

UNIVERSIDADE FEDERAL DO AMAZONAS
FACULDADE DE TECNOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA E
ENGENHARIA DE MATERIAIS

BIOFILMES COMESTÍVEIS DE AMIDO DE CARÁ-ROXO,
ALGINATO DE SÓDIO E TIMOL PARA REVESTIMENTO DE
MAÇÃS E MORANGOS

ANA LUISA FARIAS ROCHA

MANAUS-AMAZONAS

2023

UNIVERSIDADE FEDERAL DO AMAZONAS
FACULDADE DE TECNOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA E
ENGENHARIA DE MATERIAIS

ANA LUISA FARIAS ROCHA

BIOFILMES COMESTÍVEIS DE AMIDO DE CARÁ-ROXO,
ALGINATO DE SÓDIO E TIMOL PARA REVESTIMENTO DE
MAÇÃS E MORANGOS

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciência e Engenharia de Materiais, da Universidade Federal do Amazonas, sob a orientação do prof.º Dr. Edgar A. Sanches, como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Ciência e Engenharia de Materiais.

MANAUS-AMAZONAS

2023

Ficha Catalográfica

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

R672b Rocha, Ana Luisa Farias
Biofilmes comestíveis de amido de cará-roxo, alginato de sódio e timol para revestimento de maçãs e morangos / Ana Luisa Farias Rocha . 2023
52 f.: il. color; 31 cm.

Orientador: Edgar Aparecido Sanches
Dissertação (Mestrado em Ciência e Engenharia de Materiais) - Universidade Federal do Amazonas.

1. Biofilmes comestíveis. 2. Conservação de alimentos. 3. Polímeros. 4. Biodegradabilidade. I. Sanches, Edgar Aparecido. II. Universidade Federal do Amazonas III. Título

AGRADECIMENTOS

Agradeço a minha mãe, minha maior referência de modelo de vida, por sempre torcer por mim e ser o meu maior apoio;

Ao meu orientador, Prof. Dr. Edgar A. Sanches pelo incentivo a entrar no mestrado, pela paciência, pela orientação de excelente qualidade e por ser um ponto de calma na minha mente turbulenta;

Aos meus amigos do antes Nanopol e agora LabYMasc, Adriano Carolino, Bianca Feitosa, Camila Ruzzo, Célio Macalia, Kalil Araújo, Josiana Mar, Laiane Souza, Marcos Marques, Matheus Biondo, René Gomes e Ronald Nunes pelo suporte acadêmico, incentivo moral e momentos que carregarei para sempre em minha vida;

Aos meus amigos da vida: Aluandra Reis, Bruna Caroline, Larissa Brasil, Milla Galvão, Patrícia Dineli, Pedro Gabriel, Ruan Victor e Yasmin Silva por me ouvirem, me apoiarem nos momentos em que mais vacilei e me incentivarem nos meus planos;

A FAPEAM pelo apoio financeiro que permitiu dois anos de formação acadêmica privilegiada e de qualidade;

A UFAM e seus funcionários e ao Programa de Pós-graduação em Ciência e Engenharia de Materiais pela oportunidade concedida, pela infraestrutura e pelo suporte.

RESUMO

Biofilmes comestíveis são alternativas seguras e ecológicas às embalagens convencionais de plástico oriundo do petróleo, que podem aumentar a durabilidade dos alimentos de maneira eficiente. Sendo assim, o objetivo desse trabalho foi produzir biofilmes de polímeros naturais como amido extraído de cará-roxo, alginato de sódio e timol, caracterizá-los e aplicá-los como revestimento de maçãs e morangos para prolongar sua conservação e manter suas características organolépticas desejáveis. O amido de cará-roxo foi extraído com sucesso e, assim como o alginato de sódio, foi submetido ao processo de geleificação gerando soluções-mãe com e sem timol que foram depositadas em placas de Petri e ao secar formaram os biofilmes, processo conhecido como *casting*. Essas amostras foram caracterizadas através de teor de umidade, solubilidade em água e etanol, microscopia eletrônica de varredura (MEV), espessura, permeabilidade de vapor d'água (PVA), opacidade, colorimetria, espectroscopia de infravermelho por transformada de Fourier (FTIR) e termogravimetria (TG). Já as frutas passaram por um recobrimento com essas soluções e ficaram sendo acompanhadas através da perda de peso e mudança de aspecto visual. Os teores de umidade e solubilidade em água se apresentaram dentro do esperado para os biofilmes produzidos com o objetivo visado. Os resultados da solubilidade em álcool indicam uma nova linha de pesquisa partindo de estudos de digestibilidade mais completos. Foi possível medir a espessura micrométrica dos biofilmes através das imagens de MEV, que também permitiram a observação da sua morfologia e como a aplicação de ultradispersão pode ter contribuído para uma textura porosa e com superfície irregular dos biofilmes. Os resultados também indicam que o timol pode ter contribuído para o aumento da PVA. As análises das propriedades ópticas mostraram que os biofilmes foram transparentes sem nenhum tipo de tendência de cor e a adição do timol não interferiu na opacidade. O FTIR indicou os principais grupos vibracionais dos materiais utilizados, e mostrou que o timol não mudou a composição dos biofilmes. Através das análises térmicas foi possível observar que os biofilmes tiveram estabilidade térmica maior do que os materiais isolados. Considerando que não houve grandes diferenças na performance das amostras, elegeu-se a amostra AC-Br como a mais rentável e de fácil produção como um material ecológico que contribui para a conservação de alimentos e que não oferece riscos à saúde humana.

Palavras-chave: biofilmes comestíveis, conservação de alimentos, polímeros, biodegradabilidade.

ABSTRACT

Edible biofilms are safe and ecological alternatives to conventional petroleum-based plastic packaging, which can efficiently increase food shelf life. Therefore, the objective of this work was to produce biofilms of natural polymers such as starch extracted from yams, sodium alginate and thymol, characterize them and apply them as a coating for apples and strawberries to prolong their conservation and maintain their desirable organoleptic characteristics. The purple yam starch was successfully extracted and, like the sodium alginate, it was subjected to the gelation process, generating stock solutions with and without thymol that were deposited in Petri dishes and, when dried, formed biofilms, a process known as casting. These samples were characterized by moisture content, solubility in water and ethanol, scanning electron microscopy (SEM), thickness, water vapor permeability (WVP), opacity, colorimetry, Fourier transform infrared spectroscopy (FTIR) and thermogravimetry (TG). The fruits, on the other hand, underwent a coating with these solutions and were monitored through weight loss and change in visual appearance. The moisture content and solubility in water were within the expected range for the biofilms produced with the intended purpose. The solubility results in alcohol indicate a new line of research based on more complete digestibility studies. It was possible to measure the micrometric thickness of the biofilms through SEM images, which also allowed the observation of their morphology and how the application of ultradispersion may have contributed to a porous texture and an irregular surface of the biofilms. The results also indicate that thymol may have contributed to the increase in PVA. The analyzes of the optical properties showed that the biofilms were transparent without any type of color trend and the addition of thymol did not interfere with the opacity. The FTIR indicated the main vibrational groups of the materials used, and showed that thymol did not change the composition of the biofilms. Through the thermal analysis it was possible to observe that the biofilms had greater thermal stability than the isolated materials. Considering that there were no major differences in the performance of the samples, the AC-Br sample was chosen as the most profitable and easy to produce as an ecological material that contributes to the preservation of food and does not pose risks to human health.

Keywords: edible films, food preservation, polymers, biodegradability.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Tubérculos de cará-roxo (<i>Dioscorea trifida</i> L.f).....	14
Figura 2: Estrutura do alginato de sódio composta pelos ácidos β -D-manurônico (M) e α -L-gulurônico.....	17
Figura 3: Estruturas do timol e seu isômero carvacrol.....	21
Figura 4: Etapas da extração do amido do cará-roxo.....	23
Figura 5: Etapas da produção dos biofilmes.....	24
Figura 6: Imagem obtida por MEV dos grânulos de amido nativo de <i>D. trifida</i>	29
Figura 7: Imagens obtidas por MEV do corte lateral dos biofilmes.....	33
Figura 8: Imagens dos biofilmes após <i>casting</i> nas placas de Petri e em seguida aplicados nas maçãs e nos morangos no dia 1 de cada ensaio.....	37
Figura 9: Espectros completos de FTIR e em seguida a amplificação na região de 1800 a 600 cm^{-1}	38
Figura 10: Termogramas dos materiais isolados e dos biofilmes separados por grupos.....	39
Figura 11: Acompanhamento da perda de peso percentual das frutas.....	43
Figura 12: Observação da mudança de aspecto visual das frutas ao longo dos dias.....	43

LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Fontes de amido de diferentes espécies do gênero Dioscorea.....	15
Tabela 2: Trabalhos que produziram biofilmes de amido ou alginato	20
Tabela 3: Composição das amostras.....	25
Tabela 4: Resultados da caracterização física dos filmes.....	30
Tabela 5: Resultados caracterização óptica dos filmes (opacidade e colorimetria)	35
Tabela 6: Eventos térmicos dos materiais isolados e dos biofilmes.....	41

LISTA DE ABREVIACÕES

- AC-AS- Biofilme de amido e alginato com timol
- AC-AS-Br- Biofilme de amido e alginato sem timol
- AC- Biofilme de amido com timol
- AC-Br- Biofilme de amido sem timol
- AM- Amazonas
- AS- Biofilme de alginato com timol
- AS-Br- Biofilme alginato sem timol
- B.O.D- Incubadora com Demanda Bioquímica de Oxignio
- CUPRAC- *Cupric Ion Reducing Antioxidant Capacity*
- DPPH- 1,1-difenil-2-picrilhidrazil
- DP- Desvio Padrão
- dTG- Derivada da Termogravimetria
- EA- Embalagem de alimentos
- FDA- *Food and Drug Administration*
- FRAP- *Ferric Reducing Antioxidant Capacity*
- FTIR- *Fourier Transform Infrared*
- GRAS- *Generally Recognized as Safe*
- MEV- Microscopia Eletrnica de Varredura
- OE- leo Essencial
- PANC- Plantas Alimentícias Não-Convencionais
- PVA- Permeabilidade de Vapor de gua
- REF- Referência
- TA- Temperatura ambiente
- TG- Termogravimetria
- UV-vis- Ultravioleta Visível
- %U- Teor de Umidade
- %SA- Teor de Solubilidade em gua
- %SE- Teor de Solubilidade em Etanol

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	12
2. OBJETIVOS	13
2.1 Objetivos Específicos.....	13
3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	14
3.1 Cará-roxo.....	14
3.2 Amido.....	15
3.2.1 Fontes não-convencionais de amido	16
3.2.2 Aplicações do amido.....	16
3.3 Alginato.....	17
3.4 Biofilmes	18
3.4.1 Biofilmes de amido e/ou alginato	19
3.5 Timol	21
4. MATERIAIS E MÉTODOS	23
4.1 Materiais	23
4.2 Extração de amido	23
4.3 Produção dos biofilmes.....	24
4.4 Teor de Umidade (%U)	25
4.5 Teor de Solubilidade em Água (%SA) e Etanol (%E)	25
4.6 MEV e Espessura	26
4.7 Permeabilidade de Vapor de Água (PVA).....	26
4.8 Propriedades Ópticas	26
4.9 FTIR.....	27
4.10 TG.....	27
4.11 Revestimento das frutas e perda de peso	27
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	28
5.1 Caracterização do amido de cará-roxo.....	28
5.2 Teor de Umidade (%U)	29
5.3 Teor de Solubilidade em Água (%SA) e Etanol (%E)	30
5.4 MEV e Espessura	32

5.5 Permeabilidade de Vapor de Água (PVA).....	34
5.6 Propriedades Ópticas	35
5.6.1 Opacidade	35
5.6.2 Colorimetria	36
5.7 FTIR.....	37
5.8 TG.....	39
5.9 Revestimento das frutas e perda de peso	42
6. CONCLUSÃO.....	46
7. REFERÊNCIAS.....	47

1. INTRODUÇÃO

O cará-roxo é uma espécie de tubérculo amazônico bastante consumida na culinária local, com diversas variedades, rico em amido e antocianinas. O amido é o segundo biopolímero mais abundante na natureza, atrás apenas da celulose, facilmente encontrado comercialmente de origens mais convencionais, como milho e mandioca, e mais raramente encontrado de fontes não-convencionais, como das diferentes espécies de cará e outras PANCs, bambus, casca de banana etc. É um bastante material versátil que tem deixado de estar presente apenas como ingrediente alimentar para também ser explorado como biofilmes para embalagens e revestimentos de alimentos, assim como o alginato (polímero proveniente de algas marinhas, atóxico e já bastante utilizado nas indústrias farmacêutica e alimentícia) ambos carboidratos comestíveis e com propriedades de plastificação (1–3)

Embalagens não-biodegradáveis são responsáveis por grande parte da poluição mundial. Muitas são de uso único, feitas de derivados de petróleo e demoram de décadas a séculos para se decomporem totalmente, oferecendo riscos à saúde e ao equilíbrio ambiental. Os consumidores têm demandado mais qualidade, segurança e responsabilidade ambiental com alimentos, outros produtos e tecnologias em geral. Devido a essa preocupação com o meio ambiente, a necessidade de alternativas ecológicas às opções convencionais de embalagens tem feito crescer a pesquisa e o desenvolvimento de opções biodegradáveis para reduzir os níveis de poluição do meio ambiente, dentre elas os biofilmes de amido e compósitos. Observa-se que os biofilmes de amido não apresentam todas as características desejadas, sendo assim, a combinação com outros materiais pode trazer benefícios ao seu desempenho (4).

E ainda, a incorporação de bioativos pode elevar a qualidade desses biofilmes, atuando como conservantes e nutracêuticos. São geralmente óleos essenciais (OE) e seus componentes isolados ou outros tipos de extratos vegetais (5). O timol é uma substância presente em diversos OE e já é utilizado comercialmente na sua forma sintética por possuir diversas bioatividade (3,4). Alguns biofilmes de alginato ou amido com timol já foram produzidos, mas sua combinação utilizando o amido de uma fonte não-convencional ainda não foi testada. Sendo assim, o objetivo deste trabalho foi produzir biofilmes compósitos de amido de cará-roxo com alginato de sódio e timol para utilização como revestimento comestível de maçã e morango.

2. OBJETIVOS

Produzir biofilmes comestíveis de amido extraído de cará-roxo e alginato de sódio enriquecidos com timol visando sua aplicação como revestimentos biodegradáveis de maçã e morango.

2.1 Objetivos Específicos:

- Caracterizar o amido do cará-roxo através do seu rendimento e morfologia dos grânulos através de MEV;
- Produzir biofilmes comestíveis e biodegradáveis a partir de amido extraído de cará-roxo e alginato de sódio com timol através da técnica de *casting*;
- Quantificar os teores de umidade, solubilidade em água e em etanol dos biofilmes;
- Medir a espessura dos biofilmes e analisar suas morfologias através de MEV;
- Estimar a permeabilidade de vapor de água das amostras;
- Mensurar suas características ópticas, como opacidade e cor, através de UV-vis e colorímetro;
- Avaliar possíveis mudanças físico-químicas através do FTIR;
- Analisar o perfil comportamental térmico dos materiais de origem e dos biofilmes através de TG;
- Avaliar a qualidade de amostras de maçã e morango revestidos com os biofilmes através do acompanhamento da perda de peso e características visuais.

3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1 Cará-roxo

O cará-roxo [*Dioscorea trifida* L.f. (Dioscoreaceae)], apresentado na **Figura 1**, é uma planta tuberosa com parte aérea herbácea e trepadeira nativa da Amazônia. Possui tubérculos roxos devido à alta concentração de antocianinas, mas também brancos ou amarelos em outras variedades. É bastante consumida cozida pela população amazonense (não antes disso, pois a mucilagem do cará-roxo cru causa irritação na pele), em forma de purê ou farinha para preparo de pães e bolos. A demanda de cará-roxo é atendida pelos produtores locais, com 48% proveniente do município de Caapiranga-AM (1,2). É difícil encontrar informações sobre o cultivo e números de produção comercial do cará-roxo pois estes valores não são tabelados e/ou divulgados, informações estas que poderiam ser úteis para os próprios produtores que poderiam otimizar sua produção e elevar o potencial econômico que o cará-roxo carrega.

Figura 1: Tubérculos de cará-roxo (*Dioscorea trifida* L.f)



O gênero *Dioscorea* é o principal da família, abrangendo cerca de 50 % das espécies de Dioscoreaceae, família encontrada nos trópicos e subtropicais (6). Muitos amidos de diferentes espécies do gênero *Dioscorea* já foram caracterizados cientificamente (6,7) e inclusive usados para produção de biofilmes, porém raramente são encontrados de forma comercial (8) e considerando regiões de difícil acesso, como o norte do Brasil, fontes locais de amido podem se mostrar boas alternativas às opções convencionais e industriais (milho, mandioca e batata), que por vezes podem ter o custo elevado devido ao seu transporte e a variação de preços que eles próprios podem ter enquanto *commodities*. O milho detém a maior

produção mundial de amido (65 a 73%), seguido da mandioca (11 a 14%), trigo (8%) e batata (4%) (6,9,10).

3.2 Amido

O amido é um polímero natural semicristalino proveniente de diferentes origens como tubérculos, rizomas, sementes/cereais, gramíneas, frutas e colmos (3), e é composto por duas unidades de glicose denominadas amilose e amilopectina, cuja proporção entre elas varia de acordo com a fonte. É um material naturalmente abundante, atóxico, com facilidade de extração, biodegradabilidade e baixo custo (11). Se tratando do gênero *Dioscorea*, o amido compõe de 20 a 60% da massa da maioria das suas espécies (7). A **Tabela 1** lista algumas espécies de *Dioscorea* cujo foram extraídos os amidos para caracterização e pesquisa.

Tabela 1: Fontes de amido de diferentes espécies do gênero *Dioscorea*.

Espécie	País	Objetivo	REF
<i>D. trifida</i>	Brasil	Caracterização, biofilme	(8)
<i>D. rotundata</i>	Nigéria	Caracterização	(12)
<i>D. opposita</i>	China	Caracterização	(7)
<i>D. alata</i>			
<i>D. niponica</i>			
<i>D. bulbifera</i>			
<i>D. septemloba</i>			
<i>D. hispida</i>	Indonésia	Biofilme antimicrobiano	(13)
<i>D. pyrifolia</i>	Malásia	Caracterização	(6)
<i>D. opposita</i>	China	Caracterização	(14)
<i>D. alata</i>	Indonésia	Caracterização de diferentes cultivares	(15)
<i>D. alata</i>	Colômbia	Propriedades organolépticas no iogurte	(16)
<i>D. rotundata</i>			
<i>D. trifida</i>	Venezuela	Caracterização e digestibilidade	(17)

As propriedades físico-químicas almeçadas dos amidos para aplicações alimentícias e não-alimentícias são principalmente gelatinização, aglutinação, solubilidade, absorção e comportamento reológico. Essas propriedades estão correlacionadas aos teores de amilose e amilopectina que variam de acordo com espécie e idade planta (3), formato e distribuição de

tamanho dos grânulos, estrutura molecular e origem do amido. Diferentes arranjos e proporções da amilose amilopectina geram diferentes comportamentos de gelatinização e comportamento reológico (7).

3.2.1 Fontes não-convencionais de amido

É compreensível a utilização de uma fonte padrão de amido no mundo (geralmente o milho), pois otimiza processos industriais, padroniza a qualidade e o rendimento do produto e fortalece a agricultura de larga escala, mas justamente por esse último motivo isso pode ser um problema pois reforça o uso de transgênicos e agrotóxicos comumente usados na agricultura convencional que está atrelada à poluição do meio ambiente, desmatamento, invasão de terra indígenas, extinção de espécies, contaminação da população, aumento da resistência de pragas e doenças, aumento dos casos de câncer, deformidades e natimortos, entre outros problemas que esse modelo de agricultura carrega. Sendo assim, a exploração da produção de amido de fontes diversas oferece ao mercado uma variabilidade de produtos maior, fortalece pequenos e médios produtores, reforça o consumo cultural e tradicional sobre espécies locais, fortalece a agricultura agroecológica e fornece à pesquisa e à indústria novas possibilidades de materiais e soluções para os problemas que a sociedade possui ou pode vir a possuir no caso de uma crise no sistema de produção que se confia em poucas fontes de recurso (3).

Aumentar a quantidade de publicações sobre fontes não-convencionais de amido adicionam valor a esses materiais, criando meios de facilitar sua escala de produção (3). Diversos trabalhos exploram fontes alternativas de amido. Os trabalhos dos autores Kinupp, V. F.; Lorenzi, H., 2014 (18) e Tagliapietra *et al.*, 2021 (3) apresentam diversas espécies como potenciais fontes de amido e comida, por exemplo: proveniente de frutas como jaca, manga, banana verde, pupunha; tubérculos: mandioca, araruta, ariá, inhames, gengibre; sementes: lótus, urucum e abacate; cereais: ervilha, fava, feijão, quinoa e sorgo; e colmo de bambus (3,19,20)

3.2.2 Aplicações do amido

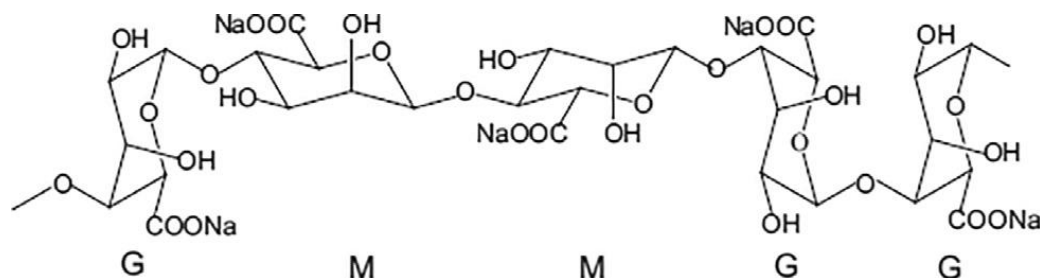
O amido é o segundo polímero natural mais abundante na natureza, atrás apenas da celulose e é um material já bastante explorado na pesquisa e nas indústrias. Está presente na produção de papel, plástico, adesivos, tecidos, bebidas, remédios e biotecnologia (6). Recentemente, com o avanço da nanotecnologia, as pesquisas têm reavaliado as propriedades dos materiais em sua escala nano, uma vez que podem apresentar propriedades elétricas,

térmicas, mecânicas e ópticas totalmente diferentes, como nanocompósitos e nanoencapsulação. Uma das áreas de concentração da pesquisa científica com amido são os biofilmes direcionados para diversas aplicações (21). Mas apesar da alta quantidade de pesquisa nessa área, encontrar comercialmente produtos à base de amido propostos nas pesquisas (curativos, carreadores de bioativos cosméticos e medicinais, sacolas descartáveis biodegradáveis, embalagens e revestimentos de alimentos etc.) é mais raro e quando se encontra vêm de origens de baixo financiamento como a *startup* “Já Fui Mandioca”.

3.3 Alginato

O alginato é um biopolímero extraído de algas marinhas marrons ou de bactérias *Azotobacter* sp. e *Pseudomona* sp. composto por unidades alternantes de ácido α -L-gulurônico e ácido β -D-manurônico. Sua estrutura está apresentada na **Figura 2**. A sequência das unidades monoméricas e peso molecular depende da sua origem (22,23). É comercializado na forma de sal do ácido algínico (alginato de sódio) e na presença de cátions polivalentes, como o cálcio, torna-se insolúvel em água devido a formação de uma estrutura feita de ligações cruzadas, passando a ser chamado de alginato de cálcio (24). É um material comestível, biodegradável, biocompatível, atóxico, possui ótima capacidade de formação de filme e baixo custo e por isso tem sido utilizado em diversas áreas da medicina, cosmética e alimentos, como para estabilizantes, geleificantes e biofilmes comestíveis que substituem as embalagens de alimentos (4,25).

Figura 2: Estrutura do alginato de sódio composta pelos ácidos β -D-manurônico (M) e α -L-gulurônico(23)



É um material seguro para usos alimentícios e medicinais. O alginato de sódio tem sido continuamente utilizado em produtos para cicatrização devido a sua capacidade de proteção e hidratação, fornecendo oxigênio e água para as células, o que auxilia na regeneração de tecidos (26). Mesmo sendo usado comercialmente como curativo, o alginato

sozinho possui baixa resistência mecânica e não possui atividade antioxidante e antimicrobiana (25).

3.4 Biofilmes

A demanda e o consumo de materiais ecologicamente sustentáveis crescem cada vez mais, substituindo as embalagens tradicionais que geram toneladas de poluição anualmente devido à falta de reciclagem e coleta seletiva, e possuem origem em recurso fóssil não renovável (13). A produção global de plástico chegou a 348 milhões de toneladas em 2017. Plástico confere de 60 a 95% dos dejetos marinhos e se desfazem em microplásticos difíceis de serem captados e que entram na cadeia alimentar (27).

Os biofilmes são materiais biodegradáveis, comestíveis e não-tóxicos, com propriedades equivalentes, ou até superiores aos diferentes tipos de polímeros convencionais. São produzidos a partir de polímeros naturais como polissacarídeos (amido, alginato, celulose, quitosana) e proteínas (gelatina, zeína, WPI ou WPC) (8–10,24,25,28,29).

Eles são capazes de manter a firmeza de alimentos vegetais, reduzir sua perda de massa e umidade, manter suas boas características organolépticas, retardar o crescimento microbiano, diminuir a troca de gases e conseqüentemente, aumentar sua durabilidade (13,24). Para promover essas ações no alimento, o material utilizado deve possuir algumas características como: ter boa tendência à formação de filme; ter baixo custo; ter resistência mecânica e térmica; resistência manipulável à água; ser biocompatível, não tóxico e comestível; não alterar significativamente o aspecto visual do alimento; não alterar suas propriedades organolépticas; ser abundante na natureza e de fonte renovável; ser fácil de manipular; ser escalonável para indústria; e de preferência ser capaz de carrear bioativos (30).

Alguns exemplos do uso de biofilmes para revestimento de alimentos são: biofilmes de amido+alginato em pimentão-verde (31); alginato em melancia cortada (32); alginato+gel de *Aloe vera* e óleo essencial de alho em tomates (24); alginato em maçã cortada (25), alginato e nanopartículas em cenoura cortada (8), alginato com óleo de orégano em melão cortado (33), (34) quitosana com proteína de quinoa e nanoemulsões de timol para tomates-cereja (35), amido de mandioca em morangos entre outros.

Não apenas para embalagens de alimentos, a tecnologia de produção biofilmes também pode ser direcionada para outras áreas de conhecimento como tratamento de doenças dérmicas, biossensores e potencializadores de ativos cosméticos (36,37).

3.4.1 Biofilmes de amido e/ou alginato

Como já explicado, o amido nativo ou modificado pode ser transformado em material termoplástico através da presença de um plastificante juntamente com a aplicação de energia termomecânica, que depois da retirada de umidade se transformam nos biofilmes. O amido não é solúvel em água em temperatura ambiente, mas o aumento da temperatura faz relaxar a região cristalina, ou seja, o espaçamento intramolecular aumenta, o que aumenta a interação do amido com a água (11). Entretanto, apesar da baixa solubilidade em água, os biofilmes são altamente hidrofílicos, o que evidencia seu potencial de absorção, permeabilidade de vapor d'água e baixa resistência mecânica. Esses obstáculos podem ser superados através da inserção de um plastificante, como sorbitol, polietilenoglicol ou glicerol, tratamento físico-químico ou combinação com outros polímeros ou nanopartículas (38,39). Trabalhos prévios elucidaram que a capacidade de formação de biofilme se deve à amilose, componente com cadeias lineares que formam as regiões cristalinas do amido. Quanto maior o teor de amilose, mais rígido e forte é o biofilme formado e menos solúvel (9). Porém, biofilmes de amido podem vir a ficarem frágeis e quebradiços, por isso a necessidade de plastificantes para torná-los maleáveis e manipuláveis (10).

Geralmente, apenas um material a formar o filme não gera as características ideais para atuar como embalagem de alimentos. Sendo assim, a combinação de dois ou mais materiais formam matrizes poliméricas com propriedades melhores do que com eles sozinhos e a maioria das pesquisas têm se baseado nas diversas possibilidades de combinações entre carboidratos, proteínas, lipídeos, fibras e polímeros sintéticos (4,10,27,40) Assim com o amido, o alginato sozinho também produz bons biofilmes, porém com alguns empecilhos como hidroflicidade, alta permeabilidade, baixa proteção antimicrobiana e propriedades mecânicas ruins (24).

Com a quantidade de informações geradas nas pesquisas de biofilmes, já se pode prever alguns comportamentos dos biofilmes baseados nos materiais com os quais eles são combinados. A adição de glicerol enfraquece a ligação de hidrogênio da amilose; a adição de nanocelulose e quitosana torna mais resistente mecanicamente; gelatina e alginato aumentam a PVA, solubilidade e transparência; ácido cítrico age como *crosslinking*, diminui a PVA e a degradação e confere ação antibacteriana (21) entre outros.

A **Tabela 2** apresenta alguns trabalhos de biofilmes de amido e/ou alginato, os materiais usados em combinação, a presença ou não de bioativos e indica a aplicabilidade estudada no trabalho.

Tabela 2: Trabalhos que produziram biofilmes de amido ou alginato

Fonte	Compósito	Bioativo	Objetivo	REF
Batata-doce		-	Caracterização	(28)
Cará-roxo	Quitosana	-	EA	(8)
Milho	Pó da casca de laranja		Caracterização	(11)
<i>D. hispida</i>	Quitosana	OE capim-limão	EA	(13)
Milho	-	Timol	Caracterização	(9)
Milho	Nanocelulose	Timol	Caracterização	(10)
Pinhão	-	Farinha de jabuticaba	EA	(39)
Açafrão	-	Curcuminas	Biofilmes	(41)
Batata-doce		Timol	Biofilmes	(42)
Alginato	Gel de <i>Aloe vera</i>	OE de alho	R.A. em tomates	(24)
Alginato		Timol	E.A. de maçã cortada	(25)
Alginato	Goma tragacanto	Gel de <i>Aloe vera</i>	Caracterização	(4)
Alginato		Óleo de tomilho	R.A. antimicrobiano em melão cortado	(33)
Alginato			R.A. de melancia cortada	(32)
Alginato	Amido e celulose microcristalina		R.A. de pimentão-verde	(31)
Alginato		NP de prata-montmorillonita	R.A. de cenoura cortada	(43)
Alginato		OE de tomilho/capim-santo/sálvia	Caracterização e antimicrobiano	(44)

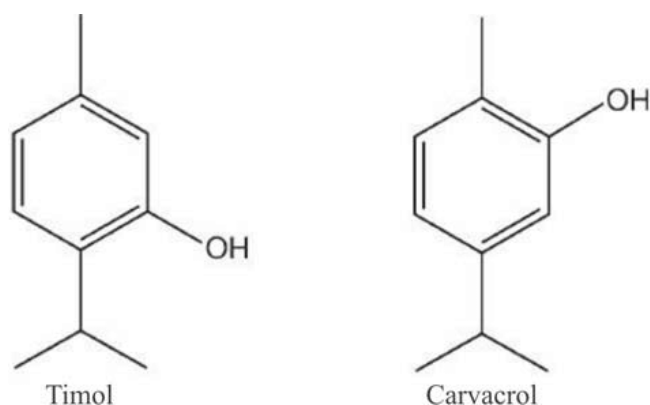
Não só a combinação de dois ou mais materiais podem melhorar o desempenho dos biofilmes, mas a incorporação de bioativos também (óleos essenciais, antioxidantes, antimicrobianos, repelentes e barreiras à luz UV), o que tem levado a pesquisa e o desenvolvimento desses biofilmes a um novo patamar, expandindo suas funcionalidades como embalagens de alimentos (9). Istiqomah *et al.*, 2022 (13) explica que a inserção de OE em biofilmes além de conferirem as ações citadas também atua como plastificante (*crosslinking*) na matriz polimérica. Muitos trabalhos já inserem conservantes sintéticos (benzoato de sódio, nitrato de sódio) e antioxidantes sintéticos (*beta hydroxyacid, butylated hydroxytoluene*) (13).

Esses ativos, apesar de potencializarem a ação dos biofilmes ou de outras formas de encapsulantes, são geralmente substâncias voláteis e susceptíveis à luz, temperatura, reações oxidativas, atividade enzimática, processos químicos de digestão, entre outros. Logo, sua encapsulação ou associação a matrizes poliméricas os protegem por mais tempo, aumentando sua biodisponibilidade e enriquecendo a ação dos biofilmes (45).

3.5 Timol

O timol (2-isopropil-5-metilfenol), cuja estrutura está apresentada na **Figura 3**, é um composto isômero do carvacrol, volátil e já bastante conhecido pela presença abundante em óleos essenciais de orégano, tomilho e erva-do-marajó e outras espécies dos gêneros *Thymus*, *Ocimum*, *Origanum*, *Satureja*, *Thymbra* e *Monarda* (Lamiaceae). É classificado pela *Food and Drug Administration* (FDA) como *generally recognized as safe* (GRAS) e devido a essa segurança, tem sido bastante explorado nas indústrias medicinal, cosmética e alimentícia (10,46,47). Estudos realizados em camundongos, coelhos e cachorros mostraram que a maior

Figura 3: Estruturas do timol e seu isômero carvacrol



parte do timol ingerida já havia sido eliminada nas primeiras 6 h, e o restante em torno de 24 h, sem aparição de efeitos colaterais negativos (47).

Quando puro, é uma substância cristalina com odor e sabor intensos, e assim como óleos essenciais, é altamente volátil e oxidável quando exposto ao ar e à luz, hidrofóbico, mas solúvel em etanol e outros solventes orgânicos (30).

Como citado anteriormente, o timol apresenta atividades antioxidantes (*radical scavenging activity* DPPH) (25) (*cupric ion reducing antioxidante capacity* CUPRAC), (*ferric reducing antioxidante potential* FRAP) (46–48), devido a presença do grupo hidroxila em sua estrutura, capaz de absorver e neutralizar radicais livres (48); anti-inflamatória, reduzindo edemas (46) antimicrobianas (fungos, protozoários e bactérias se ligando às proteínas bacterianas e dando origem à desintegração e permeabilidade da membrana celular) (49), e antimacrobias (insetos e ácaros). É reportado também como antimutagênico, anticonvulsante, analgésico, cicatrizante, digestivo e radioprotetor (47). O estudo do uso do timol nos meios agrícolas e veterinários tem se tornado cada vez mais comum, como carrapaticida para bovinos (50), equinos (51) e cachorros domésticos (52); como anti-helmíntico em ovinos (53,54); e para tratar coccidiosis (protozoário) em aves (55,56).

As características do timol citadas anteriormente o tornam o candidato perfeito para micro/nanoencapsulação e incorporação em matrizes poliméricas a fim de torná-lo biodisponível por mais tempo, com maior controle da dosagem, com especificação dos sítios de atuação, aperfeiçoando sua bioatividade e diversificando suas possibilidades de aplicações (36). Se tratando de biofilmes comestíveis para embalagens de alimentos, o timol pode atuar como plastificante do biofilme tornando-o menos solúvel e pode contribuir com uma barreira antimicrobiana e à luz ultravioleta que causam degradação, ajudando a conservar o alimento por mais tempo e ainda servindo como nutracêutico, sem trazer perigo à saúde humana (10).

4. MATERIAIS E MÉTODOS

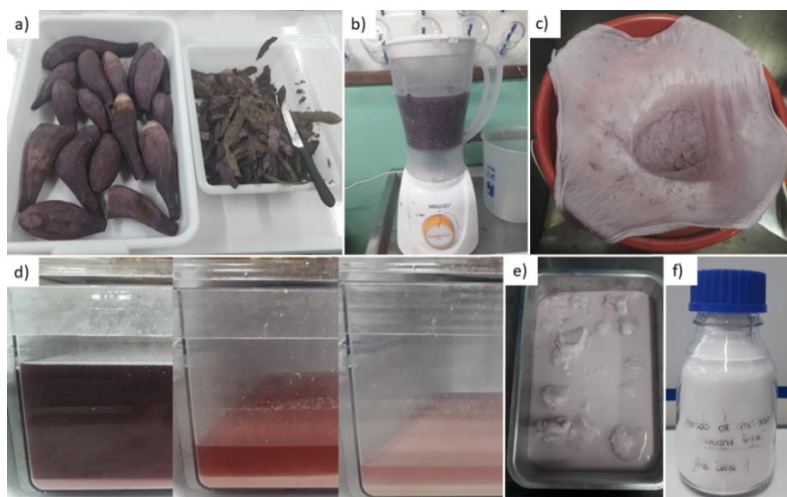
4.1 Materiais

Os tubérculos de cará-roxo foram obtidos no comércio local no mês de maio de 2022, fim do período chuvoso. Alginato de sódio P.A. (Dinâmica, Lote: 106616); Glicerina P.A. – ACS (Dinâmica, Lote: 109948); Tween80 (Synth, Lote: 194605); Timol (Synth, Lote: 248552); Clorito de sódio (Sigma-Aldrich, Lote: MKBX4964V); Álcool Etilico Absoluto P.A. – ACS (Dinâmica, Lote: 106988); Cloreto de sódio P.A. – ACS (Dinâmica, Lote: 95982).

4.2 Extração de amido

Para o estudo do amido em sua forma nativa, os tubérculos foram descascados, pesados (4,5 Kg), lavados em solução de hipoclorito de sódio 0,1% por 10 min e posteriormente com água corrente e triturados com água destilada diversas vezes para que a água lixviasse o amido junto com ela. A água extraída do processo foi posta para decantação do amido e sua separação da mucilagem por diversos dias sob refrigeração, com troca diária da água destilada sobrenadante. Observado o amido límpido, este foi posto em bandejas na estufa à 45°C até sua completa secagem. Depois a massa de amido foi moída em almofariz e peneirada para homogeneização dos grânulos e retirada de possíveis impurezas (3,8,12). Este passo a passo está demonstrado na **Figura 4** a seguir:

Figura 4: Etapas da extração do amido do cará-roxo



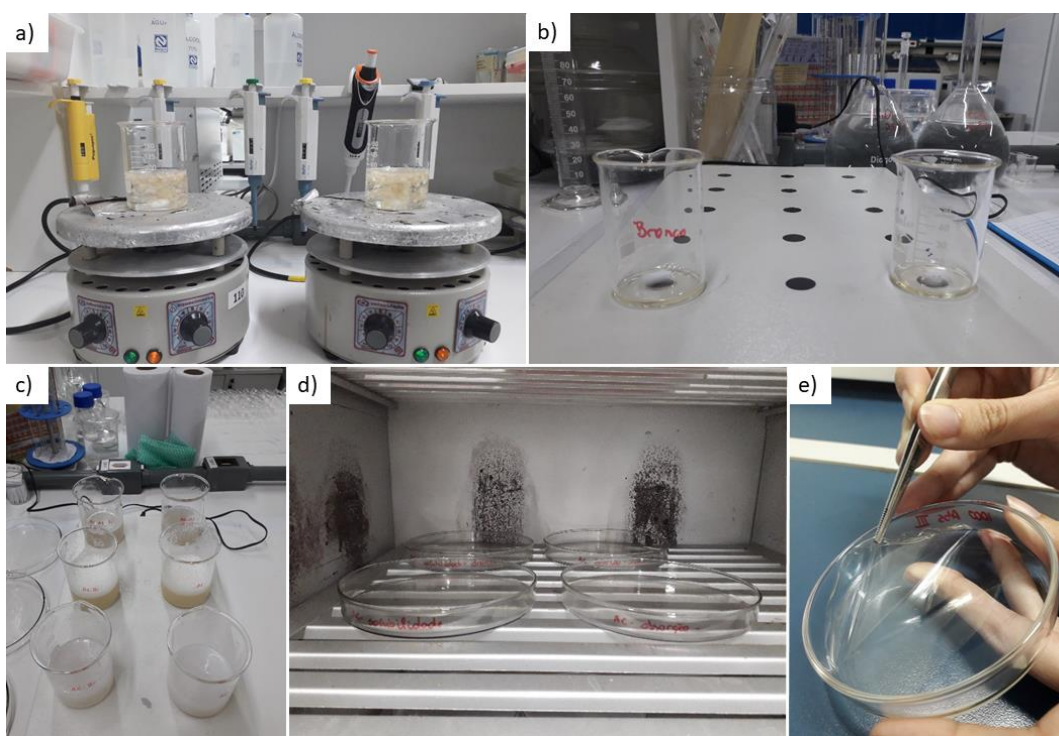
Etapas: a) descasque e limpeza; b) trituração com água destilada; c) filtragem; d) decantação do amido e retirada da mucilagem; e) secagem; f) amido extraído.

4.3 Produção dos biofilmes

O amido de cará-roxo ou o alginato de sódio ou ambos e 2g de glicerol foram vertidos em 90 mL de água e aquecidos por 20 ou 30 min para gelatinização da solução. As amostras AS-Br e AS foram aquecidas até 60° C e as amostras AC-Br, AC, AC-AS-Br e AC-AS até 80° C (essa temperatura foi escolhida baseada na temperatura de gelatinização encontrada em outros trabalhos (6,15)). Passado esse tempo, a solução foi resfriada à 35°C. 100 mg de timol foram solubilizados no Tween80 e depois suspensos em 10 mL de água. Essa emulsão foi vertida na solução do material de parede sob agitação no ultradispersor Turrax a 15.000 rpm para encapsulação do timol por 30 s. Para as amostras Branco (sem timol), apenas o Tween80 foi solubilizado na água e identificadas como AC-Br, AS-Br e AC-AS-Br e as amostras com timol são as respectivas AC, AS e AC-AS.

Em seguida, 20 mL das sínteses foram depositados em placas de Petri de 14,5 cm de diâmetro (8) e secos em temperatura ambiente com circulação de ar durante 8 h para formação dos biofilmes. O passo a passo está demonstrado na **Figura 5**, seguida da **Tabela 3** com a composição de cada fórmula:

Figura 5: Etapas da produção dos biofilmes



Etapas: a) gelatinização dos materiais de parede; b) solubilização do timol, Tween80 e água em paralelo com a etapa a); c) soluções-mãe finalizadas após a ultradispersão; d) deposição das soluções nas placas de Petri para secagem (*casting*); e) retirada dos biofilmes da placa (*peeling*).

Tabela 3: Composição das amostras

Material	AC	AS	AC-AS	Função
Amido de cará-roxo	3 g	-	2,1 g	Material filmogênico
Alginato de sódio	-	1,5 g	0,9 g	Material filmogênico
Glicerol	2 g	2 g	2 g	Plastificante
Tween80	0,5 g	1 g	0,7 g	Tensoativo
Timol	100 mg	100 mg	100 mg	Princípio ativo
Água	100 mL	100 mL	100 mL	Dispersante

Assim como Nordin *et al*, 2020 (9), através dos experimentos prévios realizados antes da decisão pelas formulações utilizadas no presente trabalho, foram observadas rupturas e rigidez nas amostras produzidas com amido, e separação de fases nas amostras de alginato. A inserção do Tween80 nas formulações solucionou esses obstáculos. Todas as análises experimentais foram realizadas em triplicata, exceto Perda de Peso.

4.4 Teor de Umidade (%U)

Para medição do teor de umidade (4,9), os biofilmes foram dimensionados em quadrados de 2x2 cm, pesados (P1), postos em estufa à 100 °C por 24h e novamente pesados (P2). O %U foi calculado através da fórmula:

$$\text{Eq. 1: } \%U = \left(\frac{(P1 - P2)}{P1} \right) * 100$$

4.5 Teor de Solubilidade em Água (%SA) e em Etanol (%SE)

O SA% (4,25), foi medido utilizando quadrados de 2x2 cm previamente secos em estufa à 100 °C por 24 h (P1). Em seguida, as amostras foram submersas em 20 mL de água e postas no *shaker* em 100 rpm por 24 h. Passado esse período, a água foi retirada e os filmes foram novamente secos em estufa à 100 °C por 24 h (P2). Para o %SE (11), foi realizado o mesmo procedimento, porém utilizando 5 mL de Etanol Absoluto P.A. e os resultados foram calculados utilizando a **Eq. 1**.

O alginato de sódio forma um gel/filme irreversível e não solúvel em água ao reagir com íons polivalentes, como cálcio (4). Optou-se por não fazer a reticulação do alginato com íons cálcio nas amostras AS-Br e AS, logo o alginato permaneceu em sua forma comercial de

carboidrato reticulado com íon sódio (alginato de sódio), forma esta solúvel em água e, portanto, as análises de solubilidade em água não foram realizadas com essas amostras.

4.6 MEV e Espessura

A morfologia dos grãos de amido e corte lateral dos biofilmes foram analisadas utilizando um microscópio eletrônico de varredura (Tescan, modelo Vega 3) do Laboratório Temático de Microscopia do INPA sob uma voltagem de aceleração de 15 kV(25). Os filmes foram cortados em cerca de 0,5x1 mm e depositados sobre a fita de cobre posicionada verticalmente. Posteriormente, a medição da espessura foi feita utilizando o software ImageJ com as mesmas imagens, em triplicata.

4.7 Permeabilidade de Vapor d'Água (PVA)

A PVA foi determinada gravimetricamente(57). Frascos de vidro foram preenchidos até 2/3 de seu volume com sílica (± 10 g) previamente seca por 24 h em estufa à 150 °C. As amostras dos filmes foram cortadas em quadrados de 3x3 cm, colocadas tampando os frascos e foram selados com parafilme ao redor da abertura. A espessura considerada no cálculo foi a encontrada nas medidas de MEV. Os frascos foram colocados em um dessecador com solução de cloreto de sódio saturada para promover uma umidade relativa de 75 %. O experimento foi conduzido em 25 °C e os frascos foram pesados a cada 24 h por sete dias. A curva de calibração foi construída considerando o ganho de peso da sílica através do tempo. Então, a PVA foi calculada utilizando a Equação 2.

$$\text{Eq. 2: } PVA (g \cdot mm \cdot m^{-2} \cdot dia^{-1} \cdot kPa^{-1}) = \frac{(24 * t)}{(A * \Delta p)} * \left(\frac{w}{\theta}\right)$$

Onde 24 é o fator de correção de horas para dia, t é o valor médio de espessura dos filmes (mm), A é a área de permeação dos filmes (m^2), Δp é a saturação de vapor na temperatura do experimento (1,75 kPa (57,58)), w é o ganho de massa ao longo do tempo, obtido através da equação da reta $y = ax + b$ (onde o w é o a da equação), e θ é o tempo de intervalo entre cada medida (h).

4.8 Propriedades ópticas

A opacidade dos biofilmes foi medida utilizando um espectrofotômetro ultravioleta-visível de microplaca modelo Epoch2, da Biotek®, no comprimento de onda de 600 nm, em microplaca. A opacidade média foi calculada através da fórmula:

$$\text{Eq. 3: Opacidade: } \frac{A_{600}}{\text{espessura (mm)}}$$

onde A600 é o valor de absorvância em 600 nm (4,9).

A colorimetria dos filmes foi realizada utilizando um espectrofotômetro de cor ou colorímetro da Delta Color® que avaliou os parâmetros L^* , a^* , b^* e ΔE (diferença total de cor) em triplicata. O branco utilizado como referência foi papel sulfite.

4.9 FTIR

As medidas de FTIR correram em um equipamento Marca Shimadzu, IRTracer-100, com cristal de ATR, no modo transmitância, com o *full scan* de 4500 a 200 cm^{-1} .

4.10 TG

O comportamento térmico e a degradação das amostras foram analisados em um equipamento SDT Q600 da TA Instruments, do Laboratório de Ensaio Físico-Químicos- FT-UFAM. Aproximadamente 11 mg de cada amostra foram postos em cadinhos de alumina e aquecidos de temperatura ambiente até 600 °C com uma rampa de aquecimento de 10 °C/min, com fluxo de gás nitrogênio 5.0 de 30 mL/min (9).

4.11 Revestimento das frutas e perda de peso

A análise de tempo de prateleira seguiu a metodologia descrita por Chen *et al.*, 2021 (25). Maçãs e morangos foram adquiridos no comércio local, lavados em solução de hipoclorito de sódio 0,1 % por 10 min e depois com detergente e água corrente e postos para secar sob circulação de ar. Em triplicata, os vegetais foram totalmente cobertos com as respectivas soluções-mãe e uma triplicata de cada fruta sem ter sido revestida foi considerada como Controle. As frutas foram mantidas na B.O.D com circulação de ar em 25 °C e o acompanhamento da perda de peso foi feito diariamente por 5 dias para o morango e 14 dias para a maçã.

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

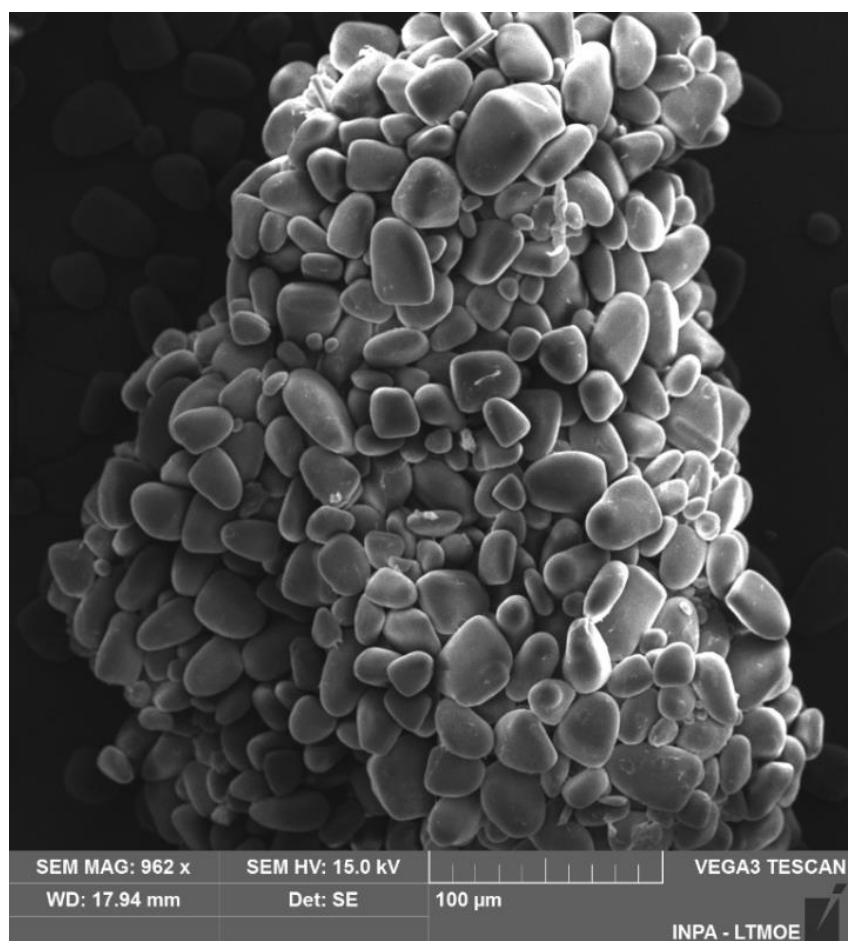
5.1 Caracterização do amido de cará-roxo

O peso total de amido extraído após a secagem foi de 607,04 g, correspondente a 13,5 % de rendimento. Diversos fatores podem afetar o valor de rendimento de amido, como a espécie utilizada, idade da planta, período de coleta e método de extração. Nadia *et al.*, 2014 (15) obteve entre 7 e 16 % de rendimento para *D. alata*, outra espécie também conhecida popularmente como cará-roxo encontrada no Brasil. Maniglia *et al.*, 2022 (41) obteve diferentes rendimentos de amido de açafraão através de diferentes métodos de extração, variando de 24 a 31 %. Geralmente, um rendimento acima de 30 % é esperado para exploração comercial de uma fonte nova de amido (21). Jiang *et al.*, 2012 (7) relata a presença de 35 a 70 % de amido em diferentes espécies de *Dioscorea* porém mesmo não apresentando o rendimento esperado, equivalente ao de outras fontes convencionais como milho, mandioca e batata, o amido de cará-roxo poderia fortalecer o comércio sendo uma nova fonte de renda para produtores locais como uma alternativa às possíveis crises e pode ser direcionado para outras áreas de pesquisa, como estudo genético, biossensores, antioxidantes e produção agroecológica (3).

Por definição, o amido é um pó branco, sem gosto ou cheiro e insolúvel em água à temperatura ambiente (6), mas diversos amidos não-convencionais são levemente coloridos devido a atração lipofílica da amilose (3,41). O amido nativo de cará-roxo se apresentou levemente rosado devido a presença de antocianinas que não foram retiradas durante as diversas lavagens. Através da imagem de MEV (**Figura 6**), observa-se que muitos dos grânulos de amido apresentam um formato oval/elipsoide de corpo achatado com superfície lisa, semelhante ao observado nos grânulos de *D. trifida* por Costa *et al.*, 2020 (8) e de diferentes cultivares de *D. rotundata* por Ahmadu *et al.*, 2018 (12). Jiang *et al.*, 2012 (7) fez MEV de diferentes espécies de *Dioscorea* e observou formatos mais esféricos, poligonais e superfícies mais irregulares e Sharlina *et al.*, 2017 (6) obteve grânulos poliédricos.

A morfologia e tamanho dos grânulos variam bastante e dependem de sua origem biológica e método de extração (7). As medidas de tamanho obtidas pelo ImageJ indicam uma média de 21 ± 8 μm . Behera *et al.*, 2022 e Jiang *et al.*, 2013 (7,59) obtiveram valores 8 e 48 μm , range encontrado para a maioria dos amidos estudados.

Figura 6: Imagem obtida por MEV dos grânulos de amido nativo de *D. trifida*



5.2 Teor de Umidade (%U)

O %U das amostras está indicado na **Tabela 4**. Duas situações podem ocorrer ao inserir componentes lipofílicos na amostra: reduzir a umidade ao repelir a água devido a diferença de polaridade, ou o contrário, ao gerar incoerências na matriz do biofilme aumentando sua superfície de contato com o ar e, conseqüentemente a umidade e permeabilidade de vapor d'água (9).

Além das situações já citadas, outras possibilidades podem influenciar no teor de umidade tais como o tipo de polímero e sua afinidade com a água, a proporção de componentes hidrofílicos e lipofílicos e a uniformidade da matriz. E devido a isso, os resultados encontrados na literatura são bastante variados. Por exemplo, Costa *et al.*, 2020 (8)

Tabela 4: Resultados da caracterização física dos filmes

	%U±DP	%SA±DP	%SE±DP	Espessura ±DP(mm)	PVA±DP (g.mm.m ⁻² .d ⁻¹ .kPa ⁻¹)
AC-Br	40,5±0,4	34±1	11,5±0,4	0,089±0,007	16,4±0,4
AC	36,8±0,2	29±1	14,9±0,7	0,116±0,009	20±1
AS-Br	43±1	-	9±0,3	0,04±0,02	8,2±0,2
AS	40±2	-	9,9±0,2	0,07±0,01	13,2±0,1
AC-AS-Br	34,4±0,6	56±3	6,2±0,3	0,087±0,002	14±2
AC-AS	34,4±0,5	63±2	14,6±0,5	0,1±0,03	18±1

Siglas na ordem: %U (Teor de umidade); %SA (Teor de solubilidade em água); %SE (Teor de solubilidade em etanol); PVA (Permeabilidade de vapor de água); DP (Desvio Padrão).

produziu um filme compósito de amido de cará-roxo e quitosana e notou que o aumento da porcentagem de quitosana reduzia o %U. Nordin *et al.*, 2020 (9) produziu biofilmes de amido de milho com 33% teor de amilose (unidade responsável pela insolubilidade do amido em água fria) e obteve apenas 9% de %U. Já Chhataryia *et al.*, 2022 (11) obteve 35% de teor de umidade, semelhante ao do presente trabalho, ao criar biofilmes de amido combinados com pó de casca de laranja.

5.3 Teor de Solubilidade em Água (%SA) e em Etanol (%SE)

Os resultados de %SA e %SE também estão apresentados na **Tabela 4**. Comparando os grupos de amostras, o grupo AC-AS apresentou em torno do dobro do valor do grupo AC devido a presença de alginato na composição, composto que na forma utilizada no trabalho (sal de sódio do ácido algínico), é totalmente solúvel em água, tanto que o ensaio não foi realizado com esse grupo pois em questão de segundos a amostra se dissolveu.

A solubilidade dos filmes interfere na sua aplicação e, assim como o %U, não há uma coerência absoluta sobre a solubilidade dos biofilmes, ficando a critério do objetivo visado da sua aplicação. Em alguns casos, a insolubilidade é benéfica pois aumenta a resistência e integridade dos biofilmes. Por outro lado, filmes solúveis são vistos de maneira mais positiva devido a facilidade de retirada na lavagem ou dissolução na saliva no momento do consumo (39). A solubilidade de um biofilme de amido pode ser aumentada com a incorporação de

substâncias hidrofílicas, como o glicerol (que atua como plastificante, mas também aumenta o espaço entre as cadeias poliméricas facilitando a passagem de água) e o alginato (utilizados no presente trabalho), ou processos físico-químicos como a acetilação (28,39,42).

A estrutura linear e cristalina da amilose cria uma matriz que reduz a permeabilidade de água e impede a desintegração das moléculas de amido por meio da água, tornando-o insolúvel em temperatura ambiente. Assim, quanto maior o seu teor, mais insolúvel é o amido e conseqüentemente seu biofilme. Por outro lado, a amilopectina possui uma cadeia não-cristalina, com ramificações mais curtas do que a amilose e com uma quantidade maior de hidroxilas disponíveis para interação, tornando os biofilmes hidrofílicos e permitindo a absorção de água, porém conferindo baixa resistência mecânica (7,28). Nordin *et al.*, 2020 (9) obteve apenas 2,4% de solubilidade por ter utilizado amido de milho com alto teor de amilose. Já Choi *et al.*, 2022 (28) obteve resultados até 20% e Chhataryia *et al.*, 2022 (11) de 33,6%, valor semelhante ao encontrado no presente trabalho para as amostras AC-Br e AC.

Já o alginato de sódio é totalmente solúvel em água, sendo assim a maioria dos trabalhos realiza sua reticulação com íons cálcio, pois essa substituição na dopagem do alginato dos íons sódio pelos íons cálcio modifica sua interação com a água aumentando sua insolubilidade. Como já explicado anteriormente, optou-se por não realizar essa reticulação nas amostras com alginato, pois o objetivo do presente trabalho era que de fato eles fossem de fácil retirada em caso de lavagem das frutas ou de fácil solubilização na boca para que não houvesse adição de textura do biofilme na fruta (28). Chen *et al.*, 2021 (25) realizou a reticulação do alginato com cálcio e obteve de 20 a 49,7% de %SA, ou seja, mesmo com a adição de cálcio, é de fato uma característica do alginato ser bastante solúvel em água.

A solubilidade em etanol está relacionada a quantas hidroxilas estão disponíveis para serem dissociadas por ele e é um teste que tem sido usado como simulação de digestão de alimentos gordurosos para avaliar a liberação de componentes lipídicos de biofilmes (11,30). Nem o alginato nem o amido possuem alta solubilidade em etanol em temperatura ambiente(11), porém o timol é totalmente solúvel, como se pode observar nas amostras em que ele foi adicionado, onde apresentaram perda de peso maior do que seus respectivos Brancos, simulando que em um ensaio completo, os filmes com timol apresentariam maior digestibilidade. Chhataryia *et al.*, 2022 (11) obteve 17,23% de SE% no filme só de amido, e observou o aumento da solubilidade com o aumento da concentração de casca de laranja

devido a maior interação dos açúcares, como sacarose e frutose, presentes naturalmente em frutas.

5.4 MEV e Espessura

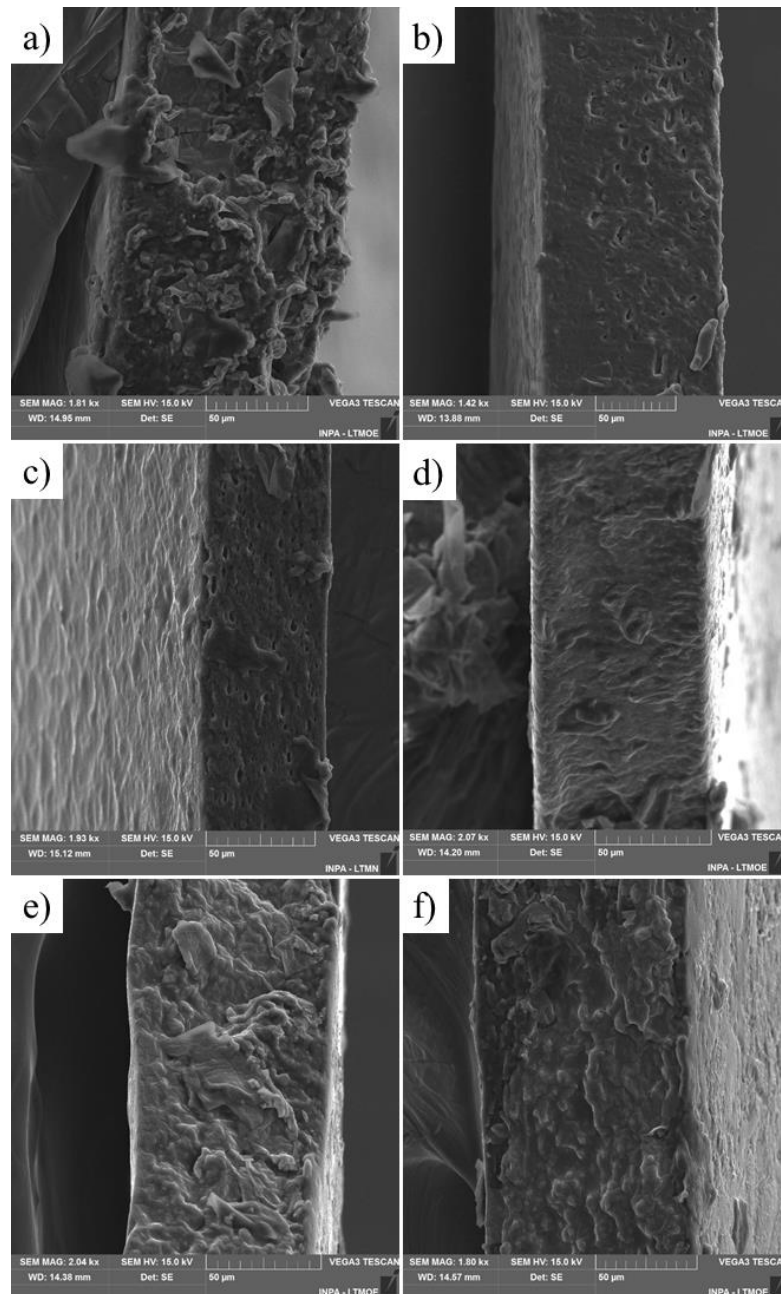
As imagens dos cortes laterais dos biofilmes estão presentes na **Figura 7**. Algumas situações podem ser observadas na morfologia dos biofilmes: rugosidade e porosidade (ambas observadas no presente trabalho), rachaduras e difusão do lipídeo através da matriz com consequente depósito de gotículas na sua superfície (44).

As amostras demonstram não possuir separação de fases, o que indica uma boa miscibilidade entre os componentes das sínteses (8). E seu baixo nível rugosidade e porosidade em algumas amostras pode ser devido ao fato de o amido não ser purificado e ainda conter resíduos de proteínas, lipídeos e fibras o que pode gerar uma matriz menos coesa (41), ou interferência do timol, um componente lipofílico (ponto já explicado no Tópico **5.2**), ou devido às vacâncias remanescentes da ultradispersão aplicada às soluções. A maioria dos trabalhos de produção de biofilmes não utiliza a ultradispersão com Turrax no momento do preparo e, como consequência, obtém-se filmes mais compactos. Costa *et al.*, 2020 (8) obteve superfícies mais lisas e uniformes e, utilizando volume e área de deposição semelhantes, obteve 0,2 mm de espessura, valor maior do que os encontrados no presente trabalho para as amostras AC-Br e AC, de 0,089 e 0,116 mm, respectivamente. Em contrapartida, Othman *et al.*, 2021, Chen *et al.*, 2021 e Karimi-Khorrami *et al.*, 2022 (10,25,36), também observaram rugosidade nos seus biofilmes, mesmo sem terem feito ultradispersão, Bagheri *et al.*, 2019 (60) observou poros nos cortes laterais dos biofilmes e Acevedo-Fani *et al.*, 2015 (44) obteve filmes com superfície rugosa, ambos com biofilmes de alginato de sódio mesmo após utilizarem o rotaevaporador justamente para retirada das bolhas de ar.

Os valores médios de espessura dos biofilmes estão indicados na **Tabela 4**. Para todas as amostras a adição de timol contribuiu para o aumento da espessura dos filmes devido a indução de uma maior plastificação além da já provocada pela adição de glicerol (9). A determinação do valor de espessura varia muito com o volume que está sendo depositado em uma determinada área e é difícil de controlar pois pequenas inclinações na superfície de secagem não percebidas a olho nu já podem causar diferenças muito significativas quando forem observadas através de microscopia. No caso, o mesmo volume das soluções (20 mL) foi depositado na mesma área (165,12 cm²), logo essas diferenças nos valores de espessura se dão pelas próprias características físicas de cada material. Por outro lado, as amostras do

grupo AC-AS apresentaram valores próximos do grupo AC, provavelmente devido ao fato de que a maior parte de sua composição também é de amido e espera-se que elas apresentem comportamentos mais semelhantes entre si do que quando comparadas às amostras de alginato. Já o grupo AS apresentou 0,04 para o Branco e 0,07 mm para o com timol, próximo ao encontrado por Hadi *et al.*, 2022 (0,069 mm) (4) e muito acima ao encontrado por Chen *et al.*, 2021 (0,02 mm) (25).

Figura 7: Imagens obtidas por MEV do corte lateral dos biofilmes



Na ordem: a) AC-Br; b) AC; c) AS-Br; d) AS; e) AC-AS-Br; f) AC-AS

5.5 Permeabilidade de Vapor d'Água

É importante avaliar a permeabilidade pois uma baixa PVA proporcionará uma redução da desidratação do alimento e menor absorção de umidade também, retardando a oxidação do fruto e proliferação de microrganismos (4,29,36). Assim como os outros parâmetros, a PVA é uma propriedade extremamente sensível, que pode variar por diversos fatores: composição, espessura, pré-tratamento do material polimérico (39), incorporação de componentes hidro ou lipofílicos e teor de amilose-amilopectina do amido, já que a água permeia melhor em regiões não cristalinas (10,39,60).

Os resultados estão apresentados na **Tabela 4**. As amostras dos grupos AC e AC-AS apresentaram valores próximos, devido a sua composição majoritariamente semelhante. Esses valores estão bem acima dos encontrados por Souza *et al.*, 2012 (57) que obteve de 3 a 7 $\text{g.mm.m}^{-2}.\text{dia}^{-1}.\text{kPa}^{-1}$ variando teores de glicerol e nanopartículas de argila para observar se o biofilme de amido de mandioca apresentaria maior ou menor PVA.

As amostras do grupo AS apresentaram os menores valores indicando que apesar da menor espessura, as demais amostras permitiram uma maior mobilidade da umidade através da matriz. Elas apresentaram valores de $8,2 \pm 0,2$ e $13,2 \pm 0,1 \text{ g.mm.m}^{-2}.\text{dia}^{-1}.\text{kPa}^{-1}$ (na ordem: AS-Br e AS), valores menores do que os encontrados por Aziz *et al.*, 2021 (24) de $21,53 \text{ g.mm.m}^{-2}.\text{dia}^{-1}.\text{kPa}^{-1}$ e sua melhor amostra reduziu para $11,74 \text{ g.mm.m}^{-2}.\text{dia}^{-1}.\text{kPa}^{-1}$ já com a adição de gel de *Aloe vera* e baixa concentração de OE. Todavia, Chen *et al.*, 2021 (25) obteve valores de 4,3 a 5,2 com biofilmes de alginato reticulados com cálcio. É comum encontrar resultados divergentes em relação a inserção de componentes lipofílicos. Espera-se que a incorporação de substâncias como óleos essenciais e seus componentes isolados, reduzam a PVA devido a sua natureza hidrofóbica, como observado por Chen *et al.*, 2021 (25). Mas o efeito oposto também pode ocorrer caso esses mesmos componentes diminuam a coesividade na matriz polimérica, causando um aumento na PVA, ponto já mencionado nos tópicos 5.2 e 5.3 e observado por Aziz *et al.*, 2021 (24,44). Todas as amostras com timol apresentaram valores maiores do que seus respectivos brancos, indicando que ocorreu a segunda situação mencionada. E apesar disso, o timol ainda pode contribuir com seus efeitos antimicrobianos e de barreira à luz ultravioleta.

Costa *et al.*, 2020 (8) observou que o aumento da concentração de quitosana aumentou a espessura dos biofilmes de amido de cará-roxo, mas também aumentou a PVA devido a interação da quitosana com o glicerol que facilitou a permeação de água. Já Othman *et al.*,

2021 (10) diminuiu a PVA com a inserção de nanocelulose pois ela preencheu os espaços vazios na matriz, ao passo que o timol promoveu um inchaço do amido aumentando sua PVA. Sua conclusão foi de que o timol pode reduzir a PVA até certa concentração, mas seu aumento reduz a reticulação da cadeia polimérica e tem o efeito oposto.

5.6 Propriedades ópticas

A cor e opacidade dos biofilmes podem interferir na aparência do alimento e na aceitação do consumidor. O ideal é que os biofilmes não causem alteração no aspecto visual dos alimentos e, se ocorrer, que seja de maneira positiva, geralmente tornando-os mais brilhantes e convidativos (29). A grande maioria dos polímeros naturais produz filmes transparentes ou levemente opacos, semelhantes aos de polímeros sintéticos e isso depende de sua composição e modo de preparo (4). Mesmo amido pode formar filmes transparentes, através de uma rota de síntese condizente. Geralmente a incorporação de bioativos lipídicos (44), gomas (4) ou fibras (10) torna a solução-mãe mais turva e conseqüentemente os filmes mais opacos.

5.6.1 Opacidade

A opacidade é medida através da divisão da absorbância em 600 nm pela espessura (mm), é altamente influenciada pelas características físicas do material e está correlacionada com o espalhamento de luz através da amostra, sendo assim, não só a adição de componentes lipofílicos, mas também porosidade, rugosidade da superfície e desuniformidade da estrutura pode influenciar na opacidade (9,60).

Tabela 5: Resultados da caracterização óptica dos filmes (opacidade e colorimetria)

	Opacidade \pm DP	$L^*\pm$ DP	$a^*\pm$ DP	$b^*\pm$ DP	$\Delta E\pm$ DP
Padrão	-	92,07	-0,52	-0,93	0
AC-Br	0,8 \pm 0,2	89,4 \pm 0,9	-0,04 \pm 0,37	1,1 \pm 0,9	3 \pm 2
AC	1,1 \pm 0,1	90,9 \pm 0,4	-0,2 \pm 0,1	-0,1 \pm 0,3	1,5 \pm 0,5
AS-Br	1,8 \pm 0,7	89,6 \pm 0,4	-0,1 \pm 0,1	4 \pm 1	7 \pm 2
AS	1,4 \pm 0,1	89,7 \pm 0,3	-0,3 \pm 0,1	2,2 \pm 0,9	5 \pm 1
AC-AS-Br	1,74 \pm 0,08	88,9 \pm 0,6	0,05 \pm 0,21	3 \pm 1	6 \pm 2
AC-AS	1,32 \pm 0,07	89,5 \pm 0,4	-0,02 \pm 0,06	2,2 \pm 0,2	4,9 \pm 0,2

Os valores obtidos para as amostras produzidas neste trabalho estão presentes na **Tabela 5**, assim como os resultados de Colorimetria. Assim como nas outras análises, os grupos não apresentaram diferenças significativas entre si. Nordin *et al.*, 2020 (9) obteve 14,19 para a amostra amido + glicerol (correspondente ao nosso AC-Br) e 16 para a amostra amido + glicerol + timol (correspondente ao nosso AC). Já Acevedo-Fani *et al.*, 2015 (44) obteve entre 5,69 e 9,7 para biofilmes de alginato de sódio com nanoemulsões de óleos essenciais. Como dito anteriormente, a opacidade depende de vários fatores, dentre eles a homogeneidade do filme e como as amostras do presente trabalho são bem semelhantes às amostras dos autores citados, o que pode explicar a diferença dos resultados obtidos é a presença de Tween80, uma vez que amostras testes foram feitas e observou-se que a sua inserção não só melhorou a maleabilidade dos filmes como os tornou mais transparentes. Também observou a presença de gotículas de óleo essencial na superfície dos filmes, o que aumentou o espalhamento de luz, o que não ocorreu com as nossas amostras.

Geralmente o que se busca são biofilmes que confirmem aspectos brilhantes aos alimentos, todavia biofilmes opacos também trazem o benefício de uma maior proteção a ação da luz que pode induzir uma oxidação lipídica e acelerar a decomposição do alimento. Sendo assim, cabe ao pesquisador direcionar as características ópticas da sua amostra para o seu objetivo.

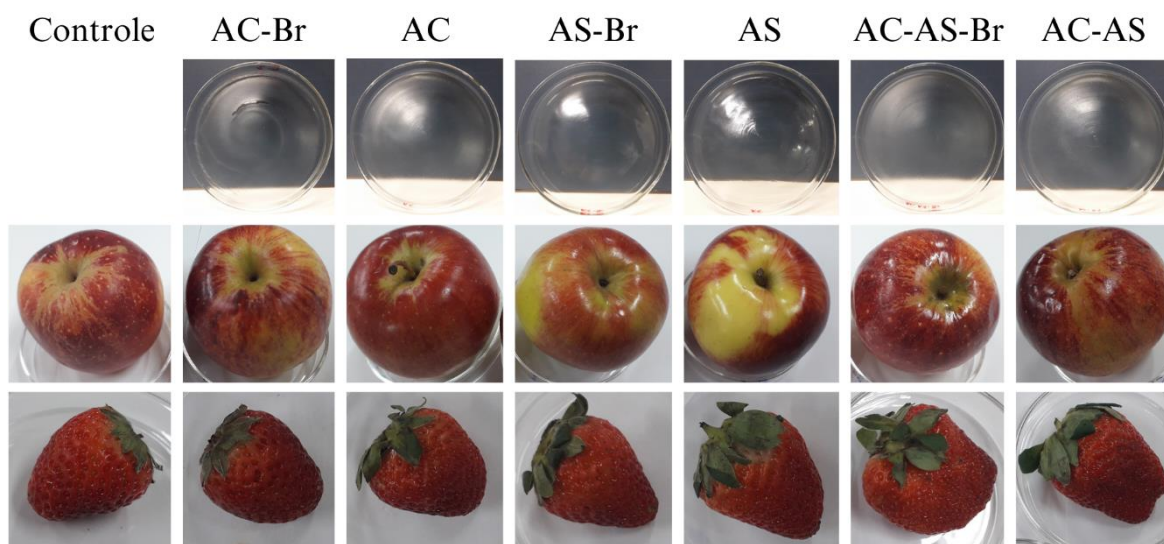
5.6.2 Colorimetria

Para as análises de Colorimetria, o padrão utilizado foi uma folha de papel ofício branco. Considerando que o indicador L^* mede a claridade da amostra (de 0 preto a 100 branco), o próprio padrão apresentou o maior valor (92,07). Todas as amostras apresentaram um valor de L^* sutilmente menor do que o padrão, devido ao pequeno espalhamento de luz que o filme causa na captura dos resultados.

O parâmetro a^* mede a vermelhidão ou o verdor (de -80 verde a 100 vermelho), e todas as amostras se apresentaram próximo do 0, com variância da primeira para a segunda casa após a vírgula, indicando que nenhum dos filmes tendeu nem para o verde nem para o vermelho. E o parâmetro b^* , que mede tons amarelados ou azulados (de -80 azul a 70 amarelo) apresentou um comportamento semelhante, tendendo levemente para o amarelo-translúcido, o que já era esperado observando a olho nu as soluções-mãe. Aziz *et al.*, 2021 (24) obteve resultados semelhantes, inclusive concluindo que o timol não interferiu na diferença total de cor das amostras, assim como o presente trabalho.

Novamente, os grupos de amostras não apresentaram diferença estatística entre a amostra com timol e seu Branco e apesar de toda a discussão sobre a opacidade e colorimetria dos filmes analisados isoladamente, não foram observadas mudanças no aspecto visual das frutas com biofilmes, principalmente o morango. Não houve nenhuma adição de cor nas amostras e todas as maçãs com biofilmes apresentaram um leve brilho, ou seja, mais atrativas ao consumo. A percepção qualitativa de opacidade pode também ter sofrido influência da interação da luz no biofilme sobre a placa de vidro, se considerarmos a refração da luz. A **Figura 8** mostra as imagens dos biofilmes nas placas de Petri (da maneira que foram produzidos para utilização nas diferentes análises), e as frutas sem e com seus respectivos biofilmes.

Figura 8: Imagens dos biofilmes após *casting* nas placas de Petri e em seguida aplicados nas maçãs e nos morangos no 1º dia de ensaio.



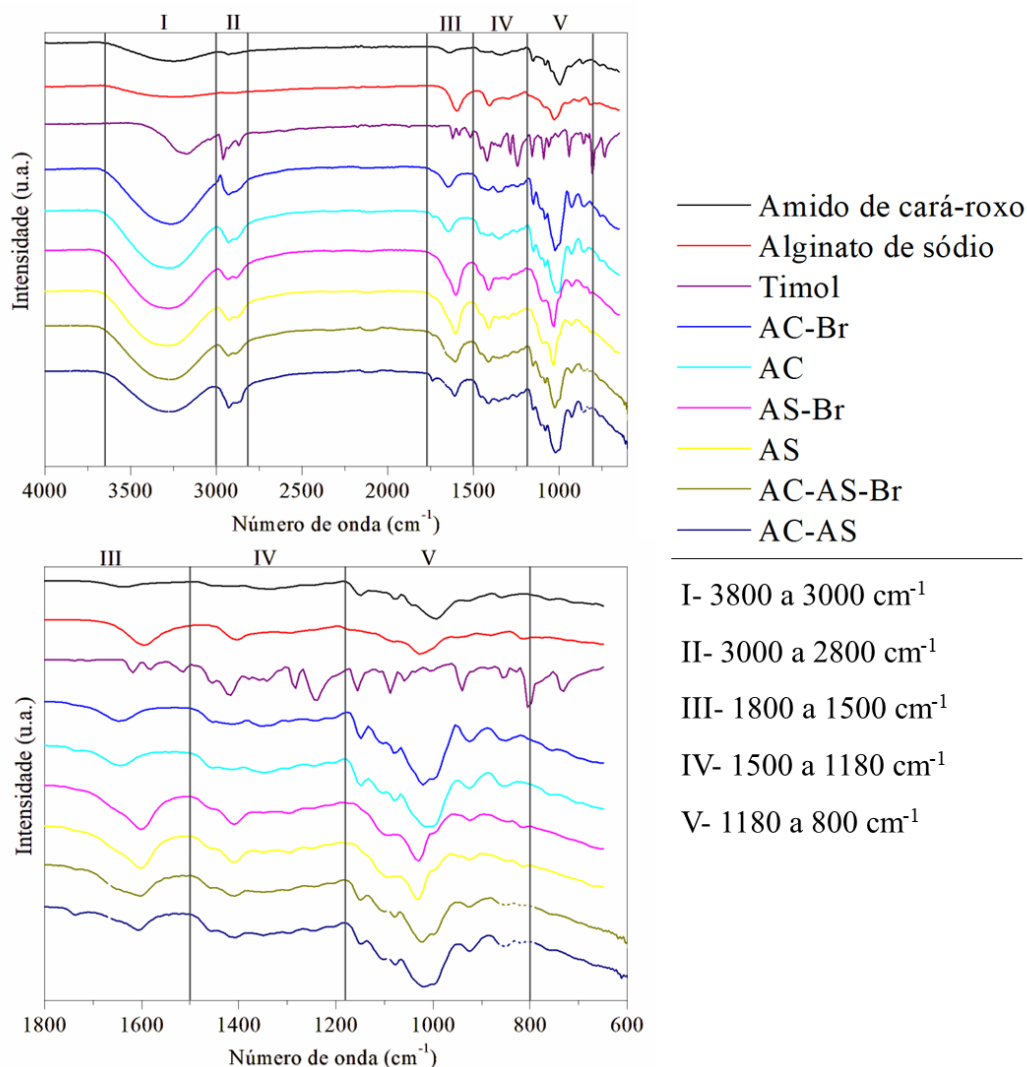
5.7 FTIR

Os gráficos de FTIR mostrados na **Figura 9**, com ampliação da região entre 1800 e 600 cm^{-1} , forneceu informações dos grupos químicos e seus estados vibracionais das amostras e de alguns de seus componentes antes da modificação para biofilmes.

A região I abrange de 3800 a 3000 cm^{-1} , referente ao estiramento O-H relacionado à umidade (10,24,25,28,31,41,42). Todas as amostras apresentaram essa banda, porém nos biofilmes esta banda se mostrou mais intensa do que nos componentes isolados, devido a adição do glicerol que contribui com o aumento do número de moléculas e com a umidade da

amostra. A região II, de 3000 a 2800 cm^{-1} , se refere aos estiramentos C-H, associadas ou não ao grupo metil e por isso essa região no timol apresenta picos mais definidos do que todas as outras amostras (8,31,41,42). Na região III, entre 1800 e 1500 cm^{-1} , se inicia a vibração da ligação C=C (41)/ C=O (10,41,42). Essa região também é associada à água adsorvida na região não-cristalina, o que pode explicar sua maior evidência no alginato e no grupo AS (8,11,28,42). Já a região IV, entre 1500 e 1180 cm^{-1} , se trata das ligações C-H e do grupo CH_2 (42). É uma zona onde apenas o timol apresentou vibrações mais intensas devido a ligação desses grupos ao anel aromático. E a região V, entre 1180 e 800 cm^{-1} , é a região de vibração das principais ligações que compõem a cadeia principal dos polissacarídeos, como o grupo C-O-C da glucose dos polissacarídeos (31,41), ligação C-O (9,11,42) e ligações C-H (11,42,61) e também devido a adição de novos componentes, como Tween80 e glicerol essa região é mais intensa nos biofilmes devido a adição de ligações semelhantes.

Figura 9: Espectros completos de FTIR, e em seguida a amplificação na região de 1800 a 600 cm^{-1} .

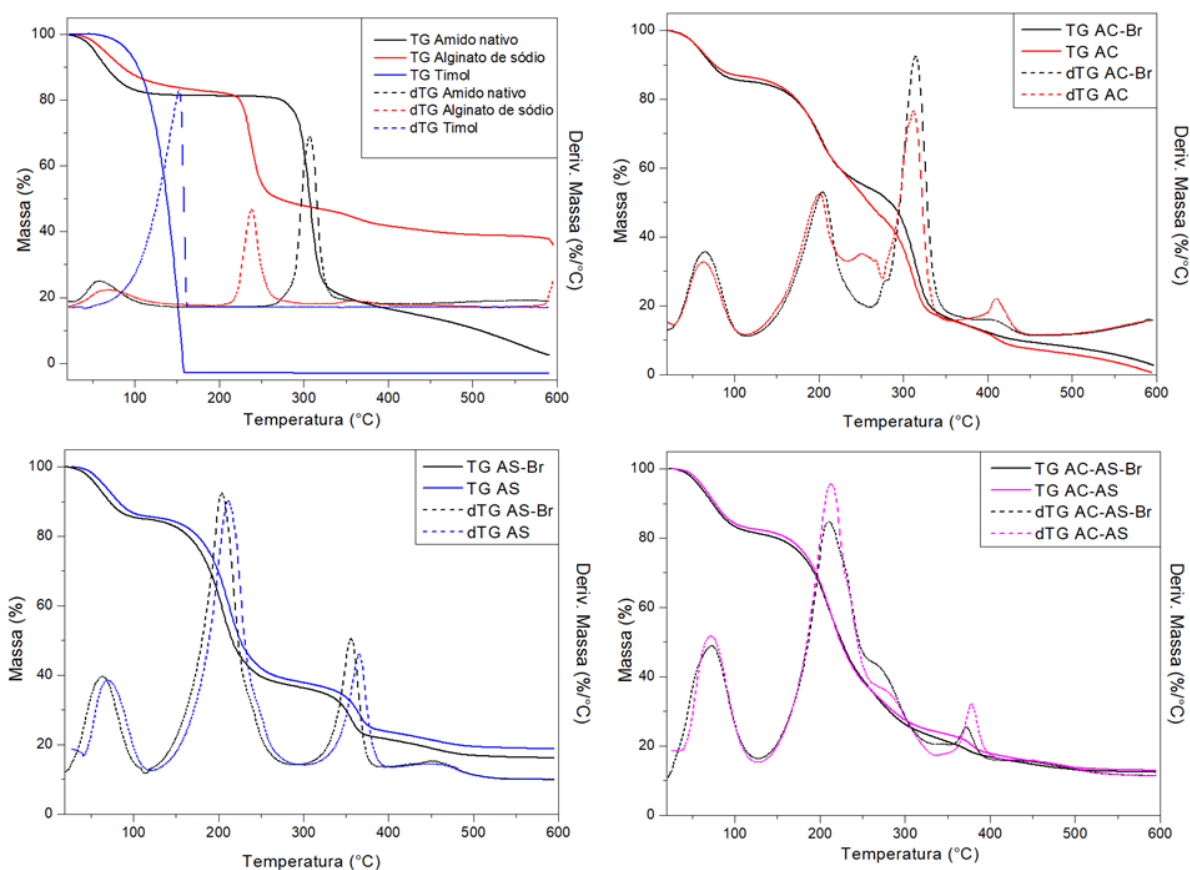


5.8 TG

As análises de TG e sua derivada (dTG) foram utilizadas para avaliar o comportamento térmico do amido nativo, do alginato comercial, do timol sintético e das amostras de biofilmes. Os termogramas estão mostrados na **Figura 10**.

Assim como os gráficos de FTIR não apresentaram grandes diferenças entre os espectros dos biofilmes com ou sem timol, os termogramas entre grupos também apresentaram comportamentos semelhantes. Com exceção do timol, todas as amostras, inclusive os biofilmes, apresentaram um primeiro evento entre a TA e 100 °C referente a per-

Figura 10: Termogramas dos materiais isolados e dos biofilmes separados por grupos.



da de umidade, com 12,88 a 16,7 % de perda de massa (8,10). O amido nativo apresentou um platô de 100 a 266 °C e então apenas mais um evento entre 266 e 325 °C com perda de massa de 54,88 %, referente a degradação da cadeia principal, com pico de degradação em 309 °C (10). Após isso houve apenas a decomposição gradativa gerando um resíduo de 2,44 %. O alginato teve seu evento principal entre 214 e 275 °C, com pico em 238 °C e 32,06 % de

perda de massa. Assim como o amido, o restante da degradação é lento e constante. A análise termina em 600 °C e indica um resíduo de 35,94 %. Já a degradação do timol ocorreu em evento único a partir de 50 °C até 155 °C. Como se sabe, timol é encontrado em óleos essenciais, composto por substâncias extremamente voláteis mesmo em temperatura ambiente. Seu ponto de fusão é entre 49 e 51 °C e seu ponto de ebulição é entre 231 e 233 °C. Sua degradação ocorreu em um evento único do TA até 155 °C, comportamento idêntico ao observado por Trivedi *et al.*, 2015 (61).

Os biofilmes apresentaram comportamentos semelhantes entre amostras e possuem a adição de mais um evento referente a inserção do glicerol, entre 100 e 223-270 °C, para então ocorrerem os eventos de degradação da cadeia principal (3° evento) e carbonização (4° evento até 600 °C) (9,13). Para o grupo AC o segundo evento possui uma perda de massa de 26 %, e o terceiro em torno de 40 %, com uma queda mais acentuada para a amostra AC, comportamento semelhante ao observado por Istiqomah *et al.*, 2022 (13) nos biofilmes com e sem óleo essencial. E antes disso, entre 230 e 270 °C há uma queda mais acentuada no TG não observada em nenhuma das outras amostras que se mostra mais evidente através da dTG que pode ser devido a uma interação que o biofilme possuiu com timol e causou uma alteração no seu comportamento térmico. O pico da derivada é em 314 °C (8,10).

Assim como as amostras anteriores, os filmes do grupo AS possuem o mesmo padrão de comportamento, com a diferença de que o segundo evento, com perda de massa de 47 %, pode comportar tanto a degradação térmica do glicerol quanto o início da degradação de parte do alginato que, como observado no termograma do alginato comercial, ocorre entre 200 e 275 °C, com o restante da sua decomposição durante o terceiro evento, o que conclui que o alginato possui uma maior estabilidade térmica enquanto biofilme.

Como já citado, a faixa de degradação do alginato é em torno de 250 °C e do amido em torno de 300 °C. No grupo AC-AS observa-se que a perda de massa ocorre de maneira mais gradativa sem uma clara divisão entre 3° e 4° eventos, com uma perda de massa de 62,37 %. É possível observar melhor a sobreposição da decomposição dos materiais através da dTG que mostra um “ombro” em torno 273 °C, referente ao amido.

No geral, todos os biofilmes apresentaram uma estabilidade térmica maior do que seus componentes principais de maneira isolada, ou por terem seus eventos de degradação ocorrendo em temperaturas maiores ou por terem ocorrido de maneira menos abrupta. Isso se

deve principalmente a ação dos plastificantes que diminuem a mobilidade entre as cadeias de polímeros (8). As informações gerais estão organizadas na **Tabela 6**.

Tabela 6: Eventos térmicos dos materiais isolados e dos biofilmes

Amido	1° Evento	2° Evento	3° Evento	
T _{inicial} - T _{final} (°C)	25-100	266-325	325-600	
Perda de massa (%)	16,69	54,88	23,19	
T _{máx} (dTG) (°C)	59	309	-	
Resíduo (%)		2,44		
Alginato	1° Evento	2° Evento	3° Evento	
T _{inicial} - T _{final} (°C)	25-125	214-275	275-600	
Perda de massa (%)	14,93	32,06	13,64	
T _{máx} (dTG) (°C)	68	238	356	
Resíduo (%)		35,94		
Timol	1° Evento	2° Evento	3° Evento	
T _{inicial} - T _{final} (°C)	50-155	-	-	
Perda de massa (%)	100	-	-	
T _{máx} (dTG) (°C)	155	-	-	
Resíduo (%)	-	-	-	
AC-Br	1° Evento	2° Evento	3° Evento	4°Evento
T _{inicial} - T _{final} (°C)	25-100	100-223	223-332	332-600
Perda de massa (%)	14,34	25,4	40,71	16,85
T _{máx} (dTG) (°C)	66	204	314	409
Resíduo (%)		2,66		
AC	1° Evento	2° Evento	3° Evento	4°Evento
T _{inicial} - T _{final} (°C)	25-100	100-223	223-332	332-600
Perda de massa (%)	12,88	26,14	42,57	17,85
T _{máx} (dTG) (°C)	66	203	314	413
Resíduo (%)		0,58		
AS-Br	1° Evento	2° Evento	3° Evento	4°Evento
T _{inicial} - T _{final} (°C)	25-100	100-250	250-375	375-600

Perda de massa (%)	14,52	45,91	16,94	6,456
T _{máx} (dTG) (°C)	63	204	356	456
Resíduo (%)	16,18			
AS	1° Evento	2° Evento	3° Evento	4°Evento
T _{inicial} - T _{final} (°C)	25-100	100-275	275-392	392-600
Perda de massa (%)	13,86	47,37	15,06	4,969
T _{máx} (dTG) (°C)	64	205	359	449
Resíduo (%)	18,75			
AC-AS-Br	1° Evento	2° Evento	3° Evento	
T _{inicial} - T _{final} (°C)	25-100	100-332	332-600	
Perda de massa (%)	16,7	60,64	10,29	
T _{máx} (dTG) (°C)	72	208	372	
Resíduo (%)	12,41			
AC-AS	1° Evento	2° Evento	3° Evento	
T _{inicial} - T _{final} (°C)	25-100	266-325	325-600	
Perda de massa (%)	16,69	54,88	23,19	
T _{máx} (dTG) (°C)	59	309	-	
Resíduo (%)	2,44			

5.9 Revestimento das frutas e perda de peso

A perda de peso percentual das frutas está apresentada na **Figura 11** e a mudança de aspecto visual das frutas revestidas e não revestidas com os biofilmes está apresentada na **Figura 12**, juntamente com os valores médios de perda de peso percentual e desvio padrão das médias. Os ensaios foram conduzidos na incubadora B.O.D, em TA, e cada unicata foi mantida em sua própria placa de Petri para não haver contaminação por contato.

Espera-se que a aplicação dos biofilmes atue como uma barreira de proteção dos vegetais, dificultando a permeabilidade de gases e perda de umidade, retardando assim o processo natural de senescência e consequente decomposição dos vegetais.

É interessante encontrar formas de conservar maçãs e morangos por mais tempo, pois apesar de um alto consumo das frutas nessa região, não há sua produção por condições climá-

Figura 11: Acompanhamento da perda de peso percentual das frutas

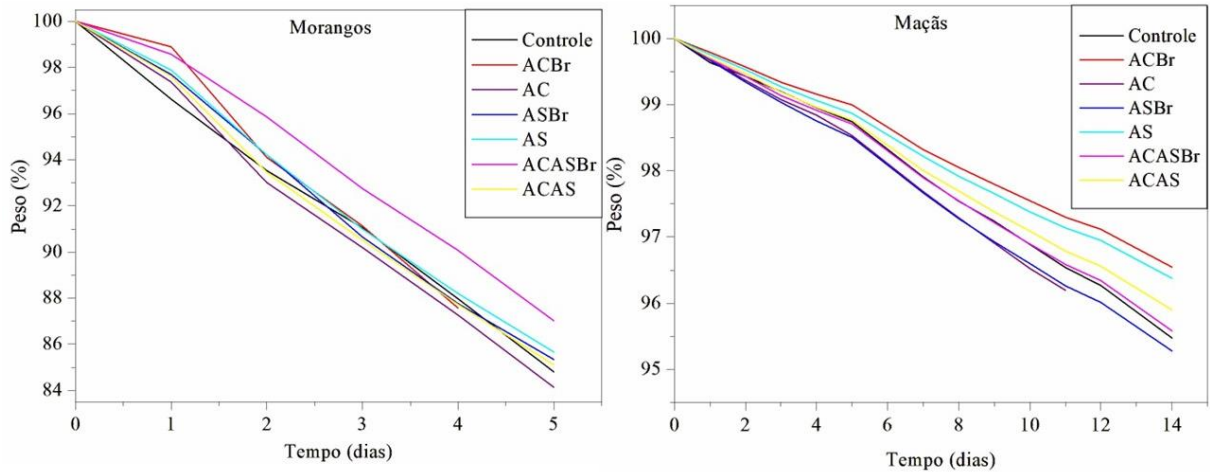
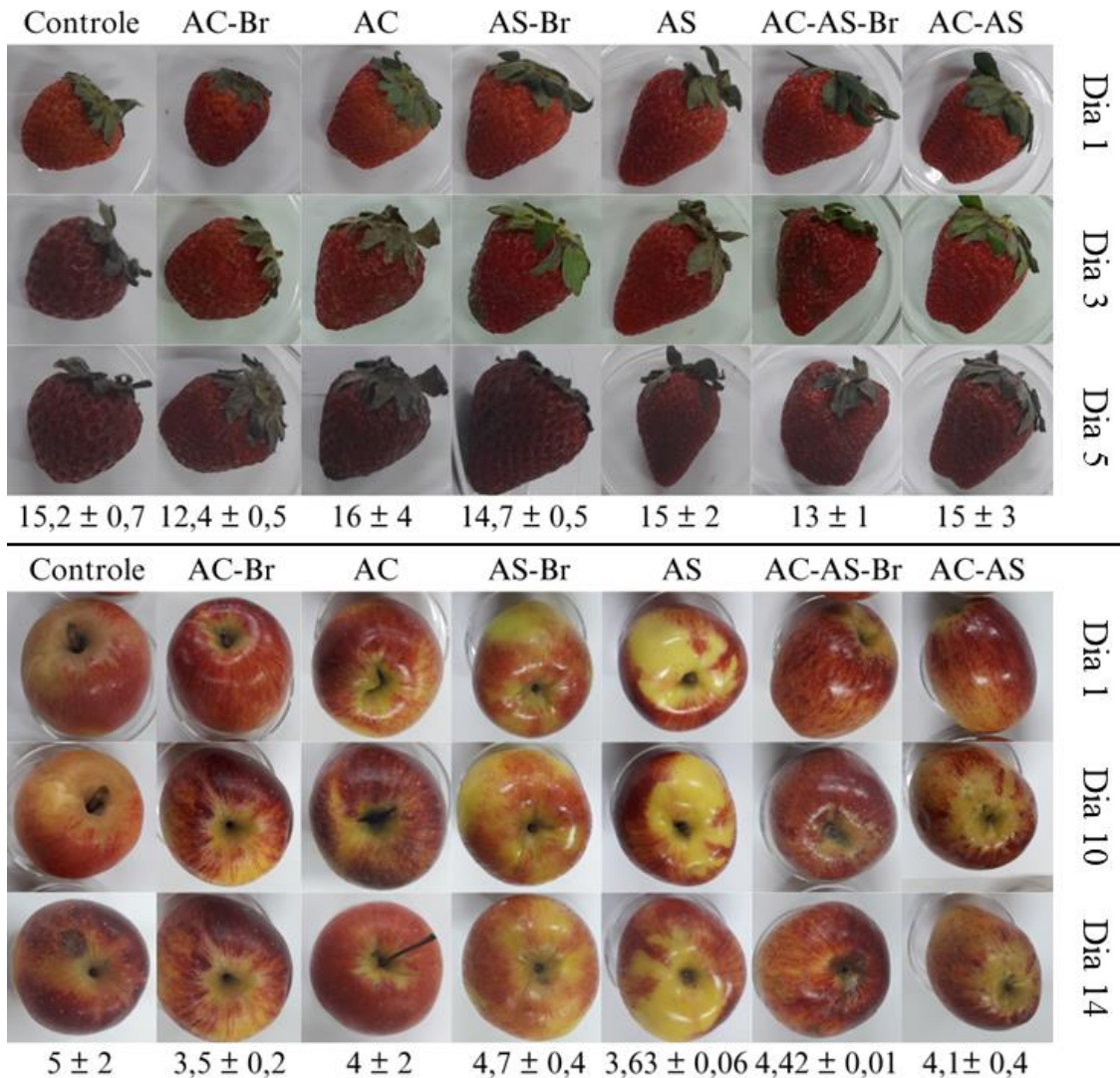


Figura 12: Observação da mudança de aspecto visual das frutas ao longo dos dias



ticas, sendo assim, elas devem ser transportadas de outras regiões, sofrendo com variação de temperatura, danos mecânicos, manuseio de má qualidade, desidratação, entre outros. E os morangos ainda possuem uma tendência para crescimento fúngico, e o contato com outras unidades facilita a proliferação dos fungos, causando uma perda da produção e prejuízo econômico.

Novamente, diversos fatores interferem nessa análise: o método de aplicação da solução filmogênica na amostra, a espessura que o biofilme adquiriu ao secar, a aderência à superfície das frutas, a presença de poros, temperatura de secagem e armazenamento, presença ou não de circulação de ar, entre outros, ou seja, mesmo no ambiente controlado que uma B.O.D proporciona, é uma análise sujeita a diversas interferências que partem do ambiente, da amostra e do manuseio.

Como observado na **Figura 8** não houve diferença de aspecto visual dos morangos com a aplicação dos biofilmes no primeiro dia do ensaio. Todavia, ao longo dos dias do ensaio os morangos sofreram grandes variações de peso tanto entre a própria duplicata de amostras quanto entre grupos, assim como uma grande variação visual, com as frutas passando de um vermelho intenso para tons amarronzados, aparição de fungos e murchamento em alguns pontos. A duplicata da amostra AC-Br foi descartada no dia 4, pois uma das suas unidades degradou demais e a unicata mais saudável não foi contabilizada. São frutas climatéricas e perecíveis, muito sensíveis a mudanças drásticas de ambiente e com prazo de validade pós-colheita muito curto (34).

Garcia *et al.*, 2012 (34) produziu biofilme de amido de mandioca com sorbato de potássio (conservante) para conservação de morangos e não observou diferenças na perda de peso dos morangos, sendo ambos eficientes para sua conservação. Já Peretto *et al.*, 2016 (62) utilizou alginato com carvacrol e metilcinamato, e assim como Garcia *et al.*, 2012 (34) também não observou diferença significativa entre tratamentos com ou sem os bioativos citados, com exceção do Controle que destoou durante todo o ensaio.

Já com as maçãs ocorreu uma situação semelhante à do morango, com a amostra AC das maçãs sendo interrompida 3 dias antes do fim do ensaio por alta degradação de uma das unicatas. Em contrapartida, em observações extra experimentais, as maçãs com biofilmes AS-Br, AS e AC-AS continuaram apresentando boa aparência por até 15 dias a mais do que no experimento, enquanto o Controle foi oficialmente descartado com 3 dias depois do fim do ensaio.

Costa *et al.*, 2020 aplicou biofilmes de cará-roxo com quitosana em maçãs e observou que as maçãs Controle tiveram perda de peso maior do que as com filmes e visível mudança de aparência depois de 30 dias, mas entre as amostras com filmes a diferença estatística não foi relevante. Já Chen *et al.*, 2021 testou biofilmes de alginato com timol em maçãs cortadas e observou que os biofilmes com timol em baixa concentração foi melhor do que as amostras sem timol ou com ele em alta concentração, chegando a mesma conclusão que Sarengowa *et al.*, 2019 (33), que diz que cada componente lipofílico possui uma concentração ideal para contribuir positivamente e, caso ultrapasse esse teor, são geradas incoerências na matriz comprometendo a qualidade dos biofilmes, ponto também explicado no tópico **5.2**.

6. CONCLUSÃO

Conclui-se que o amido de cará-roxo foi extraído com sucesso, apresentando potencial para ser uma nova fonte local para comercialização. Os biofilmes obtidos possuem o diferencial de terem sido produzidos com uma fonte amazônica e não-convencional de amido e se apresentaram maleáveis, uniformes, de fácil produção e replicação, de transparentes, com boa aderência a superfícies, sem rachaduras, sem odor, com boa durabilidade em TA e de fácil manuseio. Os teores de umidade e solubilidade em água e álcool foram dentro do previsto para biofilmes comestíveis. Os materiais demonstraram boa miscibilidade entre si, não apresentaram grandes alterações na composição observados pelo FTIR e indicaram uma maior estabilidade térmica na forma de biofilmes do que os materiais na forma original. As imagens de MEV revelaram que o uso de ultradispersão pode ter interferido na microestrutura dos biofilmes e criado vacâncias que tem relação direta com os resultados de PVA. Apesar da adição de timol ter sido bem-sucedida, não interferiu significativamente em nenhum dos parâmetros avaliados. Todas as amostras, com ou sem timol apresentaram um bom desempenho, não interferiram na qualidade das frutas nem em suas características organolépticas e prolongaram a durabilidade das maçãs, sendo assim visando uma aplicabilidade de melhor custo-benefício econômico, a amostra AC-Br se apresenta como a com maior potencial para ser mais bem explorada e aperfeiçoada no seu processo de produção em maior escala para conservação de frutas e legumes.

7. REFERÊNCIAS

1. Carvalho RN, Rocha D, Lopes R, Cintia A, Murilo B, De R, et al. Produção de cará-roxo (*Dioscorea trifida*): efeitos de tamanho do tubérculo-semente, tipo de tutor e adubação de plantio. 2020; Disponível em: www.embrapa.br/fale-conosco/sac
2. Teixeira LS, Martim SR, Silva LSC, Kinupp VF, Teixeira MFS, Porto ALF. Efficiency of Amazonian tubers flours in modulating gut microbiota of male rats. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*. 1º de dezembro de 2016;38:1–6.
3. Tagliapietra BL, Felisberto MHF, Sanches EA, Campelo PH, Clerici MTPS. Non-conventional starch sources. Vol. 39, *Current Opinion in Food Science*. Elsevier Ltd; 2021. p. 93–102.
4. Hadi A, Nawab A, Alam F, Zehra K. Alginate/aloë vera films reinforced with tragacanth gum. *Food Chemistry: Molecular Sciences*. 30 de julho de 2022;4.
5. Nordin N, Othman SH, Rashid SA, Basha RK. Effects of glycerol and thymol on physical, mechanical, and thermal properties of corn starch films. *Food Hydrocoll*. 2020;106(March):105884.
6. Elmi Sharlina MS, Yaacob WA, Lazim AM, Fazry S, Lim SJ, Abdullah S, et al. Physicochemical Properties of Starch from *Dioscorea pyrifolia* tubers. *Food Chem*. 1º de abril de 2017;220:225–32.
7. Jiang Q, Gao W, Li X, Xia Y, Wang H, Wu S, et al. Characterizations of starches isolated from five different *Dioscorea L.* species. *Food Hydrocoll*. outubro de 2012;29(1):35–41.
8. Martins da Costa JC, Lima Miki KS, da Silva Ramos A, Teixeira-Costa BE. Development of biodegradable films based on purple yam starch/chitosan for food application. *Heliyon*. 1º de abril de 2020;6(4).
9. Nordin N, Othman SH, Rashid SA, Basha RK. Effects of glycerol and thymol on physical, mechanical, and thermal properties of corn starch films. *Food Hydrocoll*. 1º de setembro de 2020;106.
10. Othman SH, Nordin N, Azman NAA, Tawakkal ISMA, Basha RK. Effects of nanocellulose fiber and thymol on mechanical, thermal, and barrier properties of corn starch films. *Int J Biol Macromol*. 31 de julho de 2021;183:1352–61.

11. Chhatariya HF, Srinivasan S, Choudhary PM, Begum SS. Corn starch biofilm reinforced with orange peel powder: Characterization of physicochemical and mechanical properties. *Mater Today Proc.* 1º de janeiro de 2022;59:884–92.
12. Ahmadu U, Agbomeji O, Yahya M, Odeku OA. Physicochemical and material properties of starches from three cultivars of *Dioscorea rotundata*. *Agriculture and Natural Resources.* 1º de fevereiro de 2018;52(1):79–83.
13. Istiqomah A, Prasetyo WE, Firdaus M, Kusumaningsih T. Valorisation of lemongrass essential oils onto chitosan-starch film for sustainable active packaging: Greatly enhanced antibacterial and antioxidant activity. *Int J Biol Macromol.* 15 de junho de 2022;210:669–81.
14. Shao Y, Mao L, Guan W, Wei X, Yang Y, Xu F, et al. Physicochemical and structural properties of low-amylose Chinese yam (*Dioscorea opposita* Thunb.) starches. *Int J Biol Macromol.* 1º de dezembro de 2020;164:427–33.
15. Nadia L. Characterization of Physicochemical and Functional Properties of Starch from Five Yam (*Dioscorea Alata*) Cultivars in Indonesia. *International Journal of Chemical Engineering and Applications.* dezembro de 2014;5(6):489–96.
16. Pérez J, Arteaga M, Andrade R, Durango A, Salcedo J. Effect of yam (*Dioscorea* spp.) starch on the physicochemical, rheological, and sensory properties of yogurt. *Heliyon.* 1º de janeiro de 2021;7(1).
17. Lovera M, Pérez E, Laurentin A. Digestibility of starches isolated from stem and root tubers of arracacha, cassava, cush–cush yam, potato and taro. *Carbohydr Polym.* 15 de novembro de 2017;176:50–5.
18. Kinupp VF, Lorenzi H. *Plantas Alimentícias Não Convencionais (PANC) no Brasil.* 1º ed. Vol. 1. São Paulo: Instituto Plantarum de Estudos da Flora; 2014.
19. Barros DR, Carvalho APMG, da Silva EO, Sampaio UM, de Souza SM, Sanches EA, et al. Ariá (*Goepertia allouia*) Brazilian Amazon tuber as a non-conventional starch source for foods. *Int J Biol Macromol.* 31 de janeiro de 2021;168:187–94.
20. Jiménez R, Sandoval-Flores G, Alvarado-Reyna S, Alemán-Castillo SE, Santiago-Adame R, Velázquez G. Extraction of starch from Hass avocado seeds for the preparation of biofilms. *Food Science and Technology (Brazil).* 2022;42.

21. Campelo PH, Sant'Ana AS, Pedrosa Silva Clerici MT. Starch nanoparticles: production methods, structure, and properties for food applications. *Curr Opin Food Sci* [Internet]. 2020;33(i):136–40. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.cofs.2020.04.007>
22. Heckert Bastos LP, Vicente J, Corrêa dos Santos CH, Geraldo de Carvalho M, Garcia-Rojas EE. Encapsulation of black pepper (*Piper nigrum* L.) essential oil with gelatin and sodium alginate by complex coacervation. *Food Hydrocoll.* 2020;102(September 2019).
23. Ahmad Raus R, Wan Nawawi WMF, Nasaruddin RR. Alginate and alginate composites for biomedical applications. *Asian J Pharm Sci.* 2021;16(3):280–306.
24. Abdel Aziz MS, Salama HE. Developing multifunctional edible coatings based on alginate for active food packaging. *Int J Biol Macromol.* 1º de novembro de 2021;190:837–44.
25. Chen J, Wu A, Yang M, Ge Y, Pristijono P, Li J, et al. Characterization of sodium alginate-based films incorporated with thymol for fresh-cut apple packaging. *Food Control.* 1º de agosto de 2021;126.
26. Hu WW, Lin YT. Alginate/polycaprolactone composite fibers as multifunctional wound dressings. *Carbohydr Polym.* 1º de agosto de 2022;289.
27. Cheng H, Chen L, McClements DJ, Yang T, Zhang Z, Ren F, et al. Starch-based biodegradable packaging materials: A review of their preparation, characterization and diverse applications in the food industry. Vol. 114, *Trends in Food Science and Technology.* Elsevier Ltd; 2021. p. 70–82.
28. Choi I, Shin D, Lyu JS, Lee JS, Song H geon, Chung MN, et al. Physicochemical properties and solubility of sweet potato starch-based edible films. *Food Packag Shelf Life.* 1º de setembro de 2022;33.
29. Dou L, Li B, Zhang K, Chu X, Hou H. Physical properties and antioxidant activity of gelatin-sodium alginate edible films with tea polyphenols. *Int J Biol Macromol* [Internet]. 2018;118:1377–83. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2018.06.121>

30. Sáez-Orviz S, Marcet I, Weng S, Rendueles M, Díaz M. PLA nanoparticles loaded with thymol to improve its incorporation into gelatine films. *J Food Eng.* 2020;269(September 2019):1–7.
31. Salama HE, Elsoholy MG, Abdel Aziz MS, Saad GR. Optimization of the water vapor permeability of starch/alginate edible system reinforced with microcrystalline cellulose for the shelf-life extension of green capsicums. *Egypt J Chem.* 1º de agosto de 2021;64(8):4625–33.
32. Sipahi RE, Castell-Perez ME, Moreira RG, Gomes C, Castillo A. Improved multilayered antimicrobial alginate-based edible coating extends the shelf life of fresh-cut watermelon (*Citrullus lanatus*). *LWT.* 2013;51(1):9–15.
33. Sarengaowa, Hu W, Feng K, Xiu Z, Jiang A, Lao Y. Thyme oil alginate-based edible coatings inhibit growth of pathogenic microorganisms spoiling fresh-cut cantaloupe. *Food Biosci.* 1º de dezembro de 2019;32.
34. Garcia LC, Pereira LM, De Luca Sarantópoulos CIG, Hubinger MD. Effect of antimicrobial starch edible coating on shelf-life of fresh strawberries. *Packaging Technology and Science.* novembro de 2012;25(7):413–25.
35. Robledo N, Vera P, López L, Yazdani-Pedram M, Tapia C, Abugoch L. Thymol nanoemulsions incorporated in quinoa protein/chitosan edible films; antifungal effect in cherry tomatoes. *Food Chem.* 25 de abril de 2018;246:211–9.
36. Karimi-Khorrami N, Radi M, Amiri S, Abedi E, McClements DJ. Fabrication, characterization, and performance of antimicrobial alginate-based films containing thymol-loaded lipid nanoparticles: Comparison of nanoemulsions and nanostructured lipid carriers. *Int J Biol Macromol [Internet].* 2022;207(November 2021):801–12. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2022.03.149>
37. Tonyali B, McDaniel A, Amamcharla J, Trinetta V, Yucel U. Release kinetics of cinnamaldehyde, eugenol, and thymol from sustainable and biodegradable active packaging films. *Food Packag Shelf Life.* 2020;24(September 2019).
38. Nikvarz N, Khayati GR, Sharafi S. Bio-based ultraviolet protective packaging film preparation using starch with incorporated date palm syrup. *Mater Chem Phys.* 15 de setembro de 2021;270.

39. Luchese CL, Frick JM, Patzer VL, Spada JC, Tessaro IC. Synthesis and characterization of biofilms using native and modified pinhão starch. *Food Hydrocoll.* 1º de março de 2015;45:203–10.
40. Hilmi NA, Zanuri AZ. ScienceDirect Physico-chemical properties of biodegradable films of polyvinyl alcohol/sago starch for food packaging [Internet]. 2019. Disponível em: www.sciencedirect.com
41. Maniglia BC, Silveira TMG, Tapia-Blácido DR. Starch isolation from turmeric dye extraction residue and its application in active film production. *Int J Biol Macromol.* 31 de março de 2022;202:508–19.
42. Nordin N, Romzi NAS, Manaf YN, Tawakkal ISMA, Ariffin SH, Othman SH, et al. Characterization of active sweet potato-based films containing thymol at different varieties: VitAto and Anggun. *Food Packag Shelf Life.* 1º de dezembro de 2021;30.
43. Costa C, Conte A, Buonocore GG, Lavorgna M, Del Nobile MA. Calcium-alginate coating loaded with silver-montmorillonite nanoparticles to prolong the shelf-life of fresh-cut carrots. *Food Research International.* agosto de 2012;48(1):164–9.
44. Acevedo-Fani A, Salvia-Trujillo L, Rojas-Graü MA, Martín-Belloso O. Edible films from essential-oil-loaded nanoemulsions: Physicochemical characterization and antimicrobial properties. *Food Hydrocoll.* 1º de maio de 2015;47:168–77.
45. Zanetti M, Mazon LR, de Meneses AC, Silva LL, de Araújo PHH, Fiori MA, et al. Encapsulation of geranyl cinnamate in polycaprolactone nanoparticles. *Materials Science and Engineering C* [Internet]. 2019;97(May 2018):198–207. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.msec.2018.12.005>
46. Pellá MCG, Simão AR, Lima-Tenório MK, Scariot DB, Nakamura CV, Muniz EC, et al. Magnetic chitosan microgels: Synthesis, characterization, and evaluation of magnetic field effect over the drug release behavior. *Carbohydr Polym.* 15 de dezembro de 2020;250.
47. Nagoor Meeran MF, Javed H, Tae H Al, Azimullah S, Ojha SK. Pharmacological properties and molecular mechanisms of thymol: Prospects for its therapeutic potential and pharmaceutical development. *Front Pharmacol.* 2017;8(JUN):1–34.

48. Deng L, Taxipalati M, Que F, Zhang H. Physical characterization and antioxidant activity of thymol solubilized Tween 80 micelles. *Nature Publishing Group*. 2016;(August):1–8.
49. Çakır MA, İcyer NC, Tornuk F. Optimization of production parameters for fabrication of thymol-loaded chitosan nanoparticles. *Int J Biol Macromol*. 2020;151:230–8.
50. Tavares CP, Sousa IC, Gomes MN, Miró V, Virkel G, Lifschitz A, et al. Combination of cypermethrin and thymol for control of *Rhipicephalus microplus*: Efficacy evaluation and description of an action mechanism. *Ticks Tick Borne Dis*. 2022;13(1).
51. Vale L, de Paula LGF, Vieira MS, Alves S das GA, Junior NR de M, Gomes MDF, et al. Binary combinations of thymol, carvacrol and eugenol for *Amblyomma sculptum* control: Evaluation of in vitro synergism and effectiveness under semi-field conditions. *Ticks Tick Borne Dis*. 2021;12(6).
52. Coelho L, de Paula LGF, Alves S das GA, Sampaio ALN, Bezerra GP, Vilela FMP, et al. Combination of thymol and eugenol for the control of *Rhipicephalus sanguineus* sensu lato: Evaluation of synergism on immature stages and formulation development. *Vet Parasitol*. 2020;277(August 2019).
53. André WPP. Anthelmintic effect of thymol and thymol acetate on sheep gastrointestinal nematodes and their toxicity in mice. 2017;2961:323–30.
54. Ferreira LE, Benincasa BI, Fachin AL, França SC, Contini SSHT, Chagas ACS, et al. *Thymus vulgaris* L. essential oil and its main component thymol: Anthelmintic effects against *Haemonchus contortus* from sheep. *Vet Parasitol [Internet]*. 2016;228:70–6. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.vetpar.2016.08.011>
55. Felici M, Tugnoli B, Ghiselli F, Massi P, Tosi G, Fiorentini L, et al. In vitro anticoccidial activity of thymol, carvacrol, and saponins. 2016;5350–5.
56. Arafa WM, Abolhadid SM, Moawad A, Abdelaty AS, Moawad UK, Shokier KAM, et al. Thymol efficacy against coccidiosis in pigeon (*Columba livia domestica*). *Prev Vet Med*. 2020;176(September 2019).
57. Souza AC, Benze R, Ferrão ES, Ditchfield C, Coelho ACV, Tadini CC. Cassava starch biodegradable films: Influence of glycerol and clay nanoparticles content on tensile and barrier properties and glass transition temperature. *LWT*. 2012;46(1):110–7.

58. Broumand A, Emam-Djomeh Z, Hamed M, Razavi SH. Antimicrobial, water vapour permeability, mechanical and thermal properties of casein based *Zataria multiflora* Boiss. Extract containing film. LWT. 2011;44(10):2316–23.
59. Behera L, Mohanta M, Thirugnanam A. Intensification of yam-starch based biodegradable bioplastic film with bentonite for food packaging application. Environ Technol Innov. 1º de fevereiro de 2022;25.
60. Bagheri F, Radi M, Amiri S. Drying conditions highly influence the characteristics of glycerol-plasticized alginate films. Food Hydrocoll. 1º de maio de 2019;90:162–71.
61. Trivedi MK, Patil S, Mishra RK, Jana S. Structural and Physical Properties of Biofield Treated Thymol and Menthol. J Mol Pharm Org Process Res. julho de 2015;03(02).
62. Peretto G, Du WX, Avena-Bustillos RJ, De J. Berrios J, Sambo P, McHugh TH. Electrostatic and Conventional Spraying of Alginate-Based Edible Coating with Natural Antimicrobials for Preserving Fresh Strawberry Quality. Food Bioproc Tech. 1º de janeiro de 2017;10(1):165–74.