



**UNIVERSIDADE FEDERAL DO AMAZONAS
REDE DE BIODIVERSIDADE E BIOTECNOLOGIA DA AMAZÔNIA LEGAL –
REDE BIONORTE**

**EXTRAÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DE AMIDO DE ESPÉCIES DE DIOSCOREA E
INCORPORAÇÃO DE NANOPARTÍCULAS DE PRATA EM FILMES DE
REVESTIMENTO PARA A CONSERVAÇÃO DE *Myrciaria dubia* (Kunth) McVaugh
NA AMAZÔNIA**

LARISSA SVETLANA CAVALCANTE SILVA

**MANAUS/AM
MARÇO/2020**



**UNIVERSIDADE FEDERAL DO AMAZONAS
REDE DE BIODIVERSIDADE E BIOTECNOLOGIA DA AMAZÔNIA LEGAL –
REDE BIONORTE**

LARISSA SVETLANA CAVALCANTE SILVA

**EXTRAÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DE AMIDO DE ESPÉCIES DE DIOSCOREA E
INCORPORAÇÃO DE NANOPARTÍCULAS DE PRATA EM FILMES DE
REVESTIMENTO PARA A CONSERVAÇÃO DE *Myrciaria dubia* (Kunth) McVaugh
NA AMAZÔNIA**

Tese de doutorado apresentada ao Curso de Doutorado do Programa de Pós-Graduação em Biodiversidade e Biotecnologia da Rede BIONORTE, na Universidade Federal do Amazonas (UFAM), como requisito para obtenção do Título de Doutora em Biotecnologia.

Orientadora: Professora Doutora Maria Francisca Simas Teixeira
Coorientador: Professor Doutor Salomão Rocha Martim

**MANAUS/AM
MARÇO/2020**

Ficha Catalográfica

Ficha catalográfica elaborada automaticamente de acordo com os dados fornecidos pelo(a) autor(a).

S586a Silva, Larissa Svetlana Cavalcante
Extração e caracterização de amido de espécies de Dioscorea e
incorporação de nanopartículas de prata em filmes de revestimento
para conservação de *Myrciaria dubia* (Kunth) McVaugh na
Amazônia / Larissa Svetlana Cavalcante Silva . 2020
116 f.: il. color; 31 cm.

Orientadora: Maria Francisca Simas Teixeira
Coorientador: Salomão Rocha Martim
Tese (Doutorado em Biodiversidade e Biotecnologia da Rede
Bionorte) - Universidade Federal do Amazonas.

1. Biopolímeros. 2. Cará-de-espinho. 3. Inhame. 4. Tubérculos. I.
Teixeira, Maria Francisca Simas. II. Universidade Federal do
Amazonas III. Título

LARISSA SVETLANA CAVALCANTE SILVA

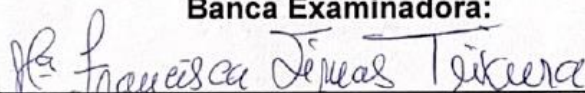
**“EXTRAÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DE AMIDO DE ESPÉCIES DE DIOSCOREA
E INCORPORAÇÃO DE NANOPARTÍCULAS DE PRATA EM FILMES DE
REVESTIMENTO PARA A CONSERVAÇÃO DE *Myrciaria dubia* (Kunth) McVaugh
NA AMAZÔNIA”**

Tese de doutorado apresentada ao Curso de Doutorado do Programa de Pós-Graduação em Biodiversidade e Biotecnologia da Rede BIONORTE, na Universidade Federal do Amazonas (UFAM), como requisito para obtenção do Título de Doutora em Biotecnologia.

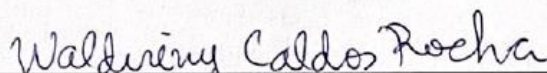
Orientador (a): Profa. Dra. Maria Francisca Simas Teixeira

Coorientador (a): Prof. Dr. Salomão Rocha Martim

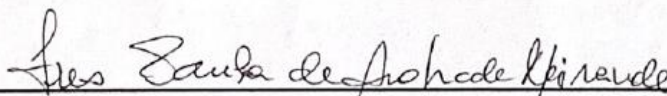
Banca Examinadora:



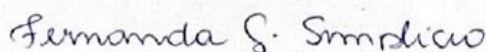
**Profa. Dra. Maria Francisca Simas Teixeira (UFAM)
Presidente da banca**



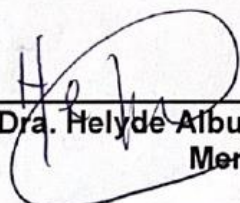
**Profa. Dra. Waldireny Caldas Rocha (UFAM)
Membro**



**Profa. Dra. Ires Paula de Andrade Miranda (INPA)
Membro**



**Profa. Dra. Fernanda Guilhon-Simplicio (UFAM)
Membro**



**Profa. Dra. Helyde Albuquerque Marinho (INPA)
Membro**

DEDICATÓRIA

À minha família Silva França.

AGRADECIMENTOS

A Deus e Nossa Senhora que me abençoam e me guiam sempre pelo melhor caminho.

Aos meus pais, Sandra e Wellington Silva, que me ensinaram sobre a importância da educação, honestidade e persistência, que sempre me incentivaram e me deram condições para que eu pudesse concluir este doutorado.

Ao meu filho, João Pedro, que chegou no começo desta jornada, mudando um pouco a rotina mas que é meu combustível diário, é quem me faz tentar ser melhor a cada dia.

Ao meu marido, Pedro França, por nunca me deixar desistir, por me apoiar em todas as escolhas.

Aos meus sogros, Lourdes e Flávio França, pelo suporte durante todos esses anos, pela confiança e carinho.

Ao meu avô tão querido, Joselito (*in memoriam*), que mesmo do céu, cuida de mim. A minha avó Lireuda, pelas rezas para que tudo desse certo. À minha tia Socorro por ser sempre tão positiva, deixando os momentos de aflição mais leves.

Aos meus irmãos, Thiago e Philippe, e especialmente à minha irmã, Letícia, por ter me acompanhado de perto durante este período, sendo meu braço direito nos cuidados com o João Pedro quando precisei me ausentar, juntamente com meu marido, meus pais e sogros. Sem vocês nada disso seria possível.

Agradeço à Universidade Federal do Amazonas (UFAM), à Universidade do Estado do Amazonas (UEA), à Rede de Biodiversidade e Biotecnologia da Amazônia Legal (BIONORTE), ao Laboratório de Micologia Industrial e Médica da UFAM e a Fundação de Amparo a Pesquisa do Estado do Amazonas (FAPEAM), pelo apoio financeiro.

Aos amigos do Laboratório de Micologia da Fundação de Medicina Tropical (FMT-HVD), onde trabalho, pela companhia diária e compreensão nas ausências.

A todos os amigos do Laboratório de Micologia Industrial e Médica da UFAM, que de alguma forma contribuíram para a realização deste trabalho. Especialmente ao meu coorientador Salomão Martim pela ajuda em todos os momentos.

À minha orientadora, Professora Doutora Maria Francisca Simas Teixeira, por todos esses anos de orientação, pela paciência e compreensão em muitos momentos e pelos puxões de orelha em outros, por transmitir seus conhecimentos com tanto entusiasmo e não nos deixar desistir de fazer ciência.

Agradeço também aos membros da banca examinadora por se disponibilizarem a participar desta defesa de tese.

RESUMO

Filmes de revestimento a base de amido têm sido utilizados na conservação de alimentos no intuito de diminuir o acúmulo de resíduos sólidos e minimizar a poluição. A eficiência de biofilmes pode ser melhorada com incorporação de nanopartículas de prata (AgNPs). O objetivo desta pesquisa foi extrair amido de *Dioscorea alata* L. e *D. altissima* Lam. para desenvolver filmes incorporados com AgNPs biogênicas para revestimento e conservação de alimentos *in natura*. Os amidos extraídos foram caracterizados quanto ao rendimento, morfologia e tamanho dos grânulos, composição físico-química, propriedades tecnológicas, toxicidade *in vitro* e análise microbiológica. Na elaboração dos filmes de amido foi utilizado glicerol como plasticizante. Os filmes foram caracterizados visualmente em MEV, AFM, DRX, FTIR. O amido promissor foi selecionado para produção de filmes de revestimento incorporados com solução coloidal de AgNPs, do Banco de Nanopartículas da Coleção de Culturas DPUA/UFAM. Os filmes foram avaliados quanto as propriedades tecnológicas e atividade antimicrobiana. A aplicação dos filmes foi feita por imersão de frutos de camu-camu [*Myrciaria dubia* (Kunth) McVaugh] na solução filmogênica. Os frutos foram examinados para observação da perda de peso, determinação da prata residual nos frutos e análises físico-químicas. O amido de *D. alata* e *D. altissima* não são tóxicos, têm rendimento promissor e propriedades funcionais e tecnológicas adequadas para uso na indústria de embalagens. Os filmes de revestimento com amido de *D. alata* apresentaram alta rugosidade comparado ao de *D. altissima*, característica determinante para incorporação das AgNPs. A caracterização dos filmes de amido de *D. altissima* incorporados com AgNPs mostrou que estes são adequados para uso na indústria de embalagens e conservação de alimentos *in natura*. O revestimento dos frutos com filmes incorporados com AgNPs retardou o amadurecimento e conservou as características nutricionais dos mesmos.

Palavras-chave: Amido; Bioprodutos Alimentícios; Cará de espinho; Inhame roxo.

ABSTRACT

Starch-based coating films have been used in food preservation to reduce solid waste accumulation and minimize pollution. Biofilms efficiency could be improved through incorporation of silver nanoparticles (AgNPs). Therefore, the aim of this research was to extract starch from *Dioscorea alata* and *Dioscorea altissima* to develop polymeric films incorporated with biogenic silver nanoparticles for coating and preserving fresh foods. Starch were characterized for yield, morphology and grain size, physicochemical composition, technological properties, in vitro toxicity and microbiological analysis. In starch films, preparation glycerol was used as plastic and they were characterized through visual analysis and MEV, AFM, DRX, FTIR. Promising starch was selected for production of coating films incorporated with colloidal AgNPs solution stored in the DPUA/UFAM Cultures Collection Nanoparticle Bank. Analysis of technological properties and antimicrobial activity of films had been carried. Application of films were made by immersion in camu-camu [*Myrciaria dubia* (Kunth) McVaugh] in the filmogenic solution, followed by physicochemical analysis, weight loss and residual silver determination analysis. *D. alata* and *D. altissima* starch are non-toxic, have promising yield and functional and technological properties used for packaging industry. *D. alata* starch coating films showed high rough ness than *D. altissima*, which was selected for production of AgNPs covered by coating films, and characterization of starch films added with AgNPs has shown suitable for use in packaging and food preservation industry. Coating fruits with films incorporated with AgNPs delayed ripening and has retained their nutritional value.

Keyword: Starch; Food Bioproducts; “Dunguey”; Purple Yam.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Mecanismo de síntese de AgNPs por metabólitos de origem fúngica.....	16
Figura 2. Estrutura química da amilose e amilopectina.....	19
Figura 3. Espécies de <i>Dioscorea</i> sp. mais consumidas no Brasil. A) <i>D. alata</i> L. 1753; B) <i>D. bulbifera</i> L. 1753; C) <i>D. cayennensis</i> Lam. 1789.....	21
Figura 4. A) Tubérculo de <i>D. alata</i> após coleta; B) Tubérculo descascado.....	22
Figura 5. Tubérculos de <i>D. altissima</i>	22
Figura 6. Fluxograma das etapas de extração do amido.....	27

Capítulo 2

Figura 1. Características morfológicas de tubérculos de <i>D. alata</i>	47
Figura 2. Características morfológicas de tubérculos de <i>D. altissima</i>	47
Figura 3. Micrografia eletrônica de grânulos de amido extraído de <i>D. alata</i>	49
Figura 4. Micrografia eletrônica de grânulos de amido extraído de <i>D. altissima</i>	49
Figura 5. Resultado do ensaio de citotoxicidade dos extratos em fibroblastos humanos (MRC-5) após 72 horas de tratamento: A) MRC-5 após tratamento com DMSO, doxorrubicina, extrato de amido de <i>D. altissima</i> e <i>D. alata</i> ; B) DMSO (controle negativo, 0,01%), doxorrubicina (controle positivo, 20 μ M ou 34 μ g/mL), viabilidade celular do extrato de amido de <i>D. altissima</i> e <i>D. alata</i>	55

Capítulo 3

Figura 1. Análise visual dos filmes de amido de <i>D. alata</i> e glicerol.....	66
Figura 2. Filmes de amido de <i>D. altissima</i> visualizados em MEV. A) Sem AgNPs; B) Com AgNPs.....	67
Figura 3. Micrografia tridimensional do filme de amido de <i>D. alata</i> e glicerol.....	67
Figura 4. Difratoograma do filme de amido de <i>D. alata</i> e glicerol.....	68
Figura 5. Espectros de FTIR de filme de <i>D. alata</i> e glicerol.....	69

Capítulo 4

Figura 1. Filmes de revestimento <i>D. altissima</i> e glicerol. A) Filme padrão sem AgNPs; B) Filme teste com AgNPs.....	80
Figura 2. Filme de amido de <i>D. altissima</i> visualizados em MEV. A) Sem AgNPs; B) Com AgNPs.....	80
Figura 3. Micrografias tridimensionais de filmes de amido de <i>D. altissima</i> . A) Sem AgNPs; B) Com AgNPs.....	81
Figura 4. Espectros de FTIR dos filmes de amido de <i>D. altissima</i> . A) Sem AgNPs; B) Com	

AgNPs.....	82
Figura 5. Difratoogramas dos filmes de amido de <i>D. altissima</i> . A) Sem AgNPs; B) Com AgNPs.....	83
Figura 6. Atividade antimicrobiana dos filmes de amido de <i>D. altissima</i> incorporados com AgNPs. A) <i>S. aureus</i> ; B) <i>E. coli</i>	84

Capítulo 5

Figura 1. A) Camu-camu sem filme de revestimento; B) Camu-camu com filme padrão (sem AgNPs); C) Camu-camu com filme teste (incorporado com AgNPs).....	95
Figura 2. Perda de peso dos frutos sem filme de revestimento (SF), revestidos com filme padrão sem AgNPs (CF) e revestidos com filmes teste incorporados com AgNPs (CFN) durante 12 dias de armazenamento.....	96
Figura 3. Concentração de sólidos solúveis totais nos frutos sem filme de revestimento (SF), revestidos com filme padrão sem AgNPs (CF) e revestidos com filmes teste incorporados com AgNPs (CFN) durante 12 dias de armazenamento.....	97
Figura 4. pH dos frutos sem filme de revestimento (SF), revestidos com filme padrão sem AgNPs (CF) e revestidos com filmes teste incorporados com AgNPs (CFN) durante 12 dias de armazenamento.....	98
Figura 5. Acidez titulável dos frutos sem filme de revestimento (SF), revestidos com filme padrão sem AgNPs (CF) e revestidos com filmes teste incorporados com AgNPs (CFN) durante 12 dias de armazenamento.....	99

LISTA DE TABELAS

Capítulo 2

Tabela 1. Teores de amido disponível, resistente e total extraídos de <i>D. alata</i> e <i>D. altissima</i>	48
Tabela 2. Teores de amilose e amilopectina dos amidos de <i>D. alata</i> e <i>D. altissima</i>	49
Tabela 3. Composição centesimal dos amidos de <i>D. alata</i> e <i>D. altissima</i>	51
Tabela 4. Composição de macro e micronutrientes dos amidos de <i>D. alata</i> e <i>D. altissima</i>	52
Tabela 5. Propriedades tecnológicas dos amidos de <i>D. alata</i> e <i>D. altissima</i>	54

Capítulo 4

Tabela 1. Propriedades tecnológicas dos filmes de revestimento.....	85
---	----

Capítulo 5

Tabela 1. Composição centesimal dos frutos sem filmes de revestimento, revestidos com filme padrão sem AgNPs e revestido com filme teste incorporado com AgNPs.....	99
---	----

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	14
2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	14
2.1 Nanotecnologia	16
2.2 Embalagens de alimentos.....	17
2.3 Amido.....	18
2.3.1 Estrutura do amido	19
2.3.2 Propriedades da pasta.....	20
2.4 Extração do amido.....	20
2.4.1 Gênero <i>Dioscorea</i> sp.....	21
2.5 Filmes de revestimento.....	23
2.6 Plasticizantes	23
2.7 Propriedades tecnológicas dos filmes de revestimento	24
3. OBJETIVOS	25
3.1 Geral.....	25
3.2 Específicos	25
4. MATERIAL E MÉTODOS	26
4.1 Matéria-prima.....	26
4.2 Método de extração do amido	26
4.3 Determinação do rendimento do amido	27
4.4 Determinação do teor de amido	27
4.5 Determinação do teor de amilose e amilopectina.....	27
4.6 Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV).....	28
4.7 Determinação da característica físico-químicas do amido	28
4.7.1 Determinação do pH e acidez titulável total	28
4.7.2 Determinação da atividade de água.....	28
4.7.3 Determinação da Composição Centesimal.....	28
4.7.4 Determinação de macro e micronutrientes	29
4.8 Análise das propriedades tecnológicas do amido.....	29
4.8.1 Determinação da capacidade de absorção de água.....	29
4.8.2 Determinação da capacidade de absorção de óleo	29

4.8.3	Determinação da capacidade de inchamento.....	30
4.8.4	Determinação da densidade aparente	30
4.8.5	Determinação da capacidade e estabilidade da espuma	30
4.8.6	Clareza da pasta	30
4.9	Teste de toxicidade in vitro do amido	30
4.10	Análise da qualidade microbiológica do amido	31
4.11	Elaboração dos filmes de revestimento	31
4.12	Caracterização dos filmes.....	31
4.12.1	Análise visual dos filmes de revestimento	31
4.12.2	Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)	32
4.12.3	Microscopia de Força Atômica (AFM)	32
4.12.4	Difração de Raios-X (DRX).....	32
4.12.5	Espectroscopia de infravermelho com transformada de Fourier (FTIR).....	32
4.12.6	Determinação da umidade dos filmes	33
4.12.7	Determinação da solubilidade em água dos filmes	33
4.12.8	Determinação da gramatura	33
4.13	Filmes a base de amido de <i>D. altissima</i> incorporado com AgNPs.....	33
4.13.1	Obtenção das nanopartículas de prata	33
4.13.2	Elaboração dos filmes de revestimento	34
4.13.3	Caracterização dos filmes.....	34
4.13.3.4	Determinação da atividade antimicrobiana dos filmes de revestimento	36
4.14	Revestimento dos alimentos com os filmes	36
4.14.1	Obtenção e sanitização dos frutos	36
4.14.2	Revestimento dos frutos	36
4.14.3	Análise visual dos frutos após armazenamento refrigerado	37
4.14.4	Composição centesimal dos frutos com e sem revestimento	37
4.14.5	Determinação do pH e acidez titulável expressa em ácido cítrico	37
4.14.6	Determinação de sólidos solúveis totais expressos em graus Brix.....	38
4.14.7	Determinação da perda de peso.....	38
4.14.8	Análise microbiológica	38
4.14.9	Determinação de prata residual nos frutos revestidos com filmes incorporados com nanopartículas por DRX.....	38
5.	ANÁLISE ESTATÍSTICA	38
6.	RESULTADOS	39

Capítulo 1	40
Pedido de registro de propriedade intelectual	40
Capítulo 2	41
Artigo publicado no Boletim do Museu Goeldi. Ciências Naturais.	41
Extração e caracterização de amido de espécies de <i>Dioscorea</i> cultivadas na Amazônia	42
Capítulo 3	62
Filmes de revestimento biodegradáveis formulados com amido de <i>Dioscorea alata</i>	62
Capítulo 4	74
Filme de revestimento com amido de <i>Dioscorea altissima</i> incorporado com nanopartículas de prata para conservação de alimentos	74
Capítulo 5	90
Conservação de camu-camu com filme de revestimento de amido de <i>Dioscorea altissima</i> incorporado com nanopartículas de prata	90
7. CONCLUSÕES	105
8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	106

1. INTRODUÇÃO

O gênero *Dioscorea*, representado por mais de 600 espécies, tem distribuição mundial e são economicamente importantes, dominando o cultivo na África, no sudeste Asiático e Américas (AHMADU et al., 2018). *Dioscorea cayenensis* Lam. 1789, *D. trifida* L. 1782 e *D. alata* L. 1753 são cultivadas no Brasil para consumo e comercialização (CASTRO et al., 2012; HORNUNG et al., 2018). Na Amazônia, tubérculos de *Dioscorea altissima* Lam. 1789, uma Planta Alimentícia não Convencional (PANC), vem sendo produzida por agricultores familiares para consumo regional, sem estabelecimento de cadeia produtiva (SIQUEIRA, 2009; KINUPP; LORENZI, 2014).

Estudos têm demonstrado que o amido, constituinte químico mais abundante nos tubérculos de espécies de *Dioscorea*, tem propriedades funcionais, nutricionais, comumente utilizados como alimento, espessante e geleificante, características que revelam a importância para uso na indústria de alimentos (TEIXEIRA et al., 2016; HORNUNG et al., 2018; LOVERA et al., 2020).

As características do amido estão promovendo realização de pesquisas com a finalidade de comprovação da eficiência do amido na preparação de biofilmes biodegradáveis e filmes de revestimento, por ser um polímero biodegradável, não tóxico, de ampla disponibilidade, além do processo de extração ter baixo custo (WANG et al., 2011; LOBATO et al., 2019).

Filmes de revestimento são finas camadas de produto comestível aplicado sobre a superfície do alimento por várias técnicas, incluindo imersão total (MATEESCU et al., 2015; PAGNO et al., 2015). O produto alimentício *in natura* revestido com esses filmes apresenta características desejáveis para a comercialização por promoverem a redução da perda de água, das taxas respiratórias, retardamento da produção de etileno e manutenção do brilho (JANKAR et al., 2018; ROCHA et al., 2020).

A eficácia de filmes de revestimento pode ser incrementada pela incorporação de nanopartículas de prata (AgNPs) em sua composição, que podem ser removidas antes do consumo. Esta tecnologia simples mantém a qualidade dos alimentos, pois previne a contaminação causada por microrganismos devido à liberação lenta das AgNPs na superfície, aumentando sua vida de prateleira (SAMBERG et al., 2011).

Estudos mostram que as AgNPs têm atividade antimicrobiana frente a uma ampla faixa de microrganismos, como bactérias Gram positivas e negativas, fungos e vírus. A ação antimicrobiana das AgNPs está diretamente relacionada ao seu tamanho e concentração. O

tamanho reduzido das moléculas aumenta a eficácia da ação antimicrobiana considerando a elevada área superficial, o que resulta em maior interação entre as nanopartículas e a matriz (KON e RAI, 2013; TRAN et al., 2013; LI et al., 2015).

A crescente demanda por alimentos de maior qualidade nutricional em associação a extensão da vida útil e atendimento as políticas ambientais esta pesquisa foi realizada com o objetivo de desenvolver filmes poliméricos com amido de tubérculos incorporados com nanopartículas de prata e caracterizar suas propriedades quanto sua aplicação para revestimento e preservação de alimentos.

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 Nanotecnologia

A nanotecnologia é uma ciência multidisciplinar, considerada um dos campos mais promissores para inovação tecnológica, que atrai investidores e movimenta a economia (ENGELMANN et al., 2015; GOULART et al., 2017). Caracteriza-se por utilizar produtos e processos que estejam abaixo de 100 nanômetros e possuam características usuais diferentes das encontradas em materiais com escalas maiores (ISO TC 229). Possui uma diversidade de aplicações, com destaque para nanoeletrônica, nanomateriais e nanobiotecnologia (RÓZ et al., 2015).

A nanobiotecnologia é responsável pelo desenvolvimento de produtos que unem as ciências de materiais às ciências biológicas, como biossensores, kits diagnósticos, medicamentos, cosméticos, alimentos com características funcionais e embalagens (ASSIS et al., 2012; FARIA-TISCHER e TISCHER, 2012).

A aplicação da nanobiotecnologia nas indústrias pode ser realizada através de nanopartículas metálicas, como nanopartículas de ouro, de cobre, de zinco e prata. As nanopartículas de prata (AgNPs) são bastante utilizadas devido as suas propriedades tecnológicas como estabilidade química, térmica, condutividade e atividade catalítica (HAIDER e KANG, 2015).

As AgNPs são sintetizadas por métodos químicos e físicos que são dispendiosos e utilizam muitas vezes substâncias tóxicas. Em relação à síntese biológica, algas, plantas e microrganismos (bactérias, actinomicetos, leveduras e fungos filamentosos) são utilizados, sendo considerada menos agressiva ao meio ambiente e economicamente viável (DAR et al., 2013). Duran et al. (2005) citam que o mecanismo de ação das AgNPs consiste na síntese e liberação de enzimas nitrato redutases que estabilizam os íons metálicos presentes no meio extracelular, formando nanopartículas estáveis por microrganismos (Figura 1).

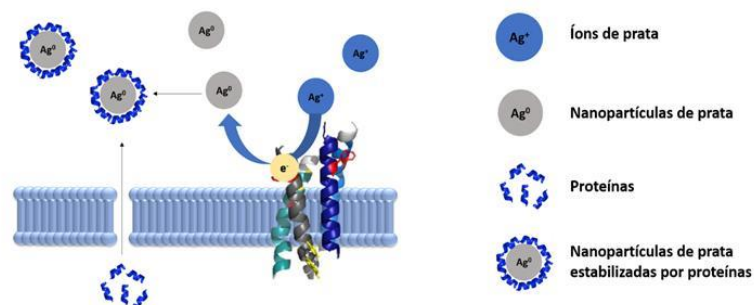


Figura 1. Mecanismo de síntese de nanopartículas de prata por metabólitos de origem fúngica. Fonte: Kashyap et al. (2013).

As AgNPs têm sido incorporadas em embalagens e filmes de revestimento para aumentar a vida de prateleira de alimentos *in natura*. Estes aditivos não alteram as características sensoriais da embalagem produzida, pois a concentração comumente utilizada é relativamente baixa (LLORENS et al., 2012; MACHADO et al., 2014).

As AgNPs além de melhorarem as propriedades de barreira a água e gases das embalagens, expressam atividade antimicrobiana. Esta propriedade inibe a contaminação dos alimentos por bactérias, como *Salmonella*, *Listeria*, *Escherichia coli*, leveduras e fungos filamentosos, visto que sua área superficial proporciona uma melhor interação com os microrganismos patogênicos e oportunistas.

Há diferentes formas de ação das AgNPs, como ancoragem na membrana celular do microrganismo, impedindo a respiração celular, interação das AgNPs com as estruturas celulares dos microrganismos que possuam sulfato e fosfato e pela liberação de íons de prata (PEREZ et al., 2012; GUIMARÃES et al., 2014)

Estudos recentes têm sido realizados para verificar a migração de nanopartículas AgNPs para produtos alimentícios, pois contaminantes dessa classe podem representar riscos para saúde humana (ECHEGOYEN E NERÍN, 2013). Duran et al. (2019) cita que as AgNPs apresentam diferentes graus de toxicidade, dependendo de alguns fatores, como o tipo de síntese, a superfície, o tamanho e a morfologia. Entretanto, em estudos *in vivo*, com camundongos e humanos, foi observado efeito tóxico baixo.

De acordo com o *Food and Drug Administration* (FDA), a prata com função antimicrobiana é classificada como GRAS (*Generally Recognized as Safe*), porém nesta citação não está especificado o tamanho da partícula. O *European Food Safety Authority* (EFSA) cita que as AgNPs não devem exceder 0,05 mg/L em água e 0,05 mg/kg em alimentos. No Brasil ainda não há legislação específica para migração de AgNPs das embalagens para alimentos, entretanto, a RDC nº 51 de 26 de novembro de 2010 estabelece os critérios de migração de aditivos em geral para materiais, embalagens e equipamentos plásticos, exceto AgNPs (CARBONE et al., 2016).

2.2 Embalagens de alimentos

As embalagens são utilizadas em diversos setores alimentícios, tendo como função proteger o produto durante o transporte e manuseio, manter a qualidade do alimento e aumentar sua vida útil, além de informar sobre o que está sendo comercializado (JORGE, 2013).

Em 2017, as indústrias de embalagens registraram R\$ R\$ 71,5 bilhões em vendas. Muitos tipos de materiais podem ser empregados na fabricação de embalagens, como aço, alumínio, vidros e polímeros, como os plásticos. Porém, embalagens plásticas produzidas a partir de polímeros sintéticos representam 38,85% do total comercializado (ABRE, 2019). Isto pode ser explicado devido ao baixo custo de produção e sua versatilidade, como alta resistência mecânica e flexibilidade (LIMA e SIQUEIRA, 2015).

Atualmente a maioria dos polímeros sintéticos utilizados nas indústrias é proveniente da nafta, produto incolor derivado do refino do petróleo. A partir desta matéria prima, por craqueamento térmico, são obtidos os monômeros (eteno, propeno, buteno, butadieno, benzeno, tolueno e xileno), que após polimerização são transformados em materiais com características e finalidades específicas para cada setor industrial (LANDIM et al., 2016).

A utilização deste tipo de material na produção de embalagens é extremamente nociva ao meio ambiente, já que o petróleo é um recurso natural não renovável, além de resultar em acúmulo de resíduos sólidos devido à lenta degradação e a emissão de gases prejudiciais na atmosfera, durante a produção (MARAN, et al., 2014; PERES et al., 2016). O quadro 1 mostra os polímeros sintéticos mais utilizados nas indústrias de embalagens.

Quadro 1. Polímeros sintéticos mais utilizados na produção de embalagens alimentícias.

Polímeros sintéticos	Siglas	Utilização
Polietileno tereftalato	PET	Garrafas para bebidas
Polietileno de alta densidade	PEAD	Potes/frascos para armazenar alimentos
Policloreto de vinila	PVC	Películas, filmes laminados, garrafas, caixas
Polietileno de baixa densidade	PEBD/PELBD	Embalagens flexíveis para alimentos sólidos e líquidos, filmes laminados
Polipropileno	PP	Sacos
Poliestireno	PS	Isopor

Fonte: <<http://www.file.abiplast.org.br>>

Estas questões ambientais têm incentivado a utilização de matérias-primas derivadas de fontes renováveis que podem ser degradadas mais facilmente pela ação enzimática de microrganismos, como bactérias, fungos e leveduras. Deste modo, os biopolímeros além de não produzirem efeitos tóxicos, minimizam a poluição (BASTOS, 2007; JARAMILLO et al., 2016). Os polímeros naturais mais utilizados para fabricação de embalagens são os provenientes de fontes vegetais (celulose e amido), as gomas extraídas de algas marinhas (ágar, alginatos e carragenatos), oriundos de fontes animais (quitina e quitosana) e também obtidos pela ação de microrganismos (dextrana) (FARIAS et al., 2016).

2.3 Amido

O amido é o segundo polímero natural mais abundante no mundo, estando atrás apenas da celulose. De acordo com a resolução CNNPA nº 12 de 1978, amido é o produto amiláceo

extraído de partes aéreas de vegetais, enquanto a fécula é o produto amiláceo extraído de partes subterrâneas. Porém segundo a RDC 263 (2005), o amido pode ser extraído de partes comestíveis de cereais, tubérculos, raízes ou rizomas, não apresentando diferença entre os dois.

É a principal fonte de carboidrato da dieta humana, sendo responsável por até 80% das calorias diárias ingeridas (LIMA et al., 2012; POLYCARP et al., 2016). Além de ser utilizado na fabricação de produtos alimentícios, como pães, massas, molhos, produtos embutidos e congelados, pode ser empregado em outros setores, como aglutinante e emulsificante na indústria farmacêutica e em matéria prima para desenvolvimento de embalagens (MONTES et al., 2008; DEEPIKA et al., 2013; PATERNINA et al., 2016).

2.3.1 Estrutura do amido

O amido é formado por grânulos que possuem estrutura semicristalina, compostos pelo centro de crescimento, denominado hilo, e duas macromoléculas, amilose e amilopectina. As regiões amorfas são compostas de moléculas lineares de amilose, onde as unidades de glicose são unidas por ligações glicosídicas α -1,4. Já a região cristalina dos grânulos de amido é formada pela amilopectina ramificada, constituída por monômeros de glicose unidos em α -1,4 e α -1,6 (Figura 2) (ROCHA et al., 2014; BOLADE e ONI, 2015).

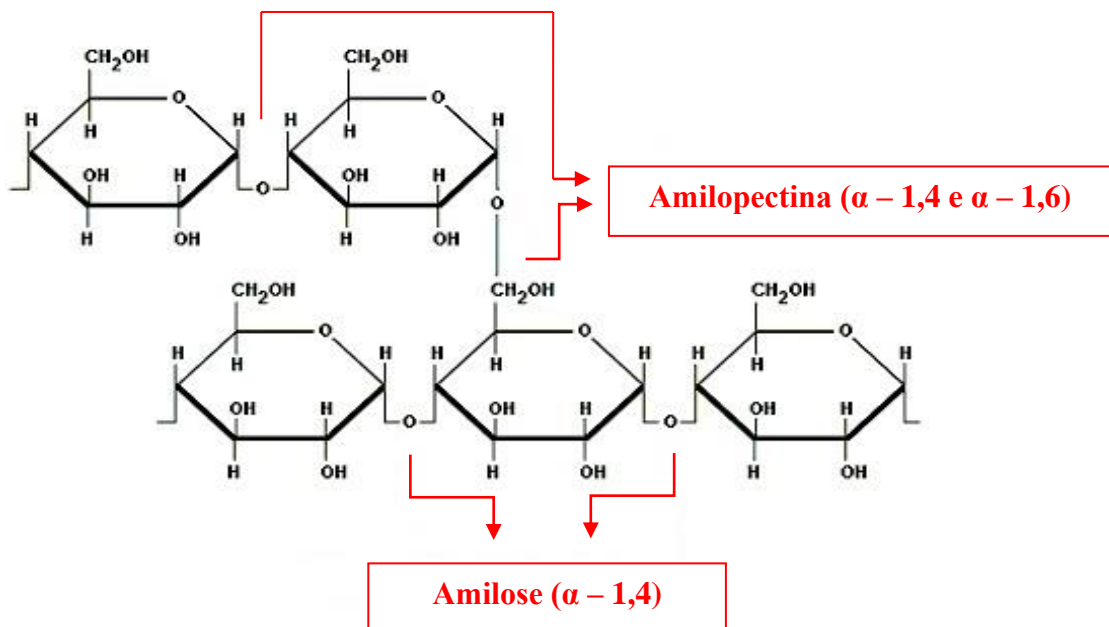


Figura 2. Estrutura química da amilose e amilopectina.

Fonte: <<http://www.fcfar.unesp.br>>

2.3.2 Propriedades da pasta de amido

Os grânulos do amido são insolúveis em água fria e necessitam de temperaturas que variam entre 65 °C e 100 °C para solubilizarem (WEI et al., 2011; JIMÉNEZ et al., 2012). Para obtenção de pastas, seus grânulos precisam sofrer processos irreversíveis denominados gelatinização e retrogradação. Durante o aquecimento, na presença de água, acontece o inchamento dos grânulos até a temperatura de gelatinização, onde há a desorganização molecular e por fim o rompimento. A partir daí, acontece à saída das moléculas de amilose de dentro do grânulo para a fase aquosa, formando um gel (HOOVER et al., 2010). A retrogradação ocorre quando as cadeias de hidroxilas adjacentes da amilose se agregam através de pontes de hidrogênio formando duplas hélices, reduzindo a afinidade de água (REIS et al., 2010).

Estudos realizados com amidos extraídos de diferentes espécies mostram que estes polímeros apresentam características tecnológicas únicas, o que determina a sua utilização em cada setor industrial (ALVES et al., 2012; FALADE e AYETIGBO, 2015; DURANGO et al., 2012). A temperatura de gelatinização e a retrogradação depende do teor de amilose e amilopectina presente nos grânulos (RIBEIRO et al., 2017). O formato dos grânulos varia entre oval, redondo, elipsóide, triangular, poliédrico, lenticular. Já o tamanho geralmente varia entre 2 e 100 µm, dependendo da origem botânica (LEONEL, 2007).

2.4 Extração do amido

Atualmente as espécies vegetais mais utilizadas para extração de amido são o milho (*Zea mays* L. 1753), a mandioca (*Manihot esculenta* Crantz 1766), a batata (*Solanum tuberosum* L. 1753) e a batata doce (*Ipomoea batatas* (L.) Lam. 1793) (ALVES et al., 2015; RODRIGUES et al., 2017). Porém, fontes não convencionais, como o inhame (*Dioscorea* sp.), têm sido estudadas devido a busca por novas propriedades tecnológicas para que haja a expansão do mercado de amido, agregando valor, gerando emprego e renda (SANTANA e MEIRELES, 2014; ZHANG et al., 2018).

O amido é extraído através de processos físicos que consistem nas etapas de lavagem e descascamento das raízes, desintegração celular e liberação dos grânulos por trituração, separação das fibras e material solúvel, lavagem e secagem (LEONEL e CEREDA, 2000).

Para amidos comerciais é desejável que se tenha alto grau de pureza na extração, ou seja, alto conteúdo de carboidrato e baixos teores de cinzas, fibras, lipídios e proteínas. Desta forma soluções de hidróxido de sódio (NaOH) e dimetilsulfóxido (DMSO) são utilizadas na

etapa de lavagem para facilitar a purificação e aumentar o rendimento de extração, separando pectinas e hemiceluloses. Já o uso de antioxidantes como metabissulfiteo evita o escurecimento do amido (SANTOS et al., 2013).

2.4.1 Gênero *Dioscorea* sp.

O gênero *Dioscorea* sp. pertence a família Dioscoreaceae, ordem Dioscoreales e é composto por 600 espécies com ampla distribuição geográfica. São plantas trepadeiras, perenes e formam rizomas ou tubérculos (CADDICK et al., 2002; SOUZA et al., 2011).

É popularmente conhecido como cará ou inhame, dependendo da localidade onde é cultivado. Seus tubérculos são compostos por altas concentrações de carboidratos e baixos teores de lipídeos, além de proteínas, sais minerais e vitaminas (BRITO et al., 2011). Alguns estudos com espécies deste gênero mostram propriedades antimicrobianas, antioxidantes, antitumorais, anti-inflamatórias, diuréticas e contraceptivas (JIANG et al., 2012).

É amplamente cultivado e consumido por agricultores familiares e segundo a FAO 2016, o Brasil foi o segundo maior produtor de *Dioscorea* sp. da América do Sul, com aproximadamente 238.000 toneladas. Dentre as espécies comestíveis mais relatadas estão *Dioscorea alata* L. 1753, *D. bulbifera* L. 1753, *D. cayennensis* Lam. 1789, *D. dumetorum* Pax 1888, *D. esculenta* (Lour.) Burkill 1917, *D. nipponica* Makino 1891, *D. opposita* Thunb 1784, *D. rotundata* Poir. 1813 e *D. trifida* L. 1782 (Figura 3) (SILVA et al., 2012; LIMA et al., 2013; SIQUEIRA et al., 2014).

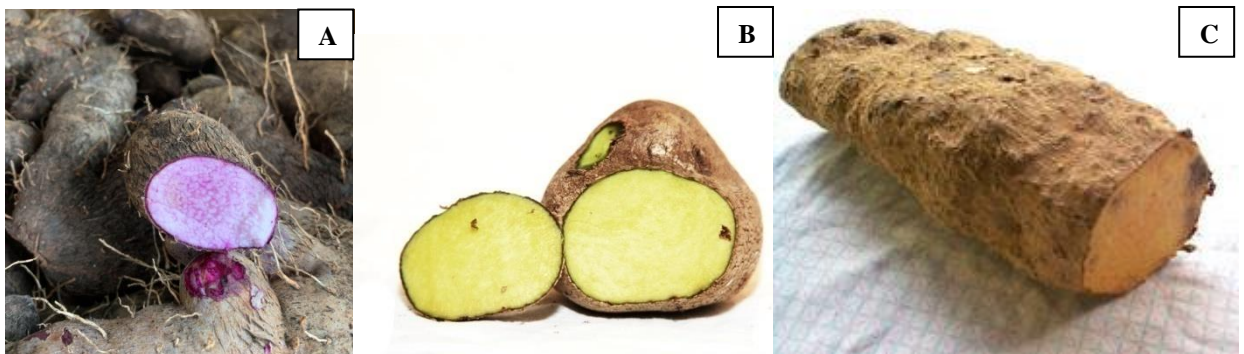


Figura 3. Espécies de *Dioscorea* sp. mais consumidas no Brasil. A) *D. alata* L. 1753; B) *D. bulbifera* L. 1753 e C) *D. cayennensis* Lam. 1789.

Fonte: <<https://www.pfaf.org>>;<<https://www.wikiwand.com>>.

2.4.1.1 *Dioscorea alata*

A espécie *D. alata*, conhecida como inhame roxo, é cultivada atualmente em regiões tropicais e subtropicais (AWOLU e OLONFILAE, 2016). Em alguns estados do Brasil, como no Amazonas, está inserida na dieta da população local devido sua elevada qualidade

nutricional. Estudo realizado por Silva et al. (2017) mostra que os tubérculos apresentam baixos teores de lipídeos (0,05%) e alto conteúdo de carboidrato (25,34%), sendo fonte de energia, e teores de fibras ideais para extração de amido, já que o rompimento das células por trituração e liberação dos grânulos ocorre de maneira mais eficiente (LEONEL e CEREDA, 2002). Os tubérculos de *D. alata* apresentam potencial agrônômico desejável, já que dentre as espécies de inhame cultivadas, estes possuem uma maior habilidade na propagação, alta adaptabilidade a variações climáticas e podem ser armazenadas por longos períodos (RAMOS et al., 2014). Estudos comprovam sua eficácia como suplemento dietético, antioxidante, hepatoprotetor e no controle de doenças neurodegenerativas (PUGAZHENDHI et al., 2016).

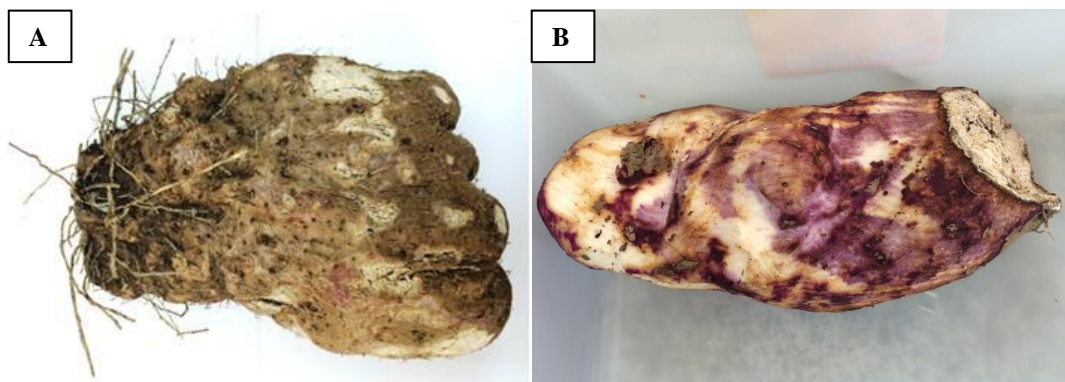


Figura 4. A) Tubérculo de *D. alata* após coleta; B) Tubérculo descascado.
Fonte: Larissa Svetlana Cavalcante Silva

2.4.1.2 *Dioscorea altissima*

A espécie *D. altissima* Lam. 1789, comumente conhecida como Cipó-jacaré, Inhame-de-espinho ou Cará-de-espinho é uma planta alimentícia não convencional (PANC) encontrada e cultivada em diversas regiões do Brasil, inclusive no Amazonas, e possui produção expressiva de 40 a 101 kg/cova em 18 meses (DIAS et al., 2016, SiBBr, 2019). Estudos realizados com os tubérculos deste inhame mostram que o extrato das partes aéreas de *D. altissima* apresentam atividade antibacteriana e as fibras possuem efeito prebiótico *in vitro* (TEIXEIRA et al., 2016; SARACENI et al., 2019).



Figura 5. Tubérculos de *D. altissima*
Fonte: Larissa Svetlana Cavalcante Silva

2.5 Filmes de revestimento

As indústrias de embalagens estão em busca de métodos mais baratos e eficazes para conservação de alimentos *in natura*. A manutenção da qualidade de frutas e hortaliças está associada às técnicas de armazenamento pós-colheita (DASGUPTA et al., 2015; BERNARDO et al., 2018).

O amido apresenta capacidade de formar filmes transparentes, não tóxicos, flexíveis, insípidos e inodoros. Sendo assim o recobrimento dos alimentos com filmes comestíveis de amido têm sido realizado com o intuito de evitar a perda de água, reduzir as taxas respiratórias e retardar a produção de etileno, condição que proporciona atraso no amadurecimento e aumento da vida útil. Esta técnica também permite que os alimentos se mantenham brilhantes e atraentes para o consumidor final (ALBUQUERQUE et al., 2011; VICENTINO et al., 2011; SOUZA et al., 2014).

Os filmes de revestimento quando produzidos em laboratório são obtidos pelo método *casting* que consiste no espalhamento da solução filmogênica em uma superfície lisa, seguido de evaporação do solvente (MALI, 2010). Os alimentos podem ser recobertos por pulverização ou imersão, cobrindo a superfície com a solução filmogênica formada (MAIA et al., 2000).

2.6 Plasticizantes

A produção de filmes de revestimentos que possuem como matriz polímeros naturais, necessita na maioria das vezes de plasticizantes em sua composição. Vários compostos são utilizados como glicose, sacarose, ácidos graxos saturados, monoglicerídeos, surfactantes e polióis (MALI et al., 2010). De acordo com a RDC nº 17 de 17 de março de 2008, eritritol, glicerol, polietilenoglicol e sorbitol podem ser utilizados como aditivos na produção de embalagens que entram em contato com os alimentos.

O glicerol é um composto hidrofílico que apresenta baixa volatilidade, possui aspecto líquido, viscoso, transparente e inodoro. Atua diminuindo as forças intermoleculares dos biopolímeros durante o processo de gelatinização/retrogradação (SANTOS et al., 2014; MOTA e PINTO, 2017). Este plastificante se liga as moléculas de amilose, de modo que inibe a formação de ligações de hidrogênio entre as cadeias, aumentando a mobilidade dos filmes (PAGLIONE et al., 2019; RESTA E MALI, 2019). Filmes de revestimento sem estes componentes apresentam forma quebradiça e não são maleáveis (ANTUNES et al., 2019).

2.7 Propriedades tecnológicas dos filmes de revestimento

Os filmes de revestimento necessitam de algumas características para serem funcionais e dependendo do tipo de alimento que se deseja revestir, as propriedades tecnológicas variam.

Para aplicações em *snacks* e biscoitos, é necessário que haja baixa permeabilidade ao vapor de água para que não se perca a crocância e evite a contaminação microbiana. Já alimentos com alto teor de umidade como frutas e hortaliças *in natura* necessitam de baixa permeabilidade ao vapor de água, pois a perda de umidade reduz a atividade metabólica do alimento, o que causa perda de massa e ressecamento, mudança na coloração e textura (ALVES et al., 2005; ZANELA et al., 2015).

As propriedades mecânicas, como flexibilidade e resistência, são determinantes devido à manipulação constante do produto, dependendo diretamente do tipo de matéria-prima e plastificante utilizado na produção (SOUZA et al., 2012; SOARES et al., 2014).

A espessura é um fator imprescindível nas características finais de filmes biodegradáveis. Está relacionada não só à resistência mecânica e opacidade dos mesmos, como também às propriedades de barreira ao vapor de água e gases (ANTUNES et al., 2019; HENRIQUE et al., 2008).

3. OBJETIVOS

3.1 Geral

O presente estudo teve como objetivo desenvolver filmes poliméricos a base de amido de tubérculos do gênero *Dioscorea* incorporados com nanopartícula de prata e caracterizar suas propriedades quanto sua aplicação para revestimento e preservação de alimentos.

3.2 Específicos

- Extrair amido de *Dioscorea alata* e *D. altissima* para utilização no preparo de filmes de revestimento;
- Determinar as características físico-químicas e a qualidade microbiológica das amostras de amidos;
- Analisar a morfologia e as propriedades tecnológicas do amido;
- Avaliar a citotoxicidade *in vitro* do amido;
- Preparar filmes de revestimento utilizando amido extraído de *D. alata* e *D. altissima* incorporados com nanopartículas de prata do banco de nanopartículas da Coleção de Culturas DPUA;
- Caracterizar os filmes com nanopartículas quanto às propriedades morfológicas e mecânicas;
- Determinar a atividade antimicrobiana dos filmes;
- Comparar a eficiência dos filmes com nanopartículas de prata na conservação de alimentos *in natura*;
- Determinar a composição físico-química dos alimentos preservados com os filmes de revestimento;
- Avaliar o conteúdo de prata residual presente nos alimentos.

4. MATERIAL E MÉTODOS

4.1 Matéria-prima

Para preparação dos filmes de revestimentos foram utilizados tubérculos de *Dioscorea alata* e *D. altissima*, provenientes de um cultivo domiciliar localizado no bairro Planalto, na cidade de Manaus/Amazonas (3°03'58.0"S 60°03'04.2"W). Os tubérculos foram acondicionados em recipientes plásticos e conduzidos ao laboratório de Micologia da UFAM. No processo de extração do amido foram utilizados os tubérculos que apresentarem firmeza e descartados aqueles com danos físicos. As amostras selecionadas foram lavadas em água corrente, submetidas à assepsia em solução de cloro 2% (v/v) por 10 minutos, pesadas, descascadas com faca de aço inoxidável e posteriormente utilizadas para extração do amido.

4.2 Método de extração do amido

O amido dos tubérculos foi extraído de acordo com o método de Liporacci et al. (2005). As amostras de *D.alata* e *D. altissima* foram cortadas com faca de aço inoxidável e trituradas em um processador de alimentos utilizando água destilada na proporção 1:2 (p/v). A massa triturada foi separada da fração amilácea utilizando tecido de musseline. A fração contendo o amido foi mantida em estado estacionário para decantação. A fração recuperada deste processamento foi lavada com água destilada na proporção 1:1 (v/v), a cada 24 h, durante 3 dias consecutivos. Na fração obtida da terceira lavagem foi adicionado 1000 mL de uma solução de NaOH 0,15% (p/v) e esta mistura foi mantida em repouso por 12 h. Em seguida, o amido foi lavado com água destilada até obtenção do pH 7,0. O produto final foi submetido à desidratação a 40 °C, em estufa de circulação de ar forçado por 10 h. As amostras desidratadas foram embaladas em recipiente de vidro com tampa rosqueável até a realização das análises (Fluxograma 1).

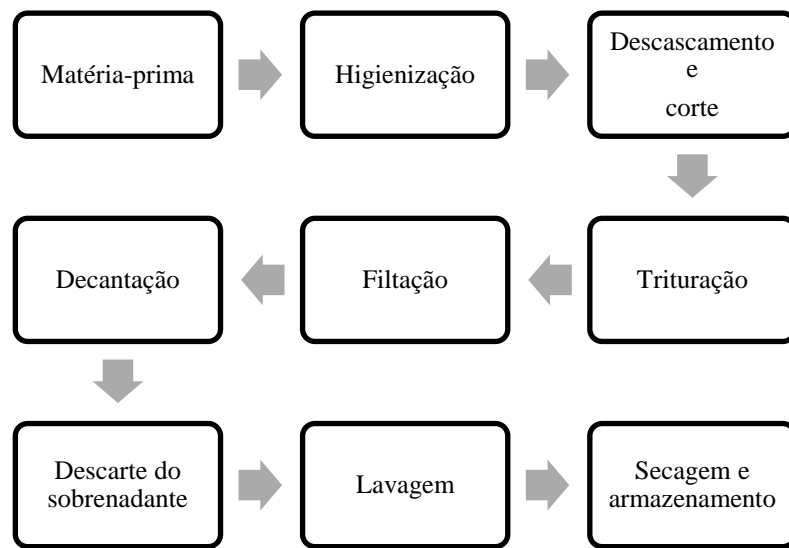


Figura6. Fluxograma das etapas de extração do amido

4.3 Determinação do rendimento do amido

O rendimento de extração do amido de *D. alata* e *D. altissima* foi realizado com base na relação entre o peso inicial dos tubérculos e o peso do produto final, calculado pela equação 1. Os resultados foram expressos em g/100g (PASCOAL, 2014).

Equação 1:

$$\text{Rendimento de extração (\%)} = 100 \times \frac{\text{Peso do amido extraído}}{\text{Peso dos tubérculos}}$$

4.4 Determinação do teor de amido

A determinação do amido foi realizada conforme o método descrito por Walter et al. (2005). As amostras foram hidrolisadas utilizando α -amilase e amiloglucosidase (Sigma[®]) e em seguida, foi efetuada a determinação de açúcares redutores pelo método DNS (Ácido 3,5-dinitrosalicílico) (MILLER, 1959). Os conteúdos de amido disponível (AD) e amido resistente (AR) foram calculados multiplicando o resultado final por 0,9. O teor de amido total (AT) foi determinado pela soma dos teores de AD e AR.

4.5 Determinação do teor de amilose e amilopectina

O conteúdo de amilose foi determinado segundo método colorimétrico proposto por Martinez e Cuevas (1989). Uma curva padrão foi preparada utilizando solução de amilose

(4mg/mL). Após 30 minutos da adição de iodo/iodeto de potássio 0,2% (p/v), a leitura foi realizada a 590 nm em espectrofotômetro de duplo feixe (Agilent Technologies Cary 60[®]). Os valores de absorvância obtidos foram multiplicados pelo fator de conversão para quantificação do teor de amilose nas amostras de amido desengorduradas. O teor de amilopectina foi determinado por diferença [100 - amilose (%)].

4.6 Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)

A observação dos grânulos de amido quanto à forma e tamanho foi realizada por Microscopia Eletrônica de Varredura (Quanta 250 FEI Company[®]), em diferentes magnitudes. Nesta análise, 1g de amido foi diluído em 10 mL de álcool etílico 100% e colocadas duas gotas no porta-amostra do MEV. Nas análises foi utilizado potencial de aceleração de 15 kV e 20 kV (LEONEL e CEREDA 2002).

4.7 Determinação da característica físico-químicas do amido

4.7.1 Determinação do pH e acidez titulável total

Para determinação do pH foram pesados 10g de amostras e dissolvidas em 100 mL de água destilada. O pH dos amidos foi aferido em medidor de pH digital (PHTEK, PHS-3E[®]) pré calibrado com tampões de pH 4,0 e 7,0. Para determinação da acidez titulável, 5g da amostra foi diluído em 100 mL de água destilada e adicionado 0,3 mL de solução de fenolftaleína 1% (p/v). A titulação foi realizada com solução de hidróxido de sódio (NaOH) 0,1 M, sob agitação constante, até coloração rósea persistente por 30 segundos (IAL, 2008).

4.7.2 Determinação da atividade de água

A atividade da água do amido foi determinada em triplicata por leitura direta utilizando o medidor de atividade água (AQUALab4TEV[®]), a 25 °C.

4.7.3 Determinação da Composição Centesimal

A composição centesimal do amido foi realizada no Laboratório de Tecnologia do Pescado da Universidade Federal do Amazonas (UFAM), de acordo com os procedimentos descritos pela AOAC (2006):

A umidade foi determinada por secagem em estufa a 105°C até peso constante. Proteínas foram quantificadas por método micro Kjeldahl (fator de conversão = 6,25). O

conteúdo de lipídios foi determinado pelo método de Bligh e Dyer (1959). A fração mineral foi estimada por incineração do material em forno de mufla a 550 °C, até peso constante e a determinação de fibras totais foi obtida pela digestão ácido-base, segundo o método de Weende (1864). Os carboidratos totais foram estimados por diferença (100 g - gramas totais de umidade, proteína, cinzas, lipídios e fibras) e energia total foi calculada utilizando o fator de conversão de Atwater (NEPA de 2006).

4.7.4 Determinação de macro e micronutrientes

A determinação dos minerais foi realizada pelos métodos descritos pela Embrapa (2009). O teor de fósforo foi determinado por Espectrofotometria com azul de molibdênio. Cálcio, magnésio, potássio, cobre, ferro, manganês e zinco foram quantificados por Espectrofotometria de absorção atômica. Os valores de macronutrientes (Ca, P, Mg, K) foram calculados em g Kg⁻¹ e os dos micros (Fe, Cu, Mn e Zn) em mg Kg⁻¹.

4.8 Análise das propriedades tecnológicas do amido

4.8.1 Determinação da capacidade de absorção de água

A capacidade de absorção de água foi determinada pelo método citado por Beuchatetal. (1977). Nesta avaliação, em cada tubo do de ensaio de 25 mL foi pesado um grama de amostra e adicionado 10 mL de água. As suspensões foram mantidas por 60 minutos, a 25 °C para posterior centrifugação por 30 minutos. Após decantação do sobrenadante a amostra foi novamente pesada. A alteração do peso da amostra foi expressa em absorção de água (%) com base no peso da amostra original.

4.8.2 Determinação da capacidade de absorção de óleo

A determinação da capacidade de absorção de óleo foi realizada conforme o método de Sosulski (1962). Nesta análise, em cada tubo de ensaio de 25 mL foi pesado um grama de amostra e adicionado 10 mL de óleo de soja com densidade de 0,98 gm⁻¹. As amostras foram homogeneizadas com espátula de aço inoxidável, seguido de centrifugação por 15 minutos. Após sedimentação, a amostra foi novamente pesada e a capacidade de absorção de óleo da amostra expressa como ganho de massa de óleo ligado em porcentagem.

4.8.3 Determinação da capacidade de inchamento

A capacidade de inchamento foi determinada de acordo com o método descrito por Leach et al. (1959). Em cada tubo de ensaio foi adicionado um grama da amostra e 10 mL de água destilada. Esta mistura foi mantida a 80 °C por 30 minutos, sob agitação. Após atingir a temperatura ambiente, as amostras foram centrifugadas por 15 minutos. O sobrenadante foi descartado e o peso da amostra aferido. O poder de inchamento foi determinado como o peso da pasta dividido pelo peso da amostra seca.

4.8.4 Determinação da densidade aparente

A densidade foi determinada em triplicata pelo método de Narayana e Narasinga-Rao (1982). Em cada proveta foi pesado 50 g de amostra e pressionadas continuamente até que não houvesse mais nenhuma alteração no volume. A diferença de peso e volume final da amostra foi determinada na proveta. A densidade aparente foi calculada em g/mL da amostra.

4.8.5 Determinação da capacidade e estabilidade da espuma

A capacidade de espuma (FC) e a estabilidade da espuma (FS) foram determinadas de acordo com Narayana e Narasinga-Rao (1982). Em cada proveta de 100 mL foram adicionados dois gramas de amostra e 50 mL de água destilada a 30 °C. A suspensão foi misturada e devidamente agitada para formação da espuma durante 30 segundos. O FC foi expresso em porcentagem considerando o aumento do volume da espuma na proveta. O volume de espuma foi registrado após 1 hora da agitação para determinar o FS como porcentagem do volume inicial de espuma.

4.8.6 Claridade da pasta

A claridade da pasta foi determinada segundo Craig et al. (1989), utilizando suspensões de amido (1% p/v) em 10 mL de água destilada. A suspensão foi gelatinizada em banho-maria, com homogeneização a cada 5 minutos, durante 30 minutos. A solução foi resfriada à temperatura ambiente e a transmitância (%T) determinada a 650 nm.

4.9 Teste de toxicidade *in vitro* do amido

Todos os testes de toxicidade foram realizados no Laboratório de Atividade Biológica, da Faculdade de Ciências Farmacêuticas da Universidade Federal do Amazonas.

Neste estudo foram utilizados fibroblastos humanos (MRC5) mantidos em garrafas de cultura contendo meio de cultivo *Dulbecco's Modified Eagle Medium* (DMEM)

suplementado com Soro Fetal Bovino (SFB) 10% (p/v) e antibiótico Ampicilina-Estreptomicina 1% (p/v). As células foram acondicionadas em estufa com 5% de CO₂, a 37° C.

A citotoxicidade dos amidos foi avaliada de acordo com a metodologia descrita por Ahmed, Cogal e Walsh (1994). Neste teste, a resazurina de cor azul e não fluorescente, é reduzido a resofurina, de cor rosa e fluorescente, pelas células viáveis. As células foram transferidas para placas com 96 poços na concentração de $0,5 \times 10^4$ células por poço. Esta placa foi mantida em estufa a 37°C com 5% de CO₂ durante 24 horas. Após este período as células foram tratadas na concentração única de 200 µg/ml de extrato dos amidos durante 72 horas. Como controle positivo foi utilizado a doxorrubicina (1720 µM). Os poços controle negativo receberam DMSO (diluente da amostra) a 0,1% (v/v). Três horas antes do final de cada tempo de tratamento foi acrescentado 10 µL do Alamar Blue 0,02% (p/v) e foi realizada a leitura realizada em 465 nm e 540 nm. Os dados foram analisados no programa Graph Pad Prism versão 6.0. As imagens foram capturadas pelo programa Zen 2 da Carl Zeiss Microscópio GmbH Company®.

4.10 Análise da qualidade microbiológica do amido

Nas análises microbiológicas foram avaliadas a presença de Coliformes a 45 °C, *Bacillus cereus* e *Salmonella* sp., de acordo com os padrões microbiológicos para alimentos, estabelecidos pela RDC nº 12 de 02 de janeiro de 2001 (BRASIL, 2001), seguindo as metodologias descritas por Silva et al. (2010).

4.11 Elaboração dos filmes de revestimento

Na produção de filmes o amido extraído de *D. alata* ou *D. altissima* (4% p/v) foi diluído em 100 mL de água destilada. Em seguida foi adicionado glicerol (3% p/v) e esta mistura aquecida a 95°C até a gelatinização. Em seguida, 10 mL dessa solução filmogênica foram transferidos para placa de Petri de vidro (140 mm X 150 mm), mantidas a 40 °C em estufa com circulação de ar forçado durante 24 h (FAYAZ et al., 2009).

4.12 Caracterização dos filmes

4.12.1 Análise visual dos filmes de revestimento

Após secagem, a análise visual dos filmes de amido de *D. alata* e *D. altissima* foi realizada quanto aos aspectos subjetivos, como facilidade de retirada das placas, presença ou ausência de rachaduras e maleabilidade (COSTA et al., 2017).

4.12.2 Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)

A Microscopia Eletrônica de Varredura dos filmes de amido de *D. alata* e *D. altissima* foi realizada na Central Experimental Multiusuário, da Universidade Federal do ABC – UFABC, Campus Santo André, utilizando um microscópio eletrônico de varredura compacto JSM-6010LA (JEOL, Akishima, Japão). As amostras foram fixadas no porta-amostra com fita adesiva dupla face. Nas análises foram utilizados potencial de aceleração de 15 kVe 20 kV (LEONEL e CEREDA 2002).

4.12.3 Microscopia de Força Atômica (AFM)

A análise em Microscopia de Força Atômica dos filmes de amido de *D. alata* e *D. altissima* foi realizada na Central Experimental Multiusuário, da Universidade Federal do ABC – UFABC, campus Santo André, utilizando o equipamento AFM/SPM 5500 Dynamics (Agilent Technologies, Santa Clara, EUA), com frequência de ressonância da ponta de 320 kHz e força constante de 42 N/m. Um fragmento dos filmes foi adicionado a um *cantilever* comercial de sílica e seca por evaporação a 25 °C para realização das análises. As imagens obtidas foram tratadas usando o *software* WSxM v. 5.0 (HORCAS E FERNÁNDEZ, 2007). Foram utilizados os valores de rugosidade quadrática média (RMS), definida como o desvio padrão dos valores de elevação z, dentro da área determinada. Várias áreas de cada uma das amostras foram examinadas e selecionadas imagens representativas.

4.12.4 Difração de Raios-X (DRX)

A análises de Difração de Raios-X dos filmes de amido de *D. alata* e *D. altissima* foram realizadas no Centro de Ciências Naturais e Humanas, da Universidade Federal do ABC – UFABC, campus Santo André, utilizando o difratômetro STADI-P (Stoe & Cie GmbH, Darmstadt, Alemanha) com anôdo de molibdênio ($\text{MoK}_{\alpha 1}$, $\lambda = 0,7093 \text{ \AA}$). A análise foi realizada a 25 °C, sob corrente 40 mA e tensão de 50 kV. Os fótons de raios-X foram capturados por um detector Mythen 1K (Dectris Ltd., Baden-Daettwil, Suíça). Os dados foram obtidos por varredura 2θ de 5 a 60 °, e velocidade de varredura de $0,471 \text{ }^\circ \cdot \text{min}^{-1}$.

4.12.5 Espectroscopia de infravermelho com transformada de Fourier (FTIR)

A análise em Espectroscopia no Infravermelho com Transformada de Fourier (FTIR) permite identificar moléculas funcionais presentes na estrutura dos filmes poliméricos

(MERGEN, 2004). Este método de caracterização dos filmes de amido de *D. alata* e *D. altissima* foi realizado na Central Experimental Multiusuário, da Universidade Federal do ABC – UFABC, campus Santo André, utilizando o espectrofotômetro Cary 630 (Agilent Technologies, Santa Clara, EUA), na faixa de comprimento entre 700 a 4000 cm^{-1} , com resolução de 7 cm^{-1} .

4.12.6 Determinação da umidade dos filmes

A umidade dos filmes de *D. alata* e *D. altissima* foi determinada por secagem em estufa a 105 °C até obtenção do peso constante (AOAC, 2006).

4.12.7 Determinação da solubilidade em água dos filmes

A solubilidade em água dos filmes foi determinada de acordo com o método de Gontard et al. (1994). Os filmes de umidade conhecida foram recortados em formato circular de 2 cm de diâmetro, pesados em balança analítica. Em seguida, os discos foram adicionados em Erlenmeyer com 50 mL de água destilada, sob agitação a 26 °C, por 24 h. Após 24h, as amostras foram removidas da água e secas em estufa a 105 °C, por 4 horas e pesadas em balança analítica. A solubilidade foi calculada conforme a equação 2.

Equação 2:

$$\%MS = \frac{PI - PF}{PI} \times 100$$

Onde: %MS = Porcentagem de material seco solubilizado;

PI = Peso inicial do material seco;

PF = Peso final do material seco não solubilizado.

4.12.8 Determinação da gramatura

A gramatura foi determinada pela razão entre a massa do filme/diâmetro e o resultado expresso em g/m^2 (COSTA et al., 2017).

4.13 Filmes a base de amido de *D. altissima* incorporado com AgNPs

4.13.1 Obtenção das nanopartículas de prata

As soluções de AgNPs utilizadas na preparação dos filmes à base de amido de *D. altissima* foram cedidas do Banco de Nanopartículas, da Coleção de Culturas DPUA/UFAM

biossintetizadas utilizando *Streptomyces parvulum* DPUA 1549. As AgNPs intermediadas por esses microrganismos foram escolhidas por expressarem atividade antimicrobiana significativa, citado por Silva-Vinhote et al. (2017).

4.13.2 Elaboração dos filmes de revestimento

Na produção de filmes incorporados com AgNPs, amido de *D. altissima* (4% p/v) foi diluído em 100 mL de água destilada. Em seguida foi adicionado glicerol (3% p/v) e aquecido a 95 °C até a gelatinização. Após resfriamento foram adicionadas as AgNPs com concentração final de 2 µg/mL. Um volume de 10 mL dessa solução filmogênica foi transferido para uma placa de Petri (140 mm X 150 mm), mantidas a 40 °C em estufa com circulação de ar forçado durante 24 h. Dois tipos de filmes foram produzidos: filme padrão (formulado somente com o amido de *D. altissima* e glicerol), filme teste (incorporados com AgNPs). Os filmes foram armazenados em recipientes de vidro com tampa hermética para as demais análises (FAYAZ, et al., 2009; PAGNO et al., 2015).

4.13.3 Caracterização dos filmes

Os filmes padrão e teste foram caracterizados em MEV, AFM, DRX E FTIR. Umidade, solubilidade e gramatura foram determinadas de acordo com o item 4.12. Além das análises descritas no item 4.12, também foram realizadas as análises a seguir.

4.13.3.1 Determinação da espessura dos filmes de revestimento

A espessura dos filmes foi determinada utilizando um paquímetro digital. Em cada filme foram feitas 10 medidas em diferentes posições e os resultados expressos em média (SOBRAL, 1999).

4.13.3.2 Determinação da permeabilidade ao vapor de água

A permeabilidade ao vapor de água foi determinada de acordo com método gravimétrico E96/E96 da ASTM (ASTM, 2010), 25 °C. Os filmes foram cortados na forma de discos e selados com parafina em cápsulas de permeação contendo cloreto de cálcio anidro previamente seco em estufa com circulação de ar forçado, a 200 °C. As cápsulas de permeação foram mantidas em dessecadores contendo solução salina saturada de cloreto de sódio (umidade relativa 75%). O vapor de água transferido através do filme foi determinado

pelo ganho de massa no sistema. Durante as duas primeiras horas de análise as amostras foram pesadas a cada 30 minutos. Nas oito horas seguintes as pesagens foram realizadas a cada duas horas. A última aferição de peso foi realizada após 24 horas do início da análise. A taxa de permeabilidade ao vapor de água (TVA) e a permeabilidade ao vapor de água (PVA) foram calculadas de acordo com as equações 3 e 4, respectivamente.

Equação 3:

$$TVA = \frac{g/t}{A}$$

Onde:

TVA = Taxa de permeabilidade ao vapor de água (g/h.m²);

g/t = Coeficiente angular da reta;

A = Área de permeação.

Equação 4:

$$PVA = TVA \cdot x / \Delta P$$

Onde:

PVA = Permeabilidade ao vapor de água (gmm/h.m²kPa);

x = espessura média do filme (mm);

ΔP = Diferença de pressão de vapor do ambiente (kPa) contendo cloreto de cálcio anidro (0% de UR) e solução saturada de NaCl (75% de UR).

4.13.3.3 Quantificação de prata total nos filmes (ICP-MS)

A análise por ICP-MS permite a quantificação de prata total (Ag) presente nos filmes, sendo realizada em espectrofotômetro ICP-MS 7900 (Agilent Technologies Inc., Hachioji, Japão) do Centro de Ciências Naturais e Humanas, da Universidade Federal do ABC – UFABC, Campus Santo André. Para a análise, as amostras foram digeridas a 90 °C por quatro horas, em ácido nítrico 98 % (v/v) (ROLIM et al., 2019).

4.13.3.4 Determinação da atividade antimicrobiana dos filmes de revestimento

A atividade antimicrobiana dos filmes incorporados com AgNPs foi determinada pelo método de difusão em ágar, frente a três microrganismos testes: *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Escherichia coli* CBAM 001 e *Candida albicans* DPUA 1706. Para as análises, as bactérias foram cultivadas em ágar Mueller-Hinton (MHA) e *C. albicans* em ágar Sabouraud (SAB) a 37 °C, por 24 h. Desses cultivos, foram retirados inóculos com uma alça de platina calibrada ($\varnothing = 4$ mm) e transferidos para 5 mL de água destilada esterilizada em tubos de ensaios. As suspensões celulares foram homogeneizadas em agitador de tubos e padronizadas em espectrofotômetro UV-Vis nas faixas de 0,08-0,1 a 540 nm para bactérias, e 0,12-0,15 a 625 nm para leveduras, correspondendo às concentrações de 10^8 UFC/mL e 10^5 UFC/mL, respectivamente. Um volume de 100 μ L das suspensões celulares foi transferido para a superfície de MHA e SAB e semeadas com auxílio de uma alça de Drigasliki. Foi utilizado como controle positivo soluções de Estreptomicina 50 μ g/mL para bactérias e de Itraconazol 50 μ g/mL para as leveduras, seguindo-se da aplicação dos discos dos filmes (8 mm). O controle negativo foi realizado com os filmes padrão sem as AgNPs. As placas foram incubadas a 37 °C por 24 h. A atividade antimicrobiana foi expressa em milímetros, medindo-se o diâmetro do halo de inibição (FAYAZ, et al., 2009; PRADO et al., 2017).

4.14 Revestimento dos alimentos com os filmes

4.14.1 Obtenção e sanitização dos frutos

O camu-camu [*Myrciaria dubia* (Kunth) McVaugh] proveniente do lago do Iripixi, localizado na cidade de Oriximiná-Pará. Os frutos foram sanitizados utilizando solução de hipoclorito 1% (v/v) por 20 minutos, seguido de lavagem com água corrente para retirada do excesso de hipoclorito (RODRIGUES et al., 2011). Os frutos foram classificados de acordo com o grau de maturação 1, 2, 3 e 4. Para as análises de revestimento, foram escolhidos os frutos no estágio 2.

4.14.2 Revestimento dos frutos

Os frutos foram completamente imersos por duas vezes consecutivas nas soluções filmogênicas durante 5 segundos a 25 °C. Em seguida, os frutos revestidos com o filme padrão (formulado somente com amido e glicerol), os frutos revestidos com o filme teste

(incorporado com AgNPs) e os frutos controle (sem filme de revestimento) foram mantidos sob refrigeração (5 ± 2 °C), durante 12 dias (FAYAZ, 2009).

4.14.3 Análise visual dos frutos após armazenamento refrigerado

Após 12 dias os frutos foram avaliados quanto a sua aparência, injúrias, presença ou ausência de fungos (NEVES et al., 2002).

4.14.4 Composição centesimal dos frutos com e sem revestimento

Após 12 dias a composição centesimal dos frutos sem filme, dos frutos revestidos com filme padrão (sem AgNPs) e dos frutos revestidos com filme teste (incorporado com AgNPs) foi realizada de acordo com o item 7.3.

4.14.5 Determinação do pH e acidez titulável expressa em ácido cítrico

Nos dias 1, 4, 8 e 12 foi realizado a determinação do pH e acidez titulável. Para determinação do pH foram pesados 10g de amostras e dissolvidas em 100 mL de água destilada. O pH dos amidos foi aferido em medidor de pH digital (PHTEK, PHS-3E®) pré calibrado com tampões de pH 4,0 e 7,0. Para determinação da acidez titulável, 5g da amostra foram diluídos em 100 mL de água destilada e adicionado 0,3 mL de solução de fenolftaleína 1% (p/v). A titulação foi realizada com solução de hidróxido de sódio (NaOH) 0,1 M, sob agitação constante, até coloração rósea persistente por 30 segundos (IAL, 2008).

Equação:

$$\frac{V \times F \times M \times PM}{10 \times P \times N}$$

Onde:

V = volume da solução de hidróxido de sódio gasto na titulação em mL

M = molaridade da solução de hidróxido de sódio

P = massa da amostra em g ou volume pipetado em mL

PM = peso molecular do ácido cítrico em gramas (192);

n = número de hidrogênios ionizáveis (3);

F = fator de correção da solução de hidróxido de sódio

4.14.6 Determinação de sólidos solúveis totais expressos em graus Brix

O teor de sólidos solúveis, expresso em graus Brix (°Brix), foi determinado por leitura direta em refratômetro analógico portátil de escala dupla, marca Incoterm, conforme normas analíticas do Instituto Adolfo Lutz (IAL, 2008) nos dias 1, 4, 8 e 12.

4.14.7 Determinação da perda de peso

Os frutos foram pesados em balança analítica nos dias 1, 4, 8 e 12, para cálculo de perda de massa (FAKHOURI et al., 2007).

4.14.8 Análise microbiológica

A análise microbiológica dos frutos foi realizada nos dias 1, 4, 8 e 12 para avaliar a presença de Coliformes a 45°C, *Escherichia coli*, *Salmonella* sp. e presença de fungos unicelulares e filamentosos, estabelecidos pela RDC nº 12 de 02 de janeiro de 2001 (BRASIL, 2001), seguindo as metodologias descritas por Silva et al. (2010).

4.14.9 Determinação de prata residual nos frutos revestidos com filmes incorporados com nanopartículas por DRX

A detecção de prata residual nos frutos foi realizada por difração de raio X. As análises foram feitas em difratômetro Shimadzu, modelo XRD7000, operando com radiação CuK- α ($\lambda = 1,54060 \text{ \AA}$), tensão de 40 kV, corrente de 30 mA, velocidade de varredura 2° min^{-1} e região de 2θ entre 5 e 90° . Essa técnica possibilita a criação de difratogramas referentes à estrutura cristalina da amostra devido a sua distância interatômica. É uma das técnicas mais utilizadas na caracterização de nanomateriais, pois os picos formados podem confirmar a presença de prata metálica.

5. ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os dados dos experimentos realizados em triplicata foram submetidos à análise estatística descritiva (Tabelas, gráficos e distribuição de frequência em classes), de variância e as médias comparadas pelo teste de Tukey (5%), utilizando o *software* Minitab® versão 16.0.

6. RESULTADOS

Capítulo 1 – Pedido de registro de propriedade intelectual;

Capítulo 2 – Artigo publicado no Boletim do Museu Paraense Emílio Goeldi. Ciências Naturais:

Extração e caracterização de amido de espécies de *Dioscorea* cultivadas na Amazônia;

Capítulo 3 – Artigo a ser submetido:

Filmes de revestimento biodegradáveis formulados com amido de *Dioscorea alata*;

Capítulo 4 – Artigo a ser submetido:

Filmes de revestimento com amido de *Dioscorea altissima* incorporado com nanopartículas de prata para conservação de alimentos;

Capítulo 5 – Artigo a ser submetido:

Conservação de camu-camu com filme de revestimento de amido de *Dioscorea altissima* incorporado com nanopartículas de prata.

Capítulo 1

Pedido de registro de propriedade intelectual



Poder Executivo
Ministério da Educação
Universidade Federal do Amazonas
Pró-Reitoria de Inovação Tecnológica

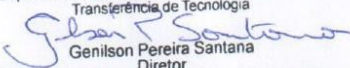


DECLARAÇÃO

Declaro para os devidos fins que **Maria Francisca Simas Teixeira** deu entrada no dia 20/09/2019 nesta Pró-Reitoria de Inovação Tecnológica, no pedido de patente intitulado "**FILMES E REVESTIMENTO COM POLISSACARÍDEO DE TUBÉRCULOS DE PLANTA NÃO CONVENCIONAL NATIVA DA REGIÃO AMAZÔNICA**" para ser submetido ao processo de análise com a finalidade de solicitação de proteção do pedido de patente junto ao Instituto Nacional de Propriedade Industrial – INPI.

Os outros inventores são **Larissa Svetlana Cavalcante Silva, Salomão Rocha Martim, Taciana de Amorim Silva e Nély Mara Vinhote Marinho.**

25 de setembro de 2019

UNIVERSIDADE FEDERAL DO AMAZONAS
Pró-reitoria de Inovação Tecnológica
Dept Gestão de Inovação, Propriedade Intelectual
Transferência de Tecnologia

Genilson Pereira Santana
Diretor
GENILSON PEREIRA SANTANA
Diretor do DPITEC

Capítulo 2

Artigo publicado no Boletim do Museu Goeldi. Ciências Naturais.

Bol. Mus. Para. Emílio Goeldi. Cienc. Nat., Belém, v. 14, n. 3, p. 439-452, set.-dez. 2019

Extração e caracterização de amido de espécies de *Dioscorea* cultivadas na Amazônia Extraction and characterization of starch from *Dioscorea* species cultivated in the Amazon

Larissa Svetlana Cavalcante Silva¹  | Salomão Rocha Martim¹  | Raiane Aila Teixeira de Souza¹ 
Ana Rita Gaia Machado¹  | Loris Simas Teixeira¹  | Leilane Bentes de Sousa¹ 
Marne Carvalho de Vasconcellos¹  | Maria Francisca Simas Teixeira¹ 

¹Universidade Federal do Amazonas. Manaus, Amazonas, Brasil

²Faculdade Estácio do Amazonas. Manaus, Amazonas, Brasil

Resumo: Considerando-se o desenvolvimento de produtos utilizando matéria-prima regional, foram extraídos e caracterizados os amidos de *Dioscorea alata* L. e *D. altissima* Lam. Os parâmetros analisados foram rendimento, composição, morfologia e tamanho dos grânulos, composição físico-química, propriedades tecnológicas, toxicidade *in vitro* e análise microbiológica. Rendimento significativo (8,57%) foi observado em *D. altissima*. Amido disponível (75,02%), total (84,63%) e amilose (19,15%) foram maiores em *D. alata*. Amido resistente (10,10%) e amilopectina (82,09%) foram superiores em *D. altissima*. O pH e a acidez não variaram entre as amostras. A atividade de água foi menor em *D. alata*. Baixos teores de umidade, cinzas, lipídios, proteínas, fibras e alto conteúdo de carboidratos foram determinados. Os amidos não apresentaram citotoxicidade e nem contaminação microbiana. Os grânulos do amido de *D. altissima* são esféricos e significativamente maiores. Nos amidos de *D. alata* e de *D. altissima*, predominam, respectivamente, macro e microminerais. Absorção de água (85,73 g 100g⁻¹), óleo (67,13 g 100g⁻¹), estabilidade da espuma (100%) e clareza da pasta (2,87%) foram maiores em *D. alata*. A capacidade de inchamento (4,07 g g⁻¹) e a densidade aparente (0,87g mL⁻¹) foram superiores em *D. altissima*. Os amidos estudados possuem propriedades tecnológicas com potencial para a indústria de alimentos e para a produção de embalagens.

Palavras-chave: Grânulos. Inhamo. Propriedades tecnológicas. Tubérculos.

Abstract: Considering the development of products using regional raw materials, the starches of *Dioscorea alata* L. and *D. altissima* Lam. were extracted and characterized. The parameters analyzed were: yield, composition, morphology and size of the granules, physicochemical composition, technological properties, *in vitro* toxicity, and microbiological analysis. A significant yield (8.57%) was observed in *D. altissima*. Available starch (75.02%), total (84.63%) and amylose (19.15%) were higher in *D. alata*. Starch resistant (10.10%) and amylopectin (82.09%) were superior in *D. altissima*. pH and acidity did not vary between samples. Water activity was lower in *D. alata*. Low moisture, ash, lipid, protein, fiber, and high carbohydrate contents were observed. The starches did not present cytotoxicity or microbial contamination. The granules of *D. altissima* starch are spherical and significantly larger. In *D. alata* and *D. altissima* starches, macro- and microminerals are predominant, respectively. Water absorption (85.73 g 100 g⁻¹), oil (67.13 g 100 g⁻¹), foam stability (100%), and pulp clarity (2.87%) were higher in *D. alata*. The swelling capacity (4.07 g g⁻¹) and bulk density (0.87 g mL⁻¹) were higher in *D. altissima*. The studied starches have technological properties with potential for the food industry, medicines and packaging.

Keywords: Granules. Yams. Technological properties. Tubers.

SILVA, L. S. C., S. R. MARTIM, R. A. T. SOUZA, A. R. G. MACHADO, L. S. TEIXEIRA, L. B. SOUSA, M. C. VASCONCELLOS & M. F. S. TEIXEIRA, 2019. Extração e caracterização de amido de espécies de *Dioscorea* cultivadas na Amazônia. **Boletim do Museu Paraense Emílio Goeldi. Ciências Naturais** 14(3): 439-452.

Autora para correspondência: Larissa Svetlana Cavalcante Silva. Universidade Federal do Amazonas. Avenida General Rodrigo Octavio Jordão Ramos, 1200 – Coroado I. Manaus, AM, Brasil. CEP 69067-005 (larissasvetlanas@gmail.com).

Recebido em 25/01/2019

Aprovado em 10/06/2019

Responsabilidade editorial: Fernando da Silva Carvalho Filho



Extração e caracterização de amido de espécies de *Dioscorea* cultivadas na Amazônia

Extraction and characterization of starch from *Dioscorea* species cultivated in the Amazon

Larissa Svetlana Cavalcante Silva^I | Salomão Rocha Martim^I | Raiane Aila Teixeira de Souza^I | Ana Rita Gaia Machado^{II} | Lorisa Simas Teixeira^I | Leilane Bentes de Sousa^I | Marne Carvalho de Vasconcellos^I | Maria Francisca Simas Teixeira^I

^IUniversidade Federal do Amazonas. Manaus, Amazonas, Brasil

^{II}Faculdade Estácio do Amazonas. Manaus, Amazonas, Brasil

Resumo: Considerando-se o desenvolvimento de produtos utilizando matéria-prima regional, foram extraídos e caracterizados os amidos de *Dioscorea alata* L. e *D. altissima* Lam. Os parâmetros analisados foram rendimento, composição, morfologia e tamanho dos grânulos, composição físico-química, propriedades tecnológicas, toxicidade *in vitro* e análise microbiológica. Rendimento significativo (8,57%) foi observado em *D. altissima*. Amido disponível (75,02%), total (84,63%) e amilose (19,15%) foram maiores em *D. alata*. Amido resistente (10,10%) e amilopectina (82,09%) foram superiores em *D. altissima*. O pH e a acidez não variaram entre as amostras. A atividade de água foi menor em *D. alata*. Baixos teores de umidade, cinzas, lipídios, proteínas, fibras e alto conteúdo de carboidratos foram determinados. Os amidos não apresentaram citotoxicidade e nem contaminação microbiana. Os grânulos do amido de *D. altissima* são esféricos e significativamente maiores. Nos amidos de *D. alata* e de *D. altissima*, predominam, respectivamente, macro e microminerais. Absorção de água (85,73g 100g⁻¹), óleo (67,13g 100g⁻¹), estabilidade da espuma (100%) e claridade da pasta (2,87%) foram maiores em *D. alata*. A capacidade de inchamento (4,07 g g⁻¹) e a densidade aparente (0,87g mL⁻¹) foram superiores em *D. altissima*. Os amidos estudados possuem propriedades tecnológicas com potencial para indústria de alimentos e para produção de embalagens.

Palavras-chave: Grânulos. Inhamé. Propriedades tecnológicas. Tubérculos.

Abstract: Considering the development of products using regional raw material, the starches of *Dioscorea alata* L. and *D. altissima* Lam. were extracted and characterized. The parameters analyzed were: yield, composition, morphology and size of the granules, physicochemical composition, technological properties, *in vitro* toxicity and microbiological analysis. The significant yield (8.57%) was observed in *D. altissima*. Available starch (75.02%), total (84.63%) and amylose (19.15%) were higher in *D. alata*. Starch resistant (10.10%) and amylopectin (82.09%) were superior in *D. altissima*. PH and acidity did not vary between samples. Water activity was lower in *D. alata*. Low moisture, ash, lipid, protein, fiber and high carbohydrate contents were observed. The starches did not present cytotoxicity or microbial contamination. The granules of *D. altissima* starch are spherical and significantly larger. In the *D. alata* and *D. altissima* starches, macro and microminerals are predominant, respectively. Water absorption (85.73g 100 g⁻¹), oil (67.13g 100g⁻¹), foam stability (100%) and pulp clarity (2.87%) were higher in *D. alata*. The swelling capacity (4.07g g⁻¹) and bulk density (0.87g mL⁻¹) were higher in *D. altissima*. The studied starches have technological properties with potential for the food industry, medicines and packaging.

Keywords: Granules. Yams. Technological properties. Tubers.

INTRODUÇÃO

O amido, polissacarídeo de reserva vegetal, é constituído de cadeias lineares de amilose e ramificadas de amilopectina, estando presente na forma de grânulos semicristalinos em rizomas, raízes e tubérculos (Andrade *et al.*, 2017; Tao *et al.*, 2018). A proporção de amilose/amilopectina varia de acordo com a fonte botânica, padrão de qualidade que está associado à especificidade estrutural e funcional do amido (Reis *et al.*, 2017; Polesi *et al.*, 2016; Zhang *et al.*, 2018).

As características naturais do amido, tais como biodegradabilidade e não toxicidade, favorecem o uso deste polissacarídeo em setores industriais. Na indústria de alimentos, o amido tem diferentes aplicações tecnológicas para melhorar a textura ou como espessante, estabilizante coloidal, geleificante e para retenção de água (Zhang *et al.*, 2018). Amido, proteínas, lipídios, ou suas misturas, também estão sendo usados para produção de filmes comestíveis ou biodegradáveis, uma estratégia para reduzir o impacto ambiental decorrente do uso de embalagens não degradáveis (Nogueira *et al.*, 2018).

As principais matérias-primas fonte de amido no mundo são milho (52%), mandioca (34%), batata (7%), trigo (5%) e outras fontes (2%) (Felipe *et al.*, 2013). Entre 2016 a 2022, o mercado industrial do amido pode vir a apresentar crescimento de US\$ 106,64 bilhões (Markets and Markets, 2019).

Entre outros vegetais, os tubérculos do gênero *Dioscorea*, alimentos de excelente qualidade nutricional, de importância social e econômica, são fontes promissoras de amido (Otegbayo *et al.*, 2014; Oluwamukomi & Akinsola, 2015; Verter & Becvarova, 2014). Na Amazônia, são cultivadas *D. altissima* Lam. 1789, *D. trifida* L. 1782 e *D. alata* L. 1753, com evidência para produção comercial e consumo local, respectivamente, para *D. trifida* e *D. altissima* (Teixeira *et al.*, 2016).

A estrutura e a morfologia do amido são fatores que influenciam em importantes características funcionais e físico-químicas para as indústrias, como temperatura de gelatinização, retrogradação, solubilidade, poder de inchamento e comportamento reológico de pastas e géis (Valcárcel-Yamani *et al.*, 2013). Nesse sentido, o objetivo deste estudo foi extrair e caracterizar parcialmente o amido de *D. altissima* e *D. alata* cultivadas na Amazônia para potencial utilização industrial.

MATERIAL E MÉTODOS

MATÉRIA-PRIMA

Os tubérculos de *Dioscorea alata* e *D. altissima* analisados neste estudo são provenientes de um cultivo domiciliar localizado no bairro Planalto, na cidade de Manaus, Amazonas (3°03'58,0"S, 60°03'04,2"W). Após colheita, os tubérculos foram armazenados em caixas plásticas e conduzidos ao laboratório de Micologia Industrial e Médica, da Universidade Federal do Amazonas (UFAM). Os tubérculos sem danos físicos e ausentes de contaminação microbiana foram lavados em água corrente, submetidos a assepsia em solução de cloro 2% (v/v), pesados, descascados e, posteriormente, utilizados para extração do amido.

EXTRAÇÃO DO AMIDO

O amido dos tubérculos foi extraído de acordo com o método de Liporacci *et al.* (2005). Após o processo de extração, o amido foi desidratado a 40 °C, em estufa de circulação de ar forçado, por 10 h. Em seguida, a amostra foi embalada em recipiente de vidro com tampa rosqueável até a realização das análises.

DETERMINAÇÃO DO RENDIMENTO E TEOR DE AMIDO

Para o cálculo do rendimento do amido, foi feita a relação entre o peso inicial dos tubérculos utilizados e o peso do produto final, sendo os resultados expressos em g/100g. (Amoo *et al.*, 2014). O teor de amido total foi determinado pelo método DNS (Ácido 3,5 dinitrosalisílico) (Miller, 1959; Walter *et al.*, 2005).

DETERMINAÇÃO DO TEOR DE AMILOSE E AMILOPECTINA

O conteúdo de amilose foi determinado por método colorimétrico, utilizando curva padrão de amilose (4 mg mL⁻¹). A leitura foi realizada a 590 nm e o teor de amilopectina, determinado por diferença [(100 - amilose (%))] (Martinez & Cuevas, 1989).

MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE VARREDURA (MEV)

A forma e o tamanho dos grânulos de amido foram determinados por microscopia eletrônica de varredura (Quanta 250 FEI Company®), em diferentes magnitudes. Para essas análises, um volume de 100 µL das amostras diluídas em álcool etílico P.A (1:10, p/p) foi colocado no porta-amostra do MEV. O potencial de aceleração utilizado foi de 15 kV e 20 kV (Leonel & Cereda, 2002).

DETERMINAÇÃO DAS CARACTERÍSTICAS FÍSICO-QUÍMICAS DO AMIDO

Determinação do pH, acidez e atividade de água

O pH dos amidos foi aferido em medidor de pH digital (PHTEK, PHS-3E). A acidez foi determinada por titulação com solução de NaOH 0,1 mol L⁻¹, utilizando-se solução alcoólica de fenolftaleína 1% (p/v) (IAL, 2008). A atividade de água foi avaliada por leitura direta em medidor de atividade de água (AQUALab 4TEV®), a 25 °C.

Determinação da composição centesimal

A umidade foi determinada por secagem em estufa a 105 °C até obtenção do peso constante (AOAC, 2006). As proteínas foram estimadas de acordo com o método micro Kjeldahl (fator de conversão = 6,25) (AOAC, 2006). A quantificação de lipídios foi verificada por método de Bligh e Dyer. O conteúdo de cinzas foi determinado por incineração do material em forno de mufla, a 550°C (AOAC, 2006). O quantitativo de fibras totais foi obtido por digestão ácido-base, segundo o método de Weende (AOAC, 2006). Os carboidratos totais foram estimados por diferença das demais frações centesimais e energia total calculada utilizando o fator de conversão de Atwater (NEPA, 2006).

Determinação de macro e microminerais

A determinação dos minerais foi realizada pelos métodos descritos em EMBRAPA (2009). O teor de fósforo foi determinado por espectrofotometria com azul de molibdênio. Cálcio, magnésio, potássio, cobre, ferro, manganês e zinco foram quantificados por espectrofotometria de absorção atômica. Os valores de macronutrientes (Ca, P, Mg, K) foram calculados em g kg⁻¹, e os dos micronutrientes (Fe, Cu, Mn e Zn), em mg kg⁻¹.

Análise das propriedades tecnológicas do amido

A capacidade de absorção de água foi determinada pelo método de Beuchat *et al.* (1977). A alteração do peso da amostra foi expressa em absorção de água (%), com base em seu peso original. O método de Sosulski (1962) foi utilizado para a determinação da capacidade de absorção de gordura, e os resultados foram expressos como ganho de massa de óleo, ligado em porcentagem (%). A capacidade de inchamento foi determinada pela razão entre o peso do sedimento e o peso da amostra seca (Leach *et al.*, 1959). A densidade foi determinada pelo método de Narayana & Narasinga-Rao (1982), e a densidade aparente foi calculada em g/mL em relação à amostra. A capacidade e a estabilidade da espuma também foram determinadas

de acordo com Narayana & Narasinga-Rao (1982), e os resultados foram expressos em porcentagem. A claridade da pasta foi avaliada segundo a metodologia descrita por Craig *et al.* (1989), com a transmitância (%T) determinada a 650 nm.

Teste de toxicidade *in vitro* do amido

A citotoxicidade dos amidos foi avaliada de acordo com a metodologia descrita por Ahmed *et al.* (1994), utilizando-se fibroblastos humanos (MRC5).

Análise da qualidade microbiológica do amido

Nas análises microbiológicas, foram avaliadas a presença de coliformes a 45 °C de *Bacillus cereus* Frankland & Frankland 1887 e *Salmonella* sp., de acordo com os padrões microbiológicos para alimentos, estabelecidos pela Resolução de Diretoria Colegiada n. 12, de 2 de janeiro de 2001 (Brasil, 2001; Silva *et al.*, 2010).

Análise estatística

Os dados dos experimentos realizados em triplicata foram submetidos à análise estatística descritiva (tabelas, gráficos e distribuição de frequência em classes). A análise de variância e as médias foram comparadas pelo teste de Tukey (5%), utilizando-se o programa Minitab versão 16.0.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

DETERMINAÇÃO DO RENDIMENTO E TEOR DE AMIDO

A matéria-prima vegetal, o método de extração e a composição do solo são fatores que influenciam diretamente no rendimento do processo extrativo do amido (Nunes *et al.*, 2009). Neste estudo, em média, os valores de rendimento dos amidos extraídos de *D. altissima* e *D. alata* foram 8,57 e 7,76%, respectivamente, dados significativamente diferentes. Liporacci *et al.* (2005) obtiveram resultado similar para *D. alata* (7,12%). Outros dados da literatura mostraram rendimentos de 9,30% e 13,96% para *D. alata* e *Dioscorea* sp. L. 1753, respectivamente (Durango *et al.*, 2009; Reis *et al.*, 2010). As diferenças nos rendimentos dos processos extrativos de *D. alata* e *D. altissima* podem ser explicadas devido às características morfológicas das espécies. Os tubérculos de *D. alata* (Figura 1) possuem formas mais irregulares quando comparados a *D. altissima* (Figura 2), condição física que dificulta a etapa de descascamento, levando à diminuição do rendimento do amido (De Paula *et al.*, 2012).



Figura 1. Características morfológicas de tubérculos de *D. alata*.



Figura 2. Características morfológicas de tubérculos de *D. altissima*.

A utilização de amido proveniente de tubérculos do gênero *Dioscorea* ainda é pouco popularizada, em razão de a extração ser dificultada pela presença de mucilagem, o que aumenta a viscosidade e atrapalha a etapa de peneiramento (Reis *et al.*, 2010).

Os resultados da determinação de amido disponível, resistente e total estão descritos na Tabela 1. No presente estudo, foi verificada diferença significativa entre os teores de amido das amostras avaliadas. Em *D. altissima*, o teor de amido resistente (10,10%) foi superior quando comparado aos valores de *D. alata* (9,60%). Nesse contexto, *D. alata* destacou-se como fonte de amido total (84,63%) e disponível (75,02%).

Moongnarm (2013) verificou valores de 57,40%, 23,25% e 19,46% para os amidos total, resistente e não resistente, respectivamente, em relação a *D. alata*. Aprianita *et al.* (2009) apresentou valores de amido resistente (68,50%) e não resistente (13,48%) para *D. alata*. Awolu & Olofinlae (2016) encontraram valor 47,39% superior de amido resistente em *D. alata*. As diferenças entre as concentrações dos tipos de amido em espécies de *Dioscorea* estão relacionadas com o formato e o tamanho dos grânulos de amidos, que influenciam na ação da α -amilase (Freitas & Tavares, 2005).

Tabela 1. Teores de amido disponível, resistente e total extraídos de *D. alata* e *D. altissima*. Médias que não compartilham uma letra são significativamente diferentes pelo Teste de Tukey ($p < 0.05$)/(±).

	Amido disponível (%)	Amido resistente (%)	Amido total (%)
<i>D. alata</i>	75,02 ± 0,97 ^a	9,60 ± 0,04 ^b	84,63 ± 0,89 ^a
<i>D. altissima</i>	69,92 ± 0,58 ^b	10,10 ± 0,07 ^a	80,02 ± 0,53 ^b

DETERMINAÇÃO DO TEOR DE AMILOSE E AMILOPECTINA

As principais moléculas presentes no amido são amilose e amilopectina. A concentração de amilose em amidos nativos varia de 11 a 30%, enquanto a amilopectina está presente em maior quantidade no grânulo. A proporção desses dois polímeros depende diretamente da espécie, das condições de cultivo e da estação do ano em que foi plantado o tubérculo (Hoover *et al.*, 2010). No presente artigo, os teores de amilose e amilopectina variaram significativamente entre os amidos avaliados (Tabela 2). O conteúdo de amilose em *D. alata* (19,15%) foi superior ao encontrado em *D. altissima* (17,91%). Valores semelhantes de amilose (17,67% e 17,61%) foram observados por Jiang *et al.* (2012) em amidos de *D. nipponica* Makino 1891 e *D. bulbifera* L. 1753, respectivamente. Andrade *et al.* (2017) verificaram teores de amilose de 37,46% em amidos de *Dioscorea* sp. Riley *et al.* (2006) relataram que, em amidos de *D. alata*, a concentração de amilose variou de 20 a 23%. O conhecimento do conteúdo de amilose presente nos grânulos de amido é importante para a indústria de embalagens, já que, na retrogradação, as moléculas de amilose tendem a estabelecer ligações de hidrogênio entre si, diminuindo a afinidade pela água e formando filmes resistentes (Mali *et al.*, 2010; Reis *et al.*, 2010).

Os teores de amilopectina em *D. altissima* e *D. alata* foram 82,09% e 80,84%, respectivamente. Alobi *et al.* (2017) e Otegbayo *et al.* (2011) verificaram concentrações de 84,60% e 71,44% em amidos de *D. villosa* L. 1753 e *D. alata*, respectivamente. Amoo *et al.* (2014) observaram que, em amidos de variedades de *D. rotundata* Poiret 1813, a concentração de amilopectina variou de 72,52% a 68,45%. Amidos contendo elevado teor de amilopectina são usados na indústria de beneficiamento da celulose para fabricação de papel e de etiquetas adesivas, pois as suas propriedades anticorrosivas mantêm a integridade do rótulo quando exposto a condições úmidas. Os amidos cerosos, constituídos por quantidades elevadas de amilopectina, são amplamente utilizados na indústria de alimentos, pois produzem géis altamente transparentes, mais resistentes às etapas de congelamento-

descongelamento quando comparados com géis de amido contendo amilose (Ahmed *et al.*, 2014; Vamadevan & Bertoft, 2015).

Tabela 2. Teores de amilose e amilopectina dos amidos de *D. alata* e *D. altissima*. Médias que não compartilham uma letra são significativamente diferentes pelo Teste de Tukey ($p < 0.05$)/(±).

Amido	Amilose (%)	Amilopectina (%)
<i>D. alata</i>	19,15± 0,01 ^a	80,84± 0,01 ^b
<i>D. altissima</i>	17,91± 0,01 ^b	82,0± 0,01 ^a

MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE VARREDURA (MEV)

A microscopia eletrônica de varredura mostrou que os amidos observados possuem tamanhos diferenciados e estrutura lisa. Os grânulos de *D. alata* apresentaram formato poliédrico, com tamanho entre 16 a 29 μm (Figura 3), enquanto os de *D. altissima* são esféricos e medem de 24 a 33 μm (Figura 4). Andrade *et al.* (2017) relataram que os grânulos de *Dioscorea* sp. possuem forma elíptica e tamanho variando de 15,51 a 30,47 μm . De Paula *et al.* (2012) verificaram que os grânulos de *D. alata* são ovais, circulares e achatados, com diâmetro de 19 a 27 μm . Pérez *et al.* (2011) relataram que os amidos de *D. trifida* são ovais ou em forma de concha, e apresentam tamanho variando de 42,90 a 50,10 μm . O tamanho e a forma dos grânulos afetam diretamente as propriedades tecnológicas do amido, como gelatinização, inchaço e solubilidade (Ferreira *et al.*, 2012). Grânulos menores que possuem diferentes formas são mais facilmente digeridos pelas amilases, possuindo melhor digestibilidade (Yuan *et al.*, 2007).

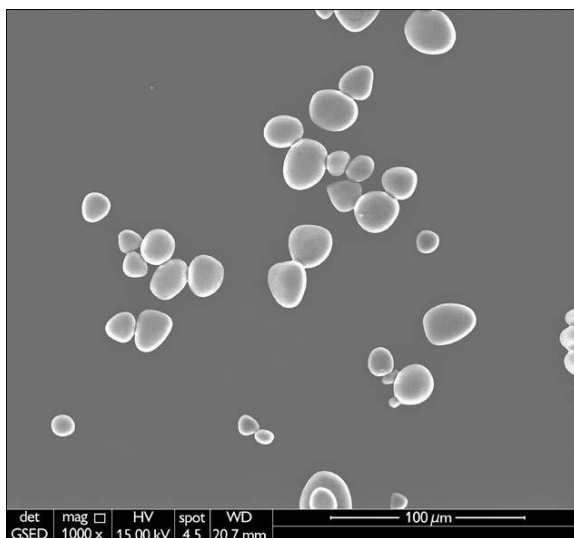


Figura 3. Micrografia eletrônica de grânulos de amido extraído de *D. alata*.

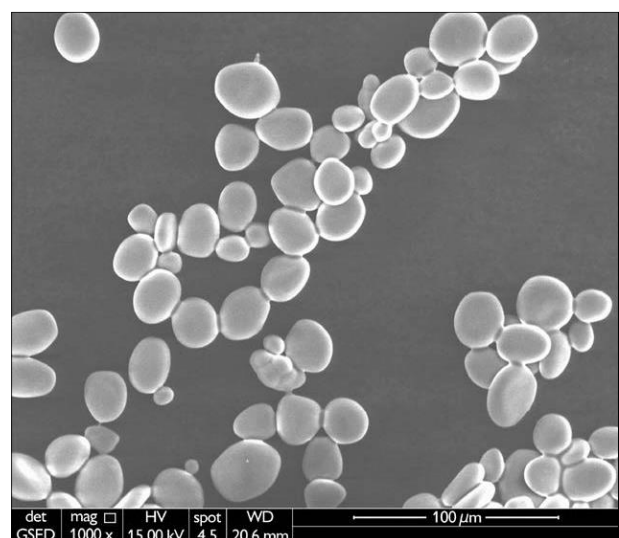


Figura 4. Micrografia eletrônica de grânulos de amido extraído de *D. altissima*.

DETERMINAÇÃO DO PH, ACIDEZ E ATIVIDADE DE ÁGUA

O pH e a acidez são parâmetros físico-químicos importantes para determinar a aplicação industrial do amido, pois influenciam na qualidade sensorial e na aceitação dos produtos alimentícios pelos consumidores (Chisté & Cohen, 2014).

Os valores de pH dos amidos extraídos de *D. alata* e *D. altissima* foram similares (5,5), resultado semelhante aos potenciais hidrogeniônicos dos amidos de *D. rotundata* (5,57) e *Dioscorea* sp. (5,82) (Marcano & Marcano, 2011; Amoo *et al.*, 2014). Todavia, na investigação realizada por Alobi *et al.* (2017), em amido de *D. villosa*, foi determinado pH 7,6, resultado diferente do encontrado no presente estudo. A deterioração de produtos que apresentam valores de pH mais ácidos é mais lenta. Portanto, os amidos extraídos de *D. alata* e *D. altissima* podem ser considerados mais estáveis em relação aos que possuem pH neutro (Tavares *et al.*, 2011).

Os valores de acidez de *D. alata* e *D. altissima* foram de 0,05 mL de NaOH N/100 g. Daiuto *et al.* (2005) observaram acidez de 0,20 mL de NaOH N/100 para o amido de *D. alata*. Teores inferiores a 3,0 mL de NaOH mol L⁻¹ 100g⁻¹ caracterizam ausência de fermentação (Aquino *et al.*, 2016).

Em relação à atividade de água, foi verificada diferença significativa entre as amostras: os resultados variaram de 0,11 a 0,09 para *D. altissima* e *D. alata*, respectivamente. A atividade de água interfere diretamente na estabilidade físico-química e microbiológica de alimentos. Na literatura científica, está citado que 0,60 é valor-limite para o crescimento microbiano em produtos alimentícios (Carvalho *et al.*, 2012; Delgado *et al.*, 2016); além disso, na faixa de atividade de água de 0,4-0,8, há o desencadeamento de reações químicas e enzimáticas (Celestino, 2010). Nesse sentido, os amidos de *D. alata* e *D. altissima* possuem valores de atividade de água que dificultam o crescimento microbiano e o desenvolvimento de reações químicas, sendo, portanto, produtos amiláceos estáveis para uso em diversos setores industriais.

DETERMINAÇÃO DA COMPOSIÇÃO CENTESIMAL

A Tabela 3 demonstra a composição centesimal do amido de *D. alata* e *D. altissima*. De acordo com os dados obtidos, houve diferença significativa entre as amostras avaliadas. Quando comparada a composição entre os dois amidos, *D. altissima* demonstrou valores superiores de lipídios (0,83%), fibras (0,51%), carboidratos (88,10%) e valor energético (363,10%), respectivamente. *D. alata* destacou-se nos parâmetros: umidade (13,46%), cinzas (0,11%) e proteínas (0,80%). Falade & Ayetigbo (2017) relataram valores de umidade

(14,87%), cinzas (0,30%), lipídios (0,28%), proteínas (2,93%) e carboidratos (81,62%) para *D. alata*. Amoo *et al.* (2014) verificaram que a umidade e as cinzas presentes em amido de *D. rotundata* foram, respectivamente, 7,22% e 0,24%. Alobi *et al.* (2017) observaram valores de umidade e cinzas superiores em 78,26% e 53,33%, respectivamente, em relação aos encontrados no presente estudo para *D. alata*.

Em amidos, além do alto teor de carboidratos, também podem ser encontradas diferentes concentrações de lipídios, proteínas, fibras e cinzas, dependendo do método de extração e da pureza final (Aguilar & Villalobos, 2013). Os teores de umidade dos amidos de *D. alata* (13,46%) e *D. altissima* (9,67%) estão em concordância com o padrão de 18% recomendado pela RDC n. 263 para farinhas vegetais, féculas e amido (Brasil, 2005). O conteúdo de cinzas de *D. alata* (0,11%) e *D. altissima* (0,06%) também está dentro do limite de 4% para amostras de amido (Leonel *et al.*, 2003). Os baixos teores de lipídios, de proteínas e de fibras e a alta concentração de carboidratos encontrados nas amostras evidenciam a eficácia do método de extração do amido utilizado no presente estudo.

Tabela 3. Composição centesimal dos amidos de *D. alata* e *D. altissima*. Médias que não compartilham uma letra são significativamente diferentes pelo Teste de Tukey ($p < 0.05$)/(±).

Parâmetro	<i>D. alata</i>	<i>D. altissima</i>
Umidade (%)	13,46 ± 0,01 ^a	9,67 ± 0,09 ^b
Cinzas (%)	0,11 ± 0,02 ^a	0,06 ± 0,00 ^b
Lipídios (%)	0,57 ± 0,03 ^b	0,83 ± 0,04 ^a
Proteínas (%)	0,80 ± 0,01 ^a	0,77 ± 0,00 ^b
Fibras (%)	0,44 ± 0,01 ^b	0,51 ± 0,01 ^a
Carboidratos (%)	84,59 ± 0,08 ^b	88,10 ± 0,10 ^a
Valor energético (kcal/100g)	346,77 ± 0,06 ^b	363,10 ± 0,10 ^a

DETERMINAÇÃO DE MACRO E MICROMINERAIS

As concentrações de macrominerais foram superiores no amido de *D. alata*, exceto os teores de N. O macromineral K foi encontrado em maior concentração nos dois amidos investigados, com diferença significativa entre *D. altissima* (0,62g kg⁻¹) e *D. alata* (0,90g kg⁻¹). O conteúdo de P também foi expressivo, variando entre *D. altissima* (0,26g kg⁻¹) e *D. alata* (0,51g kg⁻¹). Em relação aos micronutrientes, os teores foram significativamente superiores no amido de *D. altissima*, com prevalência do Na (527,44g kg⁻¹). Não foi observada a presença de Cu e Mn nos dois amidos avaliados, enquanto que Fe e Zn não foram detectados no amido de *D. alata* (Tabela 4).

Oko & Famurewa (2015) também verificaram que o K foi o macromineral predominante no amido de *D. purpurea* Roxb. 1832 (0,134g kg⁻¹), seguido de P (0,11g kg⁻¹) e de Na determinado na concentração de 18,38mg kg⁻¹. Andrade *et al.* (2017) reportaram valores de P (0,40g kg⁻¹), mas não encontraram a presença de K e Mn em amidos de *Dioscorea* sp. Pérez *et al.* (2011) relataram valores de 0,3g kg⁻¹ para amido de *D. trifida*. O fósforo, um mineral predominante em amidos de diferentes fontes botânicas, interfere diretamente nas propriedades tecnológicas, como poder de inchamento, capacidade de absorção de água, claridade da pasta, gelatinização e retrogradação (Otegbayo *et al.*, 2011). As diferenças na concentração de minerais presentes nos amidos estão relacionadas com a variedade genética de cada espécie, método de extração, tempo e condições de armazenamento (Robertson *et al.*, 2018).

Tabela 4. Composição de macro e micronutrientes dos amidos de *D. alata* e *D. altissima*. Médias que não compartilham uma letra são significativamente diferentes pelo Teste de Tukey ($p < 0.05$)/(±).

Amido	Macronutrientes (g kg ⁻¹)						Micronutrientes (mg kg ⁻¹)					
	N	P	K	Ca	Mg	S	Na	B	Cu	Fe	Mn	Zn
<i>D. alata</i>	0,39 ^b	0,51 ^a	0,90 ^a	0,20 ^a	0,02 ^a	0,06 ^a	395,82 ^b	0,41 ^b	0,00 ^a	0,00 ^b	0,00 ^a	0,00 ^b
<i>D. altissima</i>	0,50 ^a	0,26 ^b	0,62 ^b	0,18 ^b	0,01 ^b	0,06 ^a	527,44 ^a	1,74 ^a	0,00 ^a	4,21 ^a	0,00 ^a	11,47 ^a

ANÁLISE DAS PROPRIEDADES TECNOLÓGICAS DOS AMIDOS

Os resultados da análise das propriedades tecnológicas dos amidos avaliados estão expressos na Tabela 5. No presente estudo, o amido de *D. alata* se destacou nos seguintes parâmetros: absorção de água (85,73g 100g⁻¹), absorção de óleo (67,13g 100g⁻¹), estabilidade da espuma (100%) e claridade da pasta (2,87%). Por outro lado, capacidade de inchamento (4,07g g⁻¹) e densidade aparente (0,87 g mL⁻¹) foram superiores nos amidos de *D. altissima*.

A absorção significativa de água em amido de *D. alata* pode ser explicada devido ao elevado teor de fósforo presente na amostra, visto que as cargas negativas dos grupos fosfato se repelem, promovendo a entrada de água no grânulo, o que interfere diretamente nas suas propriedades funcionais (Limberguer *et al.*, 2008). Segundo Souza *et al.* (2008), o amido com elevada capacidade de absorção de água pode ser utilizado na fabricação de produtos que necessitam de maciez e maior rendimento, como carnes, pães e massas.

A absorção de óleo nas amostras de *D. alata* está relacionada ao maior teor de proteínas presentes no amido, devido à afinidade entre os sítios peptídicos apolares e as cadeias hidrofóbicas do óleo (Fiorda *et al.*, 2013). Mendonza *et al.* (2017) citam que o amido de *D. alata* apresentou 74,82% e *D. bulbifera* obteve 81% de absorção de óleo, valores

superiores aos encontrados neste estudo. Esta propriedade é importante para a indústria alimentícia, visto que a gordura melhora o sabor e a textura dos alimentos. Amidos com elevada capacidade de absorção de gorduras são indicados para formulações de produtos à base de carne, panqueca, alimentos cozidos e sopas (Nina *et al.*, 2017).

A capacidade de inchamento ($4,07\text{g } 100\text{g}^{-1}$) e a densidade aparente ($0,87\text{g mL}^{-1}$) foram superiores no amido de *D. altissima*. Estes resultados podem ser explicados devido ao maior teor de amilopectina, o que favorece entrada de água e maior inchamento do grânulo (Hernández-Medina *et al.*, 2008). Além disso, a elevada massa molecular da amilopectina forma grânulos mais pesados e compactos, que ocupam menos volume e resultam em maior densidade aparente (Tonon *et al.*, 2013). Segundo Nunes *et al.* (2009), os amidos mais densos decantam em menor tempo nos aparelhos extratores, parâmetro tecnológico que influencia positivamente nos custos de produção.

Neste estudo, não foi verificada diferença na capacidade de formação de espumas entre os amidos de *D. alata* e *D. altissima*. Entretanto, a estabilidade da espuma do amido de *D. alata* foi 4% superior em relação à de *D. altissima*. A capacidade de formação e de manutenção da espuma é altamente dependente da concentração de proteínas. Nesse sentido, os baixos valores destes parâmetros provavelmente se devem aos quantitativos reduzidos de proteínas encontrados nos amidos de *D. alata* e *D. altissima*.

A produção de espuma envolve a geração de um filme de proteína em torno de uma bolha de gás e o empacotamento de bolhas de gás em uma estrutura geral (Farrag *et al.*, 2008). As matérias-primas alimentícias ricas em proteínas flexíveis, capazes de se adaptar a interface ar-líquido e formar ligações hidrofóbicas na superfície, são indicadas para aplicação no setor alimentício (Santana *et al.*, 2017; Wang *et al.*, 2000).

A estabilidade de espuma se relaciona com a capacidade das proteínas em se estabilizarem contra forças gravitacionais e mecânicas (Chandra *et al.*, 2015). A capacidade de formação e de manutenção de espumas estáveis depende do tipo e da concentração de proteínas, do grau de desnaturação proteica, do pH, da temperatura e da concentração de sal (Akubor, 2017). Matérias-primas alimentícias com elevada capacidade de formação de espumas estáveis e consistentes são usadas para melhorar a textura, a consistência e a aparência dos alimentos, sendo indicadas para elaboração de bolos, sobremesas, sorvetes e pães (Nina *et al.*, 2017).

Com relação à claridade das pastas, foram determinadas as transmitâncias de 2,87% e 2,14% para *D. alata* e *D. altissima*, respectivamente. Mendonza *et al.* (2017) determinaram transmitância de 0,46% e 0,61% para amidos de *D. alata*, resultados que indicam maior

opacidade, quando comparados com os amidos do presente estudo. Entretanto, Techeira *et al.* (2014) obtiveram valores de 10 e 11% de transmitância para outras variedades de *Dioscorea*. Os setores de panificação, de bebidas concentradas e de carnes processadas podem utilizar amidos que possuam esta característica, pois não precisam de pastas claras para formulação do produto (Hernández-Medina *et al.*, 2008).

Tabela 5. Propriedades tecnológicas dos amidos de *D. alata* e *D. altissima*. Médias que não compartilham uma letra são significativamente diferentes pelo Teste de Tukey ($p < 0.05$)/(±).

Propriedades tecnológicas	Amido	
	<i>Dioscorea alata</i>	<i>Dioscorea altissima</i>
Absorção de água ($\text{g}100\text{g}^{-1}$)	$85,73 \pm 0,25^a$	$73,86 \pm 0,15^b$
Absorção de óleo ($\text{g} 100\text{g}^{-1}$)	$67,13 \pm 0,32^a$	$62,23 \pm 0,30^b$
Capacidade de inchaço (g g^{-1})	$3,46 \pm 0,04^b$	$4,07 \pm 0,11^a$
Densidade aparente (g mL^{-1})	$0,80 \pm 0,01^b$	$0,87 \pm 0,02^a$
Capacidade da espuma (%)	$2,00 \pm 0,00^a$	$2,00 \pm 0,00^a$
Estabilidade da espuma (%)	$100 \pm 0,00^a$	$96 \pm 0,00^b$
Clareza da pasta (%)	$2,87 \pm 0,10^a$	$2,14 \pm 0,11^b$

TESTE DE TOXICIDADE *IN VITRO* DO AMIDO

Os amidos de *D. alata* e *D. altissima* não expressaram toxicidade quando testados contra fibroblastos MRC-5 (Figura 5). Estatisticamente, não houve diferença significativa na viabilidade celular entre *D. altissima* (97,7%) e *D. alata* (97,9%). Estes resultados indicam que os amidos avaliados não apresentam toxicidade e podem ser utilizados com segurança em diferentes setores industriais.

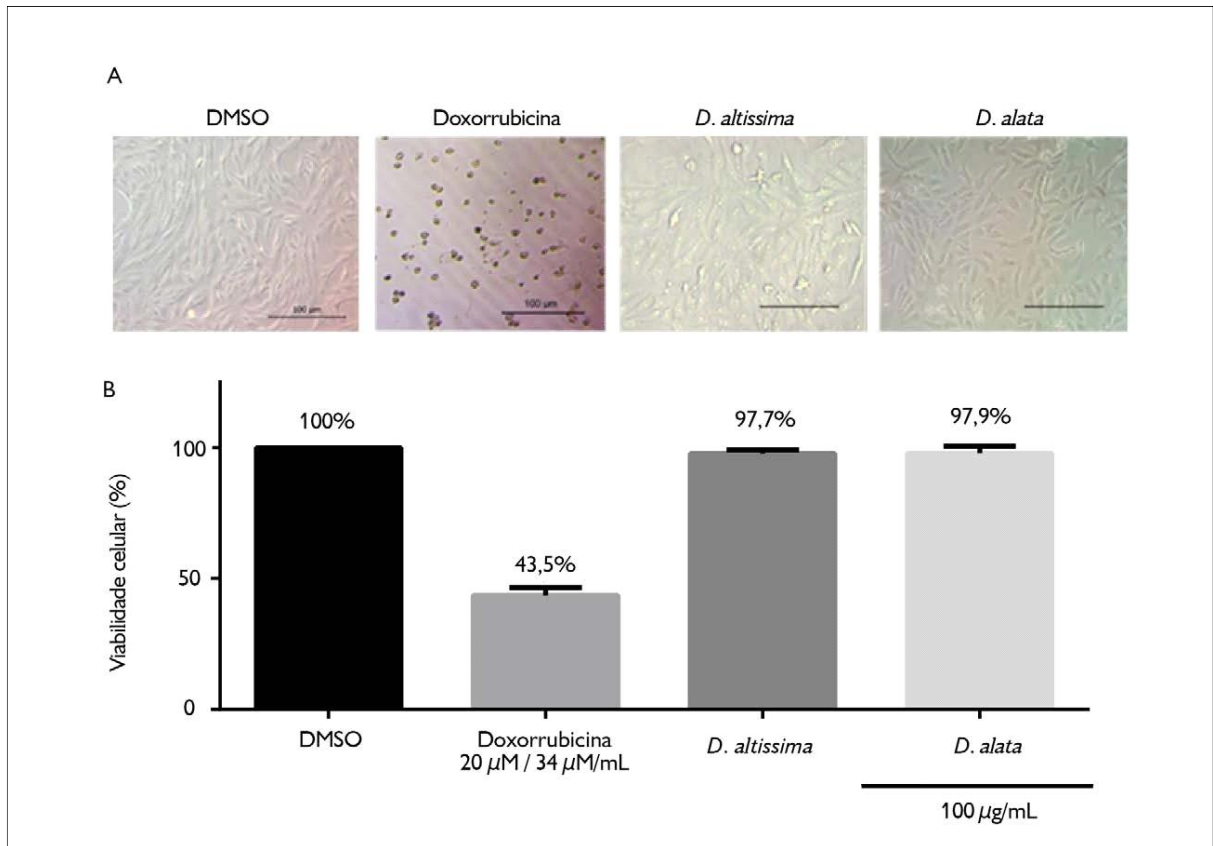


Figura 5. Resultado do ensaio de citotoxicidade dos extratos em fibroblastos humanos (MRC-5) após 72 horas de tratamento: A) MRC-5 após tratamento com DMSO, doxorubicina, extrato de amido de *D. altissima* e *D. alata*; B) DMSO (controle negativo, 0,01%), doxorubicina (controle positivo, 20 μM ou 34 μg/mL), viabilidade celular do extrato de amido de *D. altissima* e *D. alata*. Créditos: Leilane Bentes de Sousa e Marne Carvalho de Vasconcellos.

ANÁLISE DA QUALIDADE MICROBIOLÓGICA DO AMIDO

Na análise microbiológica dos amidos, não foram verificadas as presenças de coliformes a 45 °C, de *Bacillus cereus* e *Salmonella* sp. A RDC n. 12, de 2 de janeiro de 2001, preconiza as seguintes contagens microbianas para amido: *B. cereus* (3×10^3 UFC/g), coliformes a 45 °C (1×10^2 UFC/g) e *Salmonella* sp. (ausência em 25g). Os resultados obtidos no presente estudo indicam que os amidos de *D. alata* e *D. altissima* foram elaborados de acordo com as boas práticas de fabricação de alimentos e atendem aos padrões microbiológicos estabelecidos pela legislação vigente.

CONCLUSÕES

O amido de *D. alata* e *D. altissima*, espécies cultivadas no bioma amazônico, não são tóxicos, têm rendimento promissor, propriedades funcionais e tecnológicas adequadas para uso na indústria de embalagens e como matéria-prima na indústria de alimentos, na elaboração de sopas, massas, pães e produtos à base de carnes.

AGRADECIMENTOS

Agradecemos ao Laboratório de Micologia Industrial e Médica da Universidade Federal do Amazonas (UFAM), ao Programa de Pós-Graduação Rede de Biodiversidade e Biotecnologia da Amazônia Legal (BIONORTE) e à Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado do Amazonas (FAPEAM), pelo apoio técnico, científico e financeiro.

REFERÊNCIAS

- AGUILAR, P. V. & D. H. VILLALOBOS, 2013. Harinas y almidones de yuca, ñame, camote y ñampi: propiedades funcionales y posibles aplicaciones em la industria alimentaria. **Tecnología en Marcha** 26(1): 37-45.
- AHMED, S. A. JR. R. M. GOGAL, J. E. WALSH, 1994. A new rapid and simple non-radioactive assay to monitor and determine the proliferation of lymphocytes: an alternative to [³H] thymidine incorporation assay. **Journal of Immunological Methods** 170(2): 211-224. DOI: [https://doi.org/10.1016/0022-1759\(94\)90396-4](https://doi.org/10.1016/0022-1759(94)90396-4).
- AHMED, R., L. ZHONGYI, M. K. MORELL & S. A. JOBLING, 2014. Genetically modified starch: state of art and perspectives. In: P. J. HALLEY & L. AVÉROUS (Ed.): **Starch polymers from genetic engineering to green applications**: 13-29. Elsevier, Oxford. DOI: <https://doi.org/10.1016/B978-0-444-53730-0.00019-1>.
- AKUBOR, P. I., 2017. Effect of processing methods on the chemical composition and functional properties of pigeon pea seed. **Asian Journal of Advances in Agricultural Research** 2(2): 1-8. DOI: <https://doi.org/10.9734/AJAAR/2017/35640>.
- ALABI, N. O., E. A. SUNDAY, O. MAGU, O. OLOKO & E. NYONG, 2017. Analysis of starch from non-edible root and tubers as sources of raw materials for the synthesis of biodegradable starch plastics. **Journal of Basic and Applied Research** 3(1):27-32.
- AMOO, A. R. N., W.-M. F. DUFIE & O. IBOK, 2014. Physicochemical and pasting properties of starch extracted from four yam varieties. **Journal of Food and Nutrition Sciences** 2(6): 262-269. DOI: <http://dx.doi.org/10.11648/j.jfns.20140206.14>.
- ANDRADE, L. A., N. A. BARBOSA & J. PEREIRA, 2017. Extraction and properties of starches from the non-traditional vegetables yam and taro. **Polímeros** 27(2): 151-157. DOI: <http://dx.doi.org/10.1590/0104-1428.04216>.
- APRIANITA, A., U. PURWANDARI, B. WATSON & T. VASILJEVIC, 2009. Physico-chemical properties of flours and starches from selected commercial tubers available in Australia. **International Food Research Journal** 16: 507-520.
- AQUINO, A. C. M. S., V. M. GERVIN & E. R. AMANTE, 2016. Avaliação do processo produtivo de polvilho azedo em indústrias de Santa Catarina. **Brazilian Journal of Food Technology** 19: e2015055. DOI: <http://dx.doi.org/10.1590/1981-6723.5515>.
- ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS (AOAC), 2006. **Official methods of analysis of the Association of Official Analytical Chemists**: 1-1141. AOAC, Arlington.
- AWOLU, O. O. & S. J. OLOFINLAE, 2016. Physico-chemical, functional and pasting properties of native and chemically modified water yam (*Dioscorea alata*) starch and production of water yam starch-based yoghurt. **Starch** 68(7-8): 719-726. DOI: <https://doi.org/10.1002/star.201500302>.
- BEUCHAT, L. R., 1977. Functional and electrophoretic characteristics of succinylated peanut flour protein. **Journal of Agricultural and Food Chemistry** 25(2): 258-261. DOI: <https://doi.org/10.1021/jf60210a044>.

- BRASIL, 2001. Resolução de Diretoria Colegiada n. 12, de 2 de janeiro de 2001. Estabelece padrões microbiológicos de alimentos. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Diário Oficial da União**, 10 de janeiro de 2001. Disponível em: http://bvsms.saude.gov.br/bvs/saudelegis/anvisa/2001/res0012_02_01_2001.html. Acesso em: 28 dezembro 2018.
- BRASIL, 2005. Resolução de Diretoria Colegiada n. 263, de 22 de setembro de 2005. Regulamento técnico para produtos de cereais, amidos, farinhas e farelos. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Diário Oficial da União**, 23 de setembro de 2005. Disponível em: http://bvsms.saude.gov.br/bvs/saudelegis/anvisa/2005/rdc0263_22_09_2005.html. Acesso em: 28 dezembro 2018.
- CARVALHO, A. V., P. Z. BASSINELLO, R. A. MATTIETO, R. N. CARVALHO, A. O. RIOS & L. L. SECCADIO, 2012. Processamento e caracterização de *snack* extrudado a partir de farinhas de quirera de arroz e de bandinha de feijão. **Brazilian Journal of Food Technology** 15(1): 72-83. DOI: <http://dx.doi.org/10.1590/S1981-67232012000100008>.
- CELESTINO, S. M. C., 2010. **Princípios de secagem dos alimentos**: 1-51. EMBRAPA Cerrados, Planaltina.
- CHANDRA, S., S. SINGH & D. KUMARI, 2015. Evaluation of functional properties of composite flours and sensorial attributes of composite flour biscuits. **Journal of Food Science and Technology** 52(6): 3681-3688. DOI: <https://doi.org/10.1007/s13197-014-1427-2>
- CHISTÉ, R. C. & K. O. COHEN, 2014. Comportamento da acidez total e amido na produção da farinha de mandioca do grupo seca. **Revista Brasileira de Tecnologia Agroindustrial** 1(2): 17-25. DOI: <https://doi.org/10.3895/S1981-36862007000200003>.
- CRAIG, S. A. S., S. A. S. RAIG, C. C. MANINGAT, P. A. SEIB & R. C. HOSENEY, 1989. Starch paste clarity. **Cereal Chemistry** 66(3): 173-182.
- DAIUTO, E., M. CEREDA, S. SARMENTO & O. VILPOUX, 2005. Effects of extraction methods on yam (*Dioscorea alata*) starch characteristics. **Starch** 57(3-4): 153-160. DOI: <https://doi.org/10.1002/star.200400324>.
- DE PAULA, C., M. PIROZI, M. PUIATTI, J. T. BORGES & A. M. DURANGO, 2012. Características físicoquímicas e morfológicas de rizóforos de inhame (*Dioscorea alata*). **Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial** 10(2): 61-70.
- DELGADO, T., E. RAMALHOSA, J. A. PEREIRA & S. CASAL, 2016. Avaliação das propriedades nutricionais e sensoriais de *snacks* de castanha (*Castanea sativa* Mill.). **Riscos e Alimentos** (11): 32-61.
- DURANGO, A. M., N. F. F. SOARES & N. J. ANDRADE, 2009. Extração e caracterização do amido de inhame e desenvolvimento de filmes comestíveis antimicrobianos. **Revista Temas Agrários** 14(2): 1-18. DOI: <https://doi.org/10.21897/rta.v14i2.672>.
- EMBRAPA, 2009. **Manual de análises químicas de solos, plantas e fertilizantes**: 1-627. Brasília, Brazil.
- FALADE, K. O. & O. E. AYETIGBO, 2017. Effects of tempering (annealing), acid hydrolysis, low-citric acid substitution on chemical and physicochemical properties of starches of four yam (*Dioscorea* spp.) cultivars. **Journal of Food Science and Technology** 54(6): 1455-1466. DOI: <https://doi.org/10.1007/s13197-017-2568-x>.
- FARRAG, A. F., 2008. Emulsifying and foaming properties of whey protein concentrates in the presence of some carbohydrates. **International Journal of Dairy Science** 3(1):20-28. DOI: <https://doi.org/10.3923/ijds.2008.20.28>.
- FELIPE, F. I., L. R. A. ALVES & R. M. VIEIRA, 2013. Fécula de mandioca: produção na Tailândia versus Brasil. **Agroanalysis** 33(3): 28.
- FERREIRA, R. E., A. B. SOUZA, J. R. U. SANTOS, F. P. COLLARES-QUEIROZ & C. J. STEEL, 2012. Chemical and morphological evaluation of starches from legumes and

- application of the extraction residues in expanded extruded snacks. **Alimentação e Nutrição Araraquara** 23(2): 171-178.
- FIORDA, F. A., M. S. S. JÚNIOR, F. A. SILVA, L. R. F. SOUTO & M. V. E. GROSSMANN, 2013. Farinha de bagaço de mandioca: aproveitamento de subproduto e comparação com fécula de mandioca. **Pesquisa Agropecuária Tropical** 43(4): 408-416. DOI: <http://dx.doi.org/10.1590/S1983-40632013000400005>.
- FREITAS, M. C. J. & D. Q. TAVARES, 2005. Caracterização do grânulo de amido de bananas (*Musa* AAA-nanicão e *Musa* AAB-terra). **Food Science and Technology** 25(2): 217-222. DOI: <http://dx.doi.org/10.1590/S0101-20612005000200005>.
- HERNÁNDEZ-MEDINA, M., J. G. TORRUCO-UCO, L. CHEL-GUERRERO & D. BETANCUR-ANCONA, 2008. Caracterización físico-química de almidones de tubérculos cultivados em Yucatán, México. **Food Science and Technology** 28(3): 718-726. DOI: <http://dx.doi.org/10.1590/S0101-20612008000300031>.
- HOOVER, R., T. HUGHES, H. J. CHUNG & Q. LIU, 2010. Composition, molecular structure, properties, and modification of pulse starches: a review. **Food Research International** 43(2): 399-413. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2009.09.001>.
- INSTITUTO ADOLFO LUTZ (IAL), 2008. **Métodos físico-químicos para análise de alimentos**: 1-1020. Instituto Adolfo Lutz, São Paulo.
- JIANG, Q., W. GAO, X. LI, Y. XIA, H. WANG, S. WU, L. HUANG, C. X. LIU & P. XIAO, 2012. Characterizations of starches isolated from five different *Dioscorea* L. species. **Food Hydrocolloids** 29(1): 35-41. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2012.01.011>.
- LEACH, H. W., L. D. MCCOWEN & T. J. SCHOCH, 1959. Structure of starch granule. I. Swelling and solubility patterns of various starches. **Cereal Chemistry** 36: 534-544.
- LEONEL, M. & M. P. CEREDA, 2002. Extração e caracterização do amido de Biri (*Canna edulis*). **Brazilian Journal of Food Technology** 5: 27-32.
- LEONEL, M., S. B. S. SARMENTO, M. P. CEREDA & F. L. A. CÂMARA, 2003. Extração e caracterização de amido de jacatupé (*Pachyrhizus ahipa*). **Food Science and Technology** 23(3): 362-365. DOI: <http://dx.doi.org/10.1590/S0101-20612003000300011>.
- LIMBERGUER, V. M., L. P. SILVA, T. EMANUELLI, C. G. COMARELA & L. P. PATIAS, 2008. Modificação química e física do amido de quirera de arroz para aproveitamento na indústria de alimentos. **Química Nova** 31(1): 84-88. DOI: <http://dx.doi.org/10.1590/S0100-40422008000100018>.
- LIPORACCI, J. S. N., S. MALI & M. V. E. GROSSMANN, 2005. Effects of extraction method on chemical composition and functional properties of yam starch (*Dioscorea alata*). **Semina: Ciências Agrárias** 26(3): 345-352. DOI: <http://dx.doi.org/10.5433/1679-0359.2005v26n3p345>.
- MALI, S., M. V. E. GROSSMANN & F. YAMASHITA, 2010. Starch films: production, properties and potential of utilization. **Semina: Ciências Agrárias** 31(1): 137-156. DOI: <http://dx.doi.org/10.5433/1679-0359.2010v31n1p137>.
- MARCANO, E. S. & M. MARCANO, 2011. La harina de ñame (*Dioscorea alata*), um ingrediente potencial em la elaboración de productos de panadería. **Saber** 23(2): 134-140.
- MARKETS AND MARKETS, 2019. **Industrial starch market by type (native, starch derivatives & sweeteners), source (corn, wheat, cassava, potato), application (food, feed, paper making & corrugation, pharmaceutical), form (dry, liquid), and region - Global Forecast to 2022**. Disponível em: <https://www.marketsandmarkets.com/Market-Reports/industrial-starch-market-104251261.html>. Acesso em: 9 janeiro 2019.
- MARTINEZ, C. & F. CUEVAS, 1989. **Evaluación de localidad culinária y molinera del arroz**: guia de estudio para ser usada como complemento de la unidad auditorial sobre el mismo tema: 1-73. Centro Internacional de Agricultura Tropical, Cali.

- MENDONZA, J. G. S., C. A. R. MEDINA, E. J. L. RIVERA, A. M. G. LÓPEZ & M. A. C. RICARDO, 2017. Análisis de las propiedades funcionales. In: J. G. S.MENDOZA, J. A. F.FLÓREZ& E. J. H. RAMOS (Ed.): **Agroindustria de productosamiláceos II: métodos y técnicas de caracterización**: 61-80. Universidad de Sucre, Colombia.
- MILLER, G. L., 1959. Use of dinitro salicylic acid reagent for determination of reducing sugar. **Analytical Chemistry** 31(3): 426-428. DOI: <https://doi.org/10.1021/ac60147a030>.
- MOONGNGARM, A., 2013. Chemical compositions and resistant starch content in starchy foods. **American Journal of Agricultural and Biological Sciences** 8(2): 107-113.DOI: <https://doi.org/10.3844/ajabssp.2013.107.113>.
- NARAYANA, K. & M. S. NARASINGARAO, 1982. Functional properties of raw and heat processed winged bean (*Psophocalpus tetragonolobus*) flour. **Journal of Food Science** 47(5): 1534-1538. DOI: <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.1982.tb04976.x>.
- NINA, K. C. J., D. C. GHISLAINE, K. K. HUBERT, A. Y. D. PATRICE, K. L. PATRICE & K. ALPHONSE, 2017. Biochemical and functional properties of yam flour during the post-harvest conservation of *Dioscorea alata* cultivar – Azaguié. **Current Journal of Applied Science and Technology** 21(6): 1-10. DOI: <https://doi.org/10.9734/CJAST/2017/32404>.
- NOGUEIRA, G. F., F. M. FAKHOURI & R. A. OLIVEIRA, 2018. Effect of incorporation of blackberry particles on the physicochemical properties of edible films of arrowroot starch. **Drying Technology** 37(4): 448-457. DOI: <https://doi.org/10.1080/07373937.2018.1441153>.
- NÚCLEO DE ESTUDOS E PESQUISAS EM ALIMENTAÇÃO (NEPA), 2006. **Tabela brasileira de composição de alimentos (TACO)**: 1-105. UNICAMP, Campinas.
- NUNES, L. B., W. J. SANTOS & R. S. CRUZ, 2009. Rendimento de extração e caracterização química e funcional de féculas de mandioca da região do semiárido baiano. **Alimentos e Nutrição Araraquara** 20(1): 129-134.
- OKO, A. O. & A. C. FAMUREWA, 2015. Estimation of nutritional and starch characteristics of *Dioscorea alata* (Water yam) varieties commonly cultivated in the South-Eastern Nigeria. **British Journal of Applied Science and Technology** 6(2): 145-152. DOI: <http://dx.doi.org/10.9734/BJAST/2015/14095>.
- OLUWAMUKOMI, M. O. & O. O. AKINSOLA, 2015. Thermal and physicochemical properties of some starchy foods: yam (*Dioscorea rotundata*), Cocoyam (*Xanthosomas agittifolium*) and Plantain (*Musa paradisiaca*). **Food Science and Technology** 3(1): 9-17.DOI: <https://doi.org/10.13189/fst.2015.030102>.
- OTEGBAYO, B., M. BOKANGA & R. ASIYEDU, 2011. Physicochemical properties of yam starch: Effect on textural quality of yam food product (pounded yam). **Journal of Food, Agriculture & Environment** 9(1): 145-150.
- OTEGBAYO, B., D. OGUNIYAN & O. AKINWUMI, 2014. Physicochemical and functional characterization for potential industrial applications. **Starch** 66(3-4): 235-250. DOI: <https://doi.org/10.1002/star.201300056>.
- PÉREZ, E., O. GIBERT, A. ROLLAND-SABATÉ, Y. JIMÉNEZ, T. SÁNCHEZ, A. GIRALDO, B. PONTOIRE, S. GUILOIS, M. C. LAHON, M. REYNES & D. DUFOUR, 2011. Physicochemical, functional, and macromolecular properties of waxy yam starches discovered from “Mapuey” (*Dioscorea trifida*) genotypes in the Venezuelan Amazon. **Journal of Agricultural and Food Chemistry** 59(1): 263-273.DOI: <https://doi.org/10.1021/jf100418r>.
- POLESI, L. F., S. B. S. SARMENTO, J. MORAES, C. M. L. FRANCO & S. G. CANNIATTI-BRAZACA, 2016. Physicochemical and structural characteristics of rice starch modified by irradiation. **Food Chemistry** 191: 59-66. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2015.03.055>.

- REIS, R. C., D. P.R. ASCHERI & I. A. DEVILLA, 2010. Propriedades físicas do tubérculo e propriedades químicas e funcionais do amido de inhame (*Dioscorea* sp.) cultivar São Bento. **Agrotecnologia** 1(1): 71-88. DOI: <https://doi.org/10.12971/2179-5959.v01n01a05>.
- REIS, J. S., R. C. S. OGOSHI, J. FRANÇA, M. L. FIGUEIREDO, L. A. BORGES & M. G. ZANGERONIMO, 2017. Amido resistente, um potencial ingrediente para ser considerado em alimentos funcionais para cães. **Archivos de Zootecnia** 66(256):639-648. DOI: <https://doi.org/10.21071/az.v66i256.2783>.
- RILEY, C. K., A. O. WHEATLEY & H. N. ASEMOTA, 2006. Isolation and characterization of starches from eight *Dioscorea alata* cultivars grown in Jamaica. **African Journal of Biotechnology** 5(17): 1528-1536.
- ROBERTSON, T. M., A. Z. ALZAABI, M. D. ROBERTSON & B. A. FIELDING, 2018. Starchy carbohydrates in a healthy diet: the role of the humble potato. **Nutrients** 10(11): 1764. DOI: <https://doi.org/10.3390/nu10111764>.
- SANTANA, G. S., J. G. O. FILHO & M. B. EGEA, 2017. Características tecnológicas de farinhas vegetais comerciais. **Journal of Neotropical Agriculture** 4(2): 88-95. DOI: <https://doi.org/10.32404/rean.v4i2.1549>.
- SILVA, N., 2010. **Manual de métodos de análise microbiológica de alimentos**: 1-624. São Paulo, Brasil.
- SOSULSKI, F. W., 1962. The centrifuge method for determining flour absorption in hard red spring wheats. **Cereal Chemistry** 39(4): 344-350.
- SOUZA, M. W. S., T. B. O. FERREIRA & I. F. R. VIEIRA, 2008. Composição centesimal e propriedades funcionais tecnológicas da farinha da casca do maracujá. **Alimentos e Nutrição Araraquara** 19(1): 33-36.
- TAO, K., C. LI, W. YU, R. G. GILBERT & E. LI, 2018. How amylose molecular fine structure of rice starch affects functional properties. **Carbohydrate Polymers** 204: 24-31. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2018.09.078>.
- TAVARES, S. A., J. PEREIRA, M. C. GUERREIRO, C. J. PIMENTA, L. PEREIRA & S. V. MISSAGIA, 2011. Caracterização físico-química da mucilagem de inhame liofilizada. **Ciência e Agrotecnologia** 35(5): 973-979. DOI: <http://dx.doi.org/10.1590/S1413-70542011000500015>.
- TECHEIRA, N., L. SÍVOLI, B. PERDOMO, A. RAMÍREZ & F. SOSA, 2014. Caracterización físicoquímica, funcional y nutricional de harinas crudas obtenidas a partir de diferentes variedades de yuca (*Manihot esculenta* crantz), batata (*Ipomoea batatas* Lam) y ñame (*Dioscorea alata*), cultivadas en Venezuela. **Interciencia** 39(3): 191-197.
- TEIXEIRA, L. S., S. R. MARTIM, L. S. C. SILVA, V. F. KINUPP, M. F. S. TEIXEIRA & A. L. F. PORTO, 2016. Efficiency of Amazonian tubers flours in modulating gut microbiota of male rats. **Innovative Food Science and Emerging Technologies** 38(Part A): 1-6. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ifset.2016.08.015>.
- TONON, R. V., C. BRABET & M. D. HUBINGER, 2013. Aplicação da secagem por atomização para obtenção de produtos funcionais com alto valor agregado a partir do açaí. **Inclusão Social** 6(2): 70-76.
- VALCÁRCEL-YAMANI, B., G. G. RONDÁN-SANABRIA & F. FINARDI-FILHO, 2013. The physical, chemical and functional characterization of starches from Andean tubers: Oca (*Oxalis tuberosa* Molina), olluco (*Ullucus tuberosus* Caldas) and mashua (*Tropaeolum tuberosum* Ruiz & Pavón). **Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences** 49(3): 453-464. DOI: <http://dx.doi.org/10.1590/S1984-82502013000300007>.
- VAMADEVAN, V. & E. BERTOFT, 2015. Structure-function relationships of starch components. **Starch** 67(1-2): 55-68. DOI: <https://doi.org/10.1002/star.201400188>.
- VERTER, N. & V. BECVAROVA, 2014. Yam production as pillar of food security in logo local government area of Benue State, Nigeria. **European Scientific Journal** 10(31): 27-42.

- WALTER, M., L. P. SILVA & D. M. X. PERDOMO, 2005. Amido disponível e resistente em alimentos: adaptação do método da AOAC 996.11. **Alimentos e Nutrição Araraquara** 16(1): 39-46.
- WANG, S. H., L. H. MAIA, L. C. CABRAL, R. GERMANI & J. T. S. BORGES, 2000. Influência da proporção arroz:soja sobre a solubilidade e as propriedades espumantes dos mingaus desidratados. **Food Science and Technology** 20(1): 83-89. DOI: <http://dx.doi.org/10.1590/S0101-20612000000100016>.
- YUAN, Y., L. ZHANG, Y. DAÍ & J. YU, 2007. Physicochemical properties of starch obtained from *Dioscorea nipponica* Makino comparison with other tuber starches. **Journal of Food Engineering** 82(4): 436-442. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2007.02.055>.
- ZHANG, B., K. GUO, L. LIN & C. WEI, 2018. Comparison of structural and functional properties of starches from the rhizome and bulbil of chinese yam (*Dioscorea opposita* Thunb.). **Molecules** 23(2): 427. DOI: <https://doi.org/10.3390/molecules23020427>.

Capítulo 3

Filmes de revestimento biodegradáveis formulados com amido de *Dioscorea alata*

Larissa Svetlana Cavalcante Silva¹, Salomão Rocha Martim², Dib Mady Diniz Gomes³, Nelly Mara Vinhote Marinho⁴, Taciana Amorim Silva⁵, Maria Francisca Simas Teixeira⁶

Resumo

Filmes de revestimento a base de amido têm sido utilizados na conservação de alimentos com finalidade de diminuir o acúmulo de resíduos sólidos e minimizar a poluição. O amido está disponível nos vegetais em diferentes estruturas, como tubérculos, rizomas, sementes e frutos. O objetivo desta pesquisa foi desenvolver filmes poliméricos formulados com amido extraído de *Dioscorea alata* L. cultivada na Amazônia. Os filmes foram obtidos por *casting* utilizando solução a base de amido 4% (p/v) e glicerol 3% (p/v), aquecida a 95 °C até gelatinização. A solução filmogênica espalhada nas placas de vidro foi mantida a 40 °C, em estufa com circulação de ar forçado até secagem dos filmes. Os parâmetros avaliados foram presença ou ausência de rachaduras, opacidade, maleabilidade e caracterizados por técnicas de MEV, AFM, DRX e FTIR. Os filmes de amido de *D. alata* são transparentes e resistentes, não apresentaram fraturas, rachaduras, poros, e possuem superfície rugosa com cristalinidade do Tipo B. Essas características são promissoras para utilização em indústrias de alimentos.

Palavras-chave: glicerol, polímeros naturais, tubérculos.

Abstract

Starch-based coating films have been used in food preservation to reduce solid waste accumulation and minimize pollution. These biopolymers are available in different plant sources such as tubers, rhizomes, seeds and fruits. In the Amazon there are several species of unexplored and limited consumption tubers that are sources of starch. Therefore, this work aimed to develop polymeric films from starch extracted from *Dioscorea alata* L., *D. alata* starch (4% w/v) was diluted in 100 mL distilled water and glycerol (3% w / w added. v). This solution was heated to 95 °C until gelatinization. Then 10 mL of the filmogenic solution was uniformly transferred to Petri dishes (140 mm X 150 mm). The plates were incubated at 40 °C in a forced-air oven for 24 h. The films were visually evaluated for general appearance after drying, ease of plaque removal, presence or absence of cracks, opacity and malleability. The surface analysis of the films was performed by SEM, AFM, XRD and FTIR. The coating films produced showed transparency and malleability, but due to the difficulty in the plate removal stage, they presented rupture at the edges. SEM and AFM analysis showed that the films show high roughness due to glycerol concentration.

Keywords: glycerol, natural polymers, tubers.

1. INTRODUÇÃO

A indústria de embalagens geralmente utiliza polímeros sintéticos derivados do refino do petróleo, devido ao baixo custo, alta resistência mecânica e flexibilidade. No entanto, a utilização destes materiais plásticos gera acúmulo de resíduo e conseqüentemente poluição ambiental, visto que não são biodegradáveis, além de emitir gases nocivos na atmosfera (MATTA et al. 2011; LIMA e SIQUEIRA, 2015).

Portanto, com a finalidade de diminuir os efeitos tóxicos ao meio ambiente, matérias-primas alternativas têm sido utilizadas na formulação de embalagens e filmes de revestimento, como polímeros derivados de fontes renováveis, agarose, celulose, quitosana e amido (FARIAS et al., 2016; JARAMILLO et al., 2016).

Filmes de revestimento a base de amido está sendo uma tendência tecnologicamente renovável para substituição de embalagens convencionais na indústria de alimentos. Em alimentos facilmente oxidáveis esses filmes atuam no controle da entrada de gases, como oxigênio, além de promover a retenção de aditivos e diminuir a contaminação por microrganismos (MALI et al., 2010; CARBONE et al., 2016; COSTA et al., 2017; DIAS et al., 2018).

A extração do amido é realizada convencionalmente a partir de diversas fontes vegetais, como arroz, milho, batata e mandioca, porém fontes não convencionais, como o inhame, apresentam alto conteúdo de amido e tem sido bastante utilizadas (BERNARDO et al., 2018).

Na região amazônica, o cultivo de tubérculos do gênero *Dioscorea* continua sendo realizado por agricultores familiares, porém o consumo e utilização para outros fins são limitados (COSTA e COSTA). *Dioscorea alata*, conhecida popularmente como inhame roxo, apresenta rendimento promissor, possui habilidade na propagação dos tubérculos e adaptabilidade a variações climáticas (RAMOS et al., 2014). De acordo com Salcedo-Mendonza et al. (2018), o amido de *D. alata* apresenta características adequadas para uso na indústria de alimentos, podendo ser adicionado em produtos cárneos, utilizado como espessante em sopas, cremes e em processos que necessitem de altas temperaturas, como na fabricação de embalagens. Desta forma, o objetivo deste trabalho foi elaborar e caracterizar filmes de revestimento comestíveis formulados a base de amido extraído de *D. alata*.

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Elaboração e secagem dos filmes a base de amido

Para elaboração dos filmes por *casting*, 4 g de amido de *D. alata* foi diluído em 100 mL de água destilada, seguida adição de 3 g glicerol. A solução filmogênica foi aquecida a 95 °C até completa gelatinização. Desta solução, 10 mL foram transferidos para placas de vidro (140 mm X 150 mm), mantidas a 40 °C em estufa com circulação de ar forçado durante 24 h. Os filmes foram armazenados em frascos de vidro com tampa hermética para as demais análises (FAYAZ, et al., 2009; PAGNO et al., 2015).

2.2 Caracterização dos filmes biodegradáveis

2.2.1 Análise visual

A análise visual dos filmes de amido de *D. alata* foi realizada quanto aos aspectos subjetivos: facilidade de retirada das placas, presença ou ausência de rachaduras e maleabilidade (COSTA et al., 2017).

2.2.2 Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)

A Microscopia Eletrônica de Varredura dos filmes foi realizada em microscópio eletrônico de varredura compacto JSM-6010LA[®] (JEOL, Akishima, Japão). As amostras foram fixadas no porta-amostras com fita adesiva dupla face. Nas análises foi utilizado potencial de aceleração de 15 kV e 20 kV (LEONEL e CEREDA 2002).

2.2.3 Microscopia de Força Atômica

As análises foram realizadas no equipamento AFM/SPM 5500 Dynamics (Agilent Technologies[®], Santa Clara, EUA), com frequência de ressonância da ponta de 320 kHz e força constante de 42 N/m. Um fragmento dos filmes foi adicionado no cantilever comercial de sílica e seco por evaporação a 25 °C. As imagens obtidas foram tratadas no software WSxM v. 5.0 (HORCAS E FERNÁNDEZ, 2007). A imagem da topografia para a obtenção dos parâmetros de altura média, dos picos e Rugosidade Quadrática Média (RMS) foi analisada no software Gwyddion[®] versão 2.19. A RMS foi definida como o desvio padrão dos valores de elevação *z*, dentro da área determinada.

2.2.4 Difração de Raios-X

A análise de Difração de Raio-X dos filmes foi determinada em difratômetro STADI-P (Stoe & Cie GmbH[®], Darmstadt, Alemanha) com anôdo de molibdênio ($\text{MoK}_{\alpha 1}$, $\lambda = 0,7093 \text{ \AA}$), a $25 \text{ }^\circ\text{C}$, sob corrente 40 mA e tensão de 50 kV. Os fótons de raios-X foram capturados por um detector Mythen 1K (Dectris Ltd.[®], Baden-Daettwil, Suíça) por varredura 2θ de 5 a 60° e velocidade de varredura de $0,471^\circ \cdot \text{min}^{-1}$.

2.2.5 Espectroscopia de infravermelho com transformada de Fourier (FTIR)

A Espectroscopia no Infravermelho com Transformada de Fourier foi realizada em espectrofotômetro Cary 630 (Agilent Technologies[®], Santa Clara, EUA), na faixa de comprimento entre 700 a 4000 cm^{-1} , com resolução de 7 cm^{-1} .

2.2.6 Determinação da umidade dos filmes de revestimento

A umidade foi determinada por secagem em estufa a $105 \text{ }^\circ\text{C}$ até obtenção do peso constante (AOAC, 2006).

2.2.7 Avaliação da solubilidade em água dos filmes de revestimento

A solubilidade em água dos filmes foi determinada de acordo com o método de Gontard et al. (1994). Os filmes de umidade conhecida foram pesados, submergidos em 50 mL de água destilada e mantidos sob agitação, a $26 \text{ }^\circ\text{C}$. Após 24h, as amostras foram secas a $105 \text{ }^\circ\text{C}$, por 4 horas e pesadas. A solubilidade foi calculada conforme a equação 1:

Equação 1:

$$\%MS = \frac{PI - PF}{PI} \times 100$$

Onde: %MS = Porcentagem de material seco solubilizado;

PI = Peso inicial do material seco;

PF = Peso final do material seco não solubilizado.

2.2.8 Determinação da gramatura dos filmes de revestimento

A gramatura foi determinada pela razão entre a massa do filme/diâmetro e o resultado expresso em g/m^2 (COSTA et al., 2017).

2.3 Análise estatística

Os dados dos experimentos realizados em triplicata foram submetidos análise de variância e as médias comparadas pelo teste de Tukey (5%), utilizando o *software* Minitab® versão 17.0.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 Análise visual

Os filmes de revestimento produzidos com amido de *D. alata* pela técnica de *casting* apresentaram transparência, resistência, boa manuseabilidade e ausência de fraturas (Figura 1). As características dos filmes a base de amido são influenciadas pelo teor de amilose, amilopectina, plastificante, forma do suporte, técnica de espalhamento, nível da estufa, temperatura e tempo de secagem, assim como, umidade relativa ambiental durante o processo de secagem (MALI et al., 2010; SILVA et al., 2019). Silva et al. (2019), determinaram 19,15% de amilose no amido de *D. alata*. O conteúdo de amilose influencia no processo de retrogradação e nas características tecnológicas de filmes biodegradáveis. Em amidos com alta concentração de amilose a retrogradação ocorre de forma mais intensa, visto que as moléculas tendem a estabelecer ligações de hidrogênio entre si, diminuindo a afinidade pela água e tornando os filmes mais rígidos, difíceis de serem removidos do suporte e menos permeáveis ao vapor de água (MALI et al., 2010; MATTA JR et al., 2011).

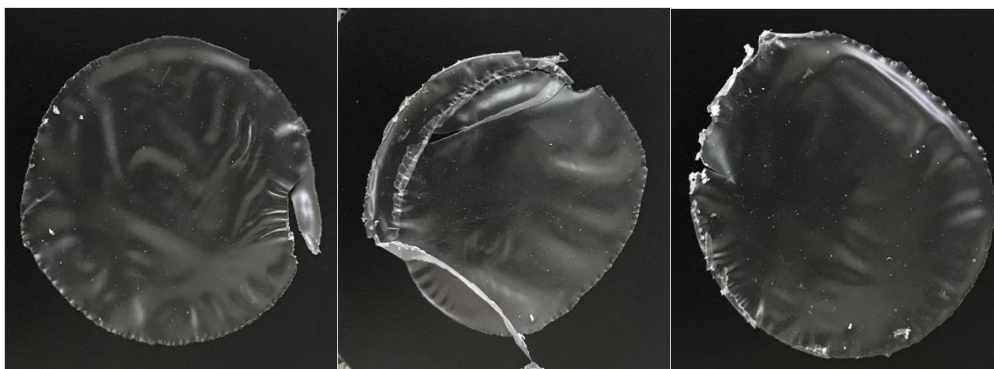


Figura 1. Análise visual dos filmes de amido de *D. alata* e glicerol.

3.2 Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)

O filme de amido de *D. alata* quando visualizado no MEV, não apresentou rachaduras e poros, porém foi observado agregação dos grânulos de amido não gelatinizados completamente, formando uma superfície rugosa. Estes resultados estão em concordância aos

achados por Hornung et al. (2018), em filmes de amido de *Dioscorea* sp., *D. piperifolia* Humb. var. Wild. e *D. trifida*. Sanyang et al. (2016) citaram que a rugosidade dos filmes com amido pelo método de *casting* pode ser melhorada modificando a concentração e o tipo de plasticizante, aditivos que auxiliam na completa solubilização dos grânulos na matriz polimérica.

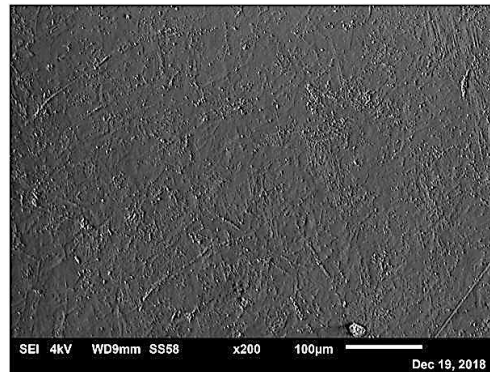


Figura 2. Filme de amido de *D. alata* e glicerol visualizado em Microscopia Eletrônica de Varredura.

3.3 Microscopia de Força Atômica (AFM)

A figura 3 demonstra as micrografias tridimensionais dos filmes de amido de *D. alata*, evidenciando a presença de rugosidade média de superfície (RMS) com valor de 52,78 nm. Filmes de amido de mandioca (3%) e glicerol (0,20g/g de amido) produzidos por Sueiro et al. (2016), apresentaram RMS de 3,83 nm. Em outro estudo realizado por Liang et al. (2009) sobre o efeito do glicerol na superfície de filmes de quitosana mostrou que maiores concentrações de glicerol formam filmes com superfícies mais lisas. Porém, concentrações muito baixas podem produzir efeito antiplasticizante, ocasionando a redução da flexibilidade e hidrofobicidade (PAGLIONE et al., 2019).

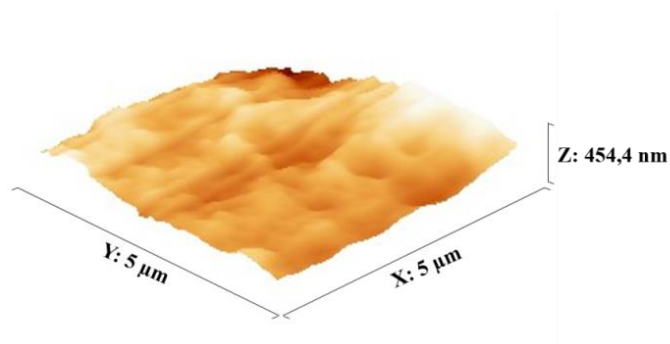


Figura 3. Micrografia tridimensional do filme de amido de *D. alata* e glicerol.

3.4 Difração de Raios X (DRX)

A técnica de Difração de Raios-X (DRX) evidenciou que o filme de amido de *D. alata* apresentou 4 picos nos seguintes ângulos de difração: 5,23°, 14,33°, 17,23° e 23,49° (figura 4). Esses resultados indicam a presença de amido de tubérculos com cristalinidade do Tipo B no filme. Os picos de cristalinidade observados no difratograma estão com menor intensidade devido aos processos de gelatinização e retrogradação que ocorrem com o amido na formação dos filmes (WANG et al., 2011 e LIMA et al., 2012).

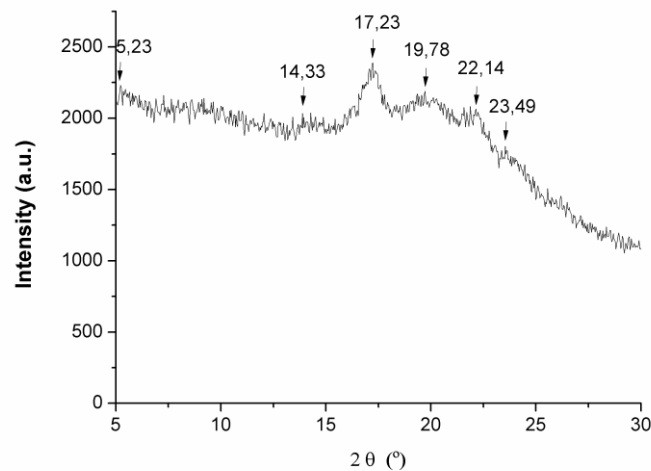


Figura 4. Difratograma do filme de amido de *D. alata* e glicerol.

3.5 Espectroscopia no Infravermelho com Transformada de Fourier (FTIR)

Os espectros de FTIR do filme de amido de *D. alata* e glicerol estão apresentados na figura 5. As principais bandas formadas foram em 3294 cm^{-1} , o qual equivale ao grupo O-H presente no final das cadeias poliméricas do amido e também do glicerol. As bandas 2932 e 2890 cm^{-1} se referem às ligações C-H e são características da variação na proporção de amilose e amilopectina presente nos filmes. Já o pico 1647 cm^{-1} , corresponde ao grupamento C=O e indica a presença de água (SANYANG et al. 2016; SUEIRO et al., 2016). Os picos de absorção de 1151 a 860 cm^{-1} formados correspondem às ligações C-C, C-O, C-OH, que confirma a absorção do glicerol pela matriz polimérica (SUKHIJA et al., 2018; CHENG et al., 2019). Estes resultados estão de acordo com o estudo realizado por Ismail et al. (2016) com filme de amido de inhame, onde foi observado a presença de O-H, C-H, C=O e C-O, que indica a formação de biofilmes.

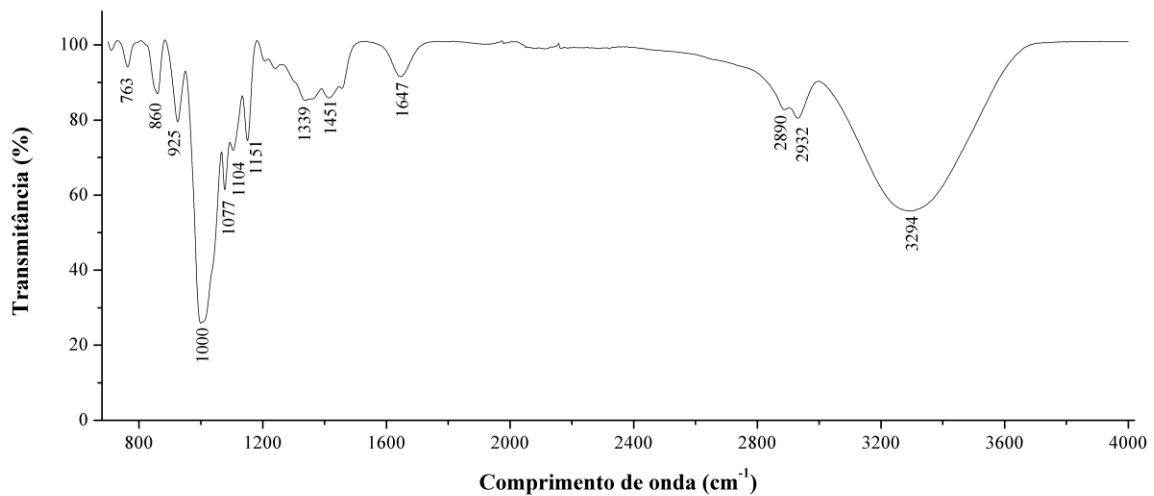


Figura 5. Espectros de FTIR de filme de *D. alata* e glicerol.

3.6 Propriedades tecnológicas

A umidade e a solubilidade obtidas dos filmes de *D. alata* foram de 8,82% e 23,22%, respectivamente. Estes resultados são inferiores ao estudo realizado por Gutiérrez et al. (2015) com filmes de amido de *D. trifida*, onde a umidade encontrada foi de 52% e a solubilidade de 32%. Filmes com menor teor de umidade são mais interessantes pois limitam o crescimento microbiano. A solubilização é um parâmetro importante pois determina a aplicação industrial dos filmes (FAKHOURI et al., 2007). Baixa solubilização dos filmes pode ser necessária para que haja a manutenção da integridade do produto embalado (BASIAK et al., 2017). A gramatura dos filmes foi de 5,54 g/m². Segundo Costa et al. (2017) este parâmetro é afetado devido a concentração do glicerol e pela quantidade de solução filmogênica utilizada na elaboração do filme.

4. CONCLUSÃO

Os resultados obtidos neste estudo mostraram que os filmes formulados com amido de *D. alata* são transparentes e resistentes, não apresentam fraturas, rachaduras, nem poros, e possuem superfície rugosa com cristalinidade do Tipo B. Essas características são promissoras para utilização em indústrias de alimentos, especialmente fabricação de embalagens e para fins gastronômicos, condicionados às características tecnológicas utilizadas no processo.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALMEIDA, D. M.; WOICIECHOWSKI, A. D. L.; WOSIACK, G.; PRESTES, R. A.; PINHEIRO, L. A. Propriedades Físicas, Químicas e de Barreira em Filme Formados por Blenda de Celulose Bacteriana e Fécula de Batata. *Polímeros*, 2013.

ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS. Official methods of analysis of the Association of Official Analytical Chemists. 16^a ed., Estados Unidos da América: Arlington, 2006, 1141p.

BASIAK, E.; LENART, A.; DEBEAULFORT, F. Effect of starch type on the physical-chemical properties of edible films. *International Journal of Biological Macromolecules*, v. 98, p. 348-356, 2017.

BERNARDO, C. O.; ASCHERI, J. L. R.; CHÁVEZ, D. W. H.; CARVALHO, C. W. P. Ultrasound Assisted Extraction of Yam (*Dioscorea bulbifera*) Starch: Effect on Morphology and Functional Properties. *Starch - Stärke*, v. 70, p.5-6, 2018.

BILCK, A. P.; GROSSMANN, M. E.; YAMASHITA, F. Biodegradable mulch films for strawberry production. *Polymer Testing*, v. 29, n. 4, p. 471-476, 2010.

CARBONE, M.; DONIA, D. T.; SABBATELLA, G.; ANTIOCHIA, RICCARDA. Silver nanoparticles in polymeric matrices for fresh food packaging. *Journal of King Saud University Science*, v. 28, p. 273–279, 2016.

CHENG, J. W.; WANG, H.; XIA, L.; JIANG, S.; CHEN, M.; JIANG, S. *Food Hydrocolloids*, v. 96, p. 546-554, 2019.

COSTA, J. C. M.; COSTA, B. E. T. Filmes comestíveis oriundos da fécula do cará (*Dioscorea trifida*).

COSTA, D. M. A.; SANTOS, A. F.; SILVA, E. D.; SILVA, I. A. Desenvolvimento e caracterização de filmes à base de amido de feijão macáçar (*Vigna unguiculata* (L.) Wap). *HOLOS*, v. 07, 2017.

COSTA, M. C. C.; AZEVEDO, C. R.; SOUSA, R. M. L.; SANTOS, A. F.; BARROQUEIRO, A. T. S. Embalagens de alimentos à base de biofilmes comestíveis: uma revisão de literatura. *Revista Ceuma Perspectivas*, v. 30, n. 02, 2017.

DIAS, J. G. S.; REIS, C. A. R.; JÚNIOR, M. G.; VAZ, L. E. V. S. Avaliação das propriedades de barreira de filmes de quitosana/montmorilonita para revestimento de couve de folhas (*Brassicaoleracea* L. var. *acephala*). Revista Brasileira de Iniciação Científica, v. 5, p. 16-27, 2018.

FAKHOURI, F. M.; FONTES, L. C. B.; GONÇALVES, P. V. M.; MILANEZ, C. R. STEEL, C. J.; COLLARES-QUEIROZ, F. P. Filmes e coberturas comestíveis compostas à base de amidos nativos e gelatina na conservação e aceitação sensorial de uvas Crimson. Ciência e Tecnologia de Alimentos, v. 27, n. 2, p. 369-375, 2007.

FARIAS, S. S.; SIQUEIRA, S. M. C.; CRISTINO, J. H. S.; ROCHA, J. M. Biopolímeros: uma alternativa para promoção do desenvolvimento sustentável. Revista Geonorte, v.7, n.26, p.61- 77, 2016.

FAYAZ, A. M.; BALAJI, K.; GIRILAL, M.; KALAICHELVAN, P. T.; VENKATESAN, R. Mycobased Synthesis of Silver Nanoparticles and Their Incorporation into Sodium Alginate Films for Vegetable and Fruit Preservation. Journal of Agricultural and Food Chemistry, v. 57, p. 6246–6252, 2009.

GONTARD, N.; DUCHES, C. ;CUQ, J. L.; 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.

GUTIÉRREZ, T. J.; MORALES, N. J.; PÉREZ, E.; TAPIA, M. S.; FAMÁ, L. Physico-chemical properties of edible films derived from native and phosphated cush-cush yam and cassava starches. Food Packaging and Shelf Life, v. 3, p. 1-8, 2015.

HORCAS, I.; FERNÁNDEZ, R. WSXM: A software for scanning probe microscopy and a tool for nanotechnology. Review of Scientific Instruments, v.78,2007.

HORNUNG, P. S.; ÁVILA, S.; MASISI, K.; MALUNGA, L. N.; LAZZAROTTO, M.; SCHNITZLER, E.; RIBANIA, R. H.; BETA, T. Green development of biodegradable films based on native yam (*Dioscoreaceae*) starch mixtures. Starch, v. 70, n. 5-6, 2018.

ISMAIL, N. A.; TAHIR, S. M.; YAHYA, N.; WAHID, M. F. A.; KHAIRUDDIN, N. E.; HASHIM, I.; ROSLI, N.; ABDULLAH, M. A. Synthesis and Characterization of Biodegradable Starch-based Bioplastics. Materials Science Forum, v. 846, p 673-678, 2016.

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

LEONEL, M.; CEREDA, M. P. Arrow root (*Maranta arundinacea*) as a possible raw material for starch industries. *Brazilian Journal of Food Technology*, v. 5, p. 151-155, 2002.

LIANG, S.; HUANG, Q.; LIU, L.; YAM, K. L. Microstructure and Molecular Interaction in Glycerol Plasticized Chitosan/Poly (vinyl alcohol) Blending Films. *Macromolecular Chemistry and Physics*, v. 210, p. 832–839, 2009.

LIMA, B. N. B.; CABRAL, T. B.; NETO, R. P. C.; TAVARES, M. I. B. Estudo do Amido de Farinhas Comerciais Comestíveis. *Polímeros*, 2012.

LIMA, N. A.; SIQUEIRA, P. M. O uso da prospecção tecnológica para a identificação de oportunidades: o 5-hidroximetilfurfural como plataforma química para a produção de polímeros de origem renovável. *Perspectivas da Ciência e Tecnologia*, v.7, n. 2, 2015.

MALI, S.; GROSSMANN, M. V. E.; YAMASHITA, F. Starch films: production, properties and potential of utilization. *Semina: Ciências Agrárias*, v. 31, n. 1, p. 137-156, 2010.

MATTA JR., M. D.; SARMENTO, S. B. S.; SARANTÓPOULOS, C. I. G. L.; ZOCCHI, S. S. Propriedades de barreira e solubilidade de filmes de amido de ervilha associado com goma xantana e glicerol. *Polímeros*, v. 21, n. 1, 2011.

PAGLIONE, I. S.; GALINDO, M. V.; YAMAGUCHI, M. M.; UENO, C. T.; SAKANAKA, L. S.; SHIRAI, M. A. Efeito do glicerol com plastificante nas propriedades funcionais de filmes de proteína de soja e óleo essencial de orégano. *Segurança Alimentar e Nutricional*, v.26, p. 1-8, 2019.

PAGNO, C. H.; COSTA, T. M. H.; MENEZES, E. W.; BENVENUTTI, E. V.; HERTZ, P. F.; MATTE, C. R.; TOSATI, J. V.; MONTEIRO, A. R.; RIOS, A. O.; FLÔRES, S. H. Development of active biofilms of quinoa (*Chenopodium quinoa* W.) starch containing gold nanoparticles and evaluation of antimicrobial activity. *Food Chemistry*, v, 173, p. 755–762, 2015.

RAMOS, A. S.; CASTRO, A. P.; MEDEIRO, C. M.; FRAXE, T. J. P.; MELO, S. R. D. Avaliação da brotação para obtenção de mudas de diferentes partes do tubérculo de cará roxo (*Dioscorea trifida* L.f). *Revista Brasileira de Agroecologia*, v. 9, n. 1, p. 170-175, 2014.

SALCEDO-MENDOZA, J.; GARCÍA-MOGOLLÓN, C.; SALCEDO-HERNÁNDEZ, D. Propiedades funcionales de almidones de ñame (*Dioscorea alata*). *Biotechnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial*, v. 16, n. 2, 2018.

SANYANG, M. L.; SAPUAN, S. M.; JAWAID, M.; ISHAK, M. R.; SAHARI, J. Effect of plasticizer type and concentration on physical properties of biodegradable films based on sugar palm (*Arenga pinnata*) starch for food packaging. *Journal of Food Science and Technology*, v. 53, n. 1, p. 326–336, 2016.

SILVA, L. S. C.; MARTIM, S. R.; SOUZA, R. A. T.; MACHADO, A. R. G.; TEIXEIRA, L. S.; SOUSA, L. B.; VASCONCELLOS, M. C.; TEIXEIRA, M. F. S. Extração e caracterização de amido de espécies de *Dioscorea* cultivadas na Amazônia. *Boletim do Museu Paraense Emílio Goeldi. Ciências Naturais*, v. 14, n. 3, 2019.

SILVA, M. C. S.; LIMA, P. K. D.; SILVEIRA, M. F. A.; ARTHUR, V.; SOUZA, A. R. M. Avaliação das propriedades físico-químicas e mecânicas de filmes de fécula de mandioca incorporado com cafeína irradiada. *Revista Desafios*, v. 6, 2019.

SUEIRO, A. C.; FARIA-TISCHER, P. C. S.; LONNIC, A. A. S. G.; MALI, S. Filmes biodegradáveis de amido de mandioca, pululana e celulose bacteriana. *Química Nova*, v. 39, n. 9, p. 1059-1064, 2016.

SUKHIJA, S.; SINGH, S.; RIAR, C. S. Physical, Mechanical, Morphological, and Barrier Properties of Elephant Foot Yam Starch, Whey Protein Concentrate and psyllium Husk Based Composite Biodegradable Films. *Polymer Composites*, 2018.

WANG, Y.; ZHANG, L.; LI, X.; GAO, W. Physicochemical Properties of Starches from Two Different Yam (*Dioscorea Opposita* Thunb.) Residues. *Brazilian Archives of Biology and Technology*, v. 54, n. 2, p. 243-251, 2011.

Capítulo 4

Filme de revestimento com amido de *Dioscorea altissima* incorporado com nanopartículas de prata para conservação de alimentos

Larissa Svetlana Cavalcante Silva, Salomão Rocha Martim, Dib Mady Diniz Gomes, Fabiano Brito Prado, Nelly Mara Vinhote Marinho, Taciana de Amorim Silva, José de Arimatéia Rodrigues do Rego, Maria Francisca Simas Teixeira

Resumo

Filmes de revestimento produzidos com amido são produtos não tóxicos, biodegradáveis que tem potencial aplicação para revestimento de produtos alimentícios. Nanopartículas de prata (AgNPs) de origem biológica adicionadas em filmes de amido constituem uma tecnologia verde para incrementar a vida útil de alimentos. Este trabalho teve como objetivo desenvolver filmes poliméricos com amido extraído de *Dioscorea altissima* Lam. incorporados com AgNPs para revestimento e conservação de alimentos *in natura*. Na elaboração dos filmes, o amido de *D. altissima* foi diluído em água destilada com glicerol, aquecido a 95°C. Após gelatinização e resfriamento as AgNPs biogênicas foram adicionadas. Em seguida, 10 mL da solução filmogênica foram transferidos para placas de Petri, mantidas a 40 °C, por 24 h. Após secagem, os filmes foram analisados visualmente quanto à facilidade de retirada das placas, presença ou ausência de rachaduras, opacidade e maleabilidade. Foram caracterizados em Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV), Microscopia de Força Atômica (AFM), Difração de Raios-x (DRX) e Espectroscopia de Força Atômica com Transformada de Fourier (FTIR). A atividade antimicrobiana foi realizada frente aos microrganismos *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* e *Candida albicans*. As propriedades tecnológicas, como espessura, umidade, solubilidade, permeabilidade ao vapor de água e gramatura foram avaliadas. Os filmes de revestimento com e sem AgNPs apresentaram características similares, como transparência, maleabilidade e ausência de rachaduras. Os espectros de FTIR mostraram bandas semelhantes nos dois filmes analisados epicos em ângulos de difração próximos, confirmando a presença de amido do tipo B. Os filmes com AgNPs apresentaram aglomerados esféricos, maior rugosidade média e ação antimicrobiana contra *S. aureus* e *E. coli*. A adição de AgNPs contribuiu para a redução da espessura, solubilidade, permeabilidade ao vapor de água e gramatura, propriedades adequadas para uso deste produto na indústria de embalagens e conservação de alimentos *in natura*.

Palavras-chave: inhame, polímeros, glicerol.

Abstract

Starch-based coating films are non-toxic and biodegradable which have potential application for coating food products. Silver nanoparticles (AgNPs) from biological origin is being added to starch films using green technology to increase shelf life of foods. The aim of this study were to develop starch polymeric films extracted from *Dioscorea altissima* Lam. Incorporated with AgNPs for coating and preservation of fresh foods. *D.altissima* starch was diluted in glycerol distilled water heated at 95 ° C. After gelatinization and cooling the biogenic AgNPs were added. Then 10 mL of the filmogenic solution was transferred to Petri dishes maintained at 40 ° C for 24 h. The biogenic AgNPs were added after gelatinization and cooling. Then 10 mL of filmogenic solution was transferred to Petri dishes at 40 °C for 24 h. Films were visually analyzed for plate removal after drying, presence or absence of cracks, opacity and malleability. They were characterized by Scanning Electron Microscopy (SEM), Atomic Force Microscopy (AFM), X-ray Diffraction (XRD) and Fourier Transform Atomic Force

Spectroscopy (FTIR). Antimicrobial activity was performed against the organisms *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* and *Candida albicans*. Technological properties such as thickness, humidity, solubility, water vapor permeability and weight were evaluated. Coating films with and without AgNPs showed similar characteristics, such as transparency, malleability and absence of cracks. FTIR spectra showed similar bands in both films analyzed, and spikes at close diffraction angles were observed, confirming the presence of type B starch. Films with AgNPs showed spherical agglomerates, higher average roughness and antimicrobial action against *S. aureus* and *E. coli*. Addition of AgNPs were contributed to reduction of thickness, solubility, water vapor permeability and weight, properties suitable for use of this product in the packaging and food preservation industry.

Keywords: Yam, polymers, glycerol.

1. INTRODUÇÃO

Filmes de revestimento são finas camadas de produto comestível aplicado sobre a superfície do alimento, como frutos, sementes, hortaliças, entre outros. O recobrimento desses produtos com filme comestíveis proporciona a melhoria da qualidade e aumenta o tempo de armazenamento do produto final (ALBUQUERQUE et al., 2011).

Polímeros biodegradáveis, como o amido são predominantemente utilizados na produção de filmes comestíveis pela facilidade de processamento e redução do custo de produção, além da disponibilidade a partir de diferentes fontes, como tubérculos, folhas, rizoma, sementes e frutos (MATEESCU et al., 2015; PAGNO et al., 2015).

Na Amazônia existem diversas espécies de tubérculos inexplorados, pouco conhecidos e de consumo limitado que são fontes de amido, subproduto rico em carboidrato, utilizado na dieta humana e que tem uma diversidade de aplicação industrial e biotecnológica. Entre os tubérculos cultivados na região norte, *Dioscorea altissima* (cará-de-espinho), tem produção expressiva de 40 a 101 kg/cova em 18 meses, condição que tem incentivado a utilização desse tubérculo como alimento (DIAS et al., 2016; SILVA et al., 2015).

Pesquisa recente realizada com *D. altissima*, em teste *in vitro*, comprovou a ação prebiótica desse tubérculo (TEIXEIRA, et al., 2016). A produtividade do cará-de-espinho e a sua importância medicinal são fatores que podem promover o aumento do cultivo por agricultores e a exploração comercial. Uma alternativa para o aproveitamento do amido de *D. altissima* consiste na elaboração de filme para conservação de produtos alimentícios, tecnologia ainda não disponível para uso em frutos da região amazônica.

A eficiência dos filmes de *D. altissima* pode ser melhorada pela incorporação de Nanopartículas de Prata (AgNPs) em sua composição, além de prevenir a contaminação causada por microrganismos, contribui para a melhoria das propriedades mecânicas, térmicas, de barreiras aos gases e água dos filmes (SAMBERG et al., 2011).

As AgNPs são sintetizadas por métodos físicos, químicos e biológicos, porém os métodos químicos e físicos são mais dispendiosos e utilizam muitas vezes substâncias tóxicas. Uma alternativa vantajosa está sendo a síntese biogênica mediada por microrganismos, pois estes secretam compostos extracelulares capazes de reduzir íons metálicos rapidamente, tecnologia verde menos agressiva ao meio ambiente e economicamente viável (DAR et al., 2013).

Este estudo apresenta a elaboração de filmes de revestimento para a conservação de alimentos *in natura* formulado com amido de *D. altissima* incorporados com AgNPs sintetizadas biologicamente por actinomicetos isolados na região amazônica.

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Obtenção das AgNPs

As soluções de AgNPs utilizadas na preparação dos filmes à base de amido foram cedidas pelo Banco de Nanopartículas, da Coleção de Culturas DPUA/UFAM biossintetizadas utilizando *Streptomyces parvulum* DPUA 1549. As AgNPs intermediadas por esses microrganismos foram escolhidas por expressarem atividade antimicrobiana significativa (SILVA-VINHOTE et al., 2017).

2.2 Elaboração e secagem dos filmes a base de amido

Para elaboração dos filmes por *casting*, 4 g de amido de *D. altissima* foi diluído em 100 mL de água destilada com 3 g de glicerol. A solução filmogênica foi aquecida a 95 °C. Após completa gelatinização e resfriamento da solução, foi adicionado AgNPs (2 µg/mL). Desta solução, 10 mL foram transferidos para placas de vidro (140 mm X 150 mm), mantidas a 40 °C em estufa com circulação de ar forçado durante 24 h. Dois tipos de filmes foram produzidos: padrão (sem AgNPs) e teste (com AgNPs). Os filmes foram armazenados em frascos de vidro com tampa hermética para as demais análises (FAYAZ, et al., 2009; PAGNO et al., 2015).

2.3 Caracterização dos filmes

2.3.1 Análise subjetiva

A análise visual dos filmes de revestimento padrão (sem AgNPs) e teste (com AgNPs) foi realizada com base na facilidade de retirada das placas, presença ou ausência de rachaduras e maleabilidade (COSTA et al., 2017).

2.3.2 Análise Microscópica e Espectroscópica

2.3.2.1 Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)

A Microscopia Eletrônica de Varredura dos filmes foi realizada em microscópio eletrônico de varredura compacto JSM-6010LA[®] (JEOL, Akishima, Japão). As amostras foram fixadas no porta amostras com fita adesiva dupla face. Nas análises foi utilizado potencial de aceleração de 15 kV e 20 kV (LEONEL e CEREDA 2002).

2.3.2.2 Microscopia de Força Atômica (AFM)

As análises foram realizadas no equipamento AFM/SPM 5500 Dynamics (Agilent Technologies[®], Santa Clara, EUA), com frequência de ressonância da ponta de 320 kHz e força constante de 42 N/m. Um fragmento dos filmes foi adicionado no cantilever comercial de sílica e seco por evaporação a 25 °C. As imagens obtidas foram tratadas no software WSxM v. 5.0 (HORCAS e FERNÁNDEZ, 2007). A imagem da topografia para a obtenção dos parâmetros de altura média, dos picos e Rugosidade Quadrática Média (RMS) foi analisada no software Gwyddion[®] versão 2.19. A RMS foi definida como o desvio padrão dos valores de elevação z, dentro da área determinada.

2.3.2.3 Difração de Raios-X

A análise de Difração de Raio-X dos filmes foi determinada em difratômetro STADI-P (Stoe & Cie GmbH[®], Darmstadt, Alemanha) com anodo de molibdênio ($\text{MoK}_{\alpha 1}$, $\lambda = 0,7093 \text{ \AA}$), a 25 °C, sob corrente 40 mA e tensão de 50 kV. Os fótons de raios-X foram capturados por um detector Mythen 1K (Dectris Ltd.[®], Baden-Daettwil, Suíça) por varredura 2θ de 5 a 60° e velocidade de varredura de 0,471° . min⁻¹.

2.3.2.4 Espectroscopia de infravermelho com transformada de Fourier (FTIR)

A Espectroscopia no Infravermelho com Transformada de Fourier foi realizada em espectrofotômetro Cary 630 (Agilent Technologies[®], Santa Clara, EUA), na faixa de comprimento entre 700 a 4000 cm⁻¹, com resolução de 7 cm⁻¹.

2.3.6 Quantificação de prata total nos filmes (ICP-MS)

Para a análise, as amostras foram digeridas a 90 °C por quatro horas, em ácido nítrico 98% (v/v) (ROLIM et al., 2019). A quantificação da prata total determinada em espectrofotômetro ICP-MS 7900 (Agilent Technologies Inc.[®], Hachioji, Japão).

2.3.7 Determinação da atividade antimicrobiana

A atividade antimicrobiana dos filmes incorporados com AgNPs foi determinada pelo método de difusão em ágar, frente a *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Escherichia coli* CBAM 001 e *Candida albicans* DPUA 1706. As bactérias foram cultivadas em ágar Mueller-Hinton (MHA) e *C. albicans* em ágar Sabouraud (SAB) a 37 °C, por 24 h. De cada cultivo foi retirado alíquota com alça de platina calibrada ($\varnothing = 4$ mm) e transferidos para 5 mL de água destilada esterilizada, em tubos de ensaios. Um volume de 100 uL de suspensão celular, concentração equivalente a 10^8 UFC/mL (bactéria) e 10^5 UFC/mL, foi transferido para superfície de MHA e SAB, em placas de Petri (90 mm x 10 mm), formando camada uniforme. Em cada placa teste foi inoculado discos de cada amostra de filme medindo 8 mm de diâmetro. Como controle positivo foi utilizado solução de Estreptomicina [50 µg/mL (bactérias)] e Itraconazol [50 µg/mL (leveduras)]. O controle negativo foi realizado com o filme padrão (sem AgNPs). As placas foram incubadas a 37 °C por 24 h. A atividade antimicrobiana foi expressa em milímetros (FAYAZ, et al., 2009; PRADO et al., 2017).

2.4 Análise das propriedades tecnológicas dos filmes de revestimento

2.4.1 Determinação da espessura

A espessura dos filmes foi determinada em três pontos aleatórios, utilizando um paquímetro digital e os resultados expressos em média (SOBRAL, 1999).

2.4.2 Determinação da permeabilidade ao vapor de água

A permeabilidade ao vapor de água foi determinada por método gravimétrico E96/E96 da ASTM (ASTM, 2010). A taxa de permeabilidade ao vapor d'água foi determinada a 23 °C e 75% UR. O ganho de peso de cloreto anidro dentro de cápsulas de alumínio, fechadas com os filmes, foi quantificado em balança analítica Mettler, mod. AT 400, com resolução de 10^{-4} g.

2.4.3 Determinação da umidade

A umidade foi determinada por secagem em estufa com circulação de ar forçado, a 105 °C até obtenção do peso constante, e os resultados expressos em porcentagem (AOAC, 2006).

2.4.4 Determinação da solubilidade

A solubilidade em água dos filmes foi determinada de acordo com o método de Gontard et al. (1994). Os filmes de umidade conhecida foram pesados, submergidos em 50 mL de água destilada e mantidos sob agitação, a 26 °C. Após 24h, as amostras foram secas a 105 °C, por 4 horas e pesadas. A solubilidade foi calculada conforme a equação 1:

Equação 1:

$$\%MS = \frac{PI - PF}{PI} \times 100$$

Onde: %MS = Porcentagem de material seco solubilizado;

PI = Peso inicial do material seco;

PF = Peso final do material seco não solubilizado.

2.4.5 Determinação da gramatura

A gramatura foi determinada pela razão entre a massa do filme/diâmetro e o resultado expresso em g/m² (COSTA et al., 2017).

2.5 Análise estatística

Os dados dos experimentos realizados em triplicata foram submetidos análise de variância e as médias comparadas pelo teste de Tukey (5%), utilizando o *software* Minitab® versão 17.0.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Durante a análise visual dos filmes foi observado que a adição de AgNPs não interferiu na capacidade filmogênica do amido de *D. altissima*. Ambos os filmes estudados apresentaram transparência, maleabilidade e não houve rupturas ao serem retirados das placas (Figura 1). De acordo com Fakhouri et al. (2007), os filmes comestíveis utilizados para recobrir alimentos *in natura* devem ser transparentes, inodoros e insípidos, características que não interferem nas propriedades sensoriais do produto.

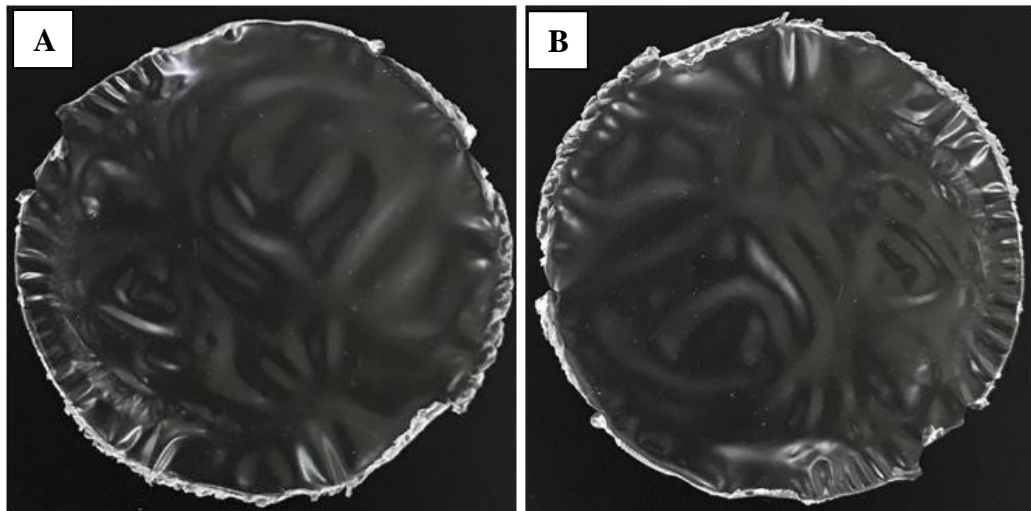


Figura 1. Filmes de revestimento de *D. altissima* e glicerol. A) Filme padrão (sem AgNPs); B) Filme teste (com AgNPs).

A figura 2 mostra que os filmes com amido de *D. altissima*, sem AgNPs, apresentaram superfície mais lisa e homogênea, no entanto, os filmes incorporados com AgNPs formaram aglomerados esféricos. Resultado similar foi reportado por Oliani et al. (2016) em filmes de polietileno formulados com AgNPs.

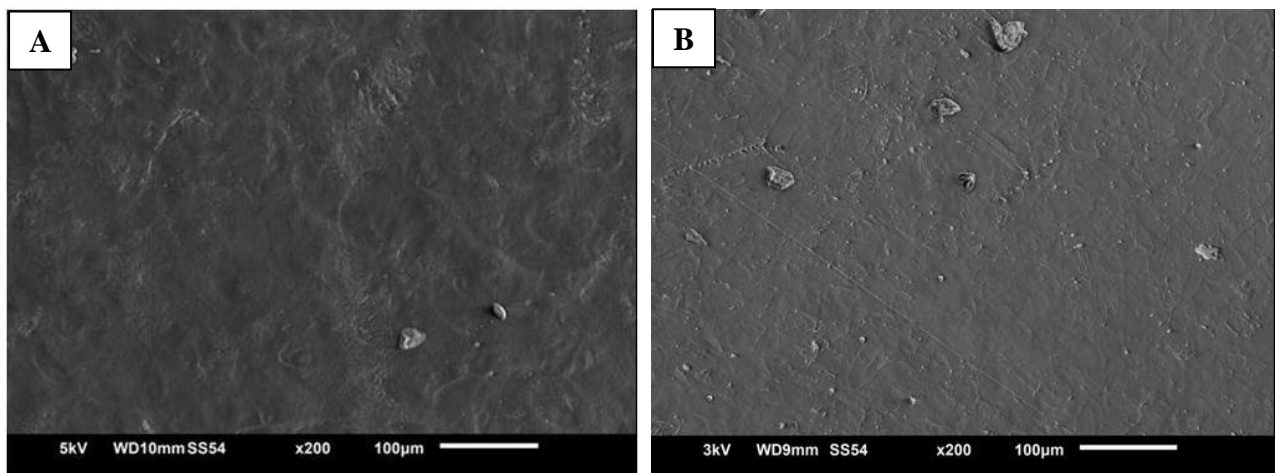


Figura 2. Filmes de amido de *D. altissima* visualizados em MEV. A) Filme padrão (sem AgNPs); B) Filme teste (com AgNPS).

As imagens tridimensionais obtidas por AFM confirmam os resultados obtidos na Microscopia Eletrônica de Varredura (Figura 3). Os filmes de *D. altissima* incorporados com AgNPs apresentam rugosidade média superior 16,40% ao filme controle sem a adição de AgNPs. Ortega et al. (2017) cita que altas concentrações de AgNPs utilizadas em filmes de revestimento tendem a formar aglomerados e conseqüentemente uma superfície mais rugosa.

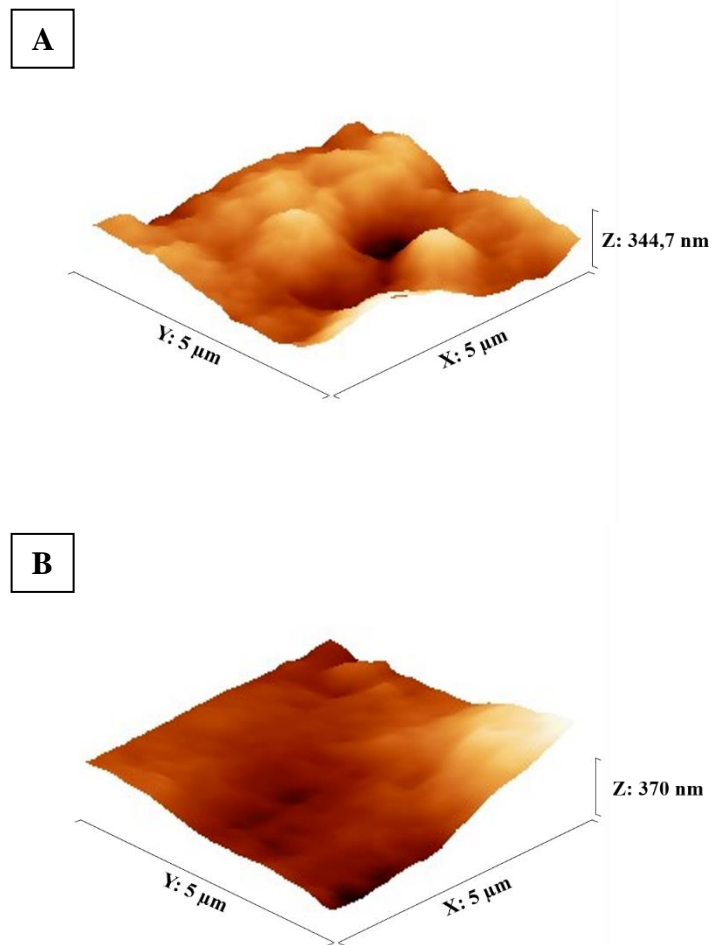


Figura 3. Micrografias tridimensionais de filmes de amido de *D. altissima*. A) Filme padrão (sem AgNPs); B) Filme teste (com AgNPs).

Os espectros de FTIR dos filmes de amido de *D. altissima* e glicerol sem AgNPs e com AgNPs apresentaram bandas semelhantes e pequenos deslocamentos que podem ser explicados devido a interação das AgNPs e o amido (Figura 4). Em 3293 cm^{-1} foi observada uma banda intensa que se refere ao grupamento hidroxila presente no amido e no plasticizante utilizado (BERGO et al., 2010). Os picos em 1648 cm^{-1} indicam a presença de água ligada ao polímero (SUEIRO et al., 2016). De acordo com Ferreira et al. (2015) as bandas encontradas na região 1000 cm^{-1} estão relacionadas com a estrutura cristalina do amido.

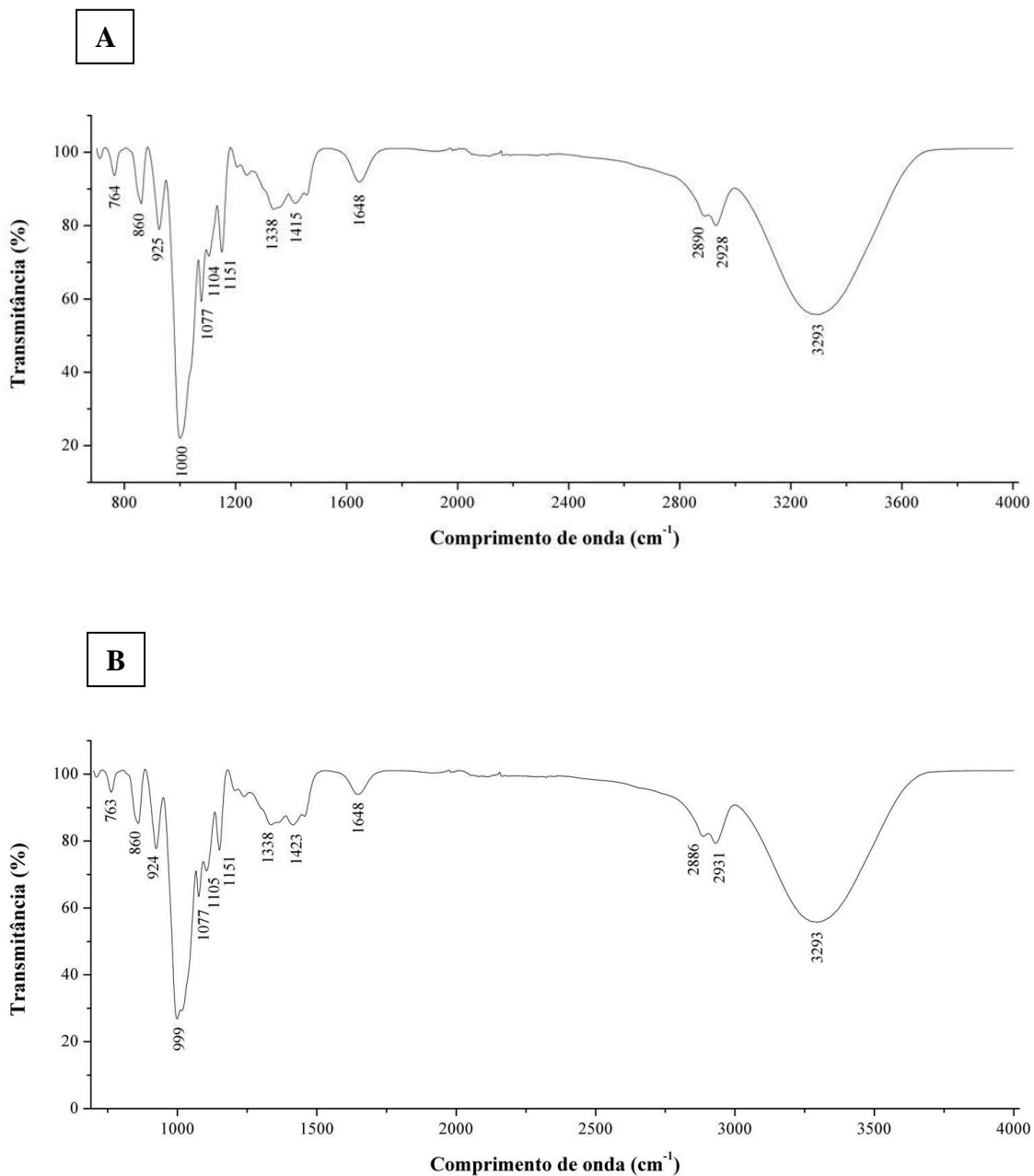


Figura 4. Espectros de FTIR dos filmes de amido de *D. altissima*. A) Filme padrão (sem AgNPs); B) Filme teste (com AgNPs).

A análise dos filmes em Difração de Raios-X (DRX) mostrou que o filme de amido de *D. altissima* e glicerol sem AgNPs e com AgNPs apresentou picos em ângulos de difração próximos (Figura 5). Resultados semelhantes foram encontrados por Chevirón et al. (2016) em filmes de amido de batata, dados que confirmam a presença de amido extraído de tubérculos do tipo B na formulação dos filmes.

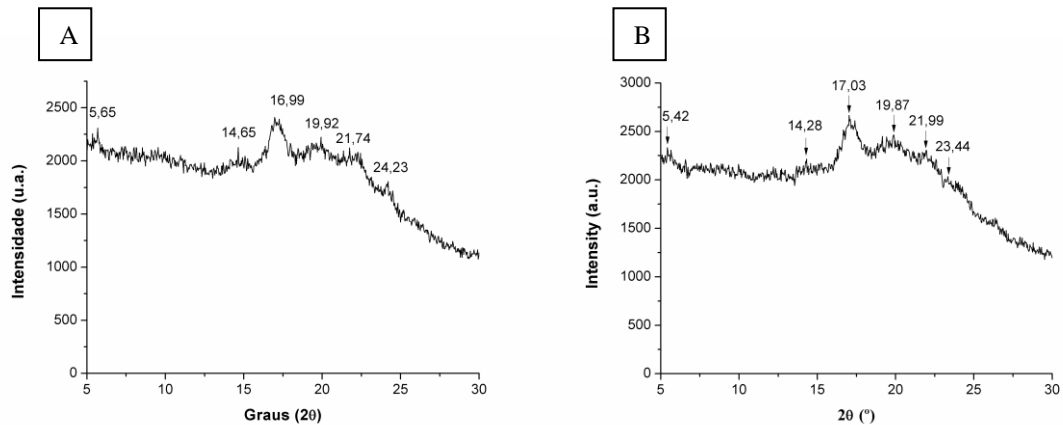


Figura 5. Difratogramas dos filmes de amido e glicerol. A) Filme padrão (sem AgNPs); B) Filme teste (com AgNPs).

A análise realizada no ICP-MS demonstrou que o filme incorporado com AgNPs apresentou concentração de prata total igual a 152,50 ($\mu\text{g/mL}$). Dados da literatura demonstram que essa concentração está inferior ao recomendado para alimentos pela European Food Safety Authority (LI et al., 2018). Além disso, a possibilidade de migração das AgNPs da embalagem para os alimentos é muito baixa, embora estudos reportando os possíveis efeitos toxicológicos dos níveis de AgNPs nos alimentos como consequência da contaminação através das embalagens ainda são escassos (SIMBINE et al., 2019).

A figura 6 demonstra que os filmes incorporados com AgNPs apresentaram ação bactericida contra *S. aureus* (9 mm) e bacteriostática frente a *E. coli* (7 mm). No entanto, *C. albicans* não expressou sensibilidade. Dados semelhantes foram observados por Silva-Vinhote et al. (2017). Yoksan e Chirachanchai (2010) relatam que AgNPs se ancoram à superfície da membrana celular bacteriana e adentram, causando danos ao metabolismo e morte celular.

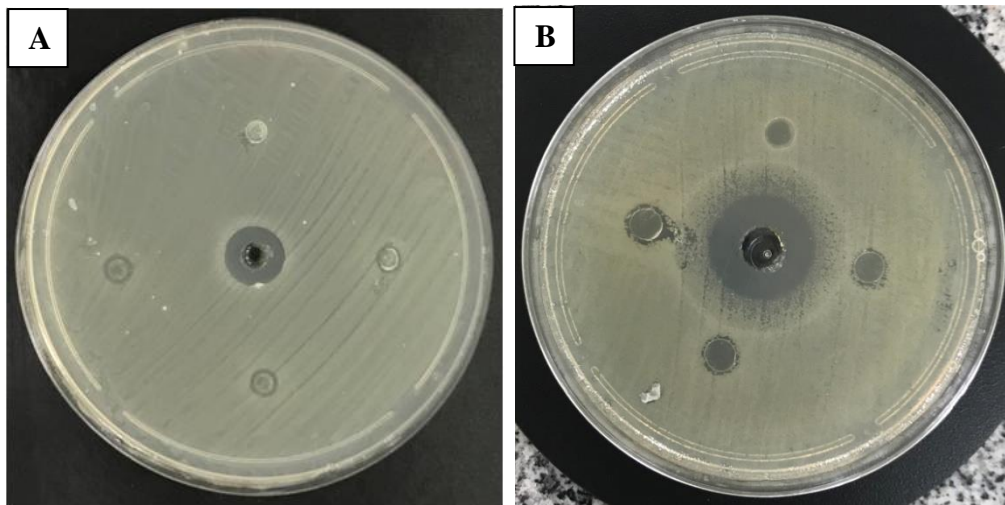


Figura 6. Atividade antimicrobiana dos filmes teste de amido de *D. altissima* incorporados com AgNPs. A) *S. aureus*; B) *E. coli*.

As propriedades tecnológicas dos filmes de revestimento estão demonstradas na tabela 1. A umidade no filme padrão (sem AgNPs) foi de 8,22% e no filme teste (com AgNPs) 11,16%. Kahmani e Rhim (2014) determinaram valores de 16,9% e 17,3% em filmes de gelatina sem e com AgNPs, respectivamente. Estes resultados relacionados ao aumento de umidade nos filmes com AgNPs são semelhantes aos obtidos no presente estudo. Isto pode ser explicado devido à redução da interação entre as cadeias de amilose e amilopectina, permitindo a absorção de água pelos grupos hidroxilas livres. Os aditivos incorporados aos filmes podem influenciar no aumento ou diminuição da umidade dos filmes de amido (DANTAS et al., 2015).

A incorporação de AgNPs nos filmes com amido de *D. altissima* também causou redução de 15,3%, 7,6%, 15,68% e 24,67% na espessura, solubilidade, permeabilidade ao vapor de água e gramatura, respectivamente. O controle da espessura é um parâmetro importante na produção dos filmes, pois influencia diretamente a permeabilidade ao vapor de água e na solubilidade (FARIAS et al., 2012).

A baixa solubilidade dos filmes incorporados com AgNPs é interessante para que os produtos revestidos não se desintegram com facilidade ao entrar em contato com a água (BASIAK et al., 2017).

Estudo realizado por Yoksan e Chirachanchai (2010) mostrou que os filmes de quitosana incorporados com AgNPs apresentaram diminuição na permeabilidade ao vapor de água. Filmes utilizados para recobrir frutas e hortaliças *in natura* necessitam de baixa permeabilidade ao vapor de água, pois a perda de umidade reduz a atividade metabólica do alimento, o que causa perda de massa e ressecamento, mudança na coloração e textura

(SANCHEZ-GONZALEZ et al., 2015; ZANELA et al., 2015). Ortega et al. (2017) citam que o preenchimento dos espaços presentes na matriz polimérica pelas AgNPs, aumentam a tortuosidade do filme e dificultam a movimentação do material permeante.

A gramatura foi 32,75% superior no filme padrão (sem AgNPs). A diferença de gramatura pode ser explicada devido aos componentes presentes no filme. Este parâmetro influencia diretamente na espessura e consequentemente na resistência mecânica e na permeabilidade ao vapor de água dos filmes (BILCK et al., 2010; MALI et al., 2010; ALMEIDA et al., 2013; COSTA et al., 2017).

Tabela 1. Propriedades tecnológicas dos filmes de revestimento.

	Filme padrão (sem AgNPs)	Filme teste (com AgNPs)
Umidade (%)	8,22 ± 0,35 ^b	11,16 ± 0,49 ^a
Solubilidade (%)	57,78 ± 0,96 ^a	53,38 ± 0,98 ^b
Espessura (mm)	0,26 ± 0,00 ^a	0,22 ± 0,00 ^b
PVA (g.mm.m ⁻² .d.kPa)	4,91 ± 0,09 ^a	4,14 ± 0,00 ^b
Gramatura (g/m ²)	7,7 ± 0,24 ^a	5,8 ± 0,22 ^b

Médias que não compartilham uma letra são significativamente diferentes pelo Teste de Tukey ($p < 0.05$)/(±)

4. CONCLUSÕES

Dentre os filmes elaborados, o filme de amido de *D. altissima* incorporado com AgNPs têm atividade antimicrobiana e propriedades tecnológicas adequadas para revestimento e conservação de produtos alimentícios de origem vegetal.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALBUQUERQUE, E. M. B., SANTOS, D. C.; OLIVEIRA, E. N. A.; ALMEID, F. A. C.; SILVA, H. Comportamento da acidez em manga in natura armazenada em atmosfera controlada. Revista Brasileira de Tecnologia Agroindustrial, v. 5, n. 2, p. 516-523, 2011.

ALMEIDA, D. M.; WOICIECHOWSKI, A. D L.; WOSIACK, G.; PRESTES, R. A.; PINHEIRO, L. A. Propriedades Físicas, Químicas e de Barreira em Filme Formados por Blenda de Celulose Bacteriana e Fécula de Batata. Polímeros, 2013.

AMERICAN SOCIETY FOR TESTING AND MATERIALS-ASTM. Standard Test Methods for Water Vapor Transmission of Materials – ASTM E96/E96M-10. Philadelphia, USA: American Society for Testing and Materials. 2010.

ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS. Official methods of analysis of the Association of Official Analytical Chemists.16^a ed., Estados Unidos da América: Arlington, 2006, 1141p.

BASIAK, E.; LENART, A.; DEBEAULFORT, F. Effect of starch type on the physical-chemical properties of edible films. *International Journal of Biological Macromolecules*, v. 98, p. 348-356, 2017.

BERGO, P.; SOBRAL, P.J.A.; PRISON, J.M. Effect of glycerol on physical properties of cassava starch films. *Journal of Food Processing and Preservation*, v. 34, p. 401–410, 2010.

BILCK, A. P.; GROSSMANN, M. E.; YAMASHITA, F. Biodegradable mulch films for strawberry production. *Polymer Testing*, v. 29, n. 4, p. 471-476, 2010.

COSTA, D. M. A.; SANTOS, A. F.; SILVA, E. D.; SILVA, I. A. Desenvolvimento e caracterização de filmes à base de amido de feijão macáçar (*Vigna unguiculata* (L.) Wap). *HOLOS*, v. 7, n. 33, 2017.

CHEVIRON, P.; GOUANVÉ, F.; ESPUCHE, E. Preparation, characterization and barrier properties of silver/montmorillonite/starch nanocomposite films. *Journal of Membrane Science*, v. 497, p. 162–171.

DANTAS, E. A.; COSTA, S. S.; CRUZ, L. S.; BRAMONT, W. B.; COSTA, A. S.; PADILHA, F. F.; DRAUZIAN, J. I.; MACHADO, B. A. S. Caracterização e avaliação das propriedades antioxidantes de filmes biodegradáveis incorporados com polpas de frutas tropicais. *Ciência Rural*, v.45, n.1, p.142-148, 2015.

DAR, M. A.; INGLE, A.; RAI, M. Enhanced antimicrobial activity of silver nanoparticles synthesized by *Cryphonectria* sp. evaluated singly and in combination with antibiotics. *Nanomedicine: Nanotechnology, Biology and Medicine*, v. 9, p. 105-110, 2013.

DIAS, F. C. P.; SILVA, R.; BARROS, D. R.; KINUPP, V. F. Composição físico-química de cará-de-espinho (*Dioscorea altissima* Lam.) produzido no IFAM Campus Manaus Zona Leste. XXV Congresso Brasileiro de Ciência e Tecnologia de alimentos, 2016.

FAKHOURI, F. M.; FONTES, L. C. B.; GONÇALVES, P. V. M.; MILANEZ, C. R. STEEL, C. J.; COLLARES-QUEIROZ, F. P. Filmes e coberturas comestíveis compostas à base de amidos nativos e gelatina na conservação e aceitação sensorial de uvas Crimson. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, v. 27, n. 2, p. 369-375, 2007.

FARIAS, M. G.; CARVALHO, C. W. P.; TAKEITI, C. Y.; ASCHERI, J. L. RAMÍREZ. O efeito da permeabilidade ao vapor de água, atividade de água, molhabilidade e solubilidade em água em filmes de amido e polpa de acerola. Embrapa Agroindústria Tropical, 2012.

FAYAZ, A. M.; BALAJI, K.; GIRILAL, M.; KALAICHELVAN, P. T.; VENKATESAN, R. Mycobased Synthesis of Silver Nanoparticles and Their Incorporation into Sodium Alginate Films for Vegetable and Fruit Preservation. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, v. 57, p. 6246–6252, 2009.

FERREIRA, C. H.; PASSOS, E. F.; MARQUES, P. T. Caracterização espectroscópica e físicoquímica de filmes de blendas de amido e carboximetilcelulose. XI Congresso de Engenharia Química em Iniciação Científica, Unicamp, Campinas, São Paulo, 2015.

GONTARD, N.; DUCHES, C.; CUQ, J. L.; 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.

HORCAS, I.; FERNÁNDEZ, R. WSXM: A software for scanning probe microscopy and a tool for nanotechnology. *Review of Scientific Instruments*, v.78, 2007.

KANMANI, P.; RHIM, J. W. Physical, mechanical and antimicrobial properties of gelatin based active nanocomposite films containing AgNPs and nanoclay. *Food Hydrocolloids*, v. 35, p. 644–652, 2014.

LEONEL, M.; CEREDA, M. P. Arrow root (*Maranta arundinacea*) as a possible raw material for starch industries. *Brazilian Journal of Food Technology*, v. 5, p. 151-155, 2002.

LI, W.; LI, L.; ZHANG, H.; YUAN, M.; QIN, Y. Evaluation of PLA nanocomposite films on physicochemical and microbiological properties of refrigerated cottage cheese. *Journal of Food Processing and Preservation*, v. 42, n. 1, p. 1-9, 2018.

MALI, S., M.; GROSSMANN, V. E.; YAMASHITA, F. Starch films: production, properties and potential of utilization. *Semina: Ciências Agrárias*, v. 31, n. 1, 137-156, 2010.

MATEESCU, A. L.; DIMOV, T. V.; GRUMEZESCU, A. M.; GESTAL, M. C.; CHIFIRIUC, M. C. Nanostructured Bioactive Polymers Used in Food-Packaging. *Current Pharmaceutical Biotechnology*, v. 16, p. 121-127, 2015.

OLIANI, W. L.; PARRA, D. F.; KOMATSU, L. G. H.; LINCOPAN, N.; RANGARI, V. K.; LUGAO, A. B. Nanocomposites based on polypropylene with nanosilver particles and antibacterial behavior – a review. 22º CBECiMat - Congresso Brasileiro de Engenharia e Ciência dos Materiais, 2016.

ORTEGA, F.; GIANNUZZI, L.; ARCE, V. B.; GARCIA, M. A. Active composite starch films containing green synthesized silver nanoparticles. *Food Hydrocolloids*, v. 70, p. 152-162, 2017.

PAGNO, C. H.; COSTA, T. M. H.; MENEZES, E. W.; BENVENUTTI, E. V.; HERTZ, P. F.; MATTE, C. R.; TOSATI, J. V.; MONTEIRO, A. R.; RIOS, A. O.; FLÔRES, S. H. Development of active biofilms of quinoa (*Chenopodium quinoa* W.) starch containing gold nanoparticles and evaluation of antimicrobial activity. *Food Chemistry*, v, 173, p. 755–762, 2015.

PRADO, F. B.; ROCHA, W. C.; MARTIM, S. R.; ALECRIM, M. M.; SILVA, L. P.; SILVA, L. S. C.; SILVA, T. A.; TEIXEIRA, M. F. S. Produção de compostos bioativos por *Aspergillus* mantidos sob duas condições de preservação. *Boletim do Museu Paraense Emílio Goeldi: Ciências Naturais*, v. 12, n. 1, 37-47, 2017.

ROLIM, W. R.; PELEGRINO, M. T.; LIMA, B. A.; FERRAZA, L. S., COSTA, F. N., BERNARDES, J. S.; RODRIGUES, T.; BROCCHI, M.; SEABRA, A. B. Green tea extract mediated biogenic synthesis of silver nanoparticles: Characterization, cytotoxicity evaluation and antibacterial activity. *Applied Surface Science*, v. 463, p. 66–74, 2019.

SAMBERG, M. E.; ORNDORFF, P. E.; MONTEIRO-RIVIERE, N. A. Antibacterial efficacy of silver nanoparticles of different sizes, surface conditions and synthesis methods. *Nanotoxicology*, v. 5, n. 2, p. 244–253, 2011.

SÁNCHEZ-GONZÁLEZ, L.; ARAB-TEHRANY, E.; CHÁFER, M. GONZÁLEZ-MARTÍNEZ, CHELO, CHIRALT, A. Active Edible and Biodegradable Starch Films. *Polysaccharides*, p. 717-734, 2015.

SIMBINE, E. O.; RODRIGUES, L. C.; LAPA-GUIMARÃES, J.; KAMIMURA, E. S.; CORASSIN, C. H.; OLIVEIRA, C. A. F. Application of silver nanoparticles in food packages: a review. *Food Science and Technology*, 2019.

SILVA, E. R.; BARROS, D. R.; KINUPP, V. F.; ALFAIA, S. S.; AYRES, M. I. C.; COIMBRA, A. B. Isoporização em cará-de-espino (*Dioscorea altissima* Lam.). *Cadernos de Agroecologia*, v. 10, n. 3, 2015.

SILVA-VINHOTE, N.; DURÁN, N.; SILVA, T. A. QUELEMES, P. V.; ARAÚJO, A. R.; MORAES, A. C. M.; CÂMARA, A. L. S.; LONGO, J. P. F.; AZEVEDO, R. B.; SILVA, D. A.; LEITE, J. R. S.; TEIXEIRA, M. F. S. Extracellular biogenic synthesis of silver nanoparticles by Actinomycetes from Amazonic Biome and its antimicrobial efficiency. *African Journal of Biotechnology*, v. 16, n. 43, p. 2072-2082, 2017.

SOBRAL, P. J. A. Propriedades funcionais de biofilmes de gelatina em função da espessura. *Ciência & Engenharia*, Uberlândia, v. 8, n. 1, p. 60-67, 1999.

SUEIRO, A. C.; FARIA-TISCHER, P. C. S.; LONNIC, A. A. S. G.; MALI, S. Filmes biodegradáveis de amido de mandioca, pululana e celulose bacteriana. *Química Nova*, v. 39, n. 9, p. 1059-1064, 2016.

TEIXEIRA, L. S.; MARTIM, S. R.; SILVA, L. S. C.; KINUPP, V. F.; TEIXEIRA, M. F. S.; PORTO, A. L. F. Efficiency of Amazonian tubers flours in modulating gut microbiota of male rats. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, v. 38, p. 1-6, 2016.

YOKSAN, R. CHIRACHANCHAI, S. Silver nanoparticle-loaded chitosan-starch based films: Fabrication and evaluation of tensile, barrier and antimicrobial properties. *Materials Science and Engineering*, v. 30, p. 891-897, 2010.

ZANELA, J.; REIS, M. O.; DIAS, A. P.; MALI, S.; GROSSMANN, M. V. E.; YAMASHITA, F. Sheets of cassava starch - poly (vinyl alcohol) produced by extrusion: effect of formulation on the color and opacity. *Polímeros*, v. 25, n.3, p. 326-329, 2015.

Capítulo 5

Conservação de camu-camu com filme de revestimento de amido de *Dioscorea altissima* incorporado com nanopartículas de prata

Larissa Svetlana Cavalcante Silva¹, Salomão Rocha Martim², Dib Mady Diniz Gomes³, Nelly Mara Vinhote Marinho⁴, Taciana de Amorim Silva⁵, Maria Francisca Simas Teixeira⁶

Resumo

Filmes a base de polímeros naturais incorporados com AgNPs são utilizados com o intuito de conservar a qualidade nutricional e retardar o amadurecimento de frutas e hortaliças. A finalidade deste estudo foi conservar alimentos *in natura* utilizando filmes de amido extraído de tubérculos da Amazônia, incorporados com AgNPs. O revestimento com os filmes foi realizado por imersão dos frutos de camu-camu [*Myrciaria dubia* (Kunth) McVaugh] na solução filmogênica de amido de *Dioscorea altissima* Lam., glicerol e AgNPs biogênicas. Três tratamentos foram realizados: fruto de camu-camu sem filme, fruto de camu-camu com filme padrão e camu-camu com filme AgNPs. Nos frutos analisados foi determinada perda de peso, pH e acidez titulável (expressa em ácido cítrico), sólidos solúveis totais, análise microbiológica, composição centesimal e avaliação de migração da prata. Os resultados da avaliação visual mostraram que os frutos sem revestimento apresentaram maior murchamento e enrugamento. Nos filmes não foi verificada a presença de microrganismos. Frutos revestidos com filme incorporado com AgNPs mostraram perda do peso inferior aos outros experimentos e apresentaram estabilidade no amadurecimento. O teor de sólidos solúveis foi maior nos frutos sem revestimento e o pH ácido foi mantido em todos os tratamentos. Em todos os frutos foram observados picos característicos da estrutura cristalina das AgNPs. A composição centesimal mostra que os filmes não alteraram as propriedades nutritivas dos frutos. O revestimento de frutos com filmes de amido contendo AgNPs tem potencial propriedades para conservação de alimentos.

Palavras-chave: actinomicetos, inhame, tubérculos.

Abstract

Natural polymer-based films with AgNPs are used to preserve nutritional quality and retard the ripening of fruits and vegetables. The aim of this study was to conserve food *in natura* using starch films extracted from Amazonia tubers with AgNPs. The application of films was performed by camouflage immersion in filmogenic solution of *Dioscorea altissima* starch, glycerol and biogenic AgNPs. Coating films was performed by immersion of camu-camu [*Myrciaria dubia* (Kunth) McVaugh] in filmogenic solution of *D. altissima* Lam. starch, glycerol and biogenic AgNPs. Three procedures were performed: camu-camu fruit without film, standard film with camu-camu fruit and camu-camu fruit film with AgNPs. Weight loss, pH and titratable acidity analysis shown in citric acid, determination of maximum soluble mounts, microbiological analysis, centesimal composition and silver application analysis. Through visual evaluation, it was observed that fruit without film treatment was presented greater wilting and wrinkling. It hasn't been verified presence of microorganisms in these films. Fruit coated with AgNPs film weight loss was lower than other experiments and they present stability in maturation. Soluble solids content was higher in camu-camu without film treatment. During storage, pH of all treatments remained acidic. Acidity of camu-camu film with AgNPs treatment showed stability. Characteristic peaks of crystal structure of AgNPs

were observed. Centesimal composition shows that films didn't change nutritive properties of fruits. Therefore, fruit coating films added with AgNPs have potential for food preservation.

Keywords: actinomycetes, yam, tubers.

1. INTRODUÇÃO

O Brasil possui a maior biodiversidade de espécies de frutos do mundo. O aumento da ingestão de frutas tropicais pela população está associado à melhoria das condições de saúde (ANTUNES et al., 2017). Estes alimentos, além de apresentarem nutrientes essenciais para a dieta, possuem compostos antioxidantes que previnem diversas doenças, como as vitaminas C e E, carotenóides e substâncias fenólicas (OLIVEIRA et al., 2014; REIS et al., 2016; MENESES et al., 2018).

Porém alimentos *in natura* são altamente perecíveis e perdem suas características intrínsecas rapidamente após a colheita, pois ocorrem mudanças bioquímicas e fisiológicas que aceleram a maturação e deterioração, se não forem devidamente acondicionados (ASSIS et al., 2009; MOREIRA et al., 2017). Desta forma os setores que comercializam estes alimentos necessitam de métodos que mantenham a qualidade do produto e aumentem sua vida útil.

O recobrimento com filmes comestíveis têm sido realizado com o intuito de evitar a desidratação, reduzir as taxas respiratórias e retardar a produção de etileno, condição que proporciona atraso no amadurecimento. Esta técnica também permite que os alimentos se mantenham brilhantes e atraentes para o consumidor final (ALBUQUERQUE et al., 2011; VICENTINO et al., 2012; SOUZA et al., 2014).

O revestimento dos frutos pode ser realizado através de uma película transparente previamente formada, por pulverização ou imersão, cobrindo a superfície do alimento com a solução filmogênica (PAVLATH E ORTS, 2009). Este processo forma uma cobertura que preenche os estômatos e lenticelas dos frutos, parcialmente (CASTRO et al., 2017).

A utilização de amido de espécies do gênero *Dioscorea* é uma alternativa a utilização de polímeros sintéticos na produção de filmes, devido à diminuição do descarte de resíduos sólidos e conseqüentemente a poluição ambiental. A extração de amido de cará necessita de baixo investimento e possui alto rendimento, gerando emprego e renda para as famílias que cultivam essas espécies (SILVA et al., 2017).

Aditivos como as nanopartículas de prata (AgNPs) melhoram as propriedades de barreira a água e gases dos filmes e possuem atividade antimicrobiana (PEREZ et al., 2012).

Estudos recentes têm sido realizados para determinar a migração de AgNPs para o alimento, pois a ingestão pode representar riscos para saúde humana (ECHEGOYEN E NERÍN, 2013). Entretanto, no Brasil ainda não há legislação específica para migração de AgNPs para embalagens de alimentos (CARBONE et al., 2016).

Desta forma, o objetivo deste estudo foi avaliar o efeito do recobrimento de fruto amazônico, utilizando solução filmogênica de amido de *D. altissima* incorporados com AgNPs sintetizadas biologicamente por Actinomicetos.

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Preparação da solução filmogênica com amido de *D. altissima*

Para o revestimento dos frutos, amido de *D. altissima* (4% p/v) foi diluído em água destilada. Em seguida foi adicionado glicerol (3% p/v) e aquecido a 95°C até completa gelatinização. Na solução resfriada foi adicionada a solução coloidal de nanopartículas de prata (2 µg/mL) do banco de nanopartículas da Coleção de Cultura DPUA (FAYAZ, et al., 2009; PAGNO et al., 2015).

2.2 Obtenção e sanitização dos frutos

O camu-camu [*Myrciaria dubia* (Kunth) McVaugh] proveniente do lago do Iripixi, localizado na cidade de Oriximiná-Pará. Os frutos foram sanitizados utilizando solução de hipoclorito 1% (v/v) por 20 minutos, seguido de lavagem com água corrente para retirada do excesso de hipoclorito (RODRIGUES et al., 2011). Os frutos foram classificados de acordo com o grau de maturação 1, 2, 3 e 4. Para as análises de revestimento, foram escolhidos os frutos no estágio 2.

2.3 Revestimento dos frutos

Os frutos foram completamente imersos por duas vezes consecutivas nas soluções filmogênicas durante 5 segundos a 25 °C. Em seguida, os frutos revestidos com o filme padrão (formulado somente com amido e glicerol), os frutos revestidos com o filme teste (incorporado com nanopartículas de prata) e os frutos controle (sem filme de revestimento) foram mantidos sob refrigeração (5 ± 2 °C), durante 12 dias (FAYAZ, 2009).

2.4 Análise visual dos frutos

Após 12 dias os frutos foram avaliados quanto a sua aparência visual, injúrias físicas e presença ou ausência de podridões (NEVES et al., 2002).

2.5 Determinação da composição centesimal dos frutos com e sem revestimento

Após 12 dias a composição centesimal dos frutos sem filme (SF), dos frutos revestidos com filme padrão sem AgNPs (CF) e dos frutos revestidos com filme incorporado com AgNPs (CFN) foi determinada no Laboratório de Tecnologia do Pescado da Universidade Federal do Amazonas (UFAM), de acordo com os procedimentos descritos pela AOAC (2006):

A umidade foi determinada por secagem em estufa a 105 °C até peso constante. Proteínas foram quantificadas por método micro Kjeldahl (fator de conversão = 6,25). O conteúdo de lipídios foi determinado pelo método de Bligh e Dyer (1959). A fração mineral foi estimada por incineração do material em forno de mufla a 550 °C, até peso constante e a determinação de fibras totais foi obtida pela digestão ácido-base, segundo o método de Weende (1864). Os carboidratos totais foram estimados por diferença (100 g - gramas totais de umidade, proteína, cinzas e lipídios) e energia total foi calculada utilizando o fator de conversão de Atwater (NEPA de 2006).

2.6 Determinação do pH e acidez titulável expressa em ácido cítrico

O pH dos frutos foi aferido em medidor de pH digital (PHTEK, PHS-3E[®]). A acidez foi determinada por titulação com solução de NaOH 0,1M, utilizando solução alcoólica de fenolftaleína 1% (p/v) (IAL, 2008), ambos nos dias 1, 4, 8 e 12.

2.7 Determinação de sólidos solúveis totais expressos em graus Brix

O teor de sólidos solúveis, expresso em graus Brix (°Brix), foi determinado nos dias 1, 4, 8 e 12 por leitura direta em refratômetro analógico portátil de escala dupla, marca Incoterm, conforme normas analíticas do Instituto Adolfo Lutz (IAL, 2008).

2.8 Determinação da perda de peso

Os frutos foram pesados em balança analítica nos dias 1, 4, 8 e 12, para cálculo de perda de massa (FAKHOURI et al., 2007).

2.9 Análise microbiológica

A análise microbiológica dos frutos foi realizada nos dias 1, 4, 8 e 12 para avaliar a presença de Coliformes a 45 °C, *E. coli*, *Salmonella* sp. e presença de fungos unicelulares e filamentosos, de acordo com os padrões microbiológicos para alimentos *in natura*, estabelecidos pela RDC nº 12 de 02 de janeiro de 2001 (BRASIL, 2001; SILVA et al., 2010).

2.10 Determinação de prata residual nos frutos

A detecção de prata residual nos frutos foi realizada por difração de raios-X. As análises foram feitas em difratômetro Shimadzu, modelo XRD7000, operando com radiação CuK- α ($\lambda = 1,54060 \text{ \AA}$), tensão de 40 kV, corrente de 30 mA, velocidade de varredura 2° min^{-1} e região de 2θ entre 5 e 90° .

2.11 Análise estatística

Os dados dos experimentos realizados em triplicata foram submetidos à análise estatística descritiva (Tabelas, gráficos e distribuição de frequência em classes), de variância e as médias comparadas pelo teste de Tukey (5%), utilizando o *software* Minitab[®] versão 16.0.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 Análise subjetiva – aspecto visual dos frutos

Através de avaliação visual dos frutos após 12 dias de análise, foi observado que os camu-camus sem filme (SF) não apresentaram aparência agradável para consumo e comercialização, como murchamento e enrugamento, o que pode ser visualizado na figura 1. Os frutos revestidos apenas com o filme padrão sem AgNPs (CF) apresentaram pouca deterioração e os com nanopartículas de prata (CFN) mostraram retardo no amadurecimento e aspecto favorável para os setores que comercializam alimentos *in natura*. De acordo com Assis et al. (2014) os filmes de revestimento promovem o preenchimento de possíveis ferimentos na casca dos frutos, o que reduz a permeação de O_2 para o interior do fruto e consequentemente a redução da produção de etileno e maturação, com aumento da vida de prateleira. O resultado obtido neste estudo está de acordo com Fernandez et al. (2010), onde amostras de melão minimamente processados embalados em bandejas constituídas de celulose e AgNPs mostraram melhor aparência para comercialização após 10 dias de análise. Os camu-camus avaliados foram inspecionados também com relação à presença ou ausência de

microrganismo, não sendo observada contaminação aparente por microrganismo em nenhum tratamento.



Figura 1. 1) Camu-camu sem filme de revestimento; 2) Camu-camu com filme padrão (sem AgNPs); 3) Camu-camu com filme teste (incorporado com AgNPs) após 12 dias de análise.

3.2 Análise microbiológica

Na análise microbiológica dos frutos para confirmar a ausência de contaminações, não foi verificada a presença de Coliformes a 45°C, *E. coli*, *Salmonella* sp., fungos unicelulares e filamentosos. Provavelmente, estes resultados podem estar relacionados às condições intrínsecas dos frutos, como pH ácido. De acordo com Arellano-Acuña et al. (2016), o fruto de camu-camu apresenta atividade antimicrobiana contra *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus mutans*, *Streptococcus sanguinis* e *Candida albicans*. O pH neutro (6,5 -7,5) é o mais favorável para a maioria dos microrganismos patogênicos (SANCHES et al., 2017)

3.3 Determinação da perda de peso

As nanopartículas de prata, além de diminuir o crescimento de microrganismos nos frutos, podem auxiliar também no controle da perda de peso durante a estocagem. A figura 2 mostra que a perda de peso dos camu-camus sem o filme de revestimento (SF), dos frutos revestidos com o filme padrão sem AgNPs (CF) e revestidos com o filme teste incorporados com AgNPs (CFN) até o quarto dia de análise não foram significativamente diferentes entre si. A partir do quinto dia, até a finalização da análise, os frutos controle e revestidos apenas com o filme padrão apresentaram maior perda de peso e permaneceram sem diferir

estatisticamente. Já os camu-camus revestidos com o filme teste (CFN) obtiveram menor perda de peso.

Os filmes de revestimento precisam retardar o amadurecimento dos vegetais, reduzir a respiração e a perda de peso sem inibir as reações metabólicas. De acordo com Sanches et al., (2017) o camu-camu é um fruto climáterico e apresenta taxa respiratória alta, provavelmente, o revestimento dos frutos com os filmes tenha diminuído a respiração e conseqüentemente levado a diminuição na produção de etileno e perda de massa, o que leva a um período maior de conservação dos frutos. A adição de AgNPs em filmes de revestimento é considerada uma alternativa para a melhoria das propriedades mecânicas, térmicas, de barreiras aos gases e água dos filmes (CHEVIRON et al., 2016).

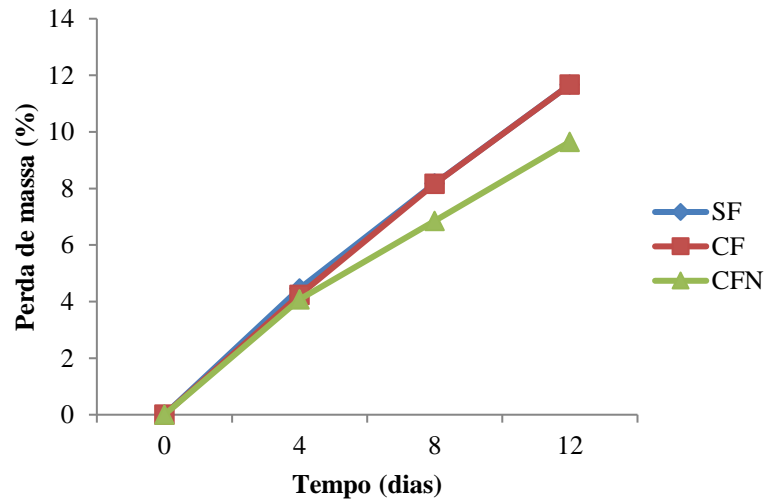


Figura 2. Perda de peso dos frutos sem filme de revestimento (SF), revestidos com filme padrão sem AgNPs (CF) e revestidos com filme teste incorporados com AgNPs (CFN) durante 12 dias de armazenamento.

3.4 Determinação de sólidos solúveis totais em graus Brix

O teor de sólidos solúveis permaneceu estável até o quarto dia de armazenamento em todos os tratamentos. Do quinto dia ao oitavo, o conteúdo aumentou em todos os frutos. Porém a partir do nono até o décimo segundo dia, os camu-camus não revestidos apresentaram aumento significativo na concentração de sólidos solúveis, enquanto os frutos revestidos com o filme padrão sem AgNPs (CF) e os recobertos com o filme incorporado com AgNPs (CFN) apresentaram estabilidade no amadurecimento, não aumentando o teor de sólidos solúveis.

Estudo realizado por Oliveira et al. (2014) com camu-camu utilizando BOPP e PVC como embalagens obtiveram resultado semelhante, onde foi observado aumento de sólidos solúveis totais nos frutos não embalados. Da mesma forma, Fernandez et al. (2010) observaram que os frutos embalados sem adição de AgNPs apresentaram aumento no teor de sólidos solúveis. A maior perda de turgescência por esses frutos não embalados ou embalados sem a adição de AgNPs influencia na concentração da polpa e consequentemente no teor de sólidos solúveis. Os filmes com AgNPs provavelmente diminuíram a síntese de etileno e a atividade respiratória do fruto, retardando as desordens fisiológicas e consequentemente a deterioração (Figura 3).

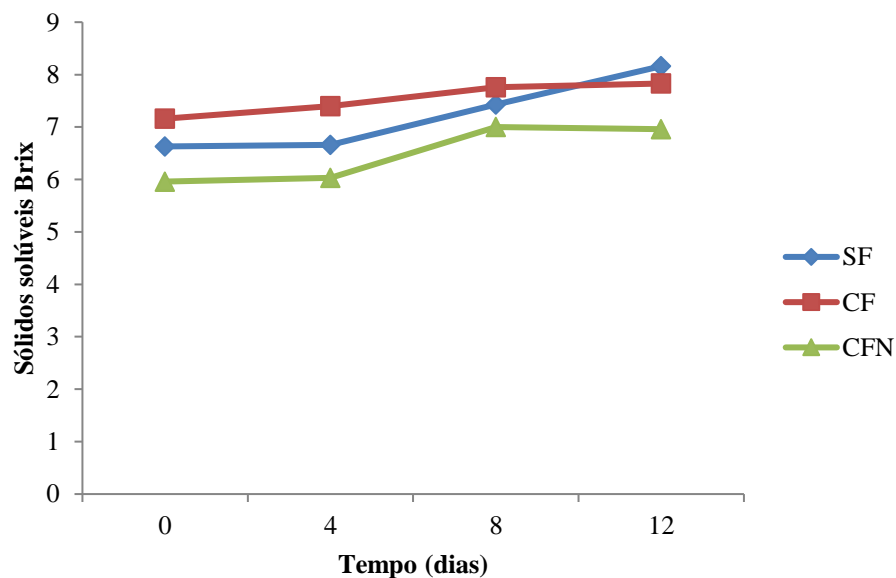


Figura 3. Concentração de sólidos solúveis totais nos frutos sem filme de revestimento (SF), revestidos com filme padrão sem AgNPs (CF) e revestidos com filme teste incorporado com AgNPs (CFN) durante 12 dias de armazenamento.

3.5 Determinação do pH e acidez titulável expressa em ácido cítrico

Com relação às análises de pH dos frutos durante a conservação, a figura 4 mostra que o pH dos tratamentos se manteve ácido (pH 2,9 a 3,2) durante todo o período de estocagem. Provavelmente, estes valores de pH tenham inibido o crescimento de microrganismos em todos os tratamentos, inclusive no tratamento sem o revestimento dos filmes.

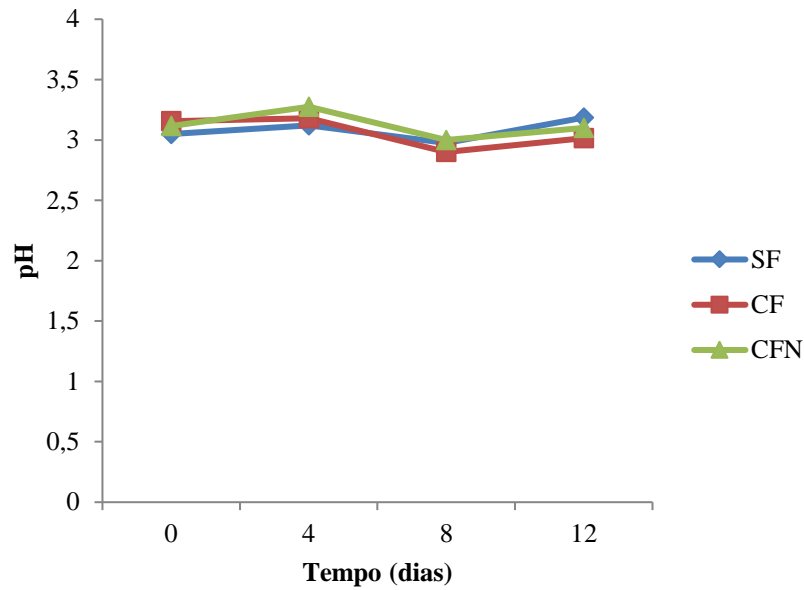


Figura 4. pH dos frutos sem filme de revestimento (SF), revestidos com filme padrão sem AgNPs (CF) e revestidos com filme teste incorporado com AgNPs (CFN) durante 12 dias de armazenamento.

Pode-se observar na figura 5 que a acidez dos frutos sem revestimento apresentou aumento gradual durante o período de estocagem com abrupta diminuição a partir do oitavo dia de análise. De acordo com Beber et al. (2018), ácidos orgânicos tendem a diminuir com o amadurecimento dos frutos, já que são utilizados como substrato para respiração. Os frutos revestidos com o filme padrão sem AgNPs apresentaram aumento expressivo de acidez entre 4 e 8 dias de conservação, permanecendo estável até o fim das análises. Já os frutos revestidos com o filme teste incorporados com AgNPs obtiveram estabilidade durante todo o processo de estocagem. A determinação da acidez total em ácido orgânico é um fator de extrema importância nas análises de conservação de frutos, pois segundo França et al. (2008) e Coelho et al. (2019), além de ser resultante dos ácidos orgânicos presentes no alimento, também tem relação com as alterações metabólicas e decomposição dos mesmos.

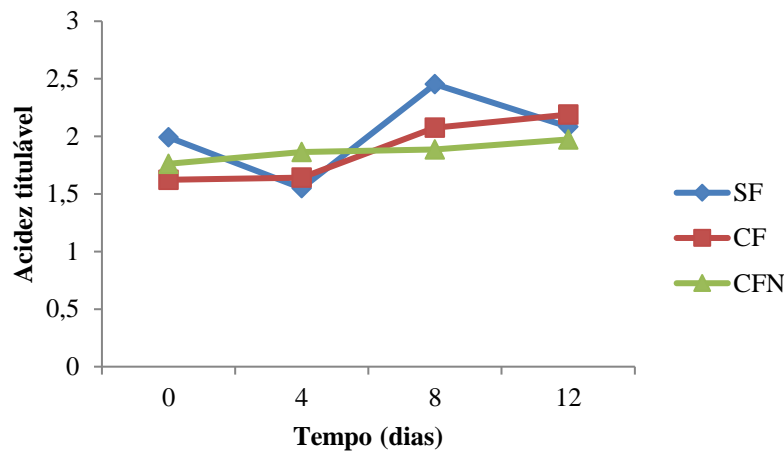


Figura 5. Acidez titulável dos frutos sem filme de revestimento (SF), revestidos com filme padrão sem AgNPs (CF) e revestidos com filme teste incorporado com AgNPs (CFN) durante 12 dias de armazenamento.

3.6 Determinação da composição centesimal dos frutos com e sem revestimento

Os filmes de revestimento têm a função de conservar as características físicas e nutricionais do produto, retardando o amadurecimento e contaminações (DIAS et al., 2018; SILVA et al., 2019). A composição centesimal dos frutos sem filme (SF), com filme padrão sem AgNPs (CF) e com filme teste incorporado com AgNPs (CFN) mostra que os filmes de revestimento e as nanopartículas de prata não alteraram as propriedades nutritivas dos camu-camus avaliados. Pode-se observar na tabela 1 que os parâmetros de umidade, fibras, carboidratos e energia total não apresentaram diferença significativa entre as amostras. O teor de proteína foi ligeiramente menor nos frutos revestidos apenas com o filme padrão sem AgNPs. O conteúdo de lipídeos foi estatisticamente superior em camu-camu revestido com filme teste incorporado com AgNPs. Nos frutos sem filme a concentração de cinzas foi levemente maior. Estas pequenas diferenças podem estar relacionadas a aleatoriedade dos frutos escolhidos para cada tratamento.

Tabela 1. Composição centesimal dos frutos sem filme de revestimento, revestidos com filme padrão (sem AgNPs) e revestido com filme teste (com AgNPs).

Parâmetros	Camu-camu sem filme	Camu-camu com filme padrão (sem AgNPs)	Camu-camu com filme teste (com AgNPs)
Umidade	90,70 ± 0,58 ^a	91,52 ± 0,94 ^a	90,75 ± 0,78 ^a
Proteína	0,32 ± 0,00 ^a	0,30 ± 0,00 ^b	0,32 ± 0,00 ^a
Lipídeos	0,89 ± 0,02 ^{ab}	0,84 ± 0,00 ^b	0,91 ± 0,00 ^a
Cinzas	0,23 ± 0,01 ^a	0,20 ± 0,01 ^b	0,22 ± 0,00 ^{ab}
Fibras	3,50 ± 0,18 ^a	3,27 ± 0,6 ^a	3,41 ± 0,09 ^a
Carboidratos	4,35 ± 0,77 ^a	3,62 ± 0,96 ^a	5,28 ± 0,69 ^a
Energia total	26,72 ± 3,13 ^a	23,33 ± 3,87 ^a	30,64 ± 2,79 ^a

Médias que não compartilham uma letra são significativamente diferentes pelo Teste de Tukey ($p < 0.05$)/(±)

3.7 Determinação de prata residual nos frutos revestidos com filmes incorporados com nanopartículas

A análise de migração da prata para o fruto foi realizada por difração de raios-x. Os difratogramas mostraram que em todas as amostras foram observados picos de $2\theta = 43,8^\circ$; $64,2^\circ$; $77,3^\circ$, característicos da estrutura cristalina das nanopartículas de prata. A partir deste resultado pode-se inferir que a prata presente nos frutos não é proveniente do revestimento com os filmes. Carbone et al. (2016) cita que alimentos ácidos podem aumentar a migração da prata para seu interior.

A produção de prata no Brasil é oriunda do refino de ouro e da indústria metalúrgica de chumbo e zinco. O descarte de efluentes sem tratamento destas indústrias nos rios pode explicar a presença de prata nas análises, visto que pode ocorrer a bioacumulação do metal pelo solo e conseqüentemente pelas plantas de camu-camu que são encontradas em toda bacia amazônica, nas margens de rios e lagos, onde permanecem submersas durante a cheia (ALVES e ARAÚJO, 2008; SYED, 2016; SANCHES et al., 2017).

4. CONCLUSÃO

De acordo com os resultados obtidos, infere-se que o revestimento dos frutos com filmes incorporados com nanopartículas de prata retardou o amadurecimento e conservou as características nutricionais dos mesmos.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALBUQUERQUE, E. M. B.; SANTOS, D. C.; OLIVEIRA, E. N. A.; ALMEID, F. A. C.; SILVA, H. Comportamento da acidez em manga in natura armazenada em atmosfera controlada. Revista Brasileira de Tecnologia Agroindustrial, v. 5, n. 2, p. 516-523, 2011.

ALVES, V. N.; ARAÚJO, C. S. T. Estudos aplicados a remoção de prata em águas usando vermicomposto. XII Seminário de Iniciação Científica, Universidade Federal de Uberlândia, 2008.

ANTUNES, B. F.; SALDANHA, E. S.; KRUMREICH, F. D.; LORINI, A.; CARDOSO, M. C.; OTERO, D. M.; ZAMBIAZI, R. C. Qualidade das frutas nativas do Brasil. Revista da 14ª Jornada de Pós-Graduação e Pesquisa - Congrega Urcamp, 2017.

ARELLANO-ACUÑA, E.; ROJAS-ZAVALETA, I.; PAUCAR-MENACHO, L. M. Camu-camu (*Myrciaria dubia*): Fruta tropical de excelentes propiedades funcionales que ayudan a mejorar la calidad de vida. Scientia Agropecuaria, v. 7, n. 4, p. 433-443, 2016.

ASSIS, O. B. G.; BRITTO, D.; FORATO, L. A. O uso de biopolímeros como revestimentos comestíveis protetores para conservação de frutas in natura e minimamente processadas. São Carlos: Embrapa Instrumentação Agropecuária, 2009. 23 p. (Embrapa Instrumentação Agropecuária. Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento, ISSN; 29).

ASSIS, O. B. G. e BRITTO, D. Revisão: coberturas comestíveis protetoras em frutas: fundamentos e aplicações. *Brazilian Journal Food Technology*, v. 17, n. 2, p. 87-97, 2014.

ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS. Official methods of analysis of the Association of Official Analytical Chemists. 16^a ed., Estados Unidos da América: Arlington, 2006, 1141p.

BEBER, P. M.; ÁLVARES, V. S.; KUSDRA, J. F. Qualidade industrial e maturação de frutos de laranjeiras-doce em Rio Branco, Acre. *Citrus Research & Technology*, v. 39, 2018.

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

BRASIL, 2001. Resolução de Diretoria Colegiada n. 12, de 2 de janeiro de 2001. Estabelece padrões microbiológicos de alimentos. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Diário Oficial da União, 10 de janeiro de 2001. Disponível em: http://bvsms.saude.gov.br/bvs/saudelegis/anvisa/2001/res0012_02_01_2001.html. Acesso em: 28 dezembro 2018.

CASTRO, A. E.; COSTA, P. F. P.; SILVA, L. H.; SOARES, G. M.; DUARTE, P. Utilização de cobertura filmogênica com benzoato de sódio no controle da deterioração de uvas rubi. *Anais do Salão Internacional de Ensino, Pesquisa e Extensão*, v. 9, n. 4, 2017.

CARBONE, M.; DONIA, D. T.; SABBATELLA, G.; ANTIOCHIA, RICCARDA. Silver nanoparticles in polymeric matrices for fresh food packaging. *Journal of King Saud University Science*, v. 28, p. 273–279, 2016.

CHEVIRON, P.; GOUANVÉ, F.; ESPUCHE, E. Preparation, characterization and barrier properties of silver/montmorillonite/starch nanocomposite films. *Journal of Membrane Science*, v. 497, p. 162-171, 2016.

COELHO, B. E. S.; DUARTE, V. M.; SILVA, L. F. M.; SOUSA, K. S. M.; NETO, A. F. Atributos físico-químicos de frutos de laranja “Pêra” produzidos sob sistema de cultivo orgânico e convencional. *Revista Brasileira de Meio Ambiente*, v. 5, n. 1, p. 128-137, 2019.

DIAS, J. G. S.; REIS, C. A.; JÚNIOR, M. G.; VAZ, L. E. V. S. B. avaliação das propriedades de barreira de filmes de quitosana/montmorilonita para revestimento de couve de folhas (*Brassica oleracea* L. var. *acephala*). *Revista Brasileira de Iniciação Científica (RBIC)*, v. 5, n.3, p. 16-27, 2018.

ECHEGOYEN, Y.; NERÍN, C. Nanoparticles release from nano-silver antimicrobial food containers. *Food and Chemical Toxicology*, v. 62, p. 16-22, 2013.

FAKHOURI, F. M.; FONTES, L. C. B.; GONÇALVES, P. V. M.; MILANEZ, C. R.; STEEL C. J.; COLLARES-QUEIROZ, F. P. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, v.7, p. 369, 2007.

FAYAZ, A. M.; BALAJI, K.; GIRILAL, M.; KALAICHELVAN, P. T.; VENKATESAN, R. Mycobased Synthesis of Silver Nanoparticles and Their Incorporation into Sodium Alginate Films for Vegetable and Fruit Preservation. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, v. 57, p. 6246–6252, 2009.

FERNÁNDEZ, A.; PICOUET, P.; LLORET, E. Cellulose-silver nanoparticle hybrid materials to control spoilage-related microflora in absorbent pads located in trays of fresh-cut melon. *International Journal of Food Microbiology*, v. 142, p. 222–228, 2010.

FRANÇOSO, I. L. T.; COUTO, M. A. L.; CANNIATTI-BRAZACA, S. G.; ARTHUR, V. Alterações físico-químicas em morangos (*Fragaria anassa* Duch.) irradiados e armazenados. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, v. 28, n. 3, p. 614-619, 2008.

Instituto Adolfo Lutz (São Paulo). Métodos físico-químicos para análise de alimentos. São Paulo: Instituto Adolfo Lutz, 2008, p. 1020.

MENESES, V. P.; SILVA, J. R. A.; NETO, J. F.; ROLIM, H. O.; ARAÚJO, A. L. M.; LIMA, P. S. E. Subprodutos de frutas tropicais desidratados por secagem convectiva. v. 13, n. 4, p. 472-482, 2018.

MOREIRA, E. G. S.; SANCHES, A. G.; SILVA, M. B.; MACEDO, J.; COSTA, S. S. C.; CORDEIRO, C. A. M. Utilização de filme comestível na conservação pós-colheita do pimentão ‘magali’. *Scientia Agraria Paranaensis*, v. 16, n. 1, p. 120-126, 2017.

NEPA. Tabela de composição de alimentos. Núcleo de Estudos e Pesquisas em Alimentação. UNICAMP. Campinas, São Paulo, Brasil. 2006, 105 p.

NEVES, L. C.; RODRIGUES, A. C.; VIEITES, R. L. Polietileno de baixa densidade (pebd) na conservação pós-colheita de figos cv. “roxo de valinhos”. Revista Brasileira de Fruticultura, v. 24, n. 1, p. 057-062, 2002.

OLIVEIRA, J.; SILVA, I. G.; SILVA, P. P. M.; SPOTO, M. H. F. Atmosfera modificada e refrigeração para conservação pós-colheita de camu-camu. Ciência Rural, v.44, n. 6, p.1126-1133, 2014.

PAGNO, C. H.; COSTA, T. M. H.; MENEZES, E. W.; BENVENUTTI, E. V.; HERTZ, P. F.; MATTE, C. R.; TOSATI, J. V.; MONTEIRO, A. R.; RIOS, A. O.; FLÔRES, S. H. Development of active biofilms of quinoa (*Chenopodium quinoa* W.) starch containing gold nanoparticles and evaluation of antimicrobial activity. Food Chemistry, v, 173, p. 755–762, 2015.

PAVLATH, A. E.; ORTS, W. Edible Films and Coatings: Why, What, and How. Edibles Films and Coatings for Food Applications, p. 1-26, 2009.

PEREZ, F. S. P.; Bertagnolli, S. M. M.; Alves, M. P.; Penna, N. G. Nanotecnologia: aplicações na área de alimentos. Disciplinarum Scientia, v.13, n. 1, p. 97-110, 2012.

RODRIGUES, D. G.; SILVA, N. B. M.; REZENDE, C.; JACOBUCCI, H. B.; FONTANA, E. A. Avaliação de dois métodos de higienização alimentar. Revista Saúde e Pesquisa, v. 4, n. 3, p. 341-350, 2011.

REIS, A. R. R.; SOARES, J. M. D.; SOUZA, A. G.; MESSIAS, C. M. B. O. Conhecendo os benefícios dos alimentos: alimentos funcionais. Extramuros – Revista de Extensão da UNIVASF, v. 4, n. 2, 2016.

SANCHES, A. G.; SILVA, M. B.; MOREIRA, E. G. S.; COSTA, J. M.; CORDEIRO, C. A. M. Efeitos de diferentes fontes de radiação na fisiologia e vida útil pós-colheita de camu-camu. Revista de Agricultura Neotropical, v. 4, n. 3, p. 1-8, 2017.

SILVA, N., V. C. A. JUNQUEIRA, N. F. A. SILVEIRA, M. H. TANIWAKI, R. A. R. GOMES & M. M. OKAZAKI, 2010. Manual de métodos de análise microbiológica de alimentos: 1-624. Blucher, São Paulo.

SILVA, F. L. A.; HORNUNG, P. S.; BARBI, R. C. T.; LAZZAROTTO, S. R. S.; LAZZAROTTO, M.; RIBANI, R. H. Modificação do amido de *Dioscorea* sp.: propriedades calorimétricas. VIII Simpósio de Análise Térmica, p. 264-267, 2017.

SILVA, M. C. S.; LIMA, P. K. D.; SILVEIRA, M. F. A.; ARTHUR, V.; SOUZA, A. R. M. Avaliação das propriedades físico-químicas e mecânicas de filmes de fécula de mandioca incorporado com cafeína irradiada. *Revista Desafios*, v. 6, 2019.

SOUZA, M. R. A.; FAI, A. E. C.; BRUNO, N. V.; GONÇALVES, E. C. B. A. Utilização de revestimento biodegradável a base de resíduo de frutas e hortaliças na conservação de cenoura (*Daucus carota* L.) minimamente processada. COBEQ – Congresso Brasileiro de Engenharia Química, Florianópolis, Santa Catarina, 2014.

SYED, S. Silver recovery aqueous techniques from diverse sources: Hydrometallurgy in recycling. *Waste Management*, 2016.

VICENTINO, S. L.; FLORIANO, P. A.; DRAGUNSKI, D. C. Filmes de amidos de mandioca modificados para recobrimento e conservação de uvas. *Química Nova*, v. 34, n. 8, p. 1309-1314, 2011.

7. CONCLUSÕES

Com base nos resultados obtidos, conclui-se que:

- Os amidos extraídos de *Dioscorea alata* e *Dioscorea altissima* demonstram pureza devido ao alto teor de carboidratos e baixos teores de cinzas, lipídios, proteínas e fibras, não são tóxicos e apresentam rendimento promissor. Além de possuírem propriedades funcionais e tecnológicas indicadas para utilização na formulação de filmes de revestimento;
- Entre os filmes elaborados, os de *D. altissima* são promissores para uso em revestimento de alimentos por apresentarem transparência, maleabilidade e ausência de rachaduras;
- O filme de *D. altissima* incorporado com AgNPs possuem atividade antimicrobiana, solubilidade, espessura e permeabilidade ao vapor de água, propriedades tecnológicas apropriadas para uso destes filmes na conservação de alimentos;
- Quando utilizados no revestimento de frutos, os filmes contendo amido de *D. altissima* incorporados com AgNPs retardou o amadurecimento e conservou as características nutricionais dos mesmos, sem ocorrência da migração de prata para o interior do fruto.

8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AHMADU, U; AGBOMEJI, O.; YAHYA, M.; ODEKUB, O. A. Physicochemical and material properties of starches from three cultivars of *Dioscorea rotundata*. Agriculture and Natural Resources, v. 52, p.79-83, 2018.

AHMED, S. A. JR. R. M. GOGAL, J. E. WALSH. A new rapid and simple non-radioactive assay to monitor and determine the proliferation of lymphocytes: an alternative to [³H] thymidine incorporation assay. Journal of Immunological Methods, v. 170, n.2, p. 211-224, 1994.

ALBUQUERQUE, E. M. B., SANTOS, D. C.; OLIVEIRA, E. N. A.; ALMEID, F. A. C.; SILVA, H. Comportamento da acidez em manga in natura armazenada em atmosfera controlada. Revista Brasileira de Tecnologia Agroindustrial, v. 5, n. 2, p. 516-523, 2011.

ALVES, R. M. V.; BORDIN, M. R.; GARCIA, E. E. C.; ITO, D. Permeabilidade ao vapor d'água: comparação entre métodos de ensaios. 8º Congresso Brasileiro de Polímeros, Campinas, São Paulo, 2005.

ALVES, G. S.; SAMPAIO, A. P. L.; ZAVOLSKI, C. A.; BRITO, V. H.; CEREDA, M. P.; NEVES, E. Material a base de amido de mandioca para manufatura de embalagem de alimentos. Ciência, Tecnologia, Inovação e Oportunidade, v. 2, n. 1, 2012.

ALVES, T. M.; KLOSOSKI, S. J.; MONTANHINI, M. T. M. Produção e caracterização de amidos de mandioca modificados. Agropecuária Técnica, v. 36, p. 58-64, 2015.

AMERICAN SOCIETY FOR TESTING AND MATERIALS-ASTM. Standard Test Methods for Water Vapor Transmission of Materials – ASTM E96/E96M-10. Philadelphia, USA: American Society for Testing and Materials. 2010.

ANTUNES, L. B.; GONÇALVES, S. S.; SILVEIRA, M. F. A. SOUZA, A. R. M. S.; CARVALHO, D. M. Efeito do glicerol nas propriedades mecânicas de filmes a base de quitosana. Revista Desafios, v. 6, 2019.

ASSIS, L. M.; ZAVAREZE, E. R.; PRENTICE-HERNÁNDEZ, C. L.; SOUZA-SOARES, A. Characteristics of nanoparticles and their potential applications in foods. Brazilian Journal of Food Technology, v. 15, n. 2, p. 99-109, 2012.

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE EMBALAGENS. Disponível em: <<http://www.abre.org.br>>. Acesso em: 01 de maio de 2019.

ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS. Official methods of analysis of the Association of Official Analytical Chemists.16ª ed., Estados Unidos da América: Arlington, 2006, 1141p.

AWOLU, O. O.; OLONFINLAE, S. J. Physico-chemical, functional and pasting properties of native and chemically modified water yam (*Dioscorea alata*) starch and production of water yam starch-based yoghurt. Starch, v. 68, p. 719-726, 2016.

BASTOS, V. D. Biopolímeros e polímeros de matérias-primas renováveis alternativos aos petroquímicos. *Revista do BNDES*, v. 14, n. 28, p. 201-234, 2007.

BERNARDO, D. B. F.; LOPES, M. N.; LUCENA, M. L.; LOPES, W. E.; CHINELATE, G. C. B.; MEDEIROS, E. V. Caracterização física e físico-química de frutos de pimentão com diferentes colorações comerciais. *Revista Brasileira de Agrotecnologia*, v. 8, n. 2, p. 7-12, 2018.

BEUCHAT, L. R. Functional and electrophoretic characteristics of succinylated peanut flour protein. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, v. 25, p. 258-261, 1977.

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

BOLADE, M. K; ONI, O. J. Influence of acetylation on the physicochemical properties of composited starches from sweet potato (*Ipomoea batatas* L.) and water yam (*Dioscorea alata* L.). *African Journal*, v. 14, n. 51, p. 3340-3349, 2015.

BRASIL. Resolução RDC n. 12, 2 de janeiro de 2001. Estabelece padrões microbiológicos de alimentos. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Brasília: Ministério da Saúde, 17 p., 2001.

BRASIL. Resolução RDC n. 263, 22 de setembro de 2005. Regulamento técnico para produtos de cereais, amidos, farinhas e farelos. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Brasília: Ministério da Saúde, 2005.

BRASIL. Resolução RDC n. 17, 17 de março de 2008. Regulamento técnico sobre lista positiva de aditivos para materiais plásticos destinados à elaboração de embalagens e equipamentos em contato com alimentos. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Brasília: Ministério da Saúde, 2005.

BRASIL. Resolução RDC n. 51, 26 de novembro de 2010. Estabelece os critérios de migração para materiais, embalagens e equipamentos plásticos destinados a entrar em contato com alimentos. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Brasília: Ministério da Saúde, 15 p., 2010.

BRITO, T. T.; SOARES, L. S.; FURTADO, M. C.; CASTRO, A. A.; CARNELOSSI, M. A. G. Composição centesimal de inhame (*Dioscorea* sp.) in natura e minimamente processado. *Scientia Plena* v. 7, n. 6, p. 1-7, 2011.

CADDICK, L. R.; WILKIN, P.; RUDALL, P. J. ; HEDDERSON, T. A. J.; CHASE1, M. W. Yams reclassified: a recircumscription of Dioscoreaceae and Dioscoreales. v. 51, 103– 114, 2002.

CARBONE, M.; DONIA, D. T.; SABBATELLA, G.; ANTIOCHIA, RICCARDA. Silver nanoparticles in polymeric matrices for fresh food packaging. *Journal of King Saud University Science*, v. 28, p. 273–279, 2016.

CASTRO, A. P.; FRAXE, T. J. P.; PEREIRA, H. S.; KINUPP, V. F. Etnobotânica das variedades locais do cará (*Dioscorea* spp.) cultivados em comunidades no município de Caapiranga, estado do Amazonas. *Acta Botânica Brasilica*, v. 26, n. 3, 2012.

COMISSÃO NACIONAL DE NORMAS E PADRÕES PARA ALIMENTOS. Resolução n. 12, 24 de setembro de 1978. Normas técnicas especiais, 1978.

COSTA, M. C. C.; AZEVEDO, C. R.; SOUSA, R. M. L.; SANTOS, A. F.; BARROQUEIRO, A. T. S. Embalagens de alimentos à base de biofilmes comestíveis: uma revisão de literatura. *Revista Ceuma Perspectivas, Edição Especial*, v. 30, n. 2, 2017.

CRAIG, S. A. S.; RAIG, S. A. S.; MANINGAT, C. C.; SEIB, P. A.; HOSENEY, R. C. Starch paste clarity. *Cereal Chemistry*, v. 66, n. 3, p. 173-182, 1989.

DAR, M. A.; INGLE, A.; RAI, M. Enhanced antimicrobial activity of silver nanoparticles synthesized by *Cryphonectria* sp. evaluated singly and in combination with antibiotics. *Nanomedicine: Nanotechnology, Biology, and Medicine*, v. 9, p. 105-110, 2013.

DASGUPTA, N.; RANJAN, S.; MUNDEKKAD, D.; RAMALINGAM, C.; SHANKER, R.; KUMA, A. Nanotechnology in agro-food: From Field to plate. *Food Research International*, v. 69, p. 381-400, 2015.

DEEPIKA, V., K.; KUMAR, J.; ANIMA, P. Isolation and physicochemical characterization of sustained releasing starches from *Dioscorea* of Jharkhand. *International Journal of Biological Macromolecules*, v. 55, p. 193–200, 2013.

DIAS, F. C. P.; SILVA, R.; BARROS, D. R.; KINUPP, V. F. Composição físico-química de cará-de-espinho (*Dioscorea altissima* Lam.) produzido no IFAM Campus Manaus Zona Leste. XXV Congresso Brasileiro de Ciência e Tecnologia de alimentos, 2016, Gramado.

DURÁN, N.; MARCATO, P. D.; ALVES, O. L.; SOUZA, G. I. H.; ESPOSITO, ELISA. Mechanistic aspects of biosynthesis of silver nanoparticles by several *Fusarium oxysporum* strains. *Journal of Nanobiotechnology*, v. 3, n. 8, 2005.

DURAN, N.; ROLIM, W. R.; DURÁN, M. FÁVARO, W. J. SEABRA, A. B. Nanotoxicologia de nanopartículas de prata: toxicidade em animais e humanos. *Química Nova*, v. 42, n. 2, 2019.

DURANGO, A. M; SOARES, N. F. F.; ANDRADE, N. J. Extraction and characterized of yam starch and development antimicrobial edibles films, 2012.

ECHEGOYEN, Y.; NERÍN, C. Nanoparticles release from nano-silver antimicrobial food containers. *Food and Chemical Toxicology*, v. 62, p. 16-22, 2013.

EMBRAPA, 2009. Manual de análises químicas de solos, plantas e fertilizantes: 1-627. Brasília, Brazil.

ENGELMANN, W.; VON HOHENDORFF, R.; SANTOS, P. J. T. A inovação nanotecnológica e suas consequências nas ciências de impacto: a necessária inovação e

adaptação do direito para dar respostas jurídicas adequadas. III Semana de Ciência Política, Universidade Federal de São Carlos, 2015.

FAKHOURI, F. M.; FONTES, L. C. B.; GONÇALVES, P. V. M.; MILANEZ, C. R.; STEEL C. J.; COLLARES-QUEIROZ, F. P. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, v.7, p. 369, 2007.

FALADE, K. O.; AYETIGBO, O. E. Effects of annealing, acid hydrolysis and citric acid modifications on physical and functional properties of starches from four yam (*Dioscorea* spp.) cultivars. *Food Hydrocolloids*, v. 43, p. 529-539, 2015.

FARIA-TISCHER, P. C. S., TISCHER, C. A. Nanobiotechnology: platform technology for biomaterials and biological applications the nanostructures. *Biochemistry and Biotechnology*, v. 1, n. 1, p. 32, 2012.

FARIAS, S. S.; SIQUEIRA, S. M. C.; CRISTINO, J. H. S.; ROCHA, J. M. Biopolímeros: uma alternativa para promoção do desenvolvimento sustentável. *Revista Geonorte*, v.7, n.26, p.61- 77, 2016.

FAYAZ, A. M.; BALAJI, K.; GIRILAL, M.; KALAICHELVAN, P. T.; VENKATESAN, R. Mycobased Synthesis of Silver Nanoparticles and Their Incorporation into Sodium Alginate Films for Vegetable and Fruit Preservation. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, v. 57, p. 6246–6252, 2009.

FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATION/Agricultural statistic database. Roma. World Agricultural Information Center, 2016. Disponível em: <http://faostat3.fao.org/browse/Q/QC/S>. Acesso em 14 de abril de 2018.

GONTARD, N.; DUCHES, C.; CUQ, J. L.; 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.

GOULART, H. S.; VESCIA, J. P.; LUZ, F. F. Nanotechnology: a new perspective in the fashion industry. v. 18, n. 1, p. 195-206, 2017.

GUIMARÃES, B. S.; MORAIS, J. P. S.; PEREIRA, D. I. S.; PESSOA, J. D.; NETO, J. T.; SILVA, R. R. F. Síntese de nanopartícula via química verde e caracterização por potencial zeta. *Journal of Biology & Pharmacy and Agricultural Management*, v. 10, n. 1, 2014.

HAIDER, A.; KANG, I-K. Preparation of silver nanoparticles and their industrial and biomedical applications: a comprehensive review. *Advances in Materials Science and Engineering*, p. 1-16, 2015.

HENRIQUE, C. M.; CEREDA, M. P.; SARMENTO, S. B. S. Características físicas de filmes biodegradáveis produzidos a partir de amidos modificados de mandioca. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, v. 28, n. 1, p. 231-240, 2008.

HOOVER, R.; HUGHES, T.; CHUNG, H. J.; LIU, Q. Composition, molecular structure, properties, and modification of pulse starches: A review. *Food Research International*, v. 43, p. 399–413, 2010.

HORCAS, I.; FERNÁNDEZ, R. WSXM: A software for scanning probe microscopy and a tool for nanotechnology. *Review of Scientific Instruments*, v. 78, 2007.

HORNUNG, P. S.; BARBI, R. C. T.; TEIXEIRA, G. L.; A´ VILA, S.; SILVA, F. L. A.; LAZZAROTTO, M.; SILVEIRA, J. L. M.; BETA, T.; RIBANI, R. H. Brazilian Amazon white yam (*Dioscorea* sp.) starch. *Journal of Thermal Analysis and Calorimetry*, 2018.

Instituto Adolfo Lutz (São Paulo). Métodos físico-químicos para análise de alimentos. São Paulo: Instituto Adolfo Lutz, 2008, p. 1020.

ISO - International Organization for Standardization. ISO/TC229. Disponível em: <<https://www.iso.org/committee/381983.html>>. Acesso em: 1 de maio de 2018.

JANKAR, J. J.; PAWAR, V. N.; SHARMA, A. K. Coating of fruits and vegetables based on natural sources: an alternative to synthetic coating. *International Journal of Food and Fermentation Technology*, V. 8, N. 2, P. 153-159, 2018.

JARAMILLO, C. M.; GUTIÉRREZ, T. J.; GOYANESA, S.; BERNALB, C.; FAMÁA, L. Biodegradability and plasticizing effect of yerba mate extract on cassava starch edible films. *Carbohydrate Polymers*, v. 151, p. 150–159, 2016.

JIANG, Q.; GAO, W.; LI, X.; XIA, Y.; WANG, H.; WU, S.; HUANG, L.; LIU, C. X.; XIAO, P. Characterizations of starches isolated from five different *Dioscorea* L. species. *Food Hydrocolloids*, v. 29, p. 35-41, 2012.

JIMÉNEZ, A.; FABRA, M. J.; TALENS, P.; CHIRALT, A. Edible and Biodegradable Starch Films: A Review. *Food Bioprocess Technology*, v. 5, p. 2058–2076, 2012.

JORGE, N. Embalagens para alimentos São Paulo: Cultura Acadêmica: Universidade Estadual Paulista, Pró-Reitoria de Graduação, p. 194, 2013.

KASHYAP, P.; KUMAR, S.; SRIVASTAVA, A. K.; SHARMA, A. K. Myconanotechnology in agriculture: a perspective. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, v. 29, p. 191–207, 2013.

KINUPP, V. F.; LORENZI, H. Plantas alimentícias não convencionais (PANC) no Brasil: Guia de identificação, aspectos nutricionais e receitas. Instituto Plantarum de estudos da Flora, São Paulo, 2014.

KON, K.; RAI, M. Metallic nanoparticles: mechanism of antibacterial action and influencing factors. *Journal of Comparative Clinical Pathology Research*, v.2, n. 1, p. 160-174, 2013.

LANDIM, A. P. M.; BERNARDO, C. O.; MARTINS, I. B. A.; FRANCISCO, M. R.; SANTOS, M. B.; MELO, N. R. Sustentabilidade quanto às embalagens de alimentos no Brasil. *Polímeros*, v. 26, 82-92, 2016.

LEACH, H. W.; MCCOWEN, L. D.; SCHOCH, T. J. Structure of starch granule. Swelling and solubility patterns of various starches. *Cereal Chemistry*, v. 36, p. 534-544, 1959.

LEONEL, M.; CEREDA, M. P. Extração da fécula retida no resíduo fibroso do processo de produção de fécula de mandioca. *Ciência e tecnologia de alimentos*, v. 30, n. 1, 2000.

LEONEL, M.; CEREDA, M. P. Arrow root (*Maranta arundinacea*) as a possible raw material for starch industries. *Brazilian Journal of Food Technology*, v. 5, p. 151-155, 2002.

LEONEL, M. Analysis of the shape and size of starch grains from different botanical species. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, v. 27, n. 3, p. 579-588, 2007.

LI, X.; GAO, G.; SUN, C.; ZHU, Y.; QU, L.; JIANG, F.; DING, H. Preparation and antibacterial performance testing of Ag nanoparticles embedded biological materials. *Applied Surface Science*, v. 330, n. 1, p. 237-244, 2015.

LIMA, B. N. B.; CABRAL, T. B.; NETO, R. P. C.; TAVARES, M. I. B. Estudo do Amido de Farinhas Comerciais Comestíveis. *Polímeros*, 2012.

LIMA, J. S.; LIMA, A. T.M.; CASTILLO-URQUIZA, G. P.; SILVA, S. J. C.; ASSUNÇÃO, I. P.; MICHEREFF, S. J.; F.; ZERBINI, M.; LIMA, G. S. A. Variabilidade genética de isolados de badnavírus infectando inhame (*Dioscorea* spp.) no nordeste do Brasil. *Tropical plant pathology*, v. 38 n. 4, 2013.

LIMA, N. A.; SIQUEIRA, P. M. O uso da prospecção tecnológica para a identificação de oportunidades: o 5-hidroximetilfurfural como plataforma química para a produção de polímeros de origem renovável. *Perspectivas da Ciência e Tecnologia*, v.7, n. 2, 2015.

LIPORACCI, J. S. N.; MALI, S.; GROSSMANN, M. V. E. Effects of extraction method on chemical composition and functional properties of yam starch (*Dioscorea alata*). *Semina: Ciências Agrárias*, Londrina, v. 26, n. 3, p. 345-352, 2005.

LLORENS, A.; LLORET, E.; PICOUET, P. A.; TRBOJEVICH, R.; FERNANDEZ, A. Metallic based micro and nanocomposites in food contact materials and active food packaging. *Trends in Food Science and Technology*, v. 24, p. 19-29, 2012.

LOBATO, A. C. N.; DAMACENO, J. B. D.; AGUIAR, J. P. L.; SARAIVA-BONATTO, E. C.; ROLIM, C. S. S.; FERNANDES, N. S.; CASTRO, A. P.; LAMARÃO, C. V.; SOUZA, F. C. A. Development and characterization of biodegradable films from fermented yam (*Dioscorea trifida* L. f.). *African Journal of Food Science*, v. 13, n. 10, p. 235-247, 2019.

LOVERA, M.; CASTRO, G. M. C.; PIRES, N. R.; BASTOS, M. S. R.; ARAUJO, M. L. H. A.; LAURENTIN, A.; MOREIRA, R. A. OLIVEIRA, H. D. Pyrodextrinization of yam (*Dioscorea* sp.) starch isolated from tubers grown in Brazil and physicochemical characterization of yellow pyrodextrins. *Carbohydrate Polymers*, 2020.

MACHADO, B. A. S.; REIS, J. H. O; SILVA, J. B.; CRUZ, L. S.; NUNES, I. L.; PEREIRA, F. V.; DRUZIANE, J.I. Obtenção de nanocelulose da fibra de coco verde e incorporação em filmes biodegradáveis de amido plastificados com glicerol. *Química Nova*, v. 37, n. 8, p. 1275-1282, 2014.

MAIA, L. H.; PORTE, A.; SOUZA, V. F. Filmes comestíveis: aspectos gerais, propriedades de barreira a umidade e oxigênio. Boletim do Centro de Pesquisa de Processamento de Alimentos, v. 18, n. 1, p. 105-128, 2000.

MALI, S.; GROSSMANN, M. V. E.; YAMASHITA, F. Starch films: production, properties and potential of utilization. Semina: Ciências Agrárias, Londrina, v. 31, n. 1, p. 137-156, 2010.

MARAN, J. P.; SIVAKUMAR, V.; THIRUGNANASAMBANDHAM, K.; SHRIDAR, R. Degradation behavior of biocomposites based on cassava starch buried under indoor soil conditions. Carbohydrate Polymers, v. 101, p. 20-28, 2014.

MARTINEZ, C.; CUEVAS, F. Evaluación de la Calidad Culinária y Molinera del Arroz: guia de estudio para ser usada como complemento de la unidad auditorial sobre el mismo tema. Centro Internacional de Agricultura Tropical- CIAT- Tercera Edición. Cali, Colômbia, 1989. 73p.

MATEESCU, A. L.; DIMOV, T. V.; GRUMEZESCU, A. M.; GESTAL, M. C.; CHIFIRIUC, M. C. Nanostructured Bioactive Polymers Used in Food-Packaging. Current Pharmaceutical Biotechnology, v. 16, p. 121-127, 2015.

MERGEN, I. Z. Estudo da perda de vácuo em embalagens multicamada para produtos cárneos curados. 2004. 132f. Dissertação (Mestrado) – Curso de Engenharia Química. Universidade Federal de Santa Catarina. Florianópolis, SC, 2004.

MILLER, G. L. Use of dinitro salicylic acid reagent for determination of reducing sugar. Analytical Chemistry, Washington, v. 31, n. 3, p. 426-428, 1959.

MONTES, E. M.; SALCEDO M. J.; ZAPATA, M. J. E. CARMONA, C. J.; PATERNINA, U. S. Evaluación de las propiedades modificadas por vía enzimática del almidón de ñame (*D. trifida*) utilizando α -amilasa (termamyl® 120 I, tipo I). Revista de La Facultad de Química Farmacéutica, v. 15, n.1, p. 51-60, 2008.

MOTA, C. J. A.; PINTO, B. P. Transformações catalíticas do glicerol para inovação na indústria química. Revista Virtual de Química, v. 9, n. 1, p. 135-149, 2017.

NARAYANA, K.; NARASINGA-RAO, M. S. Functional properties of raw and heat processed winged bean (*Psophocarpus tetragonolobus*) flour. Journal of Food Science, v. 47, n. 5, p. 1534-1538, 1982.

NEPA. Tabela de composição de alimentos. Núcleo de Estudos e Pesquisas em Alimentação. UNICAMP. Campinas, São Paulo, Brasil. 2006, 105 p.

NEVES, L. C.; RODRIGUES, A. C.; VIEITES, R. L. Polietileno de baixa densidade (pebd) na conservação pós colheita de figos cv. “roxo de valinhos”. Revista Brasileira de Fruticultura, v. 24, n. 1, p. 057-062, 2002.

PAGNO, C. H.; COSTA, T. M. H.; MENEZES, E. W.; BENVENUTTI, E. V.; HERTZ, P. F.; MATTE, C. R.; TOSATI, J. V.; MONTEIRO, A. R.; RIOS, A. O.; FLÔRES, S. H. Development of active biofilms of quinoa (*Chenopodium quinoa* W.) starch containing gold

nanoparticles and evaluation of antimicrobial activity. *Food Chemistry*, v, 173, p. 755–762, 2015.

PAGLIONE, I. S.; GALINDO, M. V.; YAMAGUCHI, M. M.; UENO, C. T.; SAKANAKA, L. S.; SHIRAI, M. A. Efeito do glicerol com plastificante nas propriedades funcionais de filmes de proteína de soja e óleo essencial de orégano. *Segurança Alimentar e Nutricional*, v.26, p. 1-8, 2019.

PASCOAL, N. L. O.; CORDEIRO, S.; PINTO, G. A. Production of proteolytic extract by *Aspergillus oryzae* grown by solid state fermentation using canola meal as substrate. *BMC Proceedings*, v. 8, 2014.

PATERNINA, A. P.; FIGUEROA, J. F.; SALCEDO, J. M.; CERVERA, M. R. Pasting properties in native starches of cassava, yams and sweet potato. *Agronomía Colombiana*, v. 34, p. 402-404, 2016.

PERES, A. M.; PIRES, R. R.; ORÉFICE, R. L. Evaluation of the effect of reprocessing on the structure and properties of low density polyethylene/thermoplastic starch blends. *Carbohydrate Polymers*, v. 136, p. 210–215, 2016.

PEREZ, F. S.; BERTAGNOLLI, S. M. M.; ALVES, M. P.; PENNA, N. G. Nanotecnologia: aplicações na área de alimentos. *Disciplinarum Scientia*, v. 13, n. 1, p. 97-110, 2012.

POLYCARP, D.; AFOAKWA, E. O.; ANANE-ASAMOA, A. K.; HARUNA, B. Physico-functional characteristics of Seven Different Yams (*Dioscorea* species) in Ghana. *International Journal of Innovation and Applied Studies*, v. 18, n. 4, p. 1015-1022, 2016.

PRADO, F. B.; ROCHA, W. C.; MARTIM, S. R.; ALECRIM, M. M.; SILVA, L. P.; SILVA, L. S. C.; SILVA, T. A.; TEIXEIRA, M. F. S. Produção de compostos bioativos por *Aspergillus* mantidos sob duas condições de preservação. *Boletim do Museu Paraense Emílio Goeldi: Ciências Naturais*, v. 12, n. 1, 37-47, 2017.

PUGAZHENDHI, S.; SATHYA, P.; PALANISAMY, P. K.; GOPALAKRISHNAN, R. Synthesis of silver nanoparticles through green approach using *Dioscorea alata* and their characterization on antibacterial activities and optical limiting behavior. *Journal of Photochemistry & Photobiology*, v. 159, p. 155–160, 2016.

RAMOS, A. S.; CASTRO, A. P.; MEDEIRO, C. M.; FRAXE, T. J. P.; MELO, S. R. D. Avaliação da brotação para obtenção de mudas de diferentes partes do tubérculo de cará roxo (*Dioscorea trifida* L. f). *Revista Brasileira de Agroecologia*, v. 9, n. 1, p. 170-175, 2014.

REIS, R. C.; ASCHERI, D. P. R.; DEVILLA, I. A. Propriedades físicas do tubérculo e propriedades químicas e funcionais do amido de inhame (*Dioscorea* sp.) cultivar São Bento, 2010.

RESTA, V. G.; MALI, S. Efeito de sacarose e glicerol como plastificantes em filmes orodispersíveis de amido e gelatina. *Iniciação Científica CESUMAR*, v. 21, n. 1, p. 15-25, 2019.

RIBEIRO, A. E. C.; ASCHERI, D. P. R.; ASCHERI, J. L. R. Amidos fosfatados da *Swartzia burchelli*: propriedades físicas e físico-químicas. B. CEPPA, v. 35, n.1, 2017.

ROCHA, G. O.; FARIAS, M. G. Filmes compostos biodegradáveis a base de amido de mandioca e proteína de soja. Polímeros, 2014.

ROCHA, A. M.; COSTA, S. C.; LIMA, T. S.; SILVA, A. F. BARÃO, C. E.; PIMENTEL, T. C.; ANTONELLI-USHIROBIRA, T. M. MARCOLINO, V. A. Aplicação do biopolímero de amido de cassava e amido de milho na conservação pós-colheita de guava. Brazilian Journal of Development, v. 6, n. 2, p. 6658-6680, 2020.

RODRIGUES, D. G.; SILVA, N. B. M.; REZENDE, C.; JACOBUCCI, H. B.; FONTANA, E. A. Avaliação de dois métodos de higienização alimentar. Revista Saúde e Pesquisa, v. 4, n. 3, p. 341-350, P. 1983-1870, 2011.

RODRIGUES, C. P.; VIEIRA, R.; LIMA, R. R. O. Estudo comparativo das propriedades funcionais do amido da batata doce (*Ipomoea batatas*) nativo e modificado por acetilação. Revista Científica da Faculdade de Educação e Meio Ambiente, v. 8, n. 1, 33-47, 2017.

ROLIM, W. R.; PELEGRINO, M. T.; LIMA, B. A.; FERRAZA, L. S., COSTA, F. N., BERNARDES, J. S.; RODRIGUES, T.; BROCCHI, M.; SEABRA, A. B. Green tea extract mediated biogenic synthesis of silver nanoparticles: Characterization, cytotoxicity evaluation and antibacterial activity. Applied Surface Science, v. 463, p. 66–74, 2019.

ROSARIN, F. S.; MIRUNALINI, S. Nobel metallic nanoparticles with novel biomedical properties. Journal of bioanalysis & biomedicine, v. 3, p. 085-091, 2011.

RÓZ, A. L.; LEITE, F. L.; FERREIRA, M.; OLIVEIRA JR, O. N. Grandes áreas da nanociência. 1. ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2015.

SAMBERG, M. E.; ORNDORFF, P. E.; MONTEIRO-RIVIERE, N. A. Antibacterial efficacy of silver nanoparticles of different sizes, surface conditions and synthesis methods. Nanotoxicology, v. 5, n. 2, p. 244–253, 2011.

SANTANA, Á. L.; ANGELA, M.; MEIRELES, A. New Starches are the Trend for Industry Applications: A Review. Food and Public Health, v. 4, n.5, p. 229-241, 2014.

SANTOS, L. S.; BONOMO, R. C. F.; FONTAM, R. C. I.; BONOMO, P.; LEITE, C. X. S.; SANTOS, D. O. Efeito dos métodos de extração na composição, rendimento e propriedades da pasta do amido obtido da semente de jaca. Revista Brasileira de Produtos Agroindustriais, v.15, n.3, p. 255-261, 2013.

SANTOS, B.; COELHO, T. M.; FILHO, N. A. Produção de plástico biodegradável a base de amido modificado. EPCT – Encontro de Produção Científica e Tecnológica Campo Mourão, 2014.

SARACENI, C. H. C.; KABADAYAN, F.; LIMA, B.; BRAGA, R.; CUNHA, B.; SUFFREDINI, I. Mechanical properties of a glass ionomer cement incorporated with Amazon plant extract. Dental Materials Journal, v. 38, n. 3, p. 411–417, 2019.

SIBBR. *Dioscorea altissima* in Ficha de Espécies do Sistema de Informação sobre a Biodiversidade Brasileira. Disponível em: <https://ferramentas.sibbr.gov.br/ficha/bin/view/especie/dioscorea_altissima>. Acesso em 08-08-2019.

SILVA, N. Manual de métodos de análise microbiológica de alimentos: 1-624. São Paulo, Brasil, 2010.

SILVA, D. C.; SILVA, L. C. R.; CAVALCANTI, T. F. M.; COSTA, C. A. Caracterização morfológica de cinco acessos de inhame (*Dioscorea* sp.). Horticult. bras., v. 30, n. 2, 2012.

SILVA, L. S. C.; MACHADO, A. R. G.; TEIXEIRA, R. A. S.; MARTIM, S. R.; TEIXEIRA, M. F. S. Composição Físico-Química de Inhame Roxo (*Dioscorea alata* L.) Cultivado em Unidade Domiciliar. Congresso Brasileiro de Gastronomia, Ciência e Cultura Alimentar, 2017. Disponível em: <https://cbgcca.eventize.com.br/trabalhos/resumo_59dab1eb431af.docx>. Acessado em: 02 de Maio de 2018.

SILVA-VINHOTE, N.; DURÁN, N.; SILVA, T. A. QUELEMES, P. V.; ARAÚJO, A. R.; MORAES, A. C. M.; CÂMARA, A. L. S.; LONGO, J. P. F.; AZEVEDO, R. B.; SILVA, D. A.; LEITE, J. R. S.; TEIXEIRA, M. F. S. Extracellular biogenic synthesis of silver nanoparticles by Actinomycetes from Amazonic Biome and its antimicrobial efficiency. African Journal of Biotechnology, v. 16, n. 43, p. 2072-2082, 2017.

SIQUEIRA, M. V. B. M. Inhame (*Dioscorea* spp): uma cultura ainda negligenciada. Horticultura Brasileira, v. 27, p. 4075-4090, 2009.

SIQUEIRA, M. V. B. M., NASCIMENTO, W. F.; SILVA, L. R. G.; FERREIRA, A. B., SILVA, E. F.; MING, L.C.; VEASEY, E. A. Distribution, management and diversity of yam local varieties in Brazil: a study on *Dioscorea alata* L. Brazilian Journal of Biology, v. 74, n. 1, p. 52-61. 2014.

SOARES, I. F. O.; FAKHOURI, F. M.; GIRALDI, A. L. F. M.; BUONTEMPO, R. C. Síntese e caracterização de biofilme de amido plastificado com glicerol ou triacetina. FOCO, v. 5, n. 7, 2014.

SOBRAL, P. J. A. Propriedades funcionais de biofilmes de gelatina em função da espessura. Ciência & Engenharia, Uberlândia, v. 8, n. 1, p. 60-67, 1999.

SOSULSKI, F. W. The centrifuge method for determining flour absorption in hard red spring wheats. Cereal Chemistry, v. 39, n. 4, p. 344-350, 1962.

SOUZA, A. V.; BERTONI, B. W.; FRANÇA, S. C.; PEREIRA, A. M. S. Micropropagação de *Dioscorea multiflora* Griseb. Ciência e agrotecnologia, v. 35, n. 1, p. 92-98, 2011.

SOUZA, C. O.; SILVA, L. T.; DRUZIAN, J. I. Estudo comparativo da caracterização de filmes biodegradáveis de amido de mandioca contendo polpas de manga e de acerola. Química Nova, v. 35, n. 2, 2012.

SOUZA, M. R. A.; FAI, A. E. C.; BRUNO, N. V.; GONÇALVES, E. C. B. A. Utilização de revestimento biodegradável a base de resíduo de frutas e hortaliças na conservação de cenoura (*Daucus carota* L.) minimamente processada. COBEQ – Congresso Brasileiro de Engenharia Química, Florianópolis, Santa Catarina, 2014.

TEIXEIRA, L. S.; MARTIM, S. R.; SILVA, L. S. C.; KINUPP, V. F.; TEIXEIRA, M. F. S., PORTO, A. L. F. Efficiency of Amazonian tubers flours in modulating gut microbiota of male rats. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, v. 38, p. 1-6, 2016.

TRAN, Q. H.; NGUYEN, V. Q.; LE, A-T. Silver nanoparticles: synthesis, properties, toxicology, applications and perspectives. *Advances in natural science: nanoscience and nanotechnology*, v. 4, p. 1 – 20, 2013.

VICENTINO, S. L.; FLORIANO, P. A.; DRAGUNSKI, D. C. Filmes de amidos de mandioca modificados para recobrimento e conservação de uvas. *Química Nova*, v. 34, n. 8, p. 1309-1314, 2011.

WALTER, M.; SILVA, L. P.; PERDOMO, D. Amido disponível e resistente em alimentos: adaptação do método da AOAC 996.11. *Alimentos e Nutrição Araraquara*, v. 16, n. 1, p. 39-46, 2005.

WANG, Y.; ZHANG, L.; LI, X.; GAO, W. Physicochemical properties of starches from two different yam (*Dioscorea Opposita* Thunb.) residues. *Brazilian Archives of Biology and Technology*, v. 54, n. 2, p. 243-251, 2011.

WEI, C.; QIN, F.; ZHOU, W.; XU, B.; CHEN, C.; CHEN, Y.; WANG, Y.; GU, M.; LIU Q. Comparison of the crystalline properties and structural changes of starches from high-amylose transgenic rice and its wild type during heating. *Food Chemistry*, v. 128, 645–652, 2011.

ZANELA, J.; REIS, M. O.; DIAS, A. P.; MALI, S.; GROSSMANN, M. V. E.; YAMASHITA, F. Sheets of cassava starch - poly (vinyl alcohol) produced by extrusion: effect of formulation on the color and opacity. *Polímeros*, v. 25, n. 3, p. 326-329, 2015.

ZHANG, B.; GUO, K.; LIN, L.; WEI, C. Comparison of structural and functional properties of starches from the rhizome and bulbil of chinese yam (*Dioscorea opposite* Thunb.). *Molecules*, v. 23, n. 47, 2018.