136–148, 2017.

CHANG-BRAVO, L.; LÓPEZ-CÓRDOBA, A.; MARTINO, M. Biopolymeric matrices made of carrageenan and corn starch for the antioxidant extracts delivery of Cuban red propolis and yerba mate. **Reactive and Functional Polymers**, v. 85, p. 11–19, 2014.

- CHARLES, A. L.; CATO, K.; HUANG, T. C.; CHANG, Y. H.; CIOU, J. Y.; CHANG, J. S.; LIN, H. H. Functional properties of arrowroot starch in cassava and sweet potato composite starches. **Food Hydrocolloids**, v. 53, p. 187–191, 2016.
- CHIUMARELLI, M.; HUBINGER, M. D. Stability, solubility, mechanical and barrier properties of cassava starch - Carnauba wax edible coatings to preserve fresh-cut apples. **Food Hydrocolloids**, v. 28, n. 1, p. 59–67, 2012.
- CÖMERT, E. D.; GÖKMEN, V. Evolution of food antioxidants as a core topic of food science for a century. **Food Research International**, v. 105, p. 76–93, 2018.
- CORRALES, M.; FERNANDEZ, A.; HAN, J. H. **Innovations in Food Packaging**. 2. ed. San Diego: Academic Press, 2014.
- COSTA, S. S. **Filmes de fécula de mandioca e glicerol, reforçados com nanocelulose e ativados com própolis vermelha**. 2013. Dissertação (Mestrado) – Faculdade de Farmácia, Universidade Federal da Bahia, Salvador-BA, 2013.
- CROZIER, A.; JAGANATH, I. B.; CLIFFORD, M. N. Dietary phenolics: chemistry, bioavailability and effects on health. **Natural Product Reports**, v. 26, n. 8, p. 1001, 2009.
- CUNHA, A. L. **Caracterização do amido da araruta tipos seta e redonda, visando utilização na indústria de alimentos**. 2016. Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal de Lavras, Lavras- MG, 2016.
- CUSHNIE, T. P. T.; LAMB, A. J. Antimicrobial activity of flavonoids. **International Journal of Antimicrobial Agents**, v. 26, n. 5, p. 343–356, 2005.
- DAMODARAN, S.; PARKIN, K.L.; FENNEMA, O.R. **Química de Alimentos de Fennema**. 4. ed. Porto Alegre: Artmed, 2010. 900p.
- DANNENBERG, G. da S.; FUNCK, G. D.; CRUXEN, C. E. dos S.; MARQUES, J. de L.; SILVA, W. P. da; FIORENTINI, Â. M. Essential oil from pink pepper as an antimicrobial component in cellulose acetate film: Potential for application as active packaging for sliced cheese. **LWT - Food Science and Technology**, v. 81, p. 314–318, 2017.
- DAUDT, R. M.; AVENA-BUSTILLOS, R. J.; WILLIAMS, T.; WOOD, D. F.; KÜLKAMP-GUERREIRO, I. C.; MARCZAK, L. D. F.; MCHUGH, T. H. Comparative study on properties of edible films based on pinhao (*Araucaria angustifolia*) starch and flour. **Food Hydrocolloids**, v. 60, p. 279–287, 2016.
- DAUGSCH, A.; MORAES, C. S.; FORT, P.; PARK, Y. K. Brazilian red propolis - Chemical composition and botanical origin. **Evidence-based Complementary and Alternative Medicine**, v. 5, n. 4, p. 435–441, 2008.
- DA SILVA, R. C.; DA SILVA, R. M.; AQUINO, K. A. S. **Revista Virtual de Química**, v.6, n. 6, p. 1624-1641, 2014.
- DENARI, G. B.; CAVALHEIRO, E. T. G. **Princípios e aplicações de análise térmica**. São Carlos: IQSC, 2012. 40 p.
- DE PAOLI, M. A.; **Polímeros: degradação e estabilização**. Instituto de Química. UNICAMP, 2008, 221p.

- DE-MELO, A. A. M.; MATSUDA, A. H.; FREITAS, A. da S. de; BARTH, O. M.; ALMEIDA-MURADIAN, L. B. de. Capacidade antioxidante da própolis. **Pesquisa Agropecuária Tropical**, v. 44, n. 3, p. 341–348, 2014.
- DENARDIN, C. C.; SILVA, L. P. da. Estrutura dos grânulos de amido e sua relação com propriedades físico-químicas. **Ciência Rural**, v. 39, n. 3, p. 945–954, 2009.
- DOU, Y.; ZHANG, B.; HE, M.; YIN, G.; CUI, Y. The structure, tensile properties and water resistance of hydrolyzed feather keratin-based bioplastics. **Chinese Journal of Chemical Engineering**, v. 24, n. 3, p. 415–420, 2016.
- DROBNY, J. G. **Ionizing Radiation and Polymers: principles, technology, and applications**. 1 ed. New York: Elsevier, 2012. 320p.
- EHLERMANN, D. A. E. The RADURA-terminology and food irradiation. **Food Control**, v. 20, n. 5, p. 526–528, 2009.
- EMADIAN, S. M.; ONAY, T. T.; DEMIREL, B. Biodegradation of bioplastics in natural environments. **Waste Management**, v. 59, p. 526–536, 2016.
- ERDMAN, M. D.; INDIES, W.; AMERICA, S. Arrowroot (*Maranta arundinacea*), Food, Feed, Fuel, and Fiber Resource. **Economic Botany**, v. 38, p. 332–341, 1984.
- FAKHOURI, F. M.. **Bioplásticos flexíveis e biodegradáveis à base de amido e gelatina**. 2009. Tese (Doutorado em Tecnologia de Alimentos) – Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, Campinas-SP, 2009.
- FARKAS, J.; EHLERMANN, D. A. E.; MOHÁCSI-FARKAS, C. Food Technologies: Food Irradiation. **Encyclopedia of Food Safety**, v. 3, p. 178–186, 2014.
- FERREIRA, J. M.; FERNANDES-SILVA, C. C.; SALATINO, A.; NEGRI, G.; MESSAGE, D. New propolis type from north-east Brazil: Chemical composition, antioxidant activity and botanical origin. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, p. 3552–3558, 2017.
- FONSECA-SANTOS, B.; CHORILLI, M. An overview of carboxymethyl derivatives of chitosan: Their use as biomaterials and drug delivery systems. **Materials Science and Engineering C**, v. 77, p. 1349–1362, 2017.
- FOSTER, J.F. Physical Properties of Amylose and Amylopectin in Solution. In: **Starch: Chemistry and Technology Fundamental Aspects**. New York: Academic Press, 1965. v.1, p. 349-392.
- FRANCHIN, M.; FREIRES, I. A.; LAZARINI, J. G.; NANI, B. D.; DA CUNHA, M. G.; COLON, D. F.; DE ALENCAR, S. M.; ROSALEN, P. L. The use of Brazilian propolis for discovery and development of novel anti-inflammatory drugs. **European Journal of Medicinal Chemistry**, 2017.
- FUNARI, C. S.; FERRO, V. O. Análise de própolis. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 26, n. 1, p. 171–178, 2006.
- GALLANT, D. J.; BOUCHET, B.; BALDWIN, P. M. Microscopy of starch: evidence of a new level of granule organization. **Carbohydrate Polymers**, v. 32, n. 3–4, p. 177–191, 1997.
- GALLANT, D. J.; BOUCHET, B.; BULÉON, A.; PÉREZ, S. Physical properties of starch granules and susceptibility to enzymatic degradation. **European Journal of Clinical Nutrition**, v. 46, p. 3–16, 1992.

- GARAVAND, F.; ROUHI, M.; RAZAVI, S. H.; CACCIOTTI, I.; MOHAMMADI, R. Improving the integrity of natural biopolymer films used in food packaging by crosslinking approach: A review. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 104, p. 687–707, 2017.
- GARCÍA, M. A.; MARTINO, M. N.; ZARITZKY, N. E. Microstructural Characterization of Plasticized Starch-Based Films. **Starch - Stärke**, v. 52, n. 4, p. 118–124, 2000.
- GONTARD, N.; DUCHEZ, C.; CUQ, J.; GUILBERT, S. Edible Composite Films of Wheat Gluten and Lipids - Water-Vapor Permeability and Other Physical-Properties. **International Journal of Food Science and Technology**, v. 29, n. 1, p. 39–50, 1994.
- GONTARD, N.; GUILBERT, S.; CUQ, J. -L. Water and Glycerol as Plasticizers Affect Mechanical and Water Vapor Barrier Properties of an Edible Wheat Gluten Film. **Journal of Food Science**, v. 58, n. 1, p. 206–211, 1993.
- GONTARD, N.; GUILBERT, S.; CUQ, J.-L. Edible Wheat Gluten Films: Influence of the Main Process Variables on Film Properties using Response Surface Methodology. **Journal of Food Science**, v. 57, n. 1, p. 190–195, 1992.
- GORDILLO, C. A. S.; VALENCIA, G. A.; ZAPATA, R. A. V.; HENAO, A. C. A. Physicochemical characterization of arrowroot starch (*Maranta arundinacea* Linn) and glycerol/arrowroot starch membranes. **International Journal of Food Engineering**, v. 10, n. 4, p. 727–735, 2014.
- GUILLET, J. **Polymer photophysics and photochemistry**. Cambridge: Cambridge University Press, 1985. p. 73.
- GUINESI, L. S.; RÓZ, A. L. da; CORRADINI, E.; MATTOSO, L. H. C.; TEIXEIRA, E. de M.; CURVELO, A. A. da S.. **Thermochimica Acta**, v. 447, p. 190-196, 2006.
- HAJI-SAEID, M.; SAMPA, M. H. O.; CHMIELEWSKI, A. G. Radiation treatment for sterilization of packaging materials. **Radiation Physics and Chemistry**, v. 76, n. 8–9, p. 1535–1541, 2007.
- HAN, J. H.; FLOROS, J. D. Casting Antimicrobial Packaging Films and Measuring Their Physical Properties and Antimicrobial Activity. **Journal of Plastic Film and Sheeting**, v. 13, n. 4, p. 287–298, 1997.
- HAYAKAWA, K.; TANAKA, K.; NAKAMURA, T.; ENDO, S.; HOSHINO, T. Quality characteristics of waxy hexaploid wheat (*Triticum aestivum* L.): properties of starch gelatinization and retrogradation. **Cereal Chemistry**, v. 74, n. 5, p. 576-580, 1997.
- HERNÁNDEZ-MEDINA, M.; TORRUCO-UCO, J. G.; CHEL-GUERRERO, L.; BETANCUR-ANCONA, D. Caracterización fisicoquímica de almidones de tubérculos cultivados en Yucatán, México. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 28, n. 3, p. 718–726, 2008.
- HOOVER, R. Compositions, molecular structure, and physiochemical properties of tuber and root starches: A review. **Carbohydrate Polymers**, v. 45, p. 253–267, 2001.
- HUANG, S.; ZHANG, C.-P.; WANG, K.; LI, G. Q.; HU, F.-L. Recent advances in the chemical composition of propolis. **Molecules**, v. 19, n. 12, p. 19610–32, 2014.

- HUNTERLAB. **Measuring color using Hunter L, a, b versus CIE 1976 L*a*b***. 2015. Disponível em: <https://support.hunterlab.com/hc/en-us/articles/204137825-Measuring-Color-using-Hunter-L-a-b-versus-CIE-1976-L-a-b-AN-1005b>. Acesso em: mai. 2018.
- IMBERTY, A.; CHANZY, H.; PÉREZ, S.; BULÉON, A.; TRAN, V. New Three-Dimensional Structure for A-Type Starch. **Macromolecules**, v. 20, n. 10, p. 2634–2636, 1987.
- INAMURA, P. Y.; UEHARA, V. B.; TEIXEIRA, C. A. H. M.; DEL MASTRO, N. L. Mediate gamma radiation effects on some packaged food items. **Radiation Physics and Chemistry**, v. 81, n. 8, p. 1144–1146, 2012.
- JIMÉNEZ, A.; FABRA, M. J.; TALENS, P.; CHIRALT, A. Edible and Biodegradable Starch Films: A Review. **Food and Bioprocess Technology**, v. 5, n. 6, p. 2058–2076, 2012.
- JIS Z 2801: 2000 – Antimicrobial products – Test for antimicrobial activity and efficacy.
- KECHICHIAN, V.; DITCHFIELD, C.; VEIGA-SANTOS, P.; TADINI, C. C. Natural antimicrobial ingredients incorporated in biodegradable films based on cassava starch. **LWT - Food Science and Technology**, v. 43, n. 7, p. 1088–1094, 2010.
- KOMOLPRASERT, V. Packaging food for radiation processing. **Radiation Physics and Chemistry**, v. 129, p. 35–58, 2016.
- KONICA MINOLTA. 2016. Disponível em: <http://sensing.konicaminolta.com.br/2016/06/controle-de-cor-da-industria-de-cuidados-pessoais-medicao-e-analise-de-cor-da-pele/>. Acesso em: jan. 2018.
- KONICA MINOLTA. **Precise color communication**: color control from perception to instrumentation. Japan: Konica Minolta Sensing Inc, 2007.
- KIM, J. K.; JO, C.; PARK, H. J.; BYUN, M. W. Effect of gamma irradiation on the physicochemical properties of a starch-based film. **Food Hydrocolloids**, v. 22, n. 2, p. 248–254, 2008.
- LEONEL, M. Analysis of the shape and size of starch grains from different botanical species. **Ciencia e Tecnologia de Alimentos**, v. 27, n. 3, p. 579–588, 2007.
- LEONEL, M.; CEREDA, M. P. Caracterização físico-química de algumas tuberosas amiláceas. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 22, n. 4, p. 65–69, 2002.
- LEOPOLDINI, M.; RUSSO, N.; TOSCANO, M. The molecular basis of working mechanism of natural polyphenolic antioxidants. **Food Chemistry**, v. 125, n. 2, p. 288–306, 2011.
- LIU, X.; YU, L.; XIE, F.; LI, M.; CHEN, L.; LI, X. Kinetics and mechanism of thermal decomposition of cornstarches with different amylose/amylopectin ratios. **Starch/Stärke**, v. 62, p. 139–146, 2010.
- LIU, H.; XIE, F.; YU, L.; CHEN, L.; LI, L. Thermal processing of starch-based polymers. **Progress in Polymer Science (Oxford)**, v. 34, n. 12, p. 1348–1368, 2009.
- LIU, X.; YU, L.; LIU, H.; CHEN, L.; LI, L. In situ thermal decomposition of starch with constant moisture in a sealed system. **Polymer Degradation and Stability**, v. 93, n. 1, p. 260–262, 2008.

LUCAS, N.; BIENAIME, C.; BELLOY, C.; QUENEUEDEC, M.; SILVESTRE, F.; NAVA-SAUCEDO, J. E. Polymer biodegradation: Mechanisms and estimation techniques - A review. **Chemosphere**, v. 73, n. 4, p. 429–442, 2008.

LUDUEÑA, L.; VÁZQUEZ, A.; ALVAREZ, V. Effect of lignocellulosic filler type and content on the behavior of polycaprolactone based eco-composites for packaging applications. **Carbohydrate Polymers**, v. 87, n. 1, p. 411–421, 2012.

LUSTOSA, S. R.; GALINDO, A. B.; NUNES, L. C. C.; RANDAU, K. P.; ROLIM NETO, P. J. Propolis: atualizações sobre a química e a farmacologia. **Brazilian Journal of Pharmacognosy**, v. 18, n. 3, p. 447–454, 2008.

MALI, S.; GROSSMANN, M. V. E.; YAMASHITA, F. Filmes de amido: Produção, propriedades e potencial de utilização. **Semina: Ciencias Agrarias**, v. 31, n. 1, p. 137–156, 2010.

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

MANO, B. E.; MENDES, C. Introdução a polímeros. 2ª ed. São Paulo: Edgard Blücher, 2004.

MARCUCCI, M. C. Propriedades biológicas e terapêuticas dos constituintes químicos da própolis. **Química Nova**, v. 19, p. 529–536, 1996.

MARTINS, A. Araruta: sabor brasileiro esquecido e resgatado. 2010. Disponível em: <http://terramadre.slowfoodbrasil.com/araruta-sabor-brasileiro-esquecido-e-resgatado/>. Acesso em: jan. 2018.

MASCHERONI, E.; GUILLARD, V.; NALIN, F.; MORA, L.; PIERGIOVANNI, L. Diffusivity of propolis compounds in Polylactic acid polymer for the development of anti-microbial packaging films. **Journal of Food Engineering**, v. 98, n. 3, p. 294–301, 2010.

MCPHERSON, A. E.; JANE, J. Comparison of waxy potato with other root and tuber starches. **Carbohydrate Polymers**, v. 40, n. 1, p. 57–70, 1999.

MEDINA-JARAMILLO, C.; GUTIÉRREZ, T. J.; GOYANES, S.; BERNAL, C.; FAMÁ, L. Biodegradability and plasticizing effect of yerba mate extract on cassava starch edible films. **Carbohydrate Polymers**, v. 151, p. 150–159, 2016.

MEDINA-JARAMILLO, C.; OCHOA-YEPES, O.; BERNAL, C.; FAMÁ, L. Active and smart biodegradable packaging based on starch and natural extracts. **Carbohydrate Polymers**, v. 176, n. August, p. 187–194, 2017.

MELCHIADES, F. G.; BOSCHI, A. O. Cores e Tonalidades em Revestimentos Cerâmicos. **Cerâmica Industrial**, v. 4, p. 11–18, 1999.

MÉNDEZ, L. M. R. **Produção, caracterização e estudo da estabilidade de filmes à base de gelatina e extrato de própolis vermelha enriquecidos com óleos essenciais**. 2017. Tese (Doutorado e Ciências) – Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos, Universidade de São Paulo, Pirassununga-SP, 2017.

MENEZES, H. Própolis : Uma Revisão Dos Recentes Estudos. **Arquivos do Instituto Biológico**, v. 72, n. 3, p. 405–411, 2005.

MILLER, K. S.; KROCHTA, J. M. Oxygen and aroma barrier properties of edible films: A review. **Trends in Food Science and Technology**, v. 8, n. 7, p. 228–237, 1997.

- MIRZOEVA, O. K.; GRISHANIN, R. N.; CALDER, C. P. Antimicrobial action of propolis and some of its components. **Microbiological Research**, v. 152, n. 4, p. 239–46, 1997.
- MOGOŞANU, G. D.; GRUMEZESCU, A. M. Natural and synthetic polymers for wounds and burns dressing. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 463, n. 2, p. 127–136, 2014.
- MOLAVI, H.; BEHFAR, S.; ALI SHARIATI, M.; KAVIANI, M.; ATAROD, S. A review on biodegradable starch based film. **Journal of Microbiology, Biotechnology and Food Sciences**, v. 4, n. 5, p. 456–461, 2015.
- MOORE, G. R. P.; DO CANTO, L. R.; AMANTE, E. R.; SOLDI, V. Cassava and corn starch in maltodextrin production. **Quimica Nova**, v. 28, n. 4, p. 596–600, 2005.
- MOORTHY, S. N. Physicochemical and functional properties of tropical tuber starches: A review. **Starch/Staerke**, v. 54, n. 12, p. 559–592, 2002.
- MORENO, O.; ATARÉS, L.; CHIRALT, A. Effect of the incorporation of antimicrobial/antioxidant proteins on the properties of potato starch films. **Carbohydrate Polymers**, v. 133, p. 353–364, 2015.
- MOURE, A.; CRUZ, J. M.; FRANCO, D.; MANUEL DOMÍNGUEZ, J.; SINEIRO, J.; DOMÍNGUEZ, H.; NÚÑEZ, M. J.; CARLOS PARAJÓ, J. Natural antioxidants from residual sources. **Food Chemistry**, v. 72, n. 2, p. 145–171, 2001.
- NEVES, M. C. P.; COELHO, I. DA S.; ALMEIDA, D. L. de. **Comunicado 79 Técnico**. Embrapa, p. 4, 2005.
- NOGUEIRA, G. F.; FAKHOURI, F. M.; DE OLIVEIRA, R. A. Extraction and characterization of arrowroot (*Maranta arundinaceae* L.) starch and its application in edible films. **Carbohydrate Polymers**, v. 186, p. 64–72, 2018.
- OLIVEIRA, L. De L. De; CARVALHO, M. V. De; MELO, L. Health promoting and sensory properties of phenolic compounds in food. *Propriedades de saúde e sensoriais de compostos fenólicos em alimentos* Health promoting and sensory properties of phenolic compounds in food. **Revista Ceres**, v. 61, n. 61, p. 764–779, 2014.
- OLIVEIRA, M. L.; CUNHA, J. A. Abelhas africanizadas *Apis mellifera scutellata* Lepeletier, 1836 (*Hymenoptera: Apidae: Apinae*) exploram recursos na floresta amazônica? **Acta Amazonica**, v. 35, n. 3, p. 389–394, 2005.
- OLIVEIRA, R. N.; MANCINI, M. C.; OLIVEIRA, F. C. S. de; PASSOS, T. M.; QUILTY, B.; THIRÉ, R. M. da S. M.; MCGUINNESS, G. B. FTIR analysis and quantification of phenols and flavonoids of five commercially available plants extracts used in wound healing. **Revista Matéria**, v. 21, n. 3, p. 767–779, 2016a.
- OLIVEIRA, V.B.; ZUCHETTO, M., OLIVEIRA, C.F., PAULA, C.S., DUARTE, A.F.S., MIGUEL, M.D., MIGUEL, O.G.. Efeito de diferentes técnicas extrativas no rendimento, atividade antioxidante, doseamentos totais e no perfil por clae-dad de dicksonia sellowiana (presl.). Hook, dicksoniaceae. **Revista Brasileira de Plantas Medicinai**s, v.18, n.1, p.230-239, 2016b.
- OROIAN, M.; ESCRICHE, I. Antioxidants: Characterization, natural sources, extraction and analysis. **Food Research International**, v. 74, p. 10–36, 2015.

- OTHMAN, S. H. Bio-nanocomposite Materials for Food Packaging Applications: Types of Biopolymer and Nano-sized Filler. **Agriculture and Agricultural Science Procedia**, v. 2, p. 296–303, 2014.
- PARK, Y. K.; ALENCAR, S. M.; AGUIAR, C. L. Botanical Origin and Chemical Composition of Brazilian Propolis. **Journal of Agriculture and Food Chemistry**, v. 50, p. 2502–2056, 2002.
- PARK, Y. K.; ALENCAR, S. M.; SCAMPARINI, A. R. P.; AGUIAR, C. L. Própolis produzida no sul do Brasil, Argentina e Uruguai: evidências fitoquímicas de sua origem vegetal. **Ciência Rural**, v. 32, p. 997–1003, 2002.
- PARK, Y. K.; PAREDES-GUZMAN, J. F.; AGUIAR, C. L.; ALENCAR, S. M.; FUJIWARA, F. Y. Chemical constituents in *Baccharis dracunculifolia* as the main botanical origin of southeastern Brazilian propolis. **Journal of agricultural and food chemistry**, v. 52, n. 5, p. 1100–1103, 2004.
- PASTOR, C.; SÁNCHEZ-GONZÁLEZ, L.; CHÁFER, M.; CHIRALT, A.; GONZÁLEZ-MARTÍNEZ, C. Physical and antifungal properties of hydroxypropylmethylcellulose based films containing propolis as affected by moisture content. **Carbohydrate Polymers**, v. 82, n. 4, p. 1174–1183, 2010.
- PAULINO, N.; ABREU, S. R. L.; UTO, Y.; KOYAMA, D.; NAGASAWA, H.; HORI, H.; DIRSCH, V. M.; VOLLMAR, A. M.; SCREMIN, A.; BRETZ, W. A. Anti-inflammatory effects of a bioavailable compound, Artepillin C, in Brazilian propolis. **European Journal of Pharmacology**, v. 587, n. 1–3, p. 296–301, 2008.
- PEPE, L. da S. **Impacto do tratamento térmico com baixa umidade sobre as características físico-químicas e reológicas de amidos de mandioca, araruta e mandioquinha-salsa**. 2011. Dissertação (Mestrado em Engenharia e Ciências de Alimentos) – Universidade Estadual Paulista, São José do Rio Preto – SP, 2011.
- PERDOMO, J.; COVA, A.; SANDOVAL, A. J.; GARCÍA, L.; LAREDO, E.; MÜLLER, A. J. Glass transition temperatures and water sorption isotherms of cassava starch. **Carbohydrate Polymers**, v. 76, n. 2, p. 305–313, 2009.
- PEREIRA, A. dos S.; SEIXAS, F. R. M. S.; DE AQUINO NETO, F. R. Própolis: 100 Anos de pesquisa e suas perspectivas futuras. **Química Nova**, v. 25, n. 2, p. 321–326, 2002.
- PÉREZ, E.; LARES, M. Chemical composition, mineral profile, and functional properties of Canna (*Canna edulis*) and Arrowroot (*Maranta spp.*) starches. **Plant Foods for Human Nutrition**, v. 60, n. 3, p. 113–116, 2005.
- PEREZ-PUYANA, V.; FELIX, M.; ROMERO, A.; GUERRERO, A. Development of pea protein-based bioplastics with antimicrobial properties. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 97, n. 8, p. 2671–2674, 2017.
- PIMENTEL, M. F.; NETO, B. B. Calibração: Uma revisão para químicos analíticos; **Química Nova**, v. 19, p. 268–277, 1995.
- PIÑEROS-HERNANDEZ, D.; MEDINA-JARAMILLO, C.; LOPEZ-CÓRDOBA, A.; GOYANES, S. Edible cassava starch films carrying rosemary antioxidant extracts for potential use as active food packaging. **Food Hydrocolloids**, v. 63, p. 488–495, 2017.

QIAN, J. W.; Qi, G. R.; CHENG, R. S. Association of ethylene-vinyl acetate copolymer in dilute solutions – I. Solvent, concentration and annealing temperature effect. **European polymer journal**, v. 33, n. 8, p. 1263-1265, 1997.

RABELLO, M. S. **Aditivacão de Polímeros**. 1. ed. São Paulo: Artliber, 2000, 244 p.

RE, R.; PELLEGRINI, N.; PROTEGGENTE, A.; PANNALA, A.; YANG, M.; RICE-EVANS, C. Antioxidant Activity Applying an Improved Abts Radical. **Free Radical Biology and Medicine**, v. 26, n. 98, p. 1231–1237, 1999.

REID, L. M.; O'DONNELL, C. P.; DOWNEY, G. Recent technological advances for the determination of food authenticity. **Trends in Food Science and Technology**, v. 17, n. 7, p. 344–353, 2006.

RICE-EVANS, C. A.; MILLER, N. J.; PAGANGA, G. Structure-antioxidant activity relationships of flavonoids and phenolic acids. **Free Radical Biology and Medicine**, v. 20, n. 7, p. 933–956, 1996.

RICE-EVANS, C.; MILLER, N.; PAGANGA, G. Antioxidant properties of phenolic compounds. **Trends in Plant Science**, v. 2, n. 4, p. 152–159, 1997.

ROCHA, T. S.; DEMIATE, I. M.; MARIA, C.; FRANCO, L. Structural and physicochemical characteristics of Peruvian carrot (*Arracacia xanthorrhiza*) starch. **Food Science and Technology**, v. 28, n. 1910, p. 620–628, 2008.

ROHMAN, A.; CHE MAN, Y. B.; HASHIM, P.; ISMAIL, A. FTIR spectroscopy combined with chemometrics for analysis of lard adulteration in some vegetable oils. **CYTA - Journal of Food**, v. 9, n. 2, p. 96–101, 2011.

ROSEN, S. **Fundamental principles of polymeric materials**. New York: John Willey and Sons, 1993, 420p.

SABERI, B.; VUONG, Q. V.; CHOCKCHASAWASDEE, S.; GOLDING, J. B.; SCARLETT, C. J.; STATHOPOULOS, C. E. Mechanical and Physical Properties of Pea Starch Edible Films in the Presence of Glycerol. **Journal of Food Processing and Preservation**, v. 40, n. 6, p. 1339–1351, 2016.

SALGADO, S. M.; GUERRA, N. B.; ANDRADE, S. A. C. CARACTERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA DO GRÂNULO DO AMIDO DO FEIJÃO CAUPI. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 25, n. 3, p. 525–530, 2005.

SALGUEIRO, F. B.; CASTRO, R. N. Comparação entre a composição química e capacidade antioxidante de diferentes extratos de própolis verde. **Química Nova**, v. 39, n. 10, p. 1192–1199, 2016.

SAURABH, C. K.; GUPTA, S.; BAHADUR, J.; MAZUMDER, S.; VARIYAR, P. S.; SHARMA, A. Radiation dose dependent change in physiochemical, mechanical and barrier properties of guar gum based films. **Carbohydrate Polymers**, v. 98, n. 2, p. 1610–1617, 2013.

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

SENHORINHO, L. M. **Efeito da adição de caseína em filmes à base de amido de araruta (*Maranta arundinacea L.*) plastificados com glicerol ou sorbitol**. 2015. Dissertação

(Mestrado em Engenharia e Ciência de Alimentos) – Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia, Itapetinga-BA, 2015.

SFORCIN, J. M.; BANKOVA, V. Propolis: Is there a potential for the development of new drugs? **Journal of Ethnopharmacology**, v. 133, n. 2, p. 253–260, 2011.

SHEPPARD, W. S.; RINDERER, T. E.; MAZZOLI, J. a.; STELZER, J. A.; SHIMANUKI, H. Gene flow between African- and European-derived honey bee populations in Argentina. **Nature**, v. 349, n. 6312, p. 782–784, 1991.

SILVA, R. P. D.; MACHADO, B. A. S.; DE ABREU BARRETO, G.; COSTA, S. S.; ANDRADE, L. N.; AMARAL, R. G.; CARVALHO, A. A.; PADILHA, F. F.; BARBOSA, J. D. V.; UMSZA-GUEZ, M. A. Antioxidant, antimicrobial, antiparasitic, and cytotoxic properties of various Brazilian propolis extracts. **PLoS ONE**, v. 12, n. 3, p. 1–19, 2017.

SIRIPATRAWAN, U.; VITCHAYAKITTI, W. Improving functional properties of chitosan films as active food packaging by incorporating with propolis. **Food Hydrocolloids**, v. 61, p. 695–702, 2016.

SILVA, L. A. ; ARAUJO, C. H. L. ; MADALENO, E ; ARAUJO, ES ; AQUINO, K. A. S. . Analysis of PVC Produced With An Environmentally Friendly Additive Exposed to Gamma Radiation. **Macromolecular Symposia**, v. 383, p. 1800075, 2019.

SOLOMON, O. F.; CIUTA, I. Z. Détermination de la viscosité intrinsèque de solutions de polymères par une simple détermination de la viscosité. **Journal of Applied Polymer Science**, v. 6, p.683 – 686, 1962.

TANETRUNGROJ, Y.; PRACHAYAWARAKORN, J. Effect of starch types on properties of biodegradable polymer based on thermoplastic starch process by injection molding technique. **Songklanakarin Journal of Science and Technology**, v. 37, n. 2, p. 193–199, 2015.

TANG, H.; MITSUNAGA, T.; KAWAMURA, Y. Molecular arrangement in blocklets and starch granule architecture. **Carbohydrate Polymers**, v. 63, n. 4, p. 555–560, 2006.

THARANATHAN, R. N. Biodegradable films and composite coatings: Past, present and future. **Trends in Food Science and Technology**, v. 14, n. 3, p. 71–78, 2003.

THOMAS, A. B. **Qualidade físico-química, microbiológica e compostos bioativos de morangos revestidos com fécula de mandioca e própolis**. 2016, Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal de Lavras, Lavras-MG, 2016.

TIVERON, A. P.; ROSALEN, P. L.; FRANCHIN, M.; LACERDA, R. C. C.; BUENO-SILVA, B.; BENSO, B.; DENNY, C.; IKEGAKI, M.; DE ALENCAR, S. M. Chemical characterization and antioxidant, antimicrobial, and anti-inflammatory activities of South Brazilian organic propolis. **PLoS ONE**, v. 11, n. 11, p. 1–19, 2016.

TORLAK, E.; SERT, D. Antibacterial effectiveness of chitosan-propolis coated polypropylene films against foodborne pathogens. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 60, p. 52–55, 2013.

VERSINO, F.; GARCÍA, M. A. Cassava (*Manihot esculenta*) starch films reinforced with natural fibrous filler. **Industrial Crops and Products**, v. 58, p. 305–314, 2014.

VICENTINI, N. M. **Elaboração e caracterização de filmes comestíveis à base de fécula de mandioca para uso em pós-colheita**. 2003. Tese (Doutorado e Agronomia) – Faculdade de Ciências Agrônômicas, Universidade Estadual Paulista, Botucatu-SP, 2003.

VIEIRA, M. G. A.; DA SILVA, M. A.; DOS SANTOS, L. O.; BEPPU, M. M. Natural-based plasticizers and biopolymer films: A review. **European Polymer Journal**, v. 47, n. 3, p. 254–263, 2011.

VILLAS-BOAS, F.; FRANCO, C. M. L. Effect of bacterial β -amylase and fungal α -amylase on the digestibility and structural characteristics of potato and arrowroot starches. **Food Hydrocolloids**, v. 52, p. 795-803, 2016.

WOISKY, R. G.; SALATINO, A.. Analysis of propolis: some parameters and procedures for chemical quality control. **Journal of Apicultural Research**, v. 37, n. 2, p. 99-105 1998.

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

YOO, S. H.; JANE, J. L. Molecular weights and gyration radii of amylopectins determined by high-performance size-exclusion chromatography equipped with multi-angle laser-light scattering and refractive index detectors. **Carbohydrate Polymers**, v. 49, n. 3, p. 307–314, 2002.

ZAMAN, H. U.; BEG, M. D. H. Improvement of physico-mechanical, thermomechanical, thermal and degradation properties of PCL/gelatin biocomposites: Effect of gamma radiation. **Radiation Physics and Chemistry**, v. 109, p. 73–82, 2015.

APÊNDICE A – FICHA TÉCNICA DO EXTRATO DE PRÓPOLIS DOADO PELO FORNECEDOR



www.apisflora.com.br - 0800 84 04 800



Apis Flora Industrial e Comercial Ltda.
Laboratório de Controle de Qualidade
R: Triunfo, 945 • CEP: 14020-670
Ribeirão Preto • SP • Brasil
Tel.: 16 3514-4444

CERTIFICADO DE ANÁLISE

Produto: Extrato de Propolis Verde

Código: 00144

Data de Fabricação: 19/12/2016

Lote nº: 014402316

Data de Validade: 19/12/2019

Ensaios Físico-Químicos	Resultados	Especificações Técnicas
Aspecto	conforme	líquido límpido, sem partícula em suspensão
Cor	conforme	âmbar esverdeado
Propriedade Antioxidante	08'38	Máx. 22 segundos
pH	5,29	5,25 - 5,75
Densidade Relativa	0,913	0,910 - 0,930
Sólidos Solúveis	11,0	11,0 - 11,5% p/v
Teor alcoólico	63,0	55 - 65%
Teor de Artepelin C	7,85	Informativo (mg/mL)
Flavonoides Totais (em quercetina)	5,69	Mín. 4,5 mg/mL

Ensaios Microbiológicos	Resultados	Especificação Técnica
Microrganismos Mesófilos Aeróbios	< 10	Máx. 10 ³ UFC/g ou mL
Estritos e Facultativos	< 10	Máx. 5 x 10 ³ UFC/g ou mL
Bolores e Leveduras	ausência	Ausência
Coliformes Termotolerantes	ausência	Ausência
Coliformes Totais	ausência	Ausência
Microrganismos Pesquisados		
Salmonella spp	Negativo	Negativo/25g
Shigella spp	Negativo	

Produto Aprovado por:

Analisa

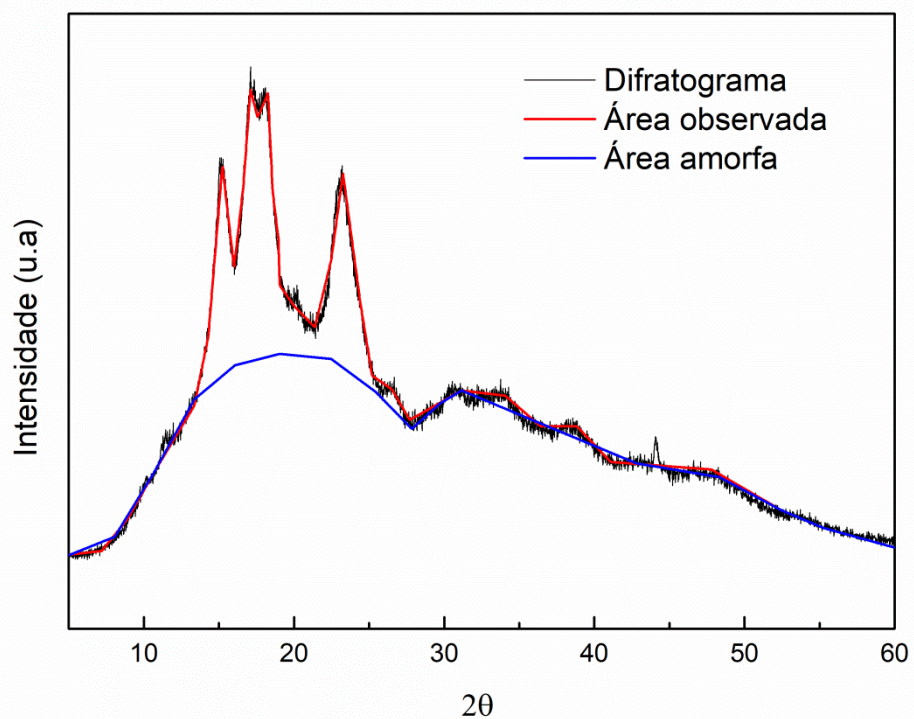
Garantia de Qualidade
Aline Utino Higa - CRF-SP: 28.882

Andreia A. Berretta

Farmacêutica Responsável
Andreia A. Berretta - CRF-SP: 28.267

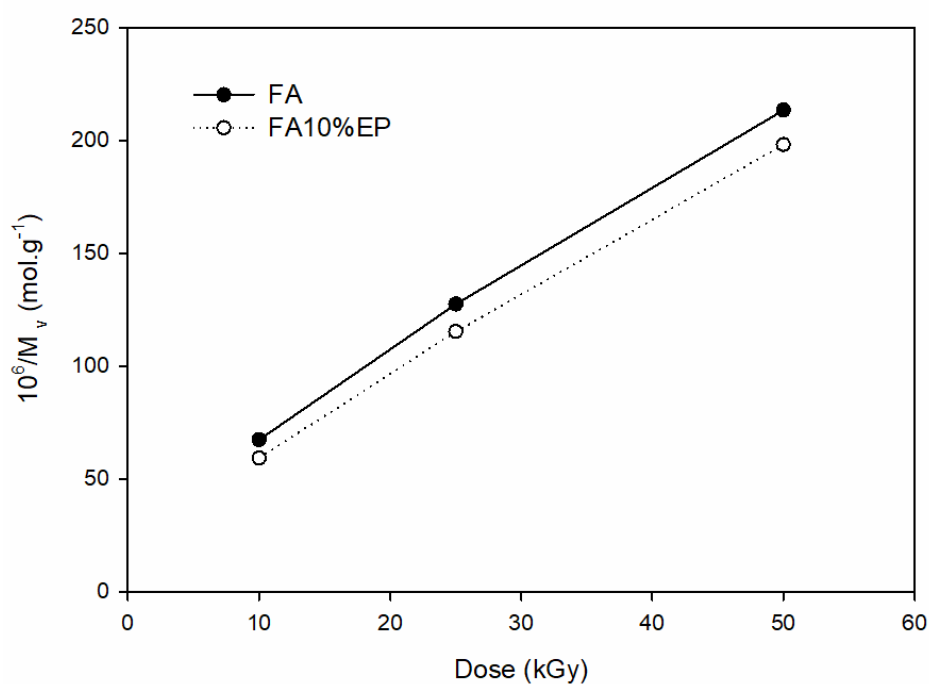
Armazenar o produto fechado, ao abrigo da luz, calor e umidade

APÊNDICE B – DIFRATOGRAMA DA ARARUTA EMPREGADO NA EXTRAÇÃO DAS ÁREAS UTILIZADAS NO CÁLCULO DA CRISTALINIDADE



Fonte: Autora (2019).

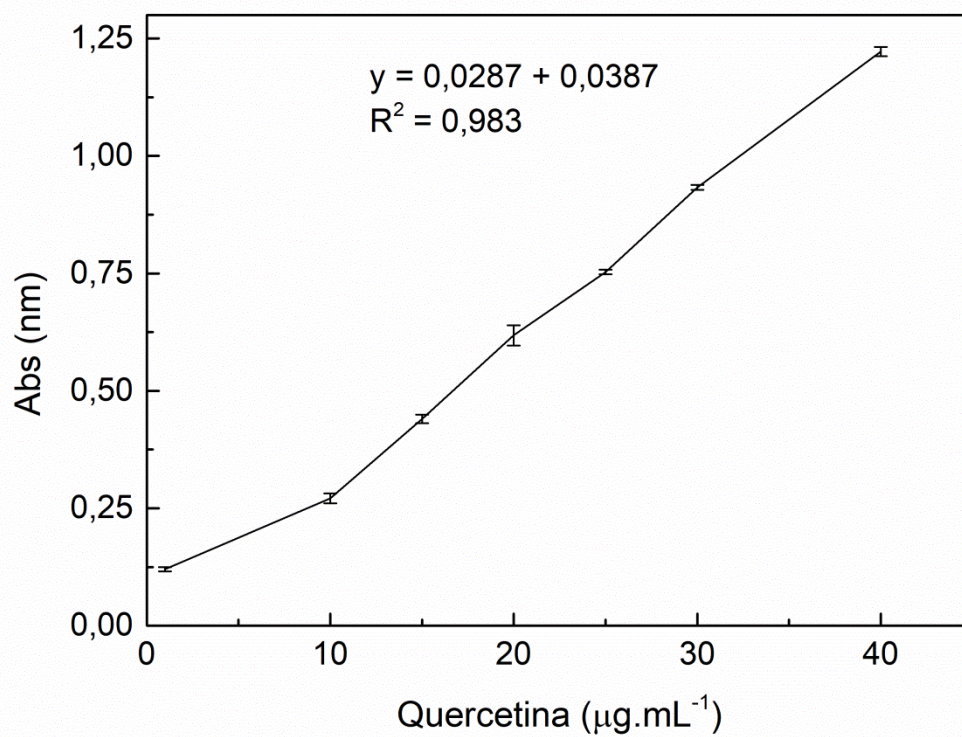
APÊNDICE C – REPRESENTAÇÃO GRÁFICA DO INVERSO DA MASSA MOLAR MÉDIA VISCOSIMÉTRICA EM FUNÇÃO DA DOSE DE IRRADIAÇÃO



Fonte: Autora (2019).

$y = \beta_0 + \beta_1 x$	β_0	β_1	R^2
FA	33,29	3,628	0,998
FA10%EP	26,29	3,457	0,998

APÊNDICE D – CURVA PADRÃO DE QUERCETINA PARA DETERMINAÇÃO DO TEOR DE FLAVONOIDES



Fonte: Autora (2019).