



**UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA  
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS  
DEPARTAMENTO DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE ALIMENTOS  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA DOS  
ALIMENTOS**

**VIVIANE DALLA LANA D'AVILA**

**BIOFILMES À BASE DE GELATINA, APLICADOS NA  
CONSERVAÇÃO DE FRUTOS DE MIRTILO  
(*Vaccinium ashei* Reade)**

**Florianópolis/SC  
2010**



**VIVIANE DALLA LANA D'AVILA**

**BIOFILMES À BASE DE GELATINA, APLICADOS NA  
CONSERVAÇÃO DE FRUTOS DE MIRTILO**  
(*Vaccinium ashei* Reade)

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciência dos Alimentos, do Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal de Santa Catarina, como requisito final para obtenção do título de Mestre em Ciência dos Alimentos.

**Orientador:** Prof. Dr. Pedro Luiz Manique Barreto

**Florianópolis / SC**  
**2010**



**BIOFILMES À BASE DE GELATINA, APLICADOS NA  
CONSERVAÇÃO DE FRUTOS DE MIRTILO**  
(*Vaccinium ashei* Reade)

Por

**VIVIANE DALLA LANA D'AVILA**

Esta dissertação foi julgada adequada para obtenção do Título de Mestre em Ciência dos Alimentos, e aprovada em sua forma final pelo Programa de Pós-Graduação em Ciência dos Alimentos.

Florianópolis, 20 de dezembro de 2010.

---

Prof.<sup>a</sup> Renata Dias de Mello Castanho Amboni, Dr.<sup>a</sup>.  
Coordenadora do Programa de Pós-Graduação em Ciência dos Alimentos

**Banca Examinadora:**

---

Prof. Pedro Luiz Manique Barreto, Dr.  
Orientador  
Universidade Federal de Santa Catarina

---

Prof.<sup>a</sup> Edna Regina Amante, Dr.<sup>a</sup>.  
Universidade Federal de Santa Catarina

---

Prof.<sup>a</sup> Laudete Maria Sartoretto, Dr.<sup>a</sup>.  
Universidade do Oeste de Santa Catarina



Dedico esta dissertação  
ao meu pai Zaloar  
(*in memoriam*).





## AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus pelo dom da vida, por proteger-me e guiar-me sempre pelos mais diversos caminhos;

À Universidade Federal de Santa Catarina pela oportunidade de realização do curso de mestrado;

À Gelnex Indústria e Comércio Ltda. por todo o apoio e incentivo à minha formação profissional, bem como na realização deste trabalho;

À Niceberry do Brasil e ao Sr. Milvo Z. pela disponibilidade de informações e apoio;

Ao Prof. Dr. Pedro Barreto pela orientação dispensada e pelos conselhos na execução dos trabalhos;

À Alessandro L. por sempre acreditar e confiar em minha capacidade e tornar viável este projeto;

Aos meus colegas de trabalho, Odair e Ricardo, pelo convívio e por todo suporte e apoio em minhas ausências;

À Eliane R. e seus colaboradores do laboratório de análises da empresa Gelnex por toda a colaboração na execução deste estudo;

Ao André K. por todo o apoio e disponibilidade nos momentos que foram necessários;

Aos amigos Eduardo H. e Vanessa pela amizade, incentivo e ajuda em momentos difíceis;

Às amigas, Letícia e Márcia Thaís, pela importante amizade, convívio e apoio ao longo desses anos;

À minha mãe, Natalice, pelo exemplo de vida e confiança;

Aos meus irmãos, Angélica e Marcelo, pelo alegre convívio;

Ao meu noivo, Afonso, por todo o apoio, incentivo e compreensão;

Aos colegas de trabalho e a todos que, de alguma forma, colaboraram durante o Curso e no desenvolvimento deste trabalho.

Meus sinceros agradecimentos!



D'AVILA, V. D. L. **Biofilmes à base de gelatina, aplicados na conservação de frutos de mirtilo** (*Vaccinium ashei* Reade). 2010. 115f. Dissertação (Mestrado em Ciência dos Alimentos) - Programa de Pós-Graduação em Ciência dos Alimentos, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis (SC), 2010.

## RESUMO

O objetivo deste trabalho foi desenvolver e caracterizar biofilmes de gelatina com ácidos graxos e surfactantes e verificar sua eficiência na conservação pós-colheita de frutos de mirtilo cv. Clímax. Os biofilmes de gelatina compostos com diferentes proporções de ácido esteárico, benzoato de sódio, Tween 20, Tween 80 e plastificados com glicerol foram avaliados em suas características estruturais, morfológicas, propriedades mecânicas e térmicas. Observaram-se os frutos de mirtilo cobertos com biofilmes e armazenados a 5°C e umidade relativa 75 - 80% durante 30 dias, com retiradas de amostra no início do experimento e a cada 5 dias. Foram avaliados perda de massa, sólidos solúveis totais (SST), pH, acidez total titulável (ATT) e relação SST/ATT nos frutos de mirtilo durante o armazenamento. Os biofilmes de gelatina promoveram uma barreira significativa na perda de água dos frutos de mirtilo e, conseqüentemente, na redução da perda de massa quando comparados aos frutos denominados de controle. Nas condições experimentais a que foram submetidos, os frutos de mirtilo cv. Clímax permaneceram aptos para o consumo in natura até 15 dias em armazenamento, mantendo o aspecto visual, sem perda de atratividade para comercialização. Os filmes foram caracterizados quanto às suas propriedades térmicas (calorimetria exploratória diferencial - DSC), estruturais por espectroscopia de infravermelho com transformada de Fourier (FTIR) e morfológicas através de microscopia eletrônica de varredura (MEV). As propriedades mecânicas, tensão máxima e deformação de ruptura, foram também investigadas, bem como as propriedades de permeabilidade ao vapor d'água, CO<sub>2</sub>, transparência e solubilidade. As análises de DSC indicaram um certo grau de imiscibilidade dos componentes emulsionados pela observação de alguns picos endotérmicos. Os espectros de infravermelho por transformada de Fourier apresentaram a identificação de amida I e II, CH<sub>3</sub>, CH e OCO. As micrografias dos filmes com a presença de ácido esteárico mostraram claramente a presença de partículas lipídicas cristalizadas na matriz filmogênica,

evidenciando a não completa incorporação do ácido esteárico na matriz proteica. No entanto, as propriedades mecânicas não seguiram nenhuma tendência em relação ao teor de ácido esteárico e a deformação de ruptura variou em função do aumento da umidade relativa a 62%. Por outro lado, a presença do ácido esteárico apresentou um coeficiente de permeabilidade de vapor d'água menor do que os filmes com gelatina e surfactantes, devido à propriedade de barreira do componente lipídico. No que se refere à permeabilidade ao CO<sub>2</sub>, esta foi menor nos filmes sem adição de ácido esteárico. Esta seletividade ao CO<sub>2</sub> pode ser atribuída à melhor solubilidade de CO<sub>2</sub> na matriz lipídica do filme composto com ácido esteárico. A transmitância das amostras na região do ultravioleta (210 nm) foi menor de que na região do visível (500 nm), indicando que filmes feitos com estes biopolímeros têm uma boa habilidade preventiva contra a radiação ultravioleta. A solubilidade dos filmes em água apresentou um comportamento atípico.

*Palavras-chave:* Mirtilo; Ácido esteárico; Armazenamento; Biofilmes.

D'AVILA, V. D. L. **Biofilm based on gelatin, applied in the conservation of blueberry fruit** (*Vaccinium ashei* Reade). 2010. 115f. Dissertation (MSc in Food Science) - Post Graduate Program in Food Science, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis (SC), 2010.

## ABSTRACT

The aim of this study was to develop and characterize gelatin biofilms with fatty acids and surfactants and verify their efficiency in postharvest conservation of blueberry fruit cv. Climax. Biofilms composed of gelatin with different proportions of stearic acid, sodium benzoate, Tween 20, Tween 80 and plasticized with glycerol were evaluated on their structural and morphological characteristics, besides their mechanical and thermal properties. Blueberries were observed when covered with biofilm and stored at 5°C and relative humidity 75-80% during 30 days, with samples taken at the beginning of the experiment and every 5 days. Mass loss, total soluble solids (TSS), pH, total acidity (TTA) and TSS/TTA were assessed in the fruit during storage. Gelatin biofilms promoted a significant barrier to water loss of blueberry and consequently to the reduction of mass loss when compared to the fruit denominated of control type. Under the experimental conditions they were submitted, the blueberries cv. Climax remained suitable for fresh consumption up to 15 days in storage, while maintaining the visual aspect, without any loss of attractiveness for commercialization. The films were characterized according to their thermal properties (differential scanning calorimetry - DSC), structural properties by infrared spectroscopy with Fourier transform – FTIR infrared spectroscopy and morphological properties by electronic scanning microscopy - SEM. The mechanical properties (maximum tension and strain at break) were also investigated, as well as properties of permeability to water vapor, CO<sub>2</sub>, transparency and solubility. The DSC analysis indicated a degree of immiscibility of the components emulsified by the observation of some endothermic peaks. The infrared spectra by Fourier transform showed the identification of amide I and II, CH<sub>3</sub>, CH, OCO. The micrographs of the films in the presence of stearic acid clearly showed the presence of lipid particles crystallized in the filmogenic matrix, showing the non-full incorporation of stearic acid in the protein matrix. However, the mechanical properties did not follow

any tendency in relation to the stearic acid content, strain at break varied according to the increasing relative humidity to 62%. On the other hand, the presence of stearic acid had a smaller permeability coefficient of water vapor than the films with gelatin and surfactants because of the barrier property of the lipid component. Concerning the permeability of CO<sub>2</sub>, it was smaller in the films without the addition of stearic acid, the selectivity to CO<sub>2</sub> could be ascribed to a better solubility of CO<sub>2</sub> in the lipid matrix of the film composed by stearic acid. The transmittance of the samples in the ultraviolet region (210 nm) was lower than in the visible region (500 nm), indicating that films made from biopolymers have a good preventive ability against ultraviolet radiation. The solubility of the films in water showed an atypical behavior.

*Key words:* Bluberry; Stearic acid; Storage; Biofilms.

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Mudanças na conformação da estrutura da gelatina (JOHNSTON-BANKS, 1990).....	26
Figura 2 - Principais estruturas dos aminoácidos na gelatina (ROGERS, 2001). .....	27
Figura 3 - Representação esquemática do processo de dissolução de moléculas de um polímero. ....	41
Figura 4 - Estrutura molecular do Tween 20 (Polioxietileno (20) monolaurato de sorbitano).....	42
Figura 5 - Estrutura molecular do Tween 80 (Polioxietileno (20) sorbitano monooleato).....	42
Figura 6 - Ilustração dos processos térmicos obtidos por DSC.....	44
Figura 7 - Mirtilo ( <i>Vaccinium</i> sp.).....	44
Figura 8 - Procedimento empregado para cobertura dos frutos de mirtilo. ....	64
Figura 9 - Micrografia utilizando microscopia eletrônica de varredura (MEV) de a) e b) seção transversal e c) superfície do filme GA <sub>6</sub> T <sub>20</sub> (solução A + 6.6% (m/m) de ácido esteárico + 1% (m/m) de Tween 20).....	69
Figura 10 - Micrografia utilizando microscopia eletrônica de varredura (MEV) de a) e b) seção transversal e c) superfície do filme GBT <sub>80</sub> (Solução A + 1% (m/m) de benzoato de sódio + 1% (m/m) de Tween 80).....	70
Figura 11 - Micrografia utilizando microscopia eletrônica de varredura (MEV) de a) e b) seção transversal e c) superfície do filme GG (10% (m/m) gelatina +1% (m/m) glicerol). ....	70
Figura 12 - Micrografia utilizando microscópio eletrônico de varredura (MEV) de a) e b) seção transversal e c) superfície do filme GA <sub>10</sub> T <sub>20</sub> (Solução A + 10% (m/m) de ácido esteárico + 1% (m/m) de Tween 20).....	71
Figura 13 - Micrografia utilizando microscópio eletrônico de varredura (MEV) de a) e b) seção transversal e c) superfície do filme GA <sub>8</sub> T <sub>20</sub> (Solução A + 8% (m/m) de ácido esteárico + 1% (m/m) de Tween 20).....	72
Figura 14 - Micrografia utilizando microscópio eletrônico de varredura (MEV) de a) e b) seção transversal do filme GA <sub>5</sub> T <sub>20</sub> (Solução A + 5% (m/m) de ácido esteárico + 1% (m/m) de Tween 20).....	72

Figura 15 - Micrografia utilizando microscópio eletrônico de varredura (MEV) de a) e b) seção transversal do filme GA <sub>3</sub> T <sub>20</sub> (Solução A + 3% (m/m) de ácido esteárico + 1% (m/m) de Tween 20).....	73
Figura 16 - Microscopia eletrônica de varredura de estruturas cristalinas de partículas lipídicas.....	74
Figura 17 - Espectro do FTIR do filme GG (10% (m/m) gelatina +1% (m/m) glicerol).....	75
Figura 18 - Espectro do FTIR do filme GBT <sub>80</sub> (Solução A + 1% (m/m) de benzoato de sódio + 1% (m/m) de Tween 80).....	76
Figura 19 - Espectro do FTIR do filme GA <sub>3</sub> T <sub>20</sub> (Solução A + 3% (m/m) de ácido esteárico + 1% (m/m) de Tween 20).....	76
Figura 20 - Espectro do FTIR do filme GA <sub>5</sub> T <sub>20</sub> (Solução A + 5% (m/m) de ácido esteárico + 1% (m/m) de Tween 20).....	77
Figura 21 - Espectro do FTIR do filme GA <sub>6</sub> T <sub>20</sub> (Solução A + 6% (m/m) de ácido esteárico + 1% (m/m) de Tween 20).....	77
Figura 22 - Espectro do FTIR do filme GA <sub>8</sub> T <sub>20</sub> (Solução A + 8% (m/m) de ácido esteárico + 1% (m/m) de Tween 20).....	78
Figura 23 - Espectro do FTIR do filme GA <sub>10</sub> T <sub>20</sub> (Solução A + 10% (m/m) de ácido esteárico + 1% (m/m) de Tween 20).....	78
Figura 24 - Vibrações Amida I e Amida II das ligações peptídicas.....	79
Figura 25 - Espectro do DSC do filme GA <sub>6</sub> T <sub>20</sub> (Solução A + 6% (m/m) de ácido esteárico + 1% (m/m) de Tween 20).....	81
Figura 26 - Espectro do DSC do filme GBT <sub>80</sub> (Solução A + 1% (m/m) de benzoato de sódio + 1% (m/m) de Tween 80).....	82
Figura 27 - Espectro do DSC do filme GG (10% (m/m) gelatina +1% (m/m) glicerol).....	82
Figura 28 - Modelo de cristalização da miscela franjada.....	85
Figura 29 - Estrutura química do ácido esteárico, que demonstra a sua capacidade de cristalização.....	85
Figura 30 - Representação esquemática da permeabilidade ao vapor de filmes proteicos compostos com partículas lipídicas.....	87
Figura 31 - Aspecto visual dos frutos de mirtilo submetidos aos tratamentos e comparados ao controle durante o período de 0 a 15 dias de armazenamento a 5°C e UR, variando entre 75 e 80%.....	90
Figura 32 - Aspecto visual dos frutos de mirtilo submetidos aos tratamentos e comparados ao controle durante o período de 20 a 30 dias de armazenamento a 5°C e UR, variando entre 75 e 80%.....	91
Figura 33 - Perda de massa em função do tempo de armazenamento...	92



## LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Compostos fenólicos totais (FT), antocianinas monoméricas totais (AMT) e relação AMT/FT de cultivares de mirtilo ( <i>Vaccinium</i> sp.) produzidas no Brasil.....	48
Tabela 2 - Atividade antioxidante (ABTS, DPPH e FRAP) de cultivares de mirtilo ( <i>Vaccinium</i> sp.) produzidas no Brasil. ....	49
Tabela 3 - Taxa de respiração do mirtilo a distintas temperaturas. ....	52
Tabela 4 - Valores médios de características físico-químicas de frutos de mirtilo. ....	53
Tabela 5 - Características dos biofilmes de gelatina aplicados nos frutos de mirtilo. ....	64
Tabela 6 - Propriedades mecânicas dos filmes de gelatina com glicerol.....	67
Tabela 7 - Grupos funcionais identificados nos espectros FTIR dos diferentes filmes de gelatina.....	80
Tabela 8 - Temperaturas de fusão (T <sub>m</sub> ) para os filmes GA <sub>6</sub> T <sub>20</sub> , GBT <sub>80</sub> , e GG.....	80
Tabela 9 - Solubilidade em água dos filmes de gelatina (%). ....	83
Tabela 10 - Transmitância dos filmes de gelatina a 210 nm e 500 nm (%).84	
Tabela 11 - Taxa de permeabilidade ao vapor de água (TPVA) a 25°C e 75% UR e coeficiente de permeabilidade ao vapor de água (PVA) a 25°C. ....	86
Tabela 12 - Taxa de permeabilidade ao gás carbônico (TPCO <sub>2</sub> ) a 23°C a seco e coeficiente de permeabilidade ao gás carbônico (PCO <sub>2</sub> ) a 23°C.88	
Tabela 13 - Valores médios da perda de massa (%) de frutos de mirtilo cv. Clímax, revestidos por diferentes biofilmes e armazenados por 30 dias a 5°C e UR, variando entre 75 e 80%. ....	89
Tabela 14 - Valores médios do pH de frutos de mirtilo cv. Clímax, revestidos por diferentes biofilmes e armazenados por 30 dias a 5°C e UR, variando entre 75 e 80%. ....	93
Tabela 15 - Valores médios da acidez total titulável (% ácido cítrico) de frutos de mirtilo cv. Clímax, revestidos por diferentes biofilmes e armazenados por 30 dias a 5°C e UR, variando entre 75 e 80%. ....	94
Tabela 16 - Valores médios dos sólidos solúveis totais (°Brix), de frutos cv. Clímax, revestidos por diferentes biofilmes e armazenados por 30 dias a 5°C e UR, variando entre 75 e 80%. ....	95
Tabela 17 - Valores médios da razão de sólidos solúveis totais (SST)/acidez total titulável (ATT), de frutos de mirtilo cv. Clímax, revestidos por diferentes biofilmes e armazenados por 30 dias a 5°C e UR, variando entre 75 e 80%. ....	96



## LISTA DE SÍMBOLOS E ABREVIATURAS

D	- Difusividade
S	- Coeficiente de solubilidade
W	- Aumento de peso do sistema
E	- Espessura do filme
A	- Área exposta do filme
t	- Tempo
T <sub>g</sub>	- Temperatura de transição vítrea
T <sub>c</sub>	- Temperatura de cristalização
T <sub>m</sub>	- Temperatura de fusão
FT	- Compostos fenólicos totais
AMT	- Antocianinas monoméricas totais
SST	- Sólidos solúveis totais
ATT	- Acidez total titulável
MS	- Material solubilizado
M <sub>i</sub>	- Massa inicial
M <sub>f</sub>	- Massa final
m/m	- massa/massa
UR	- Umidade relativa
p <sub>s</sub>	- Pressão de saturação
TPVA	- Taxa de permeabilidade a vapor d'água
PVA	- Coeficiente de permeabilidade ao vapor d'água
PM	- Perda de massa
MPa	- Tensão máxima
TPCO <sub>2</sub>	- Taxa de permeabilidade a gás carbônico
PCO <sub>2</sub>	- Coeficiente de permeabilidade ao gás carbônico
MEV	- Microscopia eletrônica de varredura
DSC	- Calorimetria exploratória diferencial
FTIR	- Espectroscopia de infravermelho com transformada de Fourier



## SUMÁRIO

<b>1 INTRODUÇÃO .....</b>	<b>23</b>
<b>2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....</b>	<b>25</b>
2.1 Colágeno .....	25
2.2 Gelatina .....	25
2.3 Estrutura da gelatina.....	26
2.4 Composição química da gelatina.....	27
2.5 Tratamento ácido e básico para a produção de gelatina .....	27
2.6 Propriedades físicas e químicas da gelatina .....	28
<b>2.6.1 Solubilidade .....</b>	<b>28</b>
<b>2.6.2 Formação do gel .....</b>	<b>28</b>
<b>2.6.3 Viscosidade.....</b>	<b>29</b>
2.7 Filmes e coberturas.....	30
<b>2.7.1 Agentes plastificantes.....</b>	<b>35</b>
<b>2.7.2 Solventes.....</b>	<b>37</b>
<b>2.7.3 Técnicas de produção de filmes comestíveis .....</b>	<b>37</b>
<b>2.7.4 Características dos filmes .....</b>	<b>38</b>
<b>2.7.5 Propriedades mecânicas .....</b>	<b>38</b>
<b>2.7.6 Propriedades de barreira.....</b>	<b>39</b>
<b>2.7.7 Propriedades dos polímeros em soluções .....</b>	<b>40</b>
<b>2.7.8 Surfactantes .....</b>	<b>41</b>
<b>2.7.9 Espectroscopia no infravermelho.....</b>	<b>42</b>
<b>2.7.10 Calorimetria exploratória diferencial.....</b>	<b>43</b>
2.8 O mirtilo .....	44
2.9 O fruto e sua conservação .....	50
<b>2.9.1 Alterações dos frutos devido a processos físico-químicos .....</b>	<b>50</b>
2.9.1.1 Processos físicos.....	50
2.9.1.2 Processos químicos e bioquímicos .....	51
2.9.1.3 Micro-organismos .....	52
2.10 Fatores de pós-colheita que condicionam a conservação .....	52
<b>2.10.1 Grau de maturação do fruto.....</b>	<b>52</b>
<b>2.10.2 Cuidados na colheita dos frutos de mirtilo.....</b>	<b>53</b>
<b>2.10.3 Pré-resfriamento.....</b>	<b>53</b>
<b>2.10.4 Armazenamento .....</b>	<b>54</b>
2.11 Qualidade e índices físico-químicos.....	54
<b>2.11.1 Perda de massa .....</b>	<b>55</b>

2.11.2 Acidez total titulável (ATT) e pH .....	55
2.11.3 Sólidos solúveis totais (SST) .....	56
2.11.4 Relação SST/ATT.....	56
<b>3 MATERIAL E MÉTODOS.....</b>	<b>57</b>
3.1 Material .....	57
3.2 Metodologia .....	58
3.2.1 Preparação dos biofilmes de gelatina .....	58
3.2.2 Planejamento experimental.....	59
3.2.3 Análises estatísticas .....	59
3.2.4 Análises das propriedades mecânicas.....	60
3.2.5 Solubilidade em água .....	60
3.2.6 Transparência dos filmes.....	61
3.2.7 Taxa de permeabilidade ao vapor de água .....	61
3.2.8 Taxa de permeabilidade ao gás carbônico .....	62
3.2.9 Microscopia eletrônica de varredura .....	62
3.2.10 Espectroscopia de infravermelho.....	63
3.2.11 Calorimetria exploratória diferencial (DSC).....	63
3.2.12 Método de aplicação da solução filmogênica .....	63
3.2.13 Perda de massa .....	65
3.2.14 Sólidos solúveis totais (SST) .....	65
3.2.15 Acidez total titulável (ATT).....	65
3.2.16 Relação SST/ATT.....	66
3.2.17 pH .....	66
<b>4 RESULTADOS E DISCUSSÃO .....</b>	<b>67</b>
4.1 Propriedades mecânicas dos filmes de gelatina .....	67
4.2 Microscopia eletrônica de varredura .....	68
4.2.1 Espectroscopia de infravermelho.....	75
4.2.3 Calorimetria exploratória diferencial .....	80
4.2.4 Solubilidade em água .....	82
4.2.5 Transparência dos filmes.....	84
4.2.6 Taxa de permeabilidade ao vapor de água .....	86
4.2.7 Taxa de permeabilidade ao gás carbônico .....	88
4.3 Resultados para os frutos de mirtilo.....	88
4.3.1 Perda de massa .....	88
4.3.2 pH.....	92
4.3.3 Acidez total titulável (ATT) .....	93
4.3.4 Sólidos solúveis totais (SST).....	95
4.3.5 Relação SST/ATT.....	96

<b>5 CONCLUSÃO .....</b>	<b>99</b>
<b>REFERÊNCIAS .....</b>	<b>101</b>
<b>APÊNDICES.....</b>	<b>113</b>
<b>APÊNDICE A</b> - Figura dos valores médios da perda de massa (%) de frutos de mirtilo cv. Clímax, revestidos por diferentes biofilmes e armazenados por 30 dias a 5°C e UR, variando entre 75 e 80%. .....	113
<b>APÊNDICE B</b> – Figura dos valores médios da análise do pH de frutos de mirtilo cv. Clímax, revestidos por diferentes biofilmes e armazenados por 30 dias a 5°C e UR, variando entre 75 e 80%. .....	113
<b>APÊNDICE C</b> - Figura dos valores médios da acidez total titulável (% ácido cítrico) de frutos de mirtilo cv. Clímax, revestidos por diferentes biofilmes e armazenados por 30 dias a 5°C e UR, variando entre 75 e 80%.....	114
<b>APÊNDICE D</b> - Figura dos valores médios das análises dos sólidos solúveis totais (°Brix), de frutos de mirtilo cv. Clímax, revestidos por diferentes biofilmes e armazenados por 30 dias a 5°C e UR, variando entre 75 e 80%.....	114
<b>APÊNDICE E</b> - Figura dos valores médios da razão sólidos solúveis totais (SST)/acidez total titulável (ATT), de frutos de mirtilo cv. Clímax, revestidos por diferentes biofilmes e armazenados por 30 dias a 5°C e UR, variando entre 75 e 80%. .....	115





# 1 INTRODUÇÃO

Após a colheita, as frutas e hortaliças iniciam um processo acelerado de deterioração, sendo a velocidade deste processo determinada pela combinação de fatores como temperatura e umidade relativa do ar, considerados de extrema importância para sua conservação (Maciel et al., 2008).

As frutas e as hortaliças são também altamente perecíveis, sendo necessária a utilização de diversas técnicas para aumentar seu tempo de conservação tais como: o uso de aditivos químicos, a refrigeração, o congelamento, a desidratação, a secagem, entre outros.

Geralmente, além destes métodos, os vegetais necessitam de uma proteção física na forma de embalagens, que nem sempre são facilmente recicláveis, contribuindo para a poluição ambiental. Visando buscar novas alternativas de conservação das frutas, muitos estudos têm abordado o uso de coberturas comestíveis, tais como os biofilmes proteicos.

As inúmeras vantagens dos biofilmes como barreira à perda de umidade, aderência, propriedades mecânicas, transporte de gases, suporte de aditivos somados às questões ambientais de redução de embalagens, tornam-se fatores motivadores para a realização do presente estudo. Entretanto, essas coberturas de biofilmes apresentam resultados variáveis a depender dos vegetais e frutos tratados.

Este estudo tem como propósito avaliar o efeito de biofilmes de gelatina, bem como de suas características, tais como propriedades térmicas, mecânicas, transparência, solubilidade, permeabilidade ao vapor de água e CO<sub>2</sub>, com a finalidade de verificar o seu efeito na conservação pós-colheita de frutos de mirtilo armazenados em condições refrigeradas.

O mirtilo é uma espécie frutífera originária de algumas regiões da Europa e da América do Norte, onde é muito apreciada por seu sabor, pelo valor econômico e por seu poder medicinal como fonte de longevidade (RASEIRA, 2004). No Brasil é uma cultura recente e pouco conhecida, está sendo desenvolvida principalmente na região Sul do País, onde o acúmulo de frio e variações bruscas de temperatura torna o ambiente propício para seu cultivo.

A escolha da gelatina como biopolímero de cobertura resultou da disponibilidade deste produto por uma empresa da região de Santa Catarina, incentivadora deste projeto e o mirtilo pelas propriedades funcionais do fruto que somados ao recente plantio em Santa Catarina é,

certamente, um desafio estimulante à pesquisa na busca de condições para que o mirtilo possa ser comercializado de maneira a conservar todas as características sensoriais e físico-químicas.

## 2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

### 2.1 Colágeno

O colágeno é a proteína que mantém unidos os feixes de fibras musculares no corpo de animais. Ele é rico em prolina, além disso, forma feixes de fibras curtas dispostas regularmente, formando estruturas, parcialmente cristalizadas. O estado cristalino e as ligações intra e intermoleculares aumentam com a idade do animal e são as responsáveis pela maior ou menor resistência da carne à mastigação (BOBBIO, 2001).

As fibrilas do colágeno são ordenadas de maneiras diferentes, dependendo da função biológica do tipo particular do tecido conjuntivo. Nos tendões, as fibras colágenas são ordenadas em feixes paralelos para produzir estruturas de grande força, contudo, com pequena ou nenhuma capacidade de distensão (VEIS, 1964 apud LUIZE, 1992).

A conversão de colágeno em gelatina é a transformação essencial que ocorre no processo de fabricação de gelatina, envolvendo, basicamente, a quebra de dois tipos de ligações: quebra de ligação não-covalente e quebra da ligação covalente cruzada intermolecular (VEIS, 1964 apud LUIZE, 1992).

A maior parte da gelatina fabricada é derivada de colágeno com ligações cruzadas, insolúveis, que formam a maior parte da porção dos tecidos conectivos de animais adultos. A extração de uma molécula de gelatina com estrutura fibrilar envolve a quebra de pelo menos uma ligação covalente (SCHRIEBER; GAREIS, 2007).

### 2.2 Gelatina

Gelatina é uma proteína de origem animal, obtida pela hidrólise parcial do colágeno contido em peles, ossos, tendões e tecido conectivo. O processo de conversão do colágeno envolve várias etapas como: a lavagem, a depuração, o tratamento, entre outras medidas importantes as quais culminarão na obtenção de um produto alimentício desidratado de cor amarelo claro (JOHNSTON-BANKS, 1990).

O colágeno é originário de materiais selecionados de peles de suínos ou bovinos de abatedouros e frigoríficos inspecionados pelas autoridades do Ministério da Agricultura. O produto obtido é livre de sabor e odor, de aparência vítrea, sólida quebradiça, amarelada e livre de

adição de aromatizantes, conservantes e de aditivos químicos (EUROPEAN PHARMAOPOEIA, 2001).

Vários fatores podem influenciar no processo de fabricação da gelatina: o pH, a temperatura, a matéria-prima, o tipo de processamento e as alterações bioquímicas (SILVA, 1995).

### 2.3 Estrutura da gelatina

A gelatina, como todas as proteínas, é composta de aminoácidos unidos por ligações peptídicas. Três das cadeias polipeptídicas, assim formadas, se agrupam entre si, em forma de espiral à esquerda, para dar lugar à estrutura secundária. Na chamada estrutura terciária, esta espiral se enrola e se dobra para formar uma nova espiral à direita hélice tríplice. De tal modo, essa estrutura forma uma molécula de configuração alargada que se denomina protofibrila (JOHNSTON-BANKS, 1990).

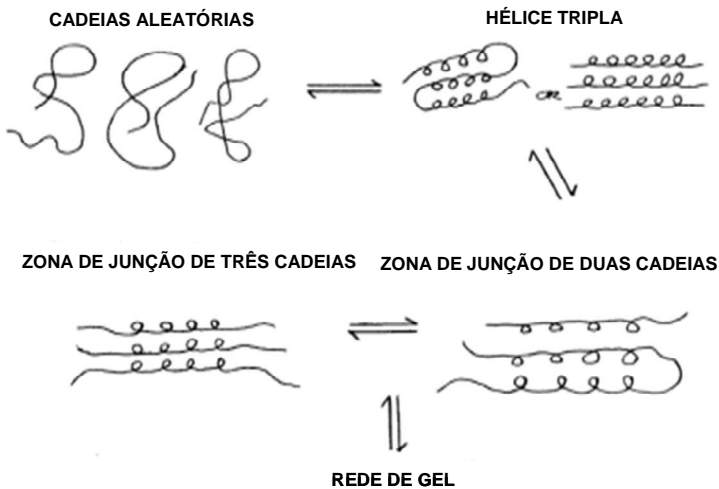


Figura 1 - Mudanças na conformação da estrutura da gelatina (JOHNSTON-BANKS, 1990).

Como todas as outras proteínas, o colágeno exhibe elementos estruturais que são primários, secundários e terciários. O colágeno também apresenta uma estrutura quaternária semelhante a outras proteínas oligoméricas complexas que são caracterizadas, tendo cadeias polipeptídicas múltiplas (SCHRIEBER; GAREIS, 2007).

## 2.4 Composição química da gelatina

A gelatina consiste, predominantemente, dos seguintes aminoácidos: a glicina (33%); a prolina e a hidroxiprolina (20%), além da alanina (11%). A Figura 2 apresenta as principais estruturas químicas dos aminoácidos na gelatina (ROGERS, 2001).

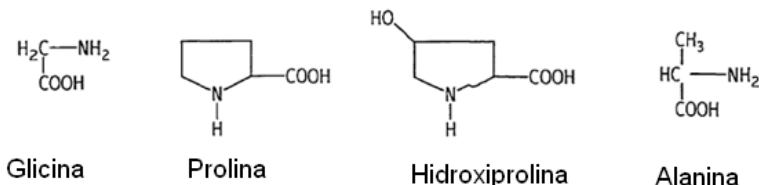


Figura 2 - Principais estruturas dos aminoácidos na gelatina (ROGERS, 2001).

## 2.5 Tratamento ácido e básico para a produção de gelatina

O tratamento ácido é mais apropriado para a produção de gelatina a partir de pele suína devido à facilidade com que as etapas de despolimerização das cadeias de colágeno e da hidrólise das ligações peptídicas são realizadas (JOHNSTON-BANKS, 1990).

A pele suína é colocada em um banho ácido diluído em água morna, com ácido sulfúrico ou ácido clorídrico, por um período suficiente para ocorrer o equilíbrio de concentração ácida da matéria-prima e do banho o que, geralmente, é em torno de 24 horas (SCHRIEBER e GAREIS, 2007).

Após o tratamento com ácido, a gelatina atinge o pH em torno de 2,0 a 4,0 com adição de uma base. Os sais formados são removidos através de sucessivas lavagens em um período de 24 horas com frequentes trocas de água (SCHRIEBER; GAREIS, 2007).

A firmeza do gel, além da viscosidade durante o processo de extração da solução colagênica, é regulado através do pH, do tempo e temperatura. Estes parâmetros exercem influência na velocidade de extração da gelatina (SCHRIEBER; GAREIS, 2007).

O tratamento alcalino é aplicado normalmente para extração de gelatina de rasgas e aparas de couro bovino e osseína. O tratamento alcalino é comumente usado com o propósito de não causar um significativo dano à matéria-prima devido à excessiva hidrólise (JOHNSTON-BANKS, 1990).

Dependendo da concentração, temperatura usada e condições de processo, as aparas de couro bovino, como exemplo, são imersas em uma solução alcalina de hidróxido de sódio a 1% à temperatura de 20°C, com agitação. Mediante este procedimento, ocorre a hidrólise alcalina da pele bovina (SCHRIEBER; GAREIS, 2007).

A qualidade da gelatina para os parâmetros de Bloom (força de gelificação) e viscosidade é o resultado da relação entre a concentração de hidróxido de sódio, a temperatura e o tempo de acondicionamento da matéria-prima nesta solução (SCHRIEBER; GAREIS, 2007).

Após esse tratamento a matéria-prima é lavada para a remoção da solução alcalina e neutralizada com a adição de ácido (SCHRIEBER; GAREIS, 2007).

A conversão destes tratamentos da matéria-prima até a produção de gelatina envolve cinco etapas básicas: lavagem, extração, purificação, concentração e secagem (JOHNSTON-BANKS, 1990).

## 2.6 Propriedades físicas e químicas da gelatina

### 2.6.1 Solubilidade

A gelatina é relativamente insolúvel em água fria, no entanto, hidrata rapidamente em água morna (JOHNSTON-BANKS, 1990).

Logo, quando adicionada à água fria, os grãos de gelatina incham em forma de partículas discretas, absorvendo de 5 a 10 vezes seu próprio peso em água e, dessa forma, elevando a temperatura acima de 40 °C, as partículas inchadas dissolvem-se e acabam se tornando uma solução que gelifica sob refrigeração no seu ponto de *setting* (PRIEBBENOW, 1991).

A extensão nas quais os grãos de gelatina incham em água fria é dependente dos valores de pH, assim, com o máximo de inchamento, ocorrem a valores de pH afastados do ponto isoelétrico da gelatina (PRIEBBENOW, 1991).

A taxa de solubilidade é afetada por fatores como temperatura, concentração e tamanho das partículas (PRIEBBENOW, 1991).

### 2.6.2 Formação do gel

A gelatina forma géis termorreversíveis que se transformam em uma solução quando a temperatura aumenta até 30-35 °C. Dessa

maneira, resfriando a solução de gelatina ao seu ponto de gelificação (ponto de *setting*) uma estrutura de gel é formada novamente. Este processo de conversão de solução para gel é reversível e pode ser repetido muitas vezes. Os géis de gelatina, por esta razão, produzem uma propriedade de fusão na boca que promove uma excelente liberação de aroma, sendo esta uma propriedade muito apreciada e desejada em uma grande variedade de produtos alimentícios. No início da gelificação há um enorme aumento da viscosidade até que o gel esteja completamente formado (PRIEBBENOW, 1991).

A rigidez dos géis de gelatina aumenta com o tempo de maturação e o equilíbrio ocorre, aproximadamente, após 18 horas. A força dos géis de gelatina depende da concentração e da força intrínseca da gelatina utilizada que é função tanto de sua estrutura como do seu peso molecular. A força do gel é, claramente, independente do pH em uma ampla faixa de valores de pH, na maioria das vezes, acima de 5,0. Outros fatores que afetam a rigidez do gel são a temperatura, seu histórico térmico da produção, a presença e a concentração de eletrófilos, não eletrófilos e outros ingredientes (PRIEBBENOW, 1991).

### 2.6.3 Viscosidade

Viscosidade é a segunda propriedade chave da gelatina, dependendo da aplicação envolvida, altas viscosidades são requeridas para estabilizar alimentos, para aplicações farmacêuticas e emulsões fotográficas. Já para produção de produtos moldados como confeitos em geral a indústria prefere uma viscosidade mais baixa, para evitar problemas durante aplicação e moldagem (SCHRIEBER; GAREIS, 2007).

Sendo um polímero, a natureza macromolecular da gelatina que produz uma viscosidade em solução, na maioria das temperaturas e das concentrações, atua com propriedades reológicas de natureza newtoniana (PRIEBBENOW, 1991).

As características das viscosidades resultantes de uma determinada qualidade de gelatina estão, fundamentalmente, relacionadas à distribuição do peso molecular das suas moléculas. A viscosidade das soluções de gelatina aumenta com o aumento da concentração e com o decréscimo da temperatura (PRIEBBENOW, 1991).

Em soluções livres de sais, a viscosidade mínima ocorre no pH do ponto isoiónico da gelatina. Modificações na forma molecular e

distribuição de cargas resultam em mudanças na viscosidade a diferentes pHs. A viscosidade da gelatina também afeta as propriedades do gel, incluindo as temperaturas de *setting* e fusão (*melting*). Assim sendo, gelatinas de altas viscosidades produzem géis com uma maior temperatura de fusão e, em seguida, resultando, ainda, em uma velocidade de gelificação maior do que as gelatinas de viscosidades mais baixas. Desse modo, para estabilizar algumas emulsões, as gelatinas de viscosidades mais altas são preferidas (PRIEBBENOW, 1991).

## 2.7 Filmes e coberturas

As películas comestíveis podem ser classificadas em filmes e, do mesmo modo, em coberturas. A diferença básica é que os filmes são pré-formados separadamente do produto. Já as coberturas são formadas sobre a própria superfície do alimento, o que pode ser efetuado, por exemplo, por imersão ou aspersão (BOLZAN, 2008).

O revestimento é formado a partir de um agente espessante, que após aplicação no produto forma uma película ao seu redor, agindo como uma barreira para trocas gasosas e para perda de vapor de água, modificando a atmosfera e retardando o amadurecimento de frutas e hortaliças (VICENTINI et al., 1999).

Os biofilmes são elaborados à base de macromoléculas biológicas capazes de formar uma matriz contínua (KESTER; FENNEMA, 1986).

Dentre os biopolímeros utilizados na elaboração de biofilmes destacam-se: o amido, a pectina, a celulose e seus derivados, o colágeno, a gelatina e as proteínas miofibrilares (BOLZAN, 2008).

A gelatina é uma proteína de origem animal, solúvel em água e obtida do colágeno por hidrólise ácida ou básica e amplamente utilizada em indústria alimentícia e farmacêutica devido às suas propriedades funcionais interessantes (POPPE, 1987). Além disso, a gelatina no Brasil é produzida em abundância, a baixo custo e com propriedades funcionais adequadas para a fabricação de biofilmes (CARVALHO, 1997).

Filmes à base de gelatina são altamente permeáveis ao vapor de água devido à natureza hidrofílica da proteína, favorecendo desta forma a ligação com a água. A adição de um composto hidrofóbico pode reduzir a difusividade de moléculas de água provendo melhores propriedades de barreira. Dessa forma, muitas coberturas e filmes atualmente são produzidos através da combinação dos mesmos



(BERTAN, 2003).

Em se tratando de coberturas, as propriedades reológicas da gelatina são de particular importância durante a cobertura e a secagem de emulsões. Estes processos podem, entretanto, ser aplicados de diferentes maneiras e não é possível generalizar ou atribuir a uma única propriedade da gelatina. Em geral, a gelificação é requerida, mas, uma alta viscosidade faz-se necessária, em alguns processos de coberturas, o que pode ser uma desvantagem (WARD; COURTS, 1977).

Em geral, a máquina que aplica uma emulsão líquida ou as camadas de gelatina uma a uma, é feita através de uma série de bicos em que a cobertura, rapidamente, atinge seu estado de *setting* e seca no estado de gel. De tal modo, o rápido *setting* é uma propriedade da gelatina que é particularmente desejável e esta, é relativamente ligada à espessura e à uniformidade da camada aplicada. O rápido *setting* da gelatina é, obviamente, desejável com alta velocidade da cobertura e um alto *melting point* é, também, requerido para evitar derretimento durante a secagem (WARD; COURTS, 1977).

Considerando o uso de filmes, numerosos trabalhos científicos, em recentes literaturas estão disponíveis e consideram o uso de gelatina isolada ou combinada com outros biopolímeros, com a intenção de obter um filme comestível e biodegradável (SOBRAL et al., 2008).

Resende (2007) estudou o revestimento biodegradável para conservação do coco anão verde, em que os cocos foram revestidos com biofilmes à base de quitosana, gelatina e carboximetilcelulose (CMC), nas seguintes formulações: quitosana (B1); gelatina+CMC (B2); quitosana+gelatina (B3); CMC (B4); gelatina (B5); controle (B6). Os frutos foram armazenados a  $12 \pm 2$  °C, com UR de 80%, por até 40 dias. Verificou-se que frutos revestidos com (B1), (B3) e (B5) tiveram maior aceitação ao final do tempo de armazenamento. Entre os biofilmes testados, o de quitosana apresentou o melhor desempenho, contribuindo para a manutenção das características nutricionais e sensoriais da água de coco e, além disso, proporcionaram maior aceitação do consumidor, devido à melhor aparência do fruto após 40 dias em armazenamento.

Fakhouri (2003) recobriu goiabas brancas no estágio “verde maduro” com coberturas de gelatina, triacetina e ácido láurico, sendo as mesmas estocadas sob refrigeração a 12 °C durante 20 dias, juntamente com frutas controle (sem cobertura). As coberturas mostraram-se efetivas na extensão da vida útil das goiabas, aumentando sua vida de prateleira em 12 dias, em relação à fruta sem cobertura.

Batista et al. (2005) avaliaram o vigor de sementes de brócolis submetidas às coberturas biodegradáveis e micronutrientes em que se

desenvolveu e se caracterizou biofilmes de pectina, de gelatina e de ácidos graxos. Observaram a sua eficiência como cobertura para sementes de brócolis (*Brassica oleracea L. var. italica*). Os filmes foram caracterizados quanto à solubilidade em água. Os filmes de pectina e de ácido esteárico, foram 100% solúveis em água, enquanto os elaborados com pectina e gelatina (1/1) foram apenas 18%. A aplicação das coberturas filmogênicas nas sementes de brócolis não afetou a emergência das plantas, demonstrando, assim, sua potencialidade para uso comercial.

Hojo et al. (2007) testaram películas de fécula de mandioca e policloreto de vinila (PVC) na conservação pós-colheita de pimentão, onde estes foram submetidos a 4 tratamentos: PVC, biofilmes nas concentrações de 3,5%, 4% e 4,5% de fécula de mandioca. Foram avaliadas propriedades de perda de massa, firmeza, acidez titulável (AT), pH, sólidos solúveis (SS), a pectina total e a pectina solúvel, bem como a coloração da casca e a clorofila. Observaram que em todos os tratamentos, a firmeza e o pH diminuíram, enquanto a AT e os SS aumentaram, no final do período de armazenamento nas condições do ambiente. Os tratamentos utilizados não ocasionaram alterações significativas no teor de pectina total, durante o período de armazenamento, entretanto, o menor teor de pectina solúvel foi observado nos frutos envoltos em PVC. Os frutos recobertos com biofilmes a 4 e 4,5% de fécula de mandioca apresentaram escamação da película a partir do sexto dia de armazenamento. Contudo, a aplicação de PVC foi efetiva na manutenção da qualidade de pimentões armazenados em condições ambiente por oito dias.

Davanço et al. (2007), verificaram o efeito do pH e da adição de surfactantes sobre a funcionalidade de filmes compostos de gelatina, triacetina, ácido esteárico ou caprótico, com o objetivo de melhorar a incorporação das substâncias hidrofóbicas (ácido esteárico e ácido caprótico) na matriz proteica (gelatina) do filme. Foram adicionados os surfactantes SDS e *Tween* 80, substâncias capazes de interagir com a proteína e com o ácido graxo, tornando a matriz filmogênica menos heterogênea. Observaram que a adição do ácido esteárico nos filmes de gelatina foi mais eficiente na redução da permeabilidade ao vapor de água do que o ácido caprótico, e que a adição do surfactante SDS reduziu a permeabilidade ao vapor de água dos filmes contendo ácido esteárico ou ácido caprótico. Verificaram também que o ajuste de pH, nos filmes, sem a adição de surfactantes, produziu matrizes mais homogêneas.

Fakhouri et al. (2007) estudaram desempenho de filmes e de coberturas comestíveis à base de amidos nativos e de gelatina na

conservação e na aceitação sensorial de uvas *Crimson*. Filmes compostos de gelatina, amidos nativos de trigo, sorgo, batata e arroz foram produzidos, separadamente. Foram caracterizados quanto às propriedades físico-químicas como solubilidade em água, barreira ao vapor de água, espessura e opacidade. E, avaliando suas propriedades mecânicas como resistência à tração e percentagem de alongação na ruptura, verificaram que em relação aos atributos sensoriais, as uvas com cobertura de amido de arroz não diferiram, estatisticamente, do controle, uma vez que apresentaram as menores notas para os parâmetros de aparência global e de intenção de compra. O filme de amido de sorgo apresentou uma permeabilidade ao vapor de água de  $5,40 \text{ g.m.m}^{-2} \cdot \text{d.KPa}$ . A resistência à tração de 85,89 MPa, alongação de 6,61% e opacidade de 40%, mesmo não apresentando os melhores valores de caracterização, como filme, tornou-se a melhor opção como cobertura. Na degustação das uvas, nenhuma das coberturas exerceu influência significativa no aroma, sabor e textura, sendo aceitas pelo consumidor em todos os parâmetros.

Bolzan (2008) teve como objetivos quantificar a vida de prateleira do tomate tipo Dominador e aumentar a vida de prateleira do fruto com o uso de biofilmes. Entre os fatores que afetam a longevidade do tomate, está o ponto de maturação. Nesta pesquisa, foram avaliados dois pontos de maturação: vermelho-claro (60% a 90% colorido) e rosa-esverdeado (10% a 30% colorido). Os frutos foram imersos por um minuto nas seguintes soluções: éster de sacarose (1%), pectina (2%) e fécula de mandioca (2%) e armazenados em temperatura ambiente ( $25^{\circ}\text{C}\pm 1$  e 65% de umidade relativa do ar). A análise sensorial foi realizada por doze julgadores treinados, os quais analisaram os atributos como a cor, o sabor, o aroma, a acidez e a firmeza de polpa.

Os resultados obtidos por Bolzan (2008) demonstram que o ponto de maturação vermelho-claro, no conjunto dos atributos avaliados, não apresentou uma resposta que justifique a aplicação de biofilmes no mercado comercial. Já os efeitos do uso de biofilmes no tomate colhido no ponto de maturação rosa-esverdeado demonstraram que os biofilmes éster de sacarose e pectina foram eficientes no controle das transformações físico-químicas da maturação. A análise sensorial constatou que os atributos firmeza de polpa e sabor foram os de maior qualidade e, igualmente, melhor percebidos pelos julgadores, embora os biofilmes éster de sacarose e pectina tenham apresentado melhor desempenho no controle das reações metabólicas da maturação do tomate. O biofilme fécula de mandioca no conjunto de atributos físico-químicos e sensoriais apresentou as melhores características para os

julgadores, como melhor aparência, melhor coloração e melhor firmeza de polpa, o que motiva a maior aceitabilidade do consumidor.

Oliveira (2005) testou a aplicação de biofilmes, em pré-colheita para o controle da injúria provocada pelo látex em frutos de *Mangifera indica* L. (*Anacardiaceae*). Investigou o uso de biofilmes de cera de carnaúba e fécula de mandioca no controle da injúria provocada pelo látex, nos frutos da mangueira, na pré-colheita e também os efeitos destes na manutenção das características físico-químicas da polpa dos frutos armazenados sob refrigeração. As formulações de cera de carnaúba e de fécula de mandioca foram aplicadas na pré-colheita (duas horas antes da colheita) sobre os frutos de manga ainda na planta mãe, através de um borrifador, para a formação do biofilme. Em seguida, os frutos foram colhidos com menos de 1 cm de pedúnculo para permitir o escorrimento do látex sobre eles e higienizados. Após este procedimento, foram avaliados quanto à injúria por látex, ao pH, aos sólidos solúveis totais, à acidez titulável e à perda de massa fresca. Os frutos foram mantidos a  $10 \pm 2$  °C de temperatura e  $85\% \pm 5\%$  de umidade relativa e foram analisados de 10 a 20 dias de armazenamento. Os resultados demonstraram que a cera de carnaúba influenciou no comportamento do pH e da perda de massa fresca. Já a fécula de mandioca influenciou na perda de massa fresca. Também foi verificado que quanto maior a concentração de fécula de mandioca, menor foi o índice de injúria por látex e que a cera de carnaúba não exerceu efeito satisfatório na redução da injúria.

Carvalho e Grosso (2006) avaliaram o desempenho do tratamento térmico e enzimático nas propriedades de filmes de gelatina. A viscosidade aparente das soluções filmogênicas foi, também, avaliada. Foram produzidos filmes denominados nativos, os quais foram modificados enzimaticamente e termicamente tratados. De acordo com os resultados obtidos, observaram que a temperatura de reação não afetou as propriedades mecânicas e a solubilidade dos diferentes filmes estudados. Por outro lado, os filmes modificados enzimaticamente na temperatura de 50°C apresentaram permeabilidade ao vapor de água, significativamente inferior aos produzidos nas demais temperaturas e tratamentos (filmes nativos e termicamente tratados). O tratamento térmico, ainda, provocou a redução da permeabilidade ao vapor de água.

Blum et al. (2009) verificaram a eficiência da cera de carnaúba na conservação pós colheita do caqui cv. Fuyu. Os tratamentos utilizados foram a imersão dos frutos em soluções contendo 0 (controle), 12,5, 25 e 50% de cera a temperatura ambiente. Após a secagem, os frutos foram armazenados a temperatura de  $4 \pm 1$  °C, e umidade relativa (UR) de

80%. Foi realizada a avaliação inicial e após 15 e 30 dias de refrigeração, seguido de quatro dias à temperatura de  $20 \pm 1$  °C, simulando o período de comercialização. A aplicação de cera diminuiu a perda de massa dos frutos em proporção à concentração utilizada. O uso de cera até a concentração de 27,8% ajudou na manutenção da firmeza do fruto, prolongando o tempo de armazenagem. Houve redução do teor de ácido ascórbico e aumento da acidez titulável, sólidos solúveis e teor de pectina ao longo do tempo de avaliação.

Duan et al. (2011), verificaram o efeito de coberturas comestíveis na qualidade de *blueberries* frescas dos cultivares Duke e Elliott sob condições comerciais de estocagem, em estudo realizado em 2006 e 2008. As coberturas comestíveis de ACH (quitosana solubilizada em ácido acético), WCH (quitosana solubilizada em água), CC (caseinato de cálcio), SA (alginato de sódio), SF<sup>TM</sup> (mistura de ácidos graxos de éster de sacarose) e WCH + SA foram aplicadas aos frutos que foram armazenados em embalagens ventiladas e não ventiladas a temperatura de 2°C por uma semana, seguido de estocagem a 20°C (temperatura ambiente) até completar 15 dias para as avaliações de qualidade. Os resultados com ACH, WCH, WCH + SA, ajudaram na redução da taxa de deterioração dos cultivares Duke ou Elliott, durante a temperatura ambiente de estocagem. Os resultados de 2006 mostraram que a cobertura SF diminuiu a perda de peso do cultivar Duke após 6 dias de temperatura ambiente de estocagem, também o cultivar Elliott coberto com CC, apresentou uma diminuição do amadurecimento evidenciado através de uma alta taxa de acidez titulável, baixo pH e maior firmeza durante o armazenamento. As frutas em embalagens não ventiladas apresentaram reduzida perda de peso e firmeza aumentada se comparado a embalagens ventiladas, como demonstrado no estudo de 2008. O estudo demonstrou que as coberturas comestíveis têm potencial para a preservação da qualidade de *blueberries* frescas sob condições comerciais de estocagem, quando utilizada a cobertura apropriada, embalagem e também um método de aplicação da cobertura satisfatório.

### 2.7.1 Agentes plastificantes

O agente plastificante é definido como uma substância que, ao ser adicionada a outro material, ocasiona certas mudanças nas propriedades físicas, químicas e mecânicas dos filmes (BANKER, 1966).

Os principais plastificantes utilizados em coberturas de filmes comestíveis são os monossacarídeos, os dissacarídeos, os poliois

(sorbitol, glicerol, derivados de glicerina, glicóis, etc.), lipídeos e derivados (ácidos graxos, monoglicerídeos e derivados de éster, etc. (GUILBERT, 1986).

Plastificantes na formulação dos filmes têm a vantagem de melhorar a maleabilidade e assim, a aplicabilidade do material, e uma das características necessárias é de que este seja solúvel e compatível com o polímero (SOBRAL et al., 2001). Outra característica dos plastificantes é a capacidade de diminuir a temperatura de transição vítrea e a temperatura de fusão, e aumentar a permeabilidade a gases, proporcionalmente ao seu conteúdo. Os mais utilizados em filmes protéicos são: glicerol, sorbitol, propilenoglicol, polietilenoglicol, monoglicerídeos, etc. (GENNADIOS, 2002).

Na literatura são encontrados muitos trabalhos que descrevem os efeitos sobre as propriedades químicas, físicas e funcionais de filmes poliméricos em presença de plastificantes.

O efeito de plastificantes sobre os filmes com base em gelatina foi estudado por Vanin et al., (2005). Utilizando diferentes polióis (glicerol, propileno glicol, dietileno glicol e etileno glicol) o pesquisador observou que todos os plastificantes foram compatíveis com o filme de gelatina e que podem ser escolhidos, dependendo das propriedades desejadas. A presença do plastificante influenciou diretamente a temperatura de transição vítrea, diminuindo seu valor, assim como as propriedades mecânicas, aumentando a percentagem de alongação dos filmes.

De acordo com Jongjareonrak et al. (2006), quando plastificantes hidrofílicos são incorporados à estrutura dos filmes de gelatina, as interações e a proximidade entre as cadeias da proteína são reduzidas, afetando as suas propriedades.

Bergo e Sobral (2006) estudaram os efeitos causados pela adição de plastificantes sobre as propriedades físicas de filmes de gelatina de origem suína. A presença de glicerol, em diferentes proporções alterou propriedades físicas como flexibilidade, interações entre as cadeias macromoleculares e suscetibilidade à umidade. Estes efeitos também foram verificados por Thomazine et al. (2005) estudando filmes de gelatina plastificados com sorbitol e glicerol.

Duran et al. (1999) investigaram sacarose e açúcar invertido como plastificante sobre filmes de amido e gelatina em função das propriedades mecânicas, hidrofóbicas e de atividade da água, mostrando que a adição destes plastificantes aumentou a alongação e a cinética de absorção de água.

Aryanitoyannis et al. (1997) avaliaram as propriedades térmicas e

mecânicas de filmes comestíveis baseados em blendas de gelatina com amido solúvel, plastificadas com água, glicerol ou açúcares e observaram que a presença destes causou uma diminuição na temperatura de fusão, de transição vítrea, também da tensão na ruptura e aumentou a elongação dos filmes.

### **2.7.2 Solventes**

A natureza do solvente utilizado interfere na solubilidade das proteínas uma vez que a força de atração entre as moléculas está relacionada à constante dielétrica do solvente utilizado. Desta forma, solventes com altas constantes dielétricas favorecem a solubilidade da proteína porque diminuem a força de atração entre as moléculas (CARVALHO, 1997). A escolha do solvente a ser utilizado, além dos fatores citados, deve atender à legislação quanto ao seu uso em alimentos.

### **2.7.3 Técnicas de produção de filmes comestíveis**

Há dois tipos de forças importantes na obtenção de biofilmes (GONTARD, 1991): forças de adesão (interação entre as moléculas do polímero e o suporte) e forças de coesão (interação entre as moléculas do polímero). A força de adesão está relacionada com a resistência à separação do filme ou cobertura no ponto de contato. No que diz respeito à força de coesão, a mesma está relacionada com a capacidade de formação de superfícies contínuas fortemente ligadas, características de certos materiais com alto peso molecular, sendo esta força de fundamental importância no caso de filmes (KESTER; FENNEMA, 1986).

Várias técnicas têm sido desenvolvidas para a formação de filmes. Geralmente é preparada uma solução e a formação do filmes se dá pela remoção do solvente. Podendo a solução ser aplicada diretamente sobre o material a ser recoberto pelo filme ou utilizado um suporte, para posterior utilização do filme (BARRETO, 2003).

### 2.7.4 Características dos filmes

Diversas são as características físicas envolvidas na produção de biofilmes, entre estas, podemos destacar as seguintes (CARVALHO, 1997):

- Espessura;
- Textura;
- Estrutura e microestrutura.

As características sensoriais dos filmes, baseados em hidrocolóides, apresentam propriedades mais neutras do que as formadas a partir de lipídeos ou derivados, os quais apresentam maior opacidade e sabor residual (GONTARD; GUILBERT, 1996).

A solubilidade em água interfere nas propriedades de barreira ao vapor d'água nos filmes comestíveis. Sendo assim, os filmes resistentes para as propriedades de barreira devem utilizar material insolúvel ou de pouca solubilidade em água (CARVALHO, 1997).

### 2.7.5 Propriedades mecânicas

As propriedades mecânicas dos filmes comestíveis dependem da natureza do material filmogênico utilizado e, notoriamente, de sua estrutura de coesão, a qual está relacionada com a aptidão do polímero em formar fortes e/ou numerosas ligações em nível molecular entre duas cadeias poliméricas dificultando, assim, sua separação quando submetida à forças mecânicas (GONTARD, 1991).

As propriedades mecânicas de maior interesse em filmes são as que estão relacionadas com a resistência à tração ou seja, a força necessária para estirar ou deformar o filme e a deformação alcançada pelo mesmo até a ruptura. Estas propriedades são dependentes das condições ambientais, como temperatura e umidade relativa do ar. As características mecânicas de um filme polimérico são também influenciadas pela temperatura de transição vítrea do polímero (BARRETO, 2003).

Tais propriedades incluem a tensão máxima de ruptura ( $\sigma$ , dada em MPa), a elongação máxima ( $\epsilon$ , dada em %) e o módulo de Young (E, dado em MPa) (WOLF, 2007). O módulo de Young é uma característica de cada material que representa a constante de proporcionalidade entre a tensão e a deformação de um corpo (VAN DE VELDE; KIEKENS, 2002). A tensão expressa a força máxima desenvolvida por um filme



durante um teste elástico em unidades de área de sua secção transversal, enquanto valores de elongação representam a habilidade do filme em se distender. Essas propriedades mecânicas estão diretamente relacionadas à natureza do material filmogênico utilizado e com a coesão da matriz polimérica formada que, por sua vez, está relacionada com a distribuição e a concentração de interações inter e intramoleculares na estrutura filmogênica (CUQ; GONTARD; GUILBERT, 1998). A magnitude da tensão e da elongação está altamente associada à quantidade do plasticizante presente no filme. Geralmente, o aumento da quantidade de plasticizante resulta em filmes com menor resistência à tensão e maior elongação (VANIN et al., 2005).

### 2.7.6 Propriedades de barreira

A permeabilidade é definida como uma propriedade do par filme/permeado (gás, vapor de água, oxigênio, gás carbônico) em condições bem definidas de temperatura, umidade relativa, espessura e diferença de pressão parcial. Permeabilidade, entretanto, não deve ser confundida com transporte através de poros, uma vez que a mesma consiste em um processo de solução e difusão onde o vapor se dissolve de um lado do filme e se difunde até o outro lado do mesmo (MCHUGH; KROCHTA, 1994). Em um meio contínuo, homogêneo e isotrópico, desprezando-se os defeitos, a permeabilidade (Pva) é produto da difusividade (D), que representa a mobilidade das moléculas do permeado através do polímero e do coeficiente de solubilidade (S), representado pela concentração do permeante no interior do filme em equilíbrio com uma pressão externa, ou seja:  $Pva = D.S$  (GONTARD, 1991). Na prática, a permeabilidade (Pva) é determinada a partir de um fluxo em regime estacionário pela Equação 1.

$$Pva = We / At (p_1 - p_2) \quad (\text{Equação 1})$$

Onde:

W = aumento de peso do sistema (g)

e = espessura do filme (m)

A = área exposta do filme (m<sup>2</sup>)

(p<sub>1</sub>-p<sub>2</sub>) = diferença de pressão entre os dois lados do filme (mmHg)

Pva = permeabilidade ao vapor de água (g.mm)/(m<sup>2</sup>.dia.mmHg)

t = tempo (dia).

Essa característica física é importante para controle da migração de vapor de água entre o produto e o meio ambiente. Quando a atividade de água do alimento é maior do que a umidade relativa do ambiente na qual este se encontra, ocorre a migração de água do alimento para o ambiente, provocando alterações das características físicas (textura, aparência, etc.) e sensoriais. Em caso contrário, ocorre a troca de umidade do meio ambiente para o interior do alimento, podendo criar condições favoráveis para o desenvolvimento de micro-organismos ou ainda provocar a perda de textura e da aparência característica (LABUZA, 1980).

### **2.7.7 Propriedades dos polímeros em soluções**

Conforme Rotta (2008), a dissolução de um polímero em solução geralmente é um processo lento, pois depende da estrutura e da massa molar do polímero. As moléculas do polímero são constituídas de longas cadeias com um grande número de segmentos que, no estado sólido, formam emaranhados aleatórios mantidos unidos por uma série de forças atrativas tais como: ligações de hidrogênio, indução, interações dipolo-dipolo e forças de *Van der Waals*.

De acordo com Tager (1972), o processo de dissolução de um polímero ocorre em dois estágios: no primeiro ocorre um intumescimento das moléculas e no segundo a dissolução propriamente dita, conforme a representação da Figura 3.

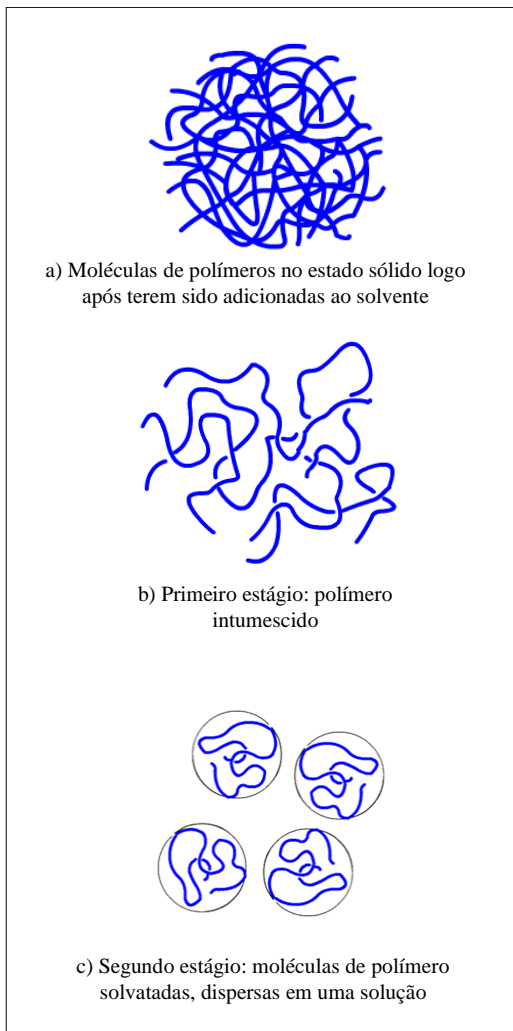


Figura 3 - Representação esquemática do processo de dissolução de moléculas de um polímero.

Fonte: Barreto (2003).

### 2.7.8 Surfactantes

Maia et al. (2000) verificaram que estudos realizados sobre o emprego de revestimentos com agentes ativos de superfície em

alimentos mostraram que o uso do filme reduziu a atividade de água ( $A_w$ ) superficial do alimento, bem como a taxa de perda de umidade por evaporação. A  $A_w$  superficial é a atividade de água diretamente na superfície do alimento. A  $A_w$  superficial correlaciona-se à taxa de perda de vapor de água do produto (ROTH; LONCIN, 1984). Baixa atividade de água superficial retarda o crescimento microbiológico, bem como reações químicas e enzimáticas na superfície. Assim, o revestimento de alimentos com filme surfactante pode ajudar a controlar estes tipos de deteriorações, devido à redução da  $A_w$  superficial (KESTER; FENNEMA, 1986). As Figuras 4 e 5 apresentam as estruturas químicas de dois surfactantes mais utilizados pela indústria de alimentos.

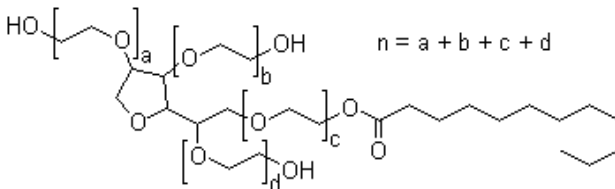


Figura 4 - Estrutura molecular do Tween 20 (Polioxietileno (20) monolaurato de sorbitano).

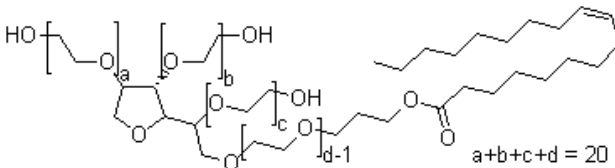


Figura 5 - Estrutura molecular do Tween 80 (Polioxietileno (20) sorbitano monooleato).

## 2.7.9 Espectroscopia no infravermelho

Espectroscopia no infravermelho é uma das técnicas vibracionais mais utilizadas para o estudo da composição química de ficocolóides. Esta técnica apresenta duas vantagens principais: requer pequenas quantidades de amostras (mg) e é um método não agressivo, com precisão confiável (PEREIRA et al., 2003).

A espectroscopia no infravermelho é uma técnica experimental simples e rápida que pode evidenciar a presença de vários grupos funcionais. Como todas as outras formas de espectroscopia, essa depende da interação de moléculas ou átomos com a radiação

eletromagnética. A radiação infravermelha causa o aumento da amplitude de vibração das ligações covalentes entre átomos e grupos de átomos de compostos orgânicos. (A radiação infravermelha não possui energia suficiente para excitar os elétrons, como ocorre quando algumas moléculas interagem com a radiação visível, a ultravioleta, ou outras formas de luz de maior energia). Como os grupos funcionais das moléculas orgânicas incluem átomos ligados por arranjos específicos, a absorção da energia infravermelha por uma molécula orgânica ocorrerá de modo característico dos tipos de ligações e de átomos presentes nos grupos funcionais específicos daquela molécula. Essas vibrações são quantizadas e, enquanto ocorrem, os compostos absorvem a energia infravermelha, em regiões particulares da porção infravermelha do espectro. Um espectrômetro de infravermelho opera passando o feixe de radiação infravermelho através da amostra e comparando a radiação que é transmitida pela amostra com um feixe de referência. Qualquer frequência absorvida pela amostra será evidenciada pela diferença entre os feixes. O espectrômetro então registra os resultados na forma de um gráfico, mostrando a absorbância versus a frequência ou o comprimento de onda (SOLOMONS, 2000).

### **2.7.10 Calorimetria exploratória diferencial**

Calorimetria exploratória diferencial é uma técnica que possibilita determinar a temperatura de transição vítrea ( $T_g$ ) de um material, isto é, o valor médio da faixa de temperatura que durante o aquecimento de um material polimérico, de uma temperatura muito baixa para valores mais altos, permite que as cadeias poliméricas da fase amorfa adquiram mobilidade, isto é, possibilite a mudança de conformação (CANEVAROLO, 2001). Acima da temperatura  $T_g$ , o material se encontra no domínio gomoso (*like-liquid rubbery*); abaixo da  $T_g$ , o mesmo está no estado vítreo. Neste estado, os movimentos moleculares estão restritos a movimentos rotacionais e movimentos de extremidades de fraca amplitude. Com o aumento da temperatura, ao se ultrapassar a  $T_g$ , as cadeias de macromoléculas aumentam sua mobilidade. Neste ponto, as propriedades físicas e mecânicas sofrem uma forte mudança de comportamento (CANEVAROLO, 2001).

Esta técnica pode ser aplicada na determinação das temperaturas de transições em polímeros, como a transição vítrea ( $T_g$ ), temperatura de cristalização ( $T_c$ ) e temperatura de fusão ( $T_m$ ). A Figura 6 ilustra as principais transições térmicas observadas em um termograma de DSC

(GIACOMELLI, 2005).

Filmes de gelatina puros apresentaram uma  $T_g$  de  $214,1^\circ\text{C}$ , enquanto os mesmos filmes, plastificados com sorbitol, tiveram uma  $T_g$  de  $132,1^\circ\text{C}$  (PORTO, 2007).

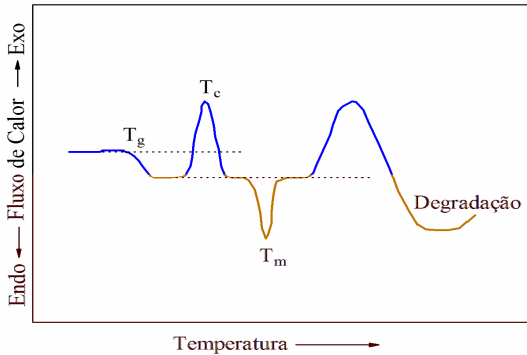


Figura 6 - Ilustração dos processos térmicos obtidos por DSC.  
Fonte: Giacomelli (2005).

## 2.8 O mirtilo

Quanto à classificação botânica, o mirtilo é membro da família *Ericaceae*, da subfamília *Vaccinoideae* e gênero *vaccinium*. O mirtilo é nativo da América do Norte, dos Estados Unidos e do Canadá onde é denominado *blueberry* (RASEIRA, 2004).



Figura 7 - Mirtilo (*Vaccinium* sp.)  
Fonte: Acervo do autor.

A América do Norte é o principal produtor de mirtilos, com aproximadamente 90% da produção mundial, sendo responsável pelo fornecimento de cerca de 44% das *blueberries* importadas pelo mercado de Hong Kong (MORENO et al., 2006).

O mirtilo é cultivado também em alguns países da Europa, Chile e outros. No Brasil o potencial cultivo do mirtilo, aponta a *Vaccinium ashei* como a espécie mais adaptável às condições do Sul do Brasil (KLUGE et al., 1994).

Os mirtilos tornaram-se um produto de interesse nos últimos anos devido a seus benefícios nutricionais e funcionais. Eles são fontes de vitamina A e C, minerais e fibras. Adicionalmente, os mirtilos contêm substâncias fenólicas como flavonóides, taninos e antocianinas que são de especial significância por que contribuem para a cor e sabor da fruta fresca (MORENO et al., 2006).

Considerando as propriedades antioxidantes dos mirtilos, muitos estudos têm sido publicados nesta área.

Koca e Karadeniz (2009) analisaram frutas de *blackberries* e *blueberries* para os parâmetros de antocianinas totais, fenólicos totais e atividade antioxidante através da redução de ferro. Foram encontrados os seguintes valores para antocianina total e fenólicos totais: *blackberries*, 0,95-1,97 e 1,73-3,79 mg.g<sup>-1</sup> e *blueberries*, 0,18-2,94 e 0,77-5,42 mg.g<sup>-1</sup>. Também o poder antioxidante através da redução férrica variou de 35,05 a 70,41  $\mu\text{mol g}^{-1}$  para *blackberries* e de 7,41 a 57,92  $\mu\text{mol g}^{-1}$  para *blueberries*. *Blackberries* tiveram um mais alto valor para a atividade antioxidante enquanto *blueberries* tiveram o mais alto valor para compostos fenólicos totais e conteúdo de antocianinas totais.

Serafini et al. (2008) verificaram que a atividade antioxidante da fruta de mirtilo é prejudicada através da associação com leite. Este estudo avaliou a biodisponibilidade de compostos fenólicos e antioxidantes do plasma *in vivo* após o consumo de mirtilos (*Vaccinium corymbosum* L.) com e sem leite. Neste estudo, 11 voluntários saudáveis consumiram 200 g de mirtilos e 200 mL de água ou 200 g de mirtilos mais 200 mL de leite integral. As amostras de plasma sanguíneo foram coletadas no início, 1, 2 e 5 horas pós-consumo. A ingestão de mirtilos e água aumentou os níveis de antioxidantes plasmáticos (+ 6,1%, p<0,001; +11,1%, p<0,05) e as concentrações plasmáticas de ácido cafeico e ferúlico. Quando mirtilos e leite foram ingeridos, não houve aumento na capacidade antioxidante do plasma. Houve redução nas concentrações plasmáticas de ácido cafeico e ferúlico (- 49,7%, p<0,001 e -19,8%, p<0,05, respectivamente), bem como a absorção total (AUC)

de ácido caféico ( $p < 0,001$ ). O estudo demonstrou que a ingestão *in vivo* de mirtilos em associação com o leite reduz os níveis antioxidantes plasmáticos bem como a absorção do ácido cafeico. ”

Min-Sheng e Silva (2005) avaliaram a atividade antioxidante, antocianina e fenólica do mirtilo “*rabbiteye*” ( *Vaccinium ashei*) em produtos afetados pela fermentação como vinho e vinagre. Como resultado constataram que o nível de fenol total, atividade antioxidante e atividade anti-radical foi maior no vinho; enquanto no vinagre obtiveram baixo nível de antocianina total e atividade antioxidante e atividade anti-radical. Os resultados indicaram que o antioxidante e atividade anti-radical de produtos de mirtilo não eram significativamente afetadas pelo processo de fabricação de vinho. Entretanto no vinagre, apesar de mais baixo, ainda manteve uma importante concentração de fenóis e atividade antioxidante.

Lohachoopol et al. (2008), determinaram as antocianinas em vários cultivares de “*highbush*” e “*rabbiteye*” mirtilos. As antocianinas foram identificadas e quantificadas em diferentes cultivares de mirtilo cultivados na Austrália. Cultivares tais como Crunchie, Star e Sharpe( “*highbush*,” *Vaccinium corymbosum* L.) e Clímax, Powderblue e Brightwell (“*Rabbiteye*,” *Vaccinium ashei*) foram analisadas. O perfil de antocianina foi semelhante em todas as cultivares, mas as proporções de cada composto foram dependentes do cultivar. As cultivares do grupo “*highbush*,” apresentaram mais cedo picos eluídos, ou seja, as antocianinas mais polares que quando comparadas as cultivares do grupo “*rabbiteye*”. Clímax teve o maior teor de antocianinas ( $13,7 \pm 1,4$  g cianidina 3-glicosídeo equivalente  $\text{kg}^{-1}$  peso seco) e atividade antioxidante (com 2,2-difenil-1-picrilhidrazil como radical livre) de todas as cultivares testadas. As “*rabbiteye*” apresentaram um teor significativamente superior de antocianinas do que as cultivares “*highbush*,”.

Matsuo et al. (2010) analisaram os constituintes químicos das folhas de mirtilo (*Vaccinium ashei* Reade) em detalhes. Os principais componentes fenólicos foram ácido caféico, flavonóides glicosilados e proantocianidinas. Os polifenóis mais abundantes foram as proantocianidinas oligoméricas.

Castrejón et al. (2008) verificaram o teor de fenólicos totais e principais compostos fenólicos de quatro cultivares de mirtilo “*highbush*,” (*Vaccinium corymbosum* L.) que foram avaliados em cinco estágios de maturação e amadurecimento. Como resultado verificaram que o teor de antocianinas de todas as variedades aumentaram durante a colheita nos sucessivos estágios de maturação, entretanto flavonóides e



ácidos hidroxicinâmicos diminuíram durante a mudança de coloração verde para azul na fase de maturação das frutas. A atividade antioxidante, bem como o conteúdo fenólico total, tendeu à diminuição durante o amadurecimento.

Srivastava et al. (2007) avaliaram o efeito da temperatura ( $5 \pm 1$ ;  $20 \pm 1$ ;  $23 \pm 1$ ; e  $35 \pm 1^\circ\text{C}$ ) e tempo de armazenamento (15, 30, 45 e 60 dias) sobre os compostos fenólicos totais e atividade antioxidante de extratos de mirtilo. Não houve perda significativa ( $p < 0,05$ ) durante 30 dias de armazenamento para compostos fenólicos totais, antocianinas e atividade antioxidante a  $20^\circ\text{C}$ . Porém, houve perda significativa ( $p < 0,05$ ) de compostos fenólicos e diminuição da atividade antioxidante quando armazenados em temperaturas de 5, 23 e  $35^\circ\text{C}$ .

Rodrigues (2009) avaliou a atividade antioxidante *in vitro* e perfil fenólico de cultivares de mirtilo (*Vaccinium* sp.) produzidas no Brasil. Foram coletadas amostras representativas das espécies *Vaccinium corymbosum* e *Vaccinium ashei* Reade, totalizando 10 cultivares. As cultivares representantes da espécie *Vaccinium ashei* Reade apresentaram, em geral, uma maior concentração de compostos fenólicos, antocianinas monoméricas totais e atividade antioxidante do que a cultivar *Bluecrop*, única representante da espécie *Vaccinium corymbosum* avaliada. Foi encontrada uma correlação moderada ( $p < 0,05$ ) entre a atividade antioxidante e a concentração de compostos fenólicos totais e antocianinas monoméricas totais. Os ácidos protocatecuico e clorogênico foram encontrados como compostos fenólicos majoritários, em concentrações variando de 39,62 a 110,86 e 18,18 a 33,16  $\text{mg}\cdot 100\text{ g}^{-1}$  PF respectivamente. Em geral, as cultivares de mirtilo produzidas no Brasil apresentam o mesmo perfil qualitativo de ácidos fenólicos e flavonóides não - antociânicos, porém apresentam diferentes concentrações destes compostos em sua composição. A Tabela 1 apresenta o teor de compostos fenólicos totais, antocianinas monoméricas totais e relação antocianinas monoméricas totais e compostos fenólicos totais de diversos cultivares de mirtilo (*Vaccinium* sp.) produzidos no Brasil analisados por Rodrigues (2009).

Tabela 1 - Compostos fenólicos totais (FT), antocianinas monoméricas totais (AMT) e relação AMT/FT de cultivares de mirtilo (*Vaccinium* sp.) produzidas no Brasil

CULTIVAR	FT (mg.100 g <sup>-1</sup> )*	AMT (mg.100 g <sup>-1</sup> )**	AMT/FT***
<i>Vaccinium corymbosum</i> L.			
<i>Bluecrop</i> <sup>b</sup>	274,48 ± 15,83 <sup>G</sup>	40,62 ± 3,17 <sup>G</sup>	0,15
<i>Vaccinium corymbosum</i> L.			
<i>Delite</i> <sup>d</sup>	418,67 ± 5,63 <sup>D</sup>	231,47 ± 5,92 <sup>C</sup>	0,55
<i>Powderblue</i> <sup>a</sup>	675,57 ± 10,25 <sup>A</sup>	245,48 ± 19,71 <sup>C</sup>	0,36
<i>Bluegem</i> <sup>a</sup>	336,57 ± 1,92 <sup>F</sup>	265,99 ± 23,95 <sup>B</sup>	0,79
<i>Clímax</i> <sup>a</sup>	288,03 ± 8,10 <sup>G</sup>	240,50 ± 37,51 <sup>C</sup>	0,83
<i>Flórida M</i> <sup>a</sup>	332,96 ± 24,67 <sup>F</sup>	278,76 ± 19,92 <sup>B</sup>	0,84
<i>Woodard</i> <sup>a</sup>	378,55 ± 26,91 <sup>E</sup>	254,89 ± 18,39 <sup>B</sup>	0,67
<i>Bluebelle</i> <sup>d</sup>	339,39 ± 18,28 <sup>F</sup>	238,85 ± 15,56 <sup>C</sup>	0,70
<i>Powderblue</i> <sup>c</sup>	436,69 ± 13,91 <sup>D</sup>	220,29 ± 18,19 <sup>D</sup>	0,50
<i>Briteblue</i> <sup>c</sup>	482,64 ± 14,36 <sup>C</sup>	258,17 ± 30,38 <sup>B</sup>	0,53
<i>Flórida M</i> <sup>c</sup>	340,41 ± 6,98 <sup>F</sup>	69,97 ± 4,82 <sup>F</sup>	0,21
<i>Bluebelle</i> <sup>c</sup>	557,33 ± 18,58 <sup>B</sup>	162,85 ± 14,56 <sup>E</sup>	0,29
<i>Bluegem</i> <sup>c</sup>	542,45 ± 21,36 <sup>B</sup>	186,66 ± 9,61 <sup>E</sup>	0,34
<i>Clímax</i> <sup>e</sup>	694,60 ± 47,39 <sup>A</sup>	234,08 ± 19,69 <sup>C</sup>	0,34
<i>Tifblue</i> <sup>e</sup>	450,62 ± 6,63 <sup>D</sup>	378,31 ± 16,23 <sup>A</sup>	0,84
<b>Média ± DP</b>	<b>448,18 ± 128,63</b>	<b>233,31 ± 67,63</b>	<b>0,56</b>

Valores em peso fresco (PF) de mirtilo expressos como média ± desvio-padrão (n=3).

\* Fenólicos totais expressos em equivalente a ácido gálico.

\*\* Antocianinas totais expressas em equivalente a cianidina-3-glicosídeo.

AT/FT\*\*\* = antocianinas/fenólicos totais.

<sup>a</sup> Caxias do Sul (RS), <sup>b</sup> Vacaria (RS), <sup>c</sup> Pelotas (RS), <sup>d</sup> Campos do Jordão (SP), <sup>e</sup> Barbacena (MG).

Valores seguidos de letras diferentes, na mesma coluna, indicam diferença significativa (p < 0,05).

Fonte: Rodrigues (2009).

A Tabela 2 apresenta a atividade antioxidante (pelos métodos ABTS, DPPH e FRAP) em estudo de Rodrigues (2009).

Tabela 2 - Atividade antioxidante (ABTS, DPPH e FRAP) de cultivares de mirtilo (*Vaccinium* sp.) produzidas no Brasil.

CULTIVAR	ABTS <sup>1</sup> ( $\mu\text{mol.100 g}^{-1}$ )	DPPH <sup>1</sup> ( $\mu\text{mol.100 g}^{-1}$ )	FRAP <sup>1</sup> ( $\mu\text{mol.100 g}^{-1}$ )
<i>Vaccinium corymbosum</i> L.			
<i>Bluecrop</i> <sup>b</sup>	1253,90 $\pm$ 87,55 <sup>G</sup>	1244,13 $\pm$ 12,49 <sup>F</sup>	699,78 $\pm$ 16,47 <sup>E</sup>
<i>Vaccinium ashei</i> Reade			
<i>Delite</i> <sup>d</sup>	1931,90 $\pm$ 60,30 <sup>C</sup>	1756,11 $\pm$ 60,11 <sup>B</sup>	1194,15 $\pm$ 30,67 <sup>D</sup>
<i>Powderblue</i> <sup>a</sup>	1929,20 $\pm$ 150,15 <sup>C</sup>	1907,97 $\pm$ 154,77 <sup>A</sup>	1318,41 $\pm$ 2,16 <sup>C</sup>
<i>Bluegem</i> <sup>a</sup>	1571,69 $\pm$ 35,10 <sup>E</sup>	1473,58 $\pm$ 31,71 <sup>D</sup>	1044,20 $\pm$ 37,62 <sup>D</sup>
<i>Clímax</i> <sup>a</sup>	1419,66 $\pm$ 27,70 <sup>F</sup>	1227,88 $\pm$ 15,53 <sup>F</sup>	868,36 $\pm$ 10,09 <sup>E</sup>
<i>Flórida M</i> <sup>a</sup>	1420,42 $\pm$ 84,63 <sup>F</sup>	1348,76 $\pm$ 144,05 <sup>E</sup>	1126,72 $\pm$ 82,68 <sup>D</sup>
<i>Woodard</i> <sup>a</sup>	1975,60 $\pm$ 109,73 <sup>C</sup>	1653,50 $\pm$ 94,22 <sup>C</sup>	1285,94 $\pm$ 42,93 <sup>C</sup>
<i>Bluebelle</i> <sup>d</sup>	1678,12 $\pm$ 94,27 <sup>D</sup>	1478,40 $\pm$ 128,47 <sup>D</sup>	1271,48 $\pm$ 106,67 <sup>C</sup>
<i>Powderblue</i> <sup>c</sup>	2293,20 $\pm$ 150,46 <sup>AB</sup>	1935,84 $\pm$ 47,91 <sup>A</sup>	1530,77 $\pm$ 149,59 <sup>B</sup>
<i>Briteblue</i> <sup>c</sup>	2185,00 $\pm$ 97,93 <sup>B</sup>	2055,06 $\pm$ 134,12 <sup>A</sup>	1429,67 $\pm$ 42,61 <sup>B</sup>
<i>Flórida M</i> <sup>c</sup>	1238,50 $\pm$ 48,45 <sup>G</sup>	1014,20 $\pm$ 81,56 <sup>G</sup>	732,79 $\pm$ 40,63 <sup>E</sup>
<i>Bluebelle</i> <sup>c</sup>	2438,90 $\pm$ 133,90 <sup>A</sup>	1983,00 $\pm$ 121,40 <sup>A</sup>	1544,64 $\pm$ 126,38 <sup>B</sup>
<i>Bluegem</i> <sup>c</sup>	2445,96 $\pm$ 227,75 <sup>A</sup>	1873,19 $\pm$ 55,8 <sup>B</sup>	1740,25 $\pm$ 161,66 <sup>A</sup>
<i>Clímax</i> <sup>e</sup>	1951,61 $\pm$ 22,11 <sup>C</sup>	1917,02 $\pm$ 61,91 <sup>A</sup>	1262,03 $\pm$ 22,20 <sup>C</sup>
<i>Tifblue</i> <sup>e</sup>	2028,80 $\pm$ 128,01 <sup>C</sup>	1727,95 $\pm$ 69,12 <sup>B</sup>	1163,95 $\pm$ 35,62 <sup>D</sup>
<b>Média <math>\pm</math> DP</b>	<b>1893,47 <math>\pm</math> 382,89</b>	<b>1668,03 <math>\pm</math> 315,12</b>	<b>1250,95 <math>\pm</math> 266,90</b>

Valores em peso fresco (PF) de mirtilo expressos como média  $\pm$  desvio-padrão (n=3).

<sup>1</sup> Expresso em  $\mu\text{mol.100 g}^{-1}$  de TEAC (Atividade antioxidante equivalente ao Trolox).

<sup>a</sup> Caxias do Sul, <sup>b</sup> Vacaria, <sup>c</sup> Pelotas, <sup>d</sup> Campos do Jordão, <sup>e</sup> Barbacena.

Valores seguidos de letras diferentes, na mesma coluna, indicam diferença significativa ( $p < 0,05$ ).

Fonte: Rodrigues, (2009).

A cultura é considerada como uma das mais promissoras para o Sul do Brasil, devido às condições edafoclimáticas favoráveis à adaptação de muitos cultivos nessa região. Além disso, o período de produção ocorre na entressafra de países do Hemisfério Norte, favorecendo a exportação. No entanto, a área de plantio comercial de mirtilo na região Sul é, basicamente, de interesse para instituições de

pesquisa. Um dos principais entraves à expansão da cultura é a pouca disponibilidade de mudas, agravado pela baixa qualidade e alto custo das mesmas, em função da dificuldade de propagação da maioria dos cultivares (RASEIRA, 2004). Também outros fatores foram verificados durante o desenvolvimento deste trabalho, que dificultam a expansão desta cultura no sul do Brasil: alto custo de implantação da lavoura, uma vez que depende de instalação de sistemas de irrigação, sistematização da área, isto é, preparo do solo para plantio das mudas e alto custo da matéria orgânica, tendo em vista que os solos da região sul são muito argilosos e necessitam de nutrientes. A falta de mão de obra especializada para a colheita, uma vez que a mesma é feita manualmente, é também um fator importante, pois os frutos são muito delicados; distância dos mercados consumidores, acarretando alto custo em transporte e armazenagem, são entraves a expansão desta cultura.

## 2.9 O fruto e sua conservação

Durante o armazenamento ocorre uma série de alterações químicas e físicas, as quais diminuem a qualidade dos frutos. Estas mudanças evidenciadas pela alteração de peso da fruta, mudança de coloração, firmeza, acidez, teor de sólidos totais deve-se a que os frutos, depois de colhidos, continuam vivos, mantendo ativas as funções do metabolismo vegetal como a respiração e a transpiração (COUTINHO; CANTILLANO, 2004).

### 2.9.1 Alterações dos frutos devido a processos físico-químicos

#### 2.9.1.1 Processos físicos

Transpiração:

Em frutos, o processo físico mais importante está relacionado com a transpiração. Denomina-se transpiração, a perda de água em forma de vapor pelos tecidos, sendo que esta ocorre porque os frutos contêm entre 85 a 90% de água na sua constituição, o que equivale a uma pressão de vapor interna de água equivalente a 99% de umidade relativa (UR). Esta é a principal causa da perda de peso dos frutos durante a pós-colheita (COUTINHO; CANTILLANO, 2004).

Perdas de peso, acima de 3-5%, resultam em aparência pouco atrativa, reduzindo, até mesmo, o valor comercial e a qualidade do

produto (COUTINHO; CANTILLANO, 2004).

Existem fatores que condicionam a perda de água. Entre estes se destacam os ambientais (temperatura, umidade relativa, *deficit* de pressão de vapor do ar e pressão atmosférica) e os biológicos (tamanho, presença de ceras naturais na superfície, espessura da cutícula, danos na superfície, estado de maturação, etc.). Assim, como medida de prevenção para diminuir a perda de água recomenda-se baixar a temperatura, além de aumentar a umidade relativa e revestir os frutos (modificação da atmosfera com ceras, filmes poliméricos, etc. (COUTINHO; CANTILLANO, 2004).

### 2.9.1.2 Processos químicos e bioquímicos

#### Respiração:

O principal processo é a respiração (degradação oxidativa de produtos mais complexos presentes na célula, tais como amido, açúcares e ácidos orgânicos, em moléculas mais simples como dióxido de carbono e água, com liberação de energia). Os frutos, após a colheita, respiram continuamente, utilizando as reservas armazenadas, consumindo, deste modo, o oxigênio e desprendendo o gás carbônico (COUTINHO; CANTILLANO, 2004).

A insuficiência de respiração pode ser considerada a principal forma de diferenciar a conservação de frutos processados dos frutos *in natura*. De tal modo, quanto mais baixas as taxas respiratórias, mais rápida será a deterioração (COUTINHO; CANTILLANO, 2004).

Os frutos, segundo padrão respiratório, são classificados em climatérios (onde a produção de CO<sub>2</sub> e o consumo O<sub>2</sub>, diminuem antes da colheita, durante certo tempo, para logo aumentar rapidamente, até um máximo e, em seguida diminuir, provocando a morte do fruto); e em não climatérios (a taxa respiratória do fruto diminui gradativamente, desde a colheita até que o fruto atinja o estágio final de senescência, de acordo com a respectiva taxa respiratória e de produção de etileno (COUTINHO; CANTILLANO, 2004).

Existem também frutos que apresentam comportamento intermediário. O mirtilo é considerado não climatério e nestes frutos a intensidade respiratória diminui gradualmente da colheita à senescência. Como eles não amadurecem fora da planta, a colheita deve ser realizada no estado quase ótimo de maturação para consumo (SOUSA, 2007).

A taxa respiratória aumenta à medida que se incrementa a temperatura e, de modo geral, quando a temperatura aumenta em 10 °C,

a intensidade respiratória aumenta, em média, de duas a três vezes (COUTINHO; CANTILLANO, 2004). A Tabela 3 apresenta a taxa de respiração do mirtilo a distintas temperaturas conforme estudo de Coutinho e Cantillano (2004).

Tabela 3 - Taxa de respiração do mirtilo a distintas temperaturas.

Temperatura (°C)	mg.CO <sub>2</sub> Kg <sup>-1</sup> h <sup>-1</sup>
0	2-10
4-5	9-12
10	23-35
15-16	34-62
20-21	52-87
25-17	78-124

Fonte: COUTINHO e CANTILLANO (2004).

### 2.9.1.3 Micro-organismos

Fungos e bactérias são os micro-organismos mais significantes como agentes causadores de doenças que passam a existir após a colheita e durante o armazenamento, constituindo-se, dessa maneira, em um dos principais fatores de perdas qualitativas e quantitativas de frutos (COUTINHO; CANTILLANO, 2004).

## 2.10 Fatores de pós-colheita que condicionam a conservação

### 2.10.1 Grau de maturação do fruto

O grau ótimo de maturação do fruto no momento da colheita é de essencial importância, pois influencia diretamente na palatabilidade e consequente aceitação pelo consumidor, como também o máximo tempo de armazenamento (COUTINHO; CANTILLANO, 2004).

Deste modo, frutos colhidos imaturos, mesmo que estes recebam um manejo adequado de pós-colheita, possuem uma qualidade comercial e uma apresentação variavelmente, inferior aquele colhido com grau ótimo de maturação (COUTINHO; CANTILLANO, 2004).

Recomenda-se, independentemente do cultivo, que os frutos

apresentem as seguintes características químicas e físicas na colheita, conforme Tabela 4.

Tabela 4 - Valores médios de características físico-químicas de frutos de mirtilo.

<b>Características</b>	<b>Valor Médio</b>
Peso (g)	1,0-1,30
Sólidos solúveis totais (°Brix)	13,0-14,0
Acidez titulável (% ácido cítrico)	0,4-0,5
Relação SST/AT	36,0-37,0
Firmeza (libras)	9,0-10,0

Fonte: COUTINHO e CANTILLANO (2004).

### **2.10.2 Cuidados na colheita dos frutos de mirtilo**

Os seguintes cuidados são indispensáveis no momento da colheita do fruto de mirtilo (COUTINHO; CANTILLANO, 2004):

- não provocar qualquer tipo de dano mecânico no fruto;
- realizar a colheita nas horas mais frescas do dia;
- não realizar a colheita logo após a ocorrência de chuvas fortes;
- procurar colher os frutos com o mesmo grau de coloração;
- não realizar o empilhamento excessivo de caixas.

### **2.10.3 Pré-resfriamento**

O pré-resfriamento consiste em uma rápida eliminação do calor que o fruto possui ao ser colhido. Desta maneira, este processo é realizado antes do armazenamento definitivo do fruto. O objetivo é reduzir, rapidamente, os processos de respiração e de transpiração, constituindo-se na primeira etapa da cadeia de frio.

No entanto, para que esta cadeia seja eficaz, deve ser realizado em um tempo mínimo, cerca de 4 horas após a colheita (COUTINHO; CANTILLANO, 2004).

## 2.10.4 Armazenamento

No que se refere ao armazenamento do fruto pode-se afirmar que:

- Ambiente: os mirtilos são armazenados em condições ambientes (20-25 °C e 65-70% de UR). Os frutos são conservados durante, no máximo, 10 dias, dependendo do cultivo (COUTINHO; CANTILLANO, 2004);
- Refrigerado: o armazenamento ocorre por meio de produtos em câmaras com circulação de ar resfriado, por meio de uma planta de refrigeração (COUTINHO; CANTILLANO, 2004);
- Em atmosfera modificada: o termo armazenamento em atmosfera modificada é utilizado quando a composição da atmosfera de armazenamento não é hermeticamente fechada e a utilização de filmes plásticos é o material em que ocorrem as alterações da composição da atmosfera, como o oxigênio, o nitrogênio, o dióxido de carbono, o etileno etc., dependente ou involuntariamente (COUTINHO; CANTILLANO, 2004);
- Em atmosfera controlada: na atmosfera controlada se exige os mesmos princípios da modificada, entretanto, esta difere quanto ao controle dos níveis de CO<sub>2</sub> e O<sub>2</sub>, durante o armazenamento; estes devem ser constantemente monitorados e mantidos em valores toleráveis, com o intuito de que para cada espécie de cultivar é significativa (COUTINHO; CANTILLANO, 2004).

## 2.11 Qualidade e índices físico-químicos

As qualidades e índices físico-químicos apresentam-se em relação às transformações morfológicas, fisiológicas e bioquímicas de frutos e hortaliças durante o desenvolvimento, maturação e senescência. Na produção de frutos e hortaliças devem-se caracterizar bem os índices físico-químicos, de tal forma que os produtos obtidos apresentem ótima qualidade e bom rendimento (CHITARRA; CHITARRA, 1990). Dentre estes índices físico-químicos os mais utilizados são: perda de massa, sólidos solúveis totais (SST), acidez total titulável (ATT), pH e relação SST/ATT.



### **2.11.1 Perda de massa**

A perda de massa de frutas e hortaliças durante o armazenamento ocorre principalmente devido a dois fatores: a transpiração e a respiração. A transpiração, que é a maior responsável pela perda de massa, é o mecanismo pelo qual a água é perdida devido à diferença de pressão de vapor d'água entre a atmosfera circundante e a superfície do fruto (BHOWMIK; PAN, 1992). De acordo com Chitarra e Chitarra (1990), quando essa perda d'água é suficientemente alta altera a aparência e a aceitabilidade do produto como alimento. A respiração, por sua vez, também causa redução de massa, pois átomos de carbono são perdidos do fruto toda vez que uma molécula de CO<sub>2</sub> é produzida e perdida para a atmosfera (BHOWMIK; PAN, 1992).

A perda de água de produtos armazenados não só resulta em perda de massa, mas também em perda de qualidade, principalmente pelas alterações na textura. Alguma perda de água pode ser tolerada, mas aquela responsável pelo murchamento ou enrugamento deve ser evitada. O murchamento pode ser retardado, reduzindo-se a taxa de transpiração, o que pode ser feito por aumento da umidade relativa do ar, diminuição da temperatura, redução do movimento do ar e uso de embalagens protetoras (BARROS et al., 1994). Dentre as embalagens protetoras podemos citar os filmes plásticos, as ceras e os filmes comestíveis (VICENTINI et al., 1999).

### **2.11.2 Acidez total titulável (ATT) e pH**

A acidez de um fruto é dada pela presença dos ácidos orgânicos que servem de substratos para a respiração. Assim, a variação da acidez pode ser um indicativo do estágio de maturação do fruto, já que a acidez decresce em função do avanço da maturação. Em alguns casos, há um pequeno aumento nos valores com o avanço da maturação (CHITARRA; CHITARRA, 1990).

Os ácidos degradam rapidamente depois da colheita se o fruto for mantido à temperatura ambiente. Este decréscimo pode ser retardado pelo uso do frio ou com atmosferas controladas. A relação entre açúcares e ácidos é muito importante na caracterização das variedades dos frutos e sua evolução; em geral, é inversa em respectivas concentrações; enquanto os açúcares aumentam com o amadurecimento, os ácidos diminuem. Por este fato, vários índices de qualidade foram propostos na tentativa de explicar o efeito dos ácidos e açúcares no

sabor dos frutos (CARVALHO FILHO, 2000).

O pH dos frutos de mirtilo aumenta no decorrer do amadurecimento e influencia as características sensoriais e a capacidade de conservação dos mesmos, geralmente é inferior a 4,5 (SOUSA, 2007).

### **2.11.3 Sólidos solúveis totais (SST)**

Os sólidos solúveis totais representam os compostos solúveis em água presentes nos frutos, como açúcares, vitaminas, ácidos, aminoácidos e algumas pectinas. O teor de sólidos solúveis é dependente do estágio de maturação no qual o fruto é colhido e, geralmente, aumenta durante a maturação pela biossíntese ou degradação de polissacarídeos. São comumente designados como °Brix e têm tendência de aumento com a maturação. Estes sólidos podem ser medidos com auxílio de refratômetro (CHITARRA; CHITARRA, 1990).

A variação dos sólidos solúveis totais durante o amadurecimento e armazenamento é composta em grande parte por açúcares que compõem o sabor dos frutos, em equilíbrio com os ácidos orgânicos. Quando ocorre perda de massa há favorecimento no teor de sólidos solúveis, isto porque há concentração nos teores de açúcares no interior dos tecidos (KLUGE; MINAMI, 1997).

Coutinho e Cantillano (2004) relataram um valor médio 13-14 °Brix de sólidos solúveis totais para frutos de mirtilo.

### **2.11.4 Relação SST/ATT**

A razão SST/ATT determina o sabor das frutas uma vez que é a relação entre os açúcares solúveis, isto é, a doçura e a quantidade de ácidos livres presentes na fruta. Quanto maior for esta razão, mais doces serão os frutos, sendo um importante atributo de qualidade (KAYS, 1991).

Coutinho e Cantillano (2004) relataram um valor médio 36-37 para a razão SST/ATT, para frutos de mirtilo.

### 3 MATERIAL E MÉTODOS

O presente estudo foi conduzido em parte no laboratório de análises da empresa Gelnex Indústria e Comércio Ltda., localizada no município de Itá, Santa Catarina. As análises de propriedades mecânicas e transparência, nos laboratórios de análises do Centro de Ciência dos Alimentos da Universidade Federal de Santa Catarina, localizado em Florianópolis e os experimentos quanto permeabilidade a vapor de água e CO<sub>2</sub> no Centro de Tecnologia de Embalagens (CETEA/ITAL) localizado na cidade de Campinas, São Paulo.

#### 3.1 Material

A gelatina 250 Bloom de origem bovina utilizada para a produção dos filmes foi obtida através da empresa Gelnex Indústria e Comércio Ltda., localizada no município de Itá, Santa Catarina, Brasil.

Segundo laudo do fornecedor, a gelatina utilizada possui as seguintes características:

- Bloom (6.6%): 250 g
- Viscosidade (6.6%): 35.5 mps
- Umidade (105°C): 9.3 %
- Resíduos por ignição: 1,1%
- Granulometria: 30 mesh

Os frutos de mirtilo do grupo “Rabbiteye”, cultivar Clímax foram doados pela empresa Niceberry do Brasil, os quais foram colhidos no dia 7 de janeiro de 2010 às 8h30min. e submetidos a um processo de limpeza e, posteriormente, utilizados na realização dos testes.

Os demais materiais utilizados para o experimento foram: glicerol, ácido esteárico, benzoato de sódio, *Tween* 20, *Tween* 80 e a água destilada. Todos os reagentes utilizados para o experimento foram de qualidade analítica (p.a).

## 3.2 Metodologia

### 3.2.1 Preparação dos biofilmes de gelatina

Para o preparo dos filmes foi empregada a técnica de *casting* que consiste no preparo da solução coloidal, composta de água, gelatina e aditivos, aplicação em um suporte, seguida de secagem.

Foram preparadas soluções de gelatina bovina 250 Bloom a 10% (m/m), o plastificante (glicerol) foi adicionado à solução na proporção de 1:10 da massa de gelatina presente na solução, constituindo a solução filme formadora A.

Em 100 mL de água dissolveu-se o glicerol e, em seguida, adicionou-se a gelatina e mantendo-se na sequência em repouso por um período de 20 minutos.

Após este período, a gelatina foi solubilizada à temperatura de 65 °C, utilizando-se um banho termostático.

A solubilização foi realizada (de modo a evitar a formação de bolhas), por um período de 30 minutos.

À solução filme formadora A, foram adicionados os seguintes componentes: um conservante (Benzoato de sódio), surfactantes (Tween 20 e 80) bem como a adição de um ácido graxo, o ácido esteárico (C18:0).

As soluções filmes formadoras foram designadas como:

- GG - Solução filme formadora A (gelatina + glicerol);
- GA<sub>3</sub>T<sub>20</sub> - Solução filme formadora A + 3% ácido esteárico (em relação à massa seca de gelatina) + 1% Tween 20 (em relação à massa seca de gelatina);
- GA<sub>5</sub>T<sub>20</sub> - Solução filme formadora A + 5% (m/m) de ácido esteárico + 1% (m/m) de Tween 20;
- GA<sub>6</sub>T<sub>20</sub> - Solução filme formadora A + 6.6% (m/m) de ácido esteárico + 1% (m/m) de Tween 20;
- GA<sub>8</sub>T<sub>20</sub> - Solução filme formadora A + 8% (m/m) de ácido esteárico + 1% (m/m) de Tween 20;
- GA<sub>10</sub>T<sub>20</sub> - Solução filme formadora A + 10% (m/m) de ácido esteárico + 1% (m/m) de Tween 20;
- GBT<sub>80</sub> - Solução filme formadora A + 1% (m/m) de benzoato de sódio + 1% (m/m) de Tween 80.

As soluções filmogênicas formadas foram dispersas em placas de Petri de poliestireno de 50,24 cm<sup>2</sup> para evaporação do solvente a

temperatura ambiente ( $25 \pm 1$  ° C) em capela e os filmes armazenados para posterior utilização e análises.

Foram realizadas análises visuais e táteis de forma subjetiva, visando à eliminação de filmes com falhas estruturais. Dentre estas análises preliminares foram observadas as seguintes características:

**Homogeneidade:** presença de partículas insolúveis visíveis a olho nu, coloração uniforme (ausência de zonas opacas ou com coloração distinta), ausência de rupturas e/ou fraturas que interrompam a continuidade estrutural do filme.

**Flexibilidade:** facilidade de separação do suporte de manuseio e elasticidade quando submetido ao tato, não podendo, portanto, apresentar rupturas ou zonas quebradiças.

Foram desprezados filmes que apresentavam partículas insolúveis de gelatina, dificuldade de desprendimento do suporte (excessivamente pegajosos), bolhas superficiais, pouco flexíveis (geralmente ocorria fraturas durante o desprendimento do suporte), coloração não uniforme e espessura não homogênea.

### **3.2.2 Planejamento experimental**

O delineamento experimental adotado foi baseado em alguns testes preliminares realizados em esquema inteiramente casualizado, constituído de 2 tratamentos e 30 dias (separados por períodos de 5 dias) para as variáveis de pH, acidez total titulável (ATT), sólidos solúveis totais (SST), relação SST/ATT. Sendo que cada tratamento foi composto por 3 repetições com 3 mirtilos. Para a perda de massa o delineamento foi também inteiramente casualizado constituído de 2 tratamentos e 30 dias (separados por períodos de 5 dias), sendo que cada tratamento foi composto por 1 repetição com 100 mirtilos.

### **3.2.3 Análises estatísticas**

O tratamento estatístico dos resultados foi realizado utilizando a análise de variância (ANOVA) e o teste de Tukey, no *Windows XP*, ferramenta *Microsoft Excell* versão 2007 e *software Statistica 7.0* (2004). Os dados são apresentados como média $\pm$ desvio padrão. Diferenças a  $p < 0,05$  foram consideradas significativas.

### 3.2.4 Análises das propriedades mecânicas

As propriedades mecânicas dos filmes foram determinadas por teste de tração usando um texturômetro TA- XT.plus (*Stable Micro System*). Os parâmetros tensão máxima de ruptura e deformação na ruptura (%) dos filmes foram determinados. O método ASTM D882-95a (*Standard Test Method for Tensile Properties of Thin Plastic Sheeting*) compreende a determinação de propriedades de tensão ou tração de plásticos em forma de folhas delgadas, incluindo filmes (com menos de 1,0 mm de espessura). As condições de temperatura e umidade relativa do ar no laboratório onde foram efetuados os testes variaram de 25 °C a 62%, e 17 °C a 47%, respectivamente.

Foram efetuadas dez repetições de cada amostra, nas dimensões: 8 cm de comprimento e 2,5 cm de largura. A espessura do filme foi medida quando da realização dos ensaios, com o auxílio de um micrômetro digital (Digimess) com divisões de 0,01 mm. As medidas de espessura utilizadas foram uma média de três medidas, tomadas aleatoriamente. Um microcomputador foi utilizado para gravar as curvas de tensão-deformação com o auxílio de um programa desenvolvido pelo próprio fabricante do equipamento (TA-XT.plus- *Stable Micro System*). As medidas foram efetuadas em um tempo médio de 5 min. para que as condições de temperatura e umidade relativa do ar do laboratório não interferissem nos resultados experimentais.

### 3.2.5 Solubilidade em água

A análise da solubilidade em água dos filmes foi realizada de acordo com o método proposto por Gontartd (1992) com algumas modificações: amostras em forma de quadrados (2cm x 2cm) foram cortadas. O peso inicial foi determinado conhecendo - se a umidade da amostra. As amostras foram imersas em 100 mL de água destilada. O sistema foi agitado lentamente e periodicamente por um período de 24 horas a temperatura ambiente. Após este período as amostras foram estocadas a 105°C, durante 24h, para a determinação da massa seca da amostra (mf). As análises foram feitas em triplicata.

A solubilidade foi expressa em termos de massa dissolvida, de acordo com a Equação 2:

$$\% \text{ MS} = [(m_i - m_f) / m_i] \times 100 \quad (\text{Equação 2})$$

Onde:

% MS = % do material solubilizado

mi = massa inicial da amostra

mf = massa final da amostra

### 3.2.6 Transparência dos filmes

A transparência dos filmes foi determinada de acordo com o método proposto por Tang et al., (2005) em um espectrofotômetro HITACHI, modelo U-1800. Os filmes foram cortados em retângulos (7mm x 25mm x 0,1mm) e introduzidos em um cubeta de quartzo usada para espectrometria. A transparência relativa foi medida através da transmitância (%) em 210 nm e 500 nm. As análises foram realizadas em triplicata.

### 3.2.7 Taxa de permeabilidade ao vapor de água

As taxas de permeabilidade ao vapor d'água foram determinadas para a condição 25 °C/75%UR por meio do método gravimétrico, baseado na metodologia ASTM E 96/E 96 M-05 – *Standart test methods for water vapor transmission of materials*. Esse método se baseia no aumento de peso do cloreto de cálcio anidro, colocado no interior de uma cápsula de alumínio e isolado do ambiente de condicionamento pelo material cuja TPVA se deseja conhecer. A área efetiva de permeação de cada corpo-de-prova foi de 50cm<sup>2</sup>. O ganho de peso foi quantificado em balança analítica Mettler, modelo AT 400, com resolução de 10<sup>-4</sup>g. O condicionamento foi feito em câmara Vötsch - VC0033 com temperatura de 25 ± 0,5 °C e umidade relativa de 75,0 ± 1,0%.

Uma vez determinado o TPVA, calculou-se o coeficiente de permeabilidade ao vapor d'água (P) a partir da taxa de permeabilidade conforme Equação 3.

$$P = \frac{TPVA \cdot e}{(ps - UR_1)} \quad (\text{Equação 3})$$

onde :

P = permeabilidade ao vapor d'água (g água.µm.m<sup>-2</sup>. dia<sup>-2</sup>. mmHg<sup>-1</sup>);

e = espessura média do corpo de prova (µm);

ps = pressão de saturação de vapor à temperatura do ensaio (23,756

mmHg a 25°C);

$UR_1$  = umidade relativa da câmara (75% = fator 0,75), visto que a umidade relativa no interior da cápsula é considerada nula.

As análises foram realizadas utilizando 6 amostras de cada filme testado.

### **3.2.8 Taxa de permeabilidade ao gás carbônico**

Na caracterização dos filmes, as taxas de permeabilidade ao gás carbônico foram determinadas pelo método do aumento da concentração.

Neste ensaio foram utilizadas células de difusão, nas quais um corpo-de-prova foi fixado, formando duas câmaras: superior e inferior. Na câmara superior foi mantido um fluxo de gás permeante que ao permear o corpo-de-prova acumulou-se na câmara inferior fechado para atmosfera. A intervalos pré-determinados, foram retiradas alíquotas de gás da câmara onde foi acumulado o gás permeante, com seringa hermética, através de um septo, para quantificação do gás carbônico em cromatógrafo a gás Agilent, modelo 7890, operando com detector de condutividade térmica a 150 °C, coluna (Porapak N) a 50 °C e injetor a 70 °C. Os resultados de cromatografia foram analisados pelo programa Chemstation/Agilent, versão B 03.01, com base em curvas-padrão feitas com gases padrão primário. A área efetiva de permeação de cada corpo-de-prova foi de 0,0047m<sup>2</sup> e os ensaios foram conduzidos a 22 °C, a seco. Os resultados obtidos foram corrigidos para 1atm de gradiente de pressão parcial de gás carbônico. As análises foram feitas utilizando 10 amostras de cada filme testado.

### **3.2.9 Microscopia eletrônica de varredura**

As amostras dos biofilmes foram submetidas à análises de microscopia eletrônica de varredura no Laboratório de Caracterização Microestrutural e Análise de Imagem do Departamento de Eng. Mecânica da UFSC, a fim de verificar a interação dos ingredientes, bem como homogeneidade e possíveis defeitos nos biofilmes de gelatina. O equipamento usado foi o microscópio de varredura Phillips XL30. Os biofilmes foram recobertos com ouro em um metalizador SCD 005 BAI-TEC. A temperatura de fratura das amostras foi de - 180 °C.



### **3.2.10 Espectroscopia de infravermelho**

As análises de infravermelho (FTIR) foram realizadas na Central de Análises do Departamento de Química da UFSC, em um equipamento da marca ABB BOMEN (modelo FTLA 2000), na faixa de 400 a 4000  $\text{cm}^{-1}$  e os espectros foram obtidos de todas as formulações de biofilmes.

### **3.2.11 Calorimetria exploratória diferencial (DSC)**

Os biofilmes de gelatina foram analisados no laboratório Central de Análises do Departamento de Química da UFSC, através de calorimetria exploratória diferencial. As análises foram realizadas em um equipamento da marca Shimadzu DSC-50. Aproximadamente 8-10 mg de amostra foram colocados em cadinho de alumínio, sob atmosfera de nitrogênio a um fluxo de 50 mL/minuto, com uma razão de aquecimento de 10°C/minuto até 180°C.

### **3.2.12 Método de aplicação da solução filmogênica**

Os frutos de mirtilo, cv. Clímax, provenientes da Niceberry do Brasil, localizada no município de Itá, Santa Catarina, foram colhidos, higienizados, selecionados, pesados e então recobertos por duas soluções filmogênicas de gelatinas, na forma de imersão por 30 segundos, conforme (Figura 8), e colocados em recipientes individuais de polietileno e dispostos em bandeja cobertos com folhas de papel alumínio e armazenados sob refrigeração a  $5 \pm 1$  °C e umidade relativa (UR) de 75-80%.

O delineamento experimental adotado ao acaso com observação de 300 frutos, sendo 100 frutos recobertos com biofilmes do Trat 1 ( $\text{GA}_6\text{T}_{20}$ ) e mais 100 frutos recobertos com Trat 2 ( $\text{GBT}_{80}$ ) conforme Tabela 5, paralelamente acompanhados por frutos sem coberturas, denominados de amostras controle.



Figura 8 - Procedimento empregado para cobertura dos frutos de mirtilo.

Fonte: Acervo do autor.

Tabela 5 - Características dos biofilmes de gelatina aplicados nos frutos de mirtilo.

Tratamentos	Trat.1 (GA <sub>6</sub> T <sub>20</sub> )	Trat.2 (GBT <sub>80</sub> )	Controle
Composição	Gelatina	Gelatina	Sem biofilme
	Ácido esteárico	Benzoato de sódio	
	Tween 20	Tween 80	
	Glicerol	Glicerol	

O armazenamento foi realizado por 30 dias em câmara frigorífica, com temperatura de  $5 \pm 1^\circ\text{C}$  e umidade relativa (UR) de 75-80%. Inicialmente as características dos frutos quanto ao valor de massa, pH, acidez total titulável, sólidos solúveis totais, razão entre sólidos solúveis totais e acidez titulável foram verificadas. Suas análises repetidas a cada período de 5 dias, a fim de verificar a variação dos parâmetros avaliados. Filmes compostos de gelatina e glicerol foram aplicados em ensaios preliminares, porém estes filmes não apresentaram uma adesão adequada à superfície dos frutos. O que impediu a realização de análises com este tratamento.

### 3.2.13 Perda de massa

A perda de massa foi avaliada em 300 frutos, recobertos pelos biofilmes GA<sub>6</sub>T<sub>20</sub> e GBT<sub>80</sub> e frutos do tipo controle, em períodos regulares de 5 dias, até completar o prazo de 30 dias, com auxílio de balança analítica ohaus adventurer modelo AR 214 (resolução de 0,0001g), expressando os resultados em percentagem de perda de massa de acordo com a Equação 4:

$$\% \text{ PM} = [(M_i - M_f) / M_i] * 100 \quad (\text{Equação 4})$$

onde:

% PM = percentagem de perda de massa parcial acumulada

M<sub>i</sub> = massa inicial da amostra em um período determinado em g

M<sub>f</sub> = massa final da amostra no período seguinte a M<sub>i</sub> em g

### 3.2.14 Sólidos solúveis totais (SST)

Para a determinação de sólidos solúveis totais (SST) foram utilizadas duas gotas de suco puro de mirtilo. O teor de SST foi obtido por meio de refratometria, em refratômetro portátil (marca Atago, modelo AA224244, com intervalo de leitura entre 0 a 100 °Brix. Os resultados foram expressos em °Brix, com correção de temperatura. As análises foram feitas em triplicata.

### 3.2.15 Acidez total titulável (ATT)

A determinação de ATT foi expressa em percentagem de ácido cítrico e segue a determinação do Instituto Adolf Lutz (2008), em que 10 g do de fruto foram trituradas numa centrífuga doméstica, com casca e polpa.

Em seguida 10 mL de suco de mirtilo foram transferidos a um Erlenmeyer com 90 mL de água destilada e, procedendo-se, então, a titulação potenciométrica sob a agitação com a solução de NaOH 0,1 N até pH 8,1. As análises foram feitas em triplicata.

O resultado foi expresso em g% de ácido cítrico conforme Equação 5.

$$A = 0,0064 \times V \times 100 / G \quad (\text{Equação 5})$$

A = gramas % de ácido cítrico

G = 10 mL de amostra

V = volume gasto de NaOH.

### **3.2.16 Relação SST/ATT**

A relação SST/ATT foi obtida da razão entre sólidos solúveis totais e a acidez total titulável (SST/ATT).

### **3.2.17 pH**

Para a determinação do pH foi utilizado o pHmetro digital de bancada marca Gehaka modelo PG 1800, com compensação automática de temperatura, sendo que os resultados foram obtidos na leitura direta de suco puro de mirtilo.

As avaliações de pH seguiram as determinações do Instituto Adolf Lutz (1985). As análises foram feitas em triplicata.

## 4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 4.1 Propriedades mecânicas dos filmes de gelatina

A Tabela 6 apresenta os dados de tensão máxima (MPa) e deformação(%) na ruptura dos filmes formulados com diversos componentes e analisados em diferentes condições ambientais de umidades relativas (UR) de 47 e 62%.

Tabela 6 - Propriedades mecânicas dos filmes de gelatina com glicerol.

<b>Filme</b>	<b>Condições (UR) (%)</b>	<b>Tensão Máxima (MPa) ± desvio-padrão</b>	<b>Deformação na Ruptura (%) ± desvio-padrão</b>
GA <sub>6</sub> T <sub>20</sub>	62	34,38±8,06 <sup>c</sup>	12,92±6,45 <sup>a</sup>
GBT <sub>80</sub>	62	45,95±9,76 <sup>abc</sup>	12,37±8,06 <sup>a</sup>
GG	62	51,69±8,06 <sup>abc</sup>	6,07±1,21 <sup>b</sup>
GA <sub>10</sub> T <sub>20</sub>	47	60,19±27,47 <sup>a</sup>	5,31±2,71 <sup>b</sup>
GA <sub>8</sub> T <sub>20</sub>	47	40,74±6,76 <sup>bc</sup>	4,84±1,43 <sup>b</sup>
GA <sub>5</sub> T <sub>20</sub>	47	47,13±9,81 <sup>abc</sup>	4,48±1,14 <sup>b</sup>
GA <sub>3</sub> T <sub>20</sub>	47	56,90±10,62 <sup>ab</sup>	4,97±1,28 <sup>b</sup>

\*Médias e desvios-padrão seguidas de letras sobrescritas iguais não diferem entre si a 5% de probabilidade pelo teste de Tukey.

As propriedades mecânicas dos filmes dependem das interações entre os componentes, ou seja, da formação de ligações moleculares fortes ou numerosas entre as cadeias poliméricas (DAVANÇO et al., 2007). O papel primário de um plastificante é melhorar a flexibilidade do filme e diminuir sua fragilidade. A adição de plastificantes leva à diminuição das forças intermoleculares ao longo da cadeia polimérica a qual acarreta um aumento da flexibilidade e também torna mais fácil de destacar de seu suporte após o espalhamento da solução formadora do filme (BARRETO, 2003).

Na Tabela 6, os resultados de tensão máxima (MPa) demonstram que os valores atingiram o máximo 60,19±27,47 MPa para o sistema GA<sub>10</sub>T<sub>20</sub>, com 47% de umidade e um valor mínimo de 34,38±8,06 MPa para o sistema GA<sub>6</sub>T<sub>20</sub> com 62% de umidade relativa.

A tensão máxima (MPa) dos filmes não obedece nenhuma tendência em relação à composição dos filmes, principalmente em

relação ao teor de ácido esteárico (C18: 0).

No entanto, os ensaios mecânicos realizados sob condições ambientais de maior umidade relativa do ar (URE) a 62%, mostraram um aumento significativo de deformação na ruptura (%) quando comparadas aos ensaios realizados a 47% de URE.

A influência da umidade relativa sobre os filmes é devida ao efeito plastificante que a água exerce no produto. Tanto a gelatina como o glicerol são higroscópicos. Assim o aumento da umidade relativa provoca o aumento da umidade. O incremento da hidratação pode provocar um excepcional inchamento da matriz, levando assim a um aumento da mobilidade das cadeias poliméricas (DONHOWE; FENEMMA, 1992), tornando assim mais fracas as forças de ligação entre as mesmas o que, conseqüentemente, provoca um aumento na capacidade de deformação e uma diminuição da força na ruptura dos filmes.

Tendo em vista os resultados das propriedades de tensão máxima e deformação na ruptura, foram escolhidos as formulações GA<sub>6</sub>T<sub>20</sub> e GBT<sub>80</sub> para a aplicação nos frutos de mirtilo.

#### 4.2 Microscopia eletrônica de varredura

A microscopia eletrônica de varredura (MEV) possui uma grande profundidade de foco, com alta resolução e permite que as amostras dos filmes poliméricos sejam melhor avaliadas quanto à homogeneidade e interação dos compostos nos filmes. Para ajudar a elucidar possíveis diferenças estruturais nos filmes de gelatina com as diferentes composições utilizadas no experimento, a microscopia eletrônica de varredura foi utilizada.

As Figuras 9a e 9b ilustram a seção transversal da criofratura do filme GA<sub>6</sub>T<sub>20</sub>. É possível visualizar glóbulos de gordura com diâmetro variando entre 118 e 471 nm, caracterizando emulsão (O/A) presente na solução formadora do filme. A Figura 9c mostra a micrografia de superfície do filme GA<sub>6</sub>T<sub>20</sub> como uma matriz lisa e homogênea, sem a presença de glóbulos ou cristais de ácido esteárico e sem a presença de poros, onde a estrutura da matriz é proporcionada pelo aumento das interações intra e intermoleculares das moléculas proteicas e lipídicas devido à evaporação do solvente (BARRETO, 2003).

Resultados similares foram encontrados por Davanço et al., (2007) estudando o efeito de pH e surfactantes em filmes compostos de gelatina, triacetina e ácido esteárico ou capróico.

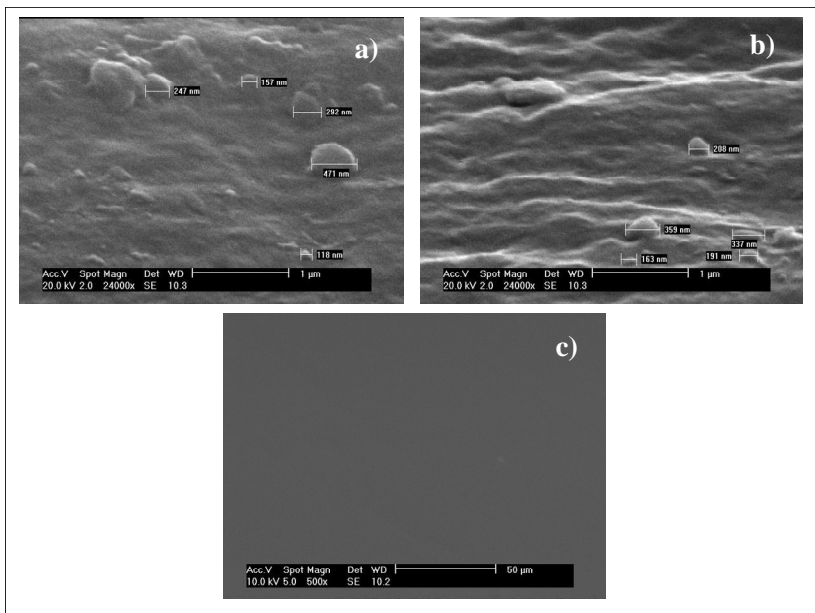


Figura 9 - Micrografia utilizando microscopia eletrônica de varredura (MEV) de a) e b) seção transversal e c) superfície do filme  $GA_6T_{20}$  (solução A + 6.6% (m/m) de ácido esteárico + 1% (m/m) de Tween 20)

As Figuras 10a e 10b apresentam a seção transversal de criofratura do filme  $GBT_{80}$ . Observou-se uma matriz coesa, íntegra e com estrias, provavelmente provocada durante a criofratura a  $-180^{\circ}C$  (Nitrogênio líquido).

A superfície do filme  $GBT_{80}$  (Figura 10c) se apresenta lisa, homogênea, sem a presença de estrias, rachaduras ou poros, evidenciando a incorporação completa de benzoato de sódio na matriz proteica.

A Figura 11 (a, b, c) apresenta tanto para superfície e seções transversais do filme GG, uma matriz lisa, compacta e com ausência de poros.

Na figura 11a observa-se a espessura do filme ( $44 \mu m$  a  $45 \mu m$ ), também a formação de estrias (Figura 11b) durante a criofratura e uma matriz proteica (gelatina) lisa, coesa e homogênea na micrografia de superfície.

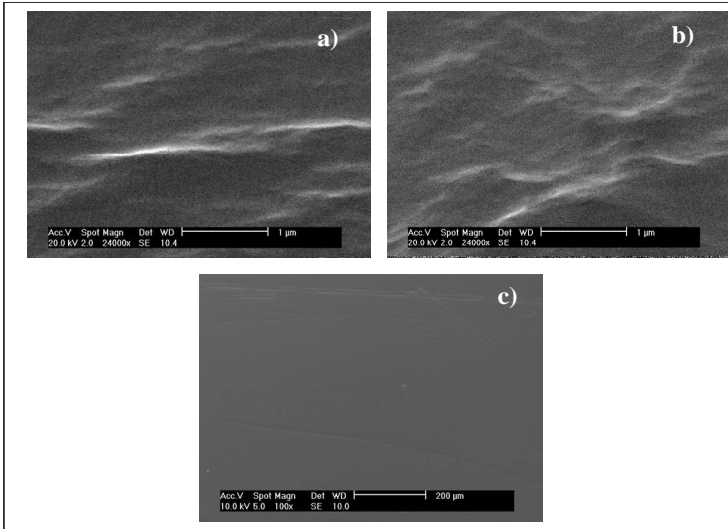


Figura 10 - Micrografia utilizando microscopia eletrônica de varredura (MEV) de a) e b) seção transversal e c) superfície do filme GBT<sub>80</sub> (Solução A + 1% (m/m) de benzoato de sódio + 1% (m/m) de Tween 80).

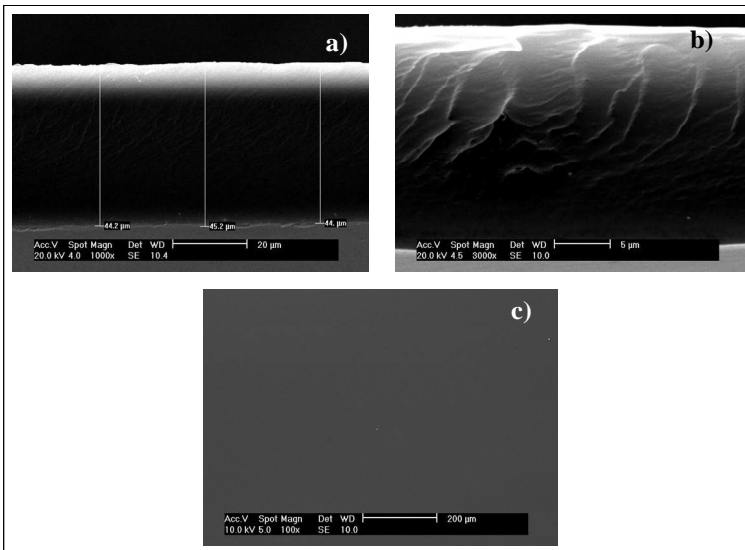


Figura 11 - Micrografia utilizando microscopia eletrônica de varredura (MEV) de a) e b) seção transversal e c) superfície do filme GG (10% (m/m) gelatina +1% (m/m) glicerol).



A micrografia do filme, GA<sub>10</sub>T<sub>20</sub> ilustrado na Figura 12a, em uma escala de visualização de 24000x apresenta material heterogêneo com a presença de poros e rachaduras, contendo duas fases, a matriz polimérica e a fase do ácido graxo.

Na morfologia de superfície na figura 12c observa-se claramente a presença de partículas lipídicas cristalizadas na matriz filmogênica, evidenciando a não incorporação completa do ácido esteárico na matriz proteica.

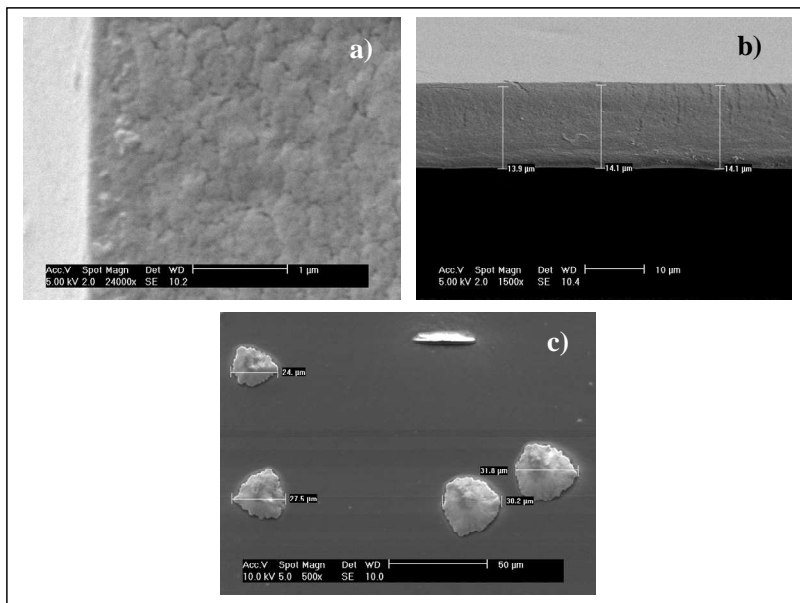


Figura 12 - Micrografia utilizando microscópio eletrônico de varredura (MEV) de a) e b) seção transversal e c) superfície do filme GA<sub>10</sub>T<sub>20</sub> (Solução A + 10% (m/m) de ácido esteárico + 1% (m/m) de Tween 20).

A micrografia do filme GA<sub>8</sub>T<sub>20</sub> ilustrado na Figura 13a também apresenta um material heterogêneo com poros e rachaduras, contendo duas fases, a matriz polimérica e a fase do ácido graxo.

Na morfologia de superfície na Figura 13c observa-se claramente a presença de partículas lipídicas cristalizadas na matriz filmogênica, evidenciando a não incorporação completa do ácido esteárico na matriz proteica, assim como observado na Figura 12c.

Aparentemente o teor de ácido esteárico nestas duas formulações excede o poder emulsionante da quantidade de agente tensoativo presente (Tween 20).

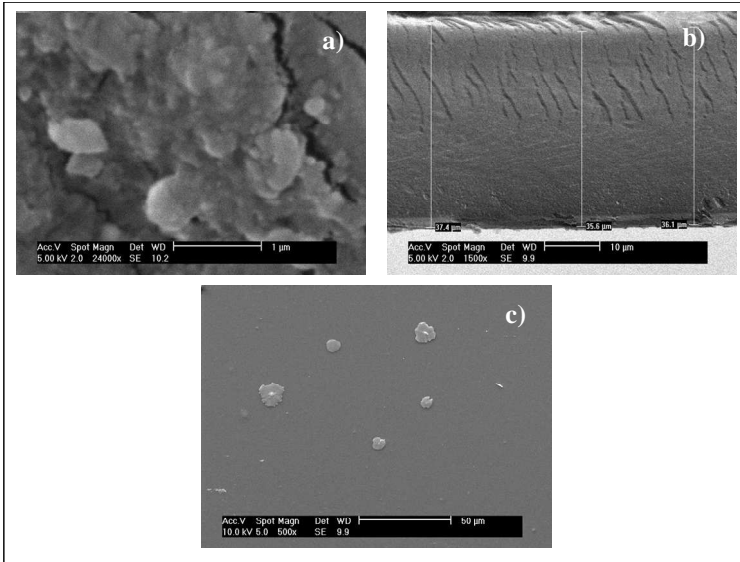


Figura 13 - Micrografia utilizando microscópio eletrônico de varredura (MEV) de a) e b) seção transversal e c) superfície do filme  $GA_8T_{20}$  (Solução A + 8% (m/m) de ácido esteárico + 1% (m/m) de Tween 20).

As micrografias do filme  $GA_5T_{20}$  e  $GA_3T_{20}$  ilustradas nas Figuras 14 e 15, respectivamente, apresentam uma superfície lisa com fraturas e presença de estrias.

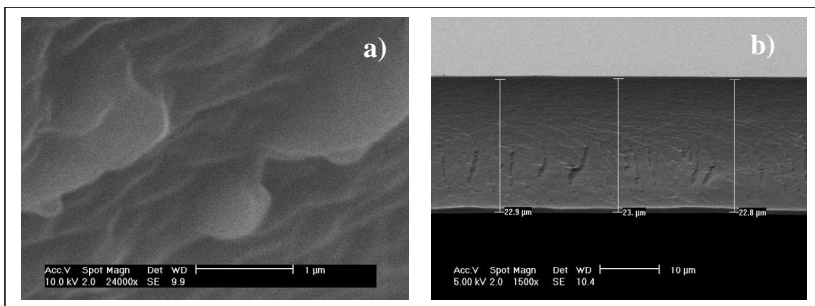


Figura 14 - Micrografia utilizando microscópio eletrônico de varredura (MEV) de a) e b) seção transversal do filme  $GA_5T_{20}$  (Solução A + 5% (m/m) de ácido esteárico + 1% (m/m) de Tween 20).

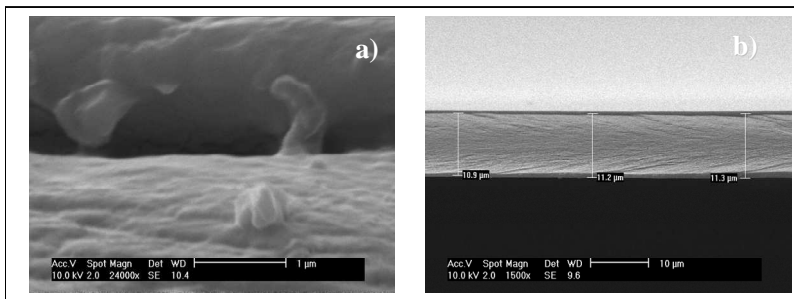


Figura 15 - Micrografia utilizando microscópio eletrônico de varredura (MEV) de a) e b) seção transversal do filme  $GA_3T_{20}$  (Solução A + 3% (m/m) de ácido esteárico + 1% (m/m) de Tween 20).

Foi observada em diversos filmes, formulados através da emulsificação de diferentes concentrações de ácido esteárico, a presença de partículas lipídicas cristalinas na superfície. Estas estruturas presentes em maior ou menor proporção e tamanhos podem apoiar os dados obtidos de menor coeficiente de permeação ao vapor de água e menor transparência dos filmes de emulsão de ácido esteárico em relação aqueles sem a presença do lipídio. Isso porque as partículas de gordura dificultaram a migração e transferência de moléculas de água de dentro do filme. De acordo com Limpisophon, Tanaka e Osako (2010), uma distribuição homogênea de gotículas de ácido esteárico daria ao filme de gelatina de tubarão-azul uma menor permeabilidade à água. Estes mesmos autores presenciaram, através de microscopia eletrônica de varredura, estruturas cristalinas de partículas lipídicas semelhantes às encontradas no presente trabalho, conforme mostra a Figura 16.

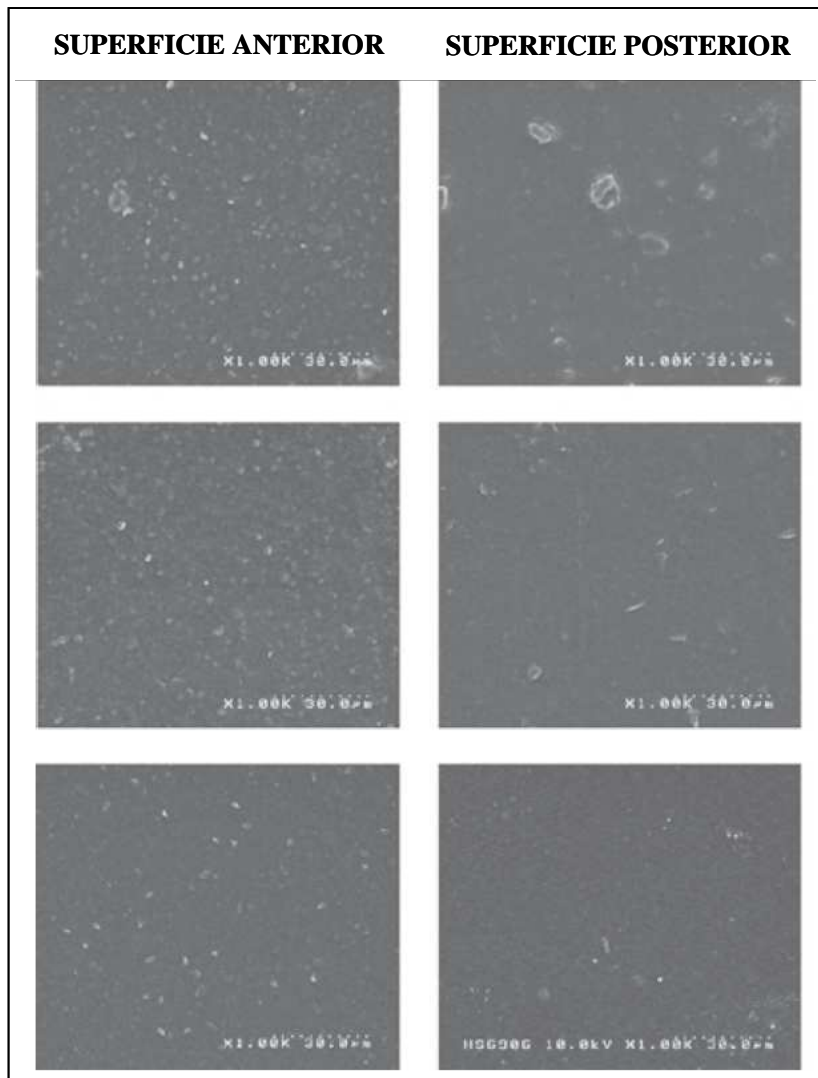


Figura 16 - Microscopia eletrônica de varredura de estruturas cristalinas de partículas lipídicas.

Fonte: Limpisophon, Tanaka e Osako (2010).

### 4.2.1 Espectroscopia de infravermelho

A espectroscopia de infravermelho é frequentemente utilizada em estudos de modificações poliméricas em nível molecular. Com esta técnica verifica-se interações existentes entre os polímeros na blenda, bem como mudanças moleculares causadas pela adição de plastificantes, ou de processo de reticulação (PORTO, 2007). Os espectros de infravermelho demonstram as interações da gelatina com ácido benzóico, surfactantes e também se observa o aumento gradativo de ácido esteárico na matriz protéica.

Na Figura 17 e 18 observam-se os espectros GG e  $GBT_{80}$ , filmes sem adição de ácido esteárico. Os espectros preparados variando a quantidade de ácido esteárico podem ser observados nas Figuras 19, 20, 21, 22 e 23.

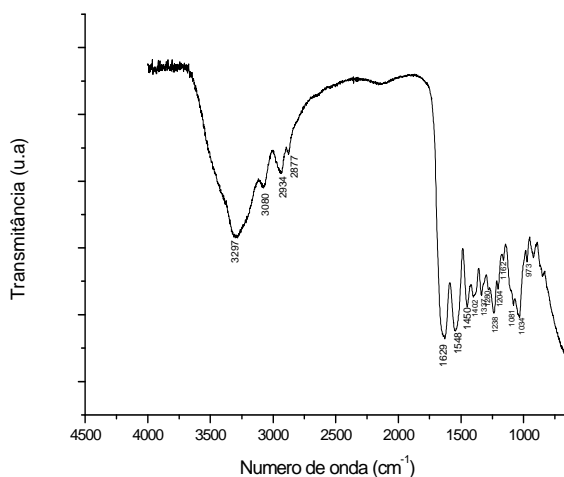


Figura 17 - Espectro do FTIR do filme GG (10% (m/m) gelatina +1% (m/m) glicerol).

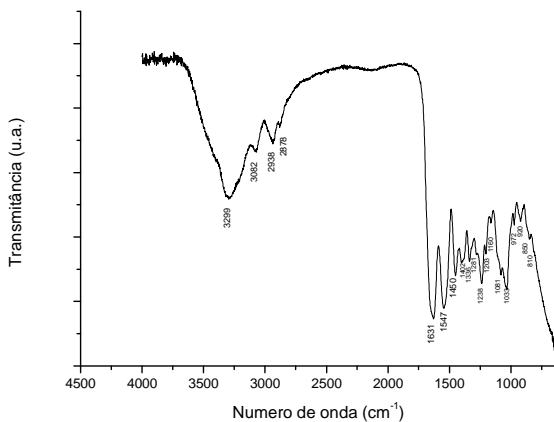


Figura 18 - Espectro do FTIR do filme  $GBT_{80}$  (Solução A + 1% (m/m) de benzoato de sódio + 1% (m/m) de Tween 80).

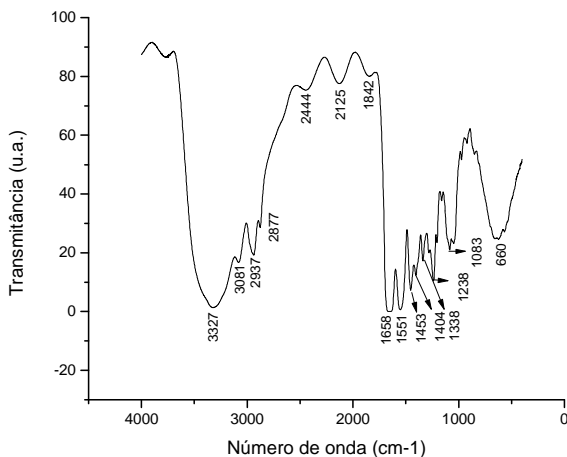


Figura 19 - Espectro do FTIR do filme  $GA_3T_{20}$  (Solução A + 3% (m/m) de ácido esteárico + 1% (m/m) de Tween 20).

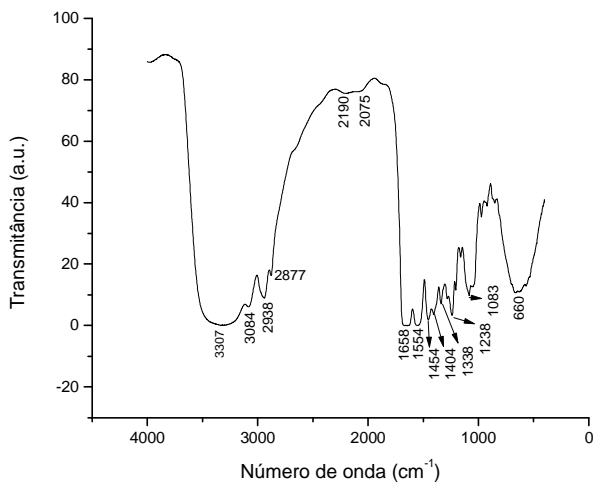


Figura 20 - Espectro do FTIR do filme GA<sub>5</sub>T<sub>20</sub> (Solução A + 5% (m/m) de ácido esteárico + 1% (m/m) de Tween 20).

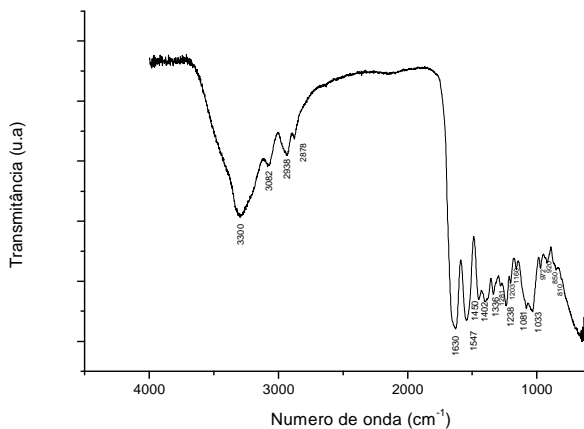


Figura 21 - Espectro do FTIR do filme GA<sub>6</sub>T<sub>20</sub> (Solução A + 6% (m/m) de ácido esteárico + 1% (m/m) de Tween 20).

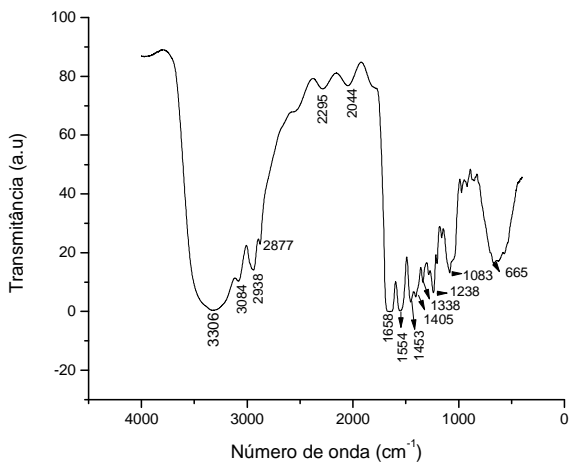


Figura 22 - Espectro do FTIR do filme GA<sub>8</sub>T<sub>20</sub> (Solução A + 8% (m/m) de ácido esteárico + 1% (m/m) de Tween 20).

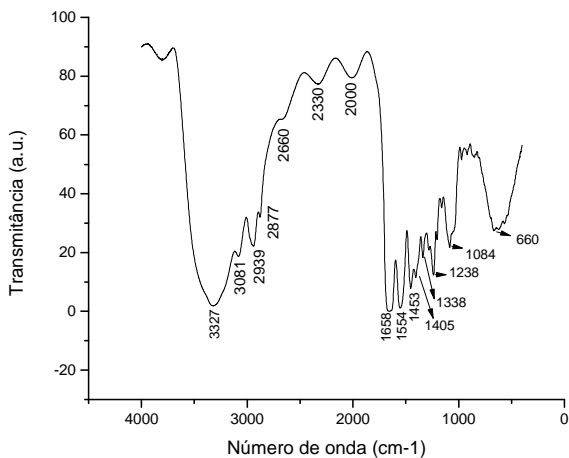


Figura 23 - Espectro do FTIR do filme GA<sub>10</sub>T<sub>20</sub> (Solução A + 10% (m/m) de ácido esteárico + 1% (m/m) de Tween 20).



As principais bandas dos espectros FTIR (17, 18, 19, 20, 21, 22 e 23) estão descritas na Tabela 7. A presença de gelatina, como de toda proteína, é caracterizada pelas bandas de vibração das ligações amida, as vibrações Amida I e Amida II, conforme Figura 24. A amida I corresponde ao estiramento da ligação C=O (carbonila) enquanto a Amida II corresponde à deformação ou flexão da ligação N-H. Como tanto o grupo carbonila como o grupo amino estão envolvidos em ligações de hidrogênio responsáveis pela manutenção de estruturas secundárias, as posições de ambas as regiões da Amida I e Amida II são sensíveis às alterações estruturais das moléculas proteicas.

Assim, o que se observa nas figuras GG e  $GBT_{80}$  é que as bandas da amida I e amida II estão situadas entre  $1629\text{ cm}^{-1}$  e  $1548\text{ cm}^{-1}$  para o filme GG, enquanto para o filme  $GBT_{80}$  em  $1631\text{ cm}^{-1}$  e  $1547\text{ cm}^{-1}$ , respectivamente. Já para os filmes formulados através da emulsão de ácido esteárico estas bandas estão deslocadas para valores maiores de número de ondas (Tabela 7), o que caracteriza a presença de interações químicas entre as moléculas de gelatina e de ácido esteárico e não a simples dispersão das moléculas lipídicas na matriz proteica.

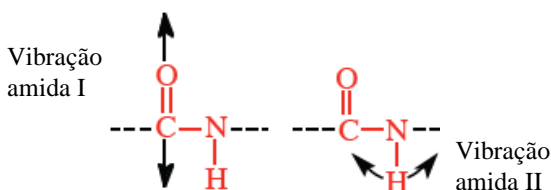


Figura 24 - Vibrações Amida I e Amida II das ligações peptídicas.  
Fonte: Gallagher (1992).

Além disso, pode ser visto também que os picos correspondentes ao estiramento -OH de moléculas de água e estiramento -NH em faixas de número de onda entre  $3200\text{--}3600\text{ cm}^{-1}$  se tornam mais estreitos e deslocados para valores de maior número de onda com o aumento das quantidades de ácido esteárico nos filmes. Estas observações indicam que a maior quantidade de segmentos de cadeias alquílicas nos filmes com ácido esteárico perturbou a formação de ligações de hidrogênio entre os grupos -OH e -NH.

Os espectros infravermelhos demonstraram que houveram mudanças a nível molecular quando da interação do ácido esteárico e a matriz proteica.

Tabela 7 - Grupos funcionais identificados nos espectros FTIR dos diferentes filmes de gelatina.

Grupo Funcional	Número de Onda (cm <sup>-1</sup> )	Filme
Amida I	1629	GG
	1631	GBT <sub>80</sub>
	1658	GA <sub>10</sub> T <sub>20</sub> , GA <sub>3</sub> T <sub>20</sub> , GA <sub>8</sub> T <sub>20</sub>
	1638	GA <sub>6</sub> T <sub>20</sub>
Amida II	1548	GG
	1547	GBT <sub>80</sub> , GA <sub>6</sub> T <sub>20</sub>
	1554	GA <sub>10</sub> T <sub>20</sub> , GA <sub>5</sub> T <sub>20</sub> , GA <sub>8</sub> T <sub>20</sub>
	1551	GA <sub>3</sub> T <sub>20</sub>
- CH <sub>3</sub>	3080	GG
	3082	GBT <sub>80</sub> , GA <sub>6</sub> T <sub>20</sub>
	3081	GA <sub>10</sub> T <sub>20</sub>
	3084	GA <sub>8</sub> T <sub>20</sub>
- CH	2934, 2877	GG
	2938, 2877	GBT <sub>80</sub> , GA <sub>5</sub> T <sub>20</sub> , GA <sub>8</sub> T <sub>20</sub> , GA <sub>6</sub> T <sub>20</sub>
	2939, 2877	GA <sub>10</sub> T <sub>20</sub>
	2937, 2877	GA <sub>3</sub> T <sub>20</sub>
-OCO-	1453	GA <sub>10</sub> T <sub>20</sub> , GA <sub>3</sub> T <sub>20</sub> , GA <sub>8</sub> T <sub>20</sub>
	1454	GA <sub>5</sub> T <sub>20</sub>

#### 4.2.3 Calorimetria exploratória diferencial

Os filmes de blendas de gelatina GBT<sub>80</sub>, GA<sub>6</sub>T<sub>20</sub> e GG foram analisados por calorimetria diferencial para se verificar a miscibilidade entre os componentes e possíveis efeitos nas transições de fases destes filmes.

As temperaturas de fusão para os filmes de diferentes composições podem ser verificadas na Tabela 8 e nas Figuras 25, 26 e 27.

Tabela 8 - Temperaturas de fusão (T<sub>m</sub>) para os filmes GA<sub>6</sub>T<sub>20</sub>, GBT<sub>80</sub>, e GG.

Filme	T <sub>m</sub> (°C)
GA <sub>6</sub> T <sub>20</sub>	72,39
GBT <sub>80</sub>	169,43 – 181,95
GG	119,20 – 172,97

Pode-se observar na Figura 25 a presença de um pico endotérmico a 72,39°C, referente a fusão do ácido esteárico incorporado à matriz proteica. O ponto de fusão do ácido esteárico empregado no presente estudo foi de 68°C.

As curvas de DSC obtidas na primeira varredura para o filme GBT<sub>80</sub> e GG, foram típicas de um material parcialmente cristalino e que apresentam separação de fases, devido à ocorrência de duas endotermas. Os picos endotérmicos ocorrendo em temperaturas mais baixas devem ser associados à transição sol-gel na fração gelatina, enquanto que o pico em temperaturas mais elevadas está associado à fusão de cristais existentes no benzoato de sódio contido no filme GBT<sub>80</sub>.

De acordo com Cristiano (2009) a temperatura de transição vítrea para os filmes de gelatina sem a presença de plastificante é de 214,6°C. Foi possível perceber a T<sub>g</sub> para o filme GG (Figura 27) a qual apresentou um valor de 60,24°C. Cristiano (2009) relata uma T<sub>g</sub> para filmes de gelatina plastificados com sorbitol de 154°C.

A presença de plastificante aumenta o volume livre entre as cadeias poliméricas e, conseqüentemente, aumenta a mobilidade das mesmas e diminui as interações inter e intramoleculares, fato este já observado quando da avaliação das propriedades mecânicas dos filmes.

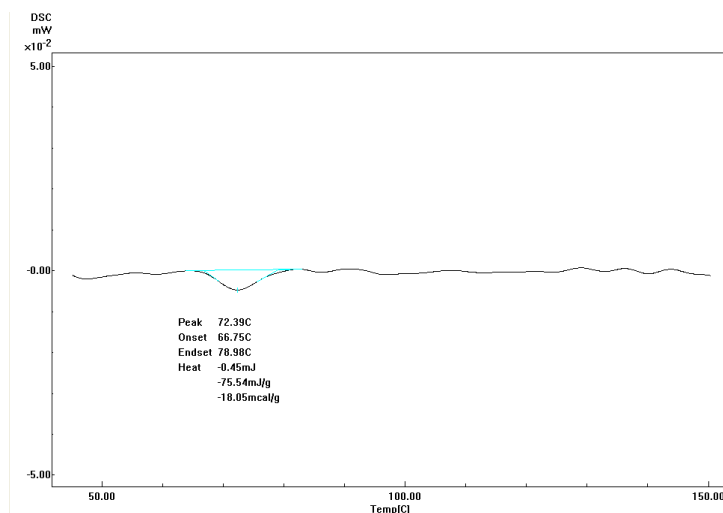


Figura 25 - Espectro do DSC do filme GA<sub>6</sub>T<sub>20</sub> (Solução A + 6% (m/m) de ácido esteárico + 1% (m/m) de Tween 20).

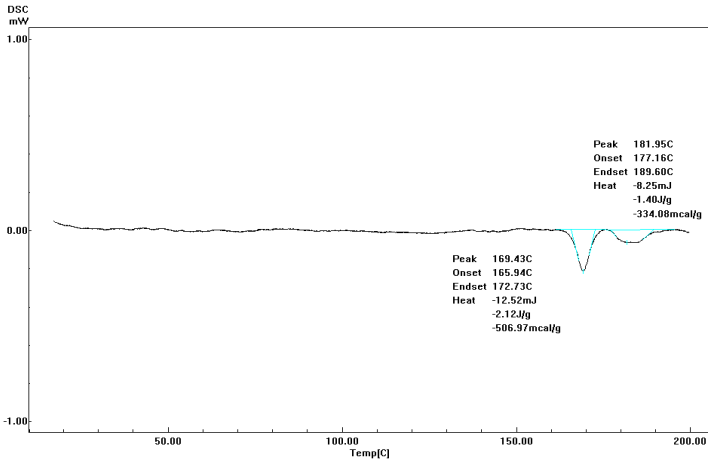


Figura 26 - Espectro do DSC do filme GBT<sub>80</sub> (Solução A + 1% (m/m) de benzoato de sódio + 1% (m/m) de Tween 80).

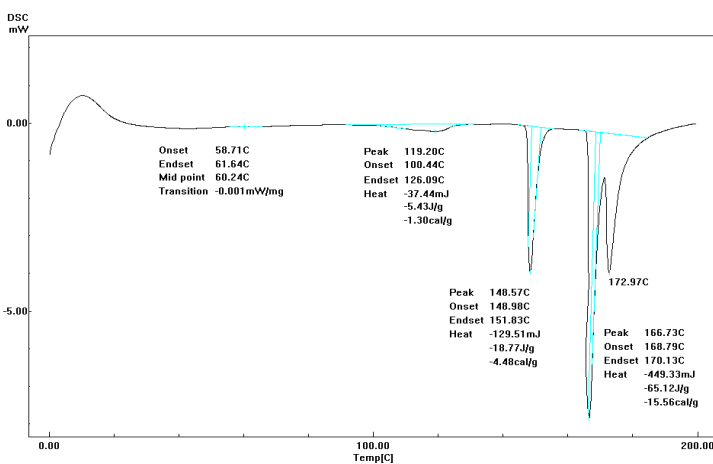


Figura 27 - Espectro do DSC do filme GG (10% (m/m) gelatina +1% (m/m) glicerol).

#### 4.2.4 Solubilidade em água

A solubilidade em água e o intumescimento pelo contato direto com água líquida são propriedades importantes dos filmes

biodegradáveis, uma vez que para várias aplicações é necessário conhecer a resistência do material à água. A Tabela 9 apresenta a solubilidade em água dos filmes de gelatina.

Tabela 9 - Solubilidade em água dos filmes de gelatina (%).

GA <sub>6</sub> T <sub>20</sub>	GBT <sub>80</sub>	GG	GA <sub>10</sub> T <sub>20</sub>	GA <sub>8</sub> T <sub>20</sub>	GA <sub>5</sub> T <sub>20</sub>	GA <sub>3</sub> T <sub>20</sub>
24,80±0,58 <sup>ab</sup>	23,95±0,99 <sup>ab</sup>	16,83±1,28 <sup>a</sup>	34,10±0,52 <sup>bc</sup>	44,25±4,02 <sup>c</sup>	64,16±7,41 <sup>d</sup>	78,49±12,58 <sup>d</sup>

Médias e desvios-padrão seguidos de letras minúsculas sobrescritas na mesma linha indicam diferença ( $p < 0,05$ ) entre os diferentes filmes.

Após 24h de imersão, verificou-se que os filmes não se dispersaram totalmente e, aparentemente, não perderam sua integridade.

Por outro lado, verificou-se que os filmes puros de gelatina e glicerol (GG) apresentaram uma menor taxa de solubilidade (16,83%) se comparados aos com ácido esteárico que variaram a taxa de solubilização de 24,80% até 78,49%, contrariando o que foi descrito por Bertan et al. (2005) que verificaram uma solubilidade em torno de 30% para filmes de gelatina de origem bovina.

Segundo Galiotta et al. (1998), o material solubilizado em água é basicamente constituído por plastificante e por algumas proteínas de baixo peso molecular. A diferença entre o material solubilizado e o conteúdo de plastificante está associada ao conteúdo de proteínas de cadeias com baixo peso molecular (cadeias de baixo peso molecular que não estão covalentemente ligadas através de ligações cruzadas nos filmes), as quais podem ser solubilizadas em água.

Outro fator que deve ter colaborado para a baixa dissolução do filme de gelatina e glicerol é que o PI (Ponto Isoiônico) da gelatina utilizada estava na faixa de 6,20 e o pH do filme apresentou resultado de 5,26. Esta proximidade de pH e PI dificulta a solubilidade do mesmo. Para os demais filmes o pH variou de 5,19 a 5,25.

A introdução de moléculas de agente tensoativo a formulação dos filmes contendo ácido esteárico pode ter facilitado o efeito lixiviante da água durante a agitação por 24 horas na realização do teste, bem como facilitado a transferência de partículas da emulsão O/A para a fase aquosa, e com isto os filmes contendo ácido esteárico apresentaram-se com maior perda de massa ou solubilidade em água.

#### 4.2.5 Transparência dos filmes

Na região do UV (210 nm), os filmes apresentaram 0,0 a 0,1% de transmitância, indicando que o ácido esteárico e Tween 20 e 80 não influenciaram nas propriedades de barreira a radiação UV. Isto pode ser explicado por que os aminoácidos absorvem luz na região ultravioleta.

Na região do visível a 500 nm o filme GG composto somente com gelatina e glicerol apresentou uma maior transmitância (90,90%±0,10) e o filme GA<sub>6</sub>T<sub>20</sub>, a menor (83,90%±0,94). Comparando a transmitância da região UV com a da região do visível (Tabela 10) verifica-se que os valores de transmitância foram menores a 210 nm, indicando que os filmes com gelatina têm uma boa capacidade de proteção a radiação UV.

Tabela 10 - Transmitância dos filmes de gelatina a 210 nm e 500 nm (%)

	GA <sub>6</sub> T <sub>20</sub>	GBT <sub>80</sub>	GG	GA <sub>10</sub> T <sub>20</sub>	GA <sub>8</sub> T <sub>20</sub>	GA <sub>5</sub> T <sub>20</sub>	GA <sub>3</sub> T <sub>20</sub>	PEBD
210*	0,10±0,10 <sup>b</sup>	0,10±0,11 <sup>b</sup>	0,10±0,10 <sup>b</sup>	0,00±0,00 <sup>b</sup>	0,00±0,00 <sup>b</sup>	0,07±0,06 <sup>b</sup>	0,00±0,00 <sup>b</sup>	12,1±0,61 <sup>a</sup>
500*	83,90±0,94 <sup>c</sup>	89,90±0,53 <sup>a</sup>	90,90±0,10 <sup>a</sup>	86,80±0,26 <sup>b</sup>	89,73±0,92 <sup>a</sup>	89,87±1,26 <sup>a</sup>	89,47±0,29 <sup>a</sup>	67,67±1,70 <sup>d</sup>

Médias e desvios-padrão seguidos de letras subscritas iguais não diferem entre si a 5% de probabilidade pelo teste de Tukey.

O filme GG apresentou a mais alta transparência, pois a gelatina possui uma estrutura completamente amorfa. A luz que incide sobre a amostra pode ser absorvida, refletida ou transmitida; aparentemente a estrutura do filme GG permite que 90,90% da luz incidente sejam transmitidos.

A amostra do filme de PEBD (Polietileno de Baixa Densidade), por outro lado, apresentou a menor transparência. Ao se observar a Figura 28, onde é representado o modelo de cristalização segundo a teoria de miscela franjada, percebe-se que a estrutura semicristalina do PEBD pode estar absorvendo ou refletindo parte do feixe de luz incidente, que leva à transparência de 67,67%.

As amostras dos filmes GBT<sub>80</sub>, GA<sub>5</sub>T<sub>20</sub>, GA<sub>8</sub>T<sub>20</sub> e GA<sub>3</sub>T<sub>20</sub> não apresentaram diferença significativa (p<0,05) entre si e com a amostra do filme GG a 500 nm.

Verificando-se as micrografias MEV das amostras é possível perceber que nas amostras GBT<sub>80</sub> a matriz polimérica é semelhante ao filme GG, já as amostras GA<sub>5</sub>T<sub>20</sub> e GA<sub>8</sub>T<sub>20</sub> apresentaram na superfície do filme de partículas de cristais de ácido esteárico, indicando que não

houve uma perfeita emulsificação do óleo ou que durante a etapa de secagem da solução formadora do filme pode ter ocorrido o fenômeno da coalescência e conseguinte cristalização da fração lipídica.

Na amostra GA<sub>6</sub>T<sub>20</sub> percebe-se, através das micrografias, a perfeita distribuição das partículas lipídicas (em escala nanométrica) na matriz dos filmes, com consequentes valores de transparência significativamente menores que os valores de outras amostras.

O ácido esteárico (ou ácido octadecanóico - CH<sub>3</sub>(CH<sub>2</sub>)<sub>16</sub>COOH) é um ácido graxo de cadeia longa que consiste de 18 átomos de carbono sem duplas ligações. O ácido esteárico é classificado como ácido graxo saturado e apresenta uma faixa de fusão de 68-72°C. A temperatura ambiente é um sólido parecido à cera; apresenta uma corrente hidrofóbica de carbono e hidrogênio. Obtém-se tratando a gordura animal com água a uma alta pressão e temperatura, e mediante a hidrogenação de azeites vegetais. Alguns de seus sais, principalmente de sódio e potássio, têm propriedades tensoativas (PHARMACEUTICAL HANDBOOK, 2000). A Figura 29 apresenta a estrutura química do ácido esteárico.

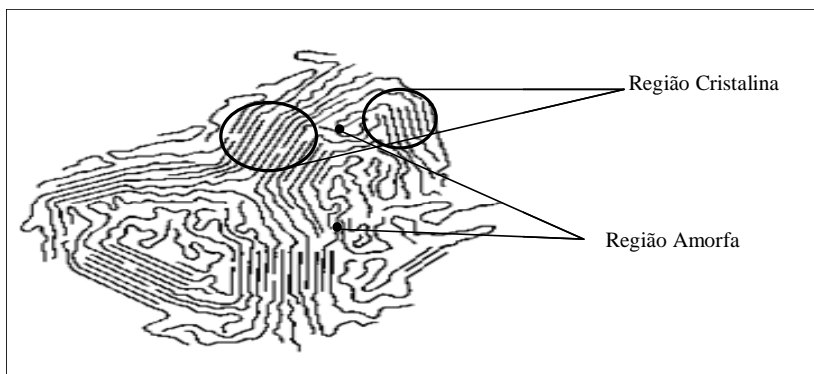


Figura 28 - Modelo de cristalização da miscela franjada.

Fonte: Santos, (2008).

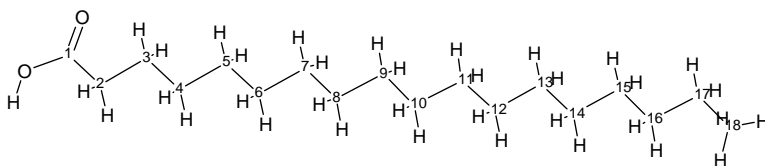


Figura 29 - Estrutura química do ácido esteárico, que demonstra a sua capacidade de cristalização.

#### 4.2.6 Taxa de permeabilidade ao vapor de água

A natureza hidrofílica das proteínas torna os filmes proteicos uma barreira mínima à umidade. Soma-se a isto a necessidade de incorporação de plastificantes, compostos que possuem, também, natureza hidrofílica (BARRETO, 2003). No presente estudo o plastificante incorporado à matriz polimérica foi glicerol.

O resultado da taxa de permeabilidade ao vapor de água dos filmes de gelatina plastificado com glicerol está apresentado na Tabela 11.

Tabela 11 - Taxa de permeabilidade ao vapor de água (TPVA) a 25°C e 75% UR e coeficiente de permeabilidade ao vapor de água (PVA) a 25°C.

<b>Filme</b>	<b>TPVA (g água.m<sup>-2</sup>.dia<sup>-1</sup>)</b>	<b>PVA (g água.µm.m<sup>-2</sup>.dia<sup>-1</sup>.mmHg<sup>-1</sup>)</b>
GA <sub>6</sub> T <sub>20</sub>	642,5±31,5	1,619±0,186
GBT <sub>80</sub>	936,7±125,5	2,189±0,267
GG	726,7±59,6	2,350±0,030

Médias e desvios-padrão.

Quando se adiciona um componente hidrofóbico à superfície formadora de um filme, produzem-se filmes compostos, nos quais o componente lipídico atua como barreira do vapor de água. De acordo com a Tabela 11, o filme GA<sub>6</sub>T<sub>20</sub> com ácido esteárico apresentou um coeficiente de permeabilidade ao vapor de água (PVA) menor que os filmes compostos com gelatina e o formulado com o surfactante Tween 80. Isto se deve a maior concentração de ácido esteárico, ou também devido ao tamanho maior da cadeia de ácido esteárico. Davanço et al. (2007) também constataram que a barreira ao vapor de água dos filmes de gelatina com adição de ácido esteárico foi mais eficiente com filmes compostos de gelatina, triacina, capróico e esteárico.

Segundo Mchugh e Krochta (1994) com o aumento das cadeias de ácidos graxos a porção apolar de cada molécula também aumenta, resultando em menor permeabilidade ao vapor de água aos filmes emulsionados. Peroval et al. (2002) também constataram que a permeabilidade ao vapor de água dos filmes de arabinosilana com ácido esteárico foi menor que a dos filmes com a adição de ácido palmítico. Novamente Mchugh, Aujard e Krochta, (1993), em outro trabalho, verificaram que a presença de ácido esteárico em filmes de proteína do



soro do leite reduziu a mobilidade protéica, formando um filme viscoelástico na interface lipídio-água, diminuindo a difusividade da água através da proteína interfacial e promovendo um menor valor de permeabilidade ao vapor de água.

Ao se observar a Figura 9, com a micrografia MEV da amostra do filme de GA<sub>6</sub>T<sub>20</sub>, percebe-se na criofratura a distribuição das partículas nanométricas (100-500 nm) ao longo da matriz polimérica. Este conjunto de partículas lipídicas provavelmente está criando uma trajetória mais tortuosa para que as moléculas de água possam difundir ao longo da matriz, com conseqüente redução do coeficiente de permeabilidade ao vapor de água. Esta característica dos filmes, considerando as partículas lipídicas com dimensão nanométrica, está representada de forma esquemática na Figura 30 onde se vê que o caminho percorrido pelas moléculas de água é maior no filme contendo a emulsão de ácido esteárico do que no filme apenas com gelatina e glicerol.

Os filmes com surfactantes na sua composição, porém sem a presença de ácido esteárico, apresentam um valor de coeficiente de permeabilidade ao vapor de água intermediário entre GG e GA<sub>6</sub>T<sub>20</sub>. A estrutura química característica de um surfactante é a presença na mesma molécula de uma porção hidrofílica e outra hidrofóbica, assim a porção hidrofóbica do Tween 80 age criando uma barreira à difusão de moléculas de água ao longo da matriz polimérica do filme.

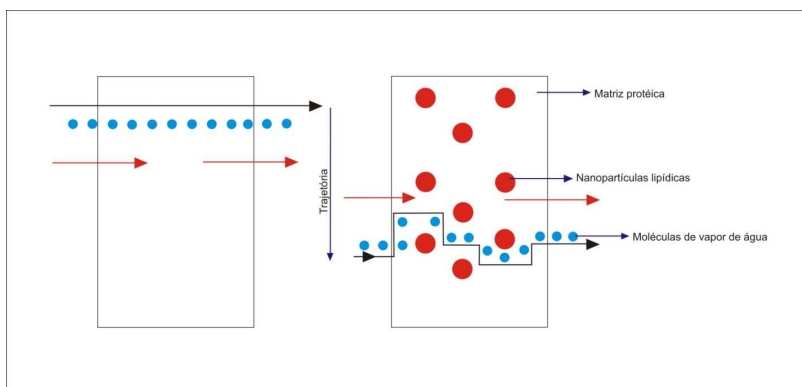


Figura 30 - Representação esquemática da permeabilidade ao vapor de filmes proteicos compostos com partículas lipídicas.

Fonte: Acervo do autor.

## 4.2.7 Taxa de permeabilidade ao gás carbônico

Tabela 12 - Taxa de permeabilidade ao gás carbônico (TPCO<sub>2</sub>) a 23°C a seco e coeficiente de permeabilidade ao gás carbônico (PCO<sub>2</sub>) a 23°C.

Filme	TPCO <sub>2</sub> (mL.m <sup>-2</sup> .dia <sup>-1</sup> )	PCO <sub>2</sub> (mL.µm.m <sup>-2</sup> .dia <sup>-1</sup> .atm <sup>-1</sup> )
GA <sub>6</sub> T <sub>20</sub>	12,1±12,6	508,5±528,8
GBT <sub>80</sub>	3,8±2,4	157,2±100,6
GG	9,6±5,8	453,2±271,9

Médias e desvios-padrão.

Os valores de coeficientes de permeabilidade ao CO<sub>2</sub> foram menores para os filmes GBT<sub>80</sub> <GG<GA<sub>6</sub>T<sub>20</sub>. Esta seletividade ao CO<sub>2</sub> pode ser atribuída à melhor solubilidade de CO<sub>2</sub> na matriz lipídica do filme GA<sub>6</sub>T<sub>20</sub>.

Wong et al. (1992) em seu estudo sobre filmes de quitosana contendo ácidos lipídicos, também verificaram que a permeabilidade ao CO<sub>2</sub> do filme de quitosana pura é menor se comparada a filmes de quitosana com ácidos lipídicos.

Considerando-se a molécula do CO<sub>2</sub>, o carbono apresenta duas ligações com cada oxigênio, uma através de um orbital híbrido do tipo sp e a outra com um orbital p puro. Desta maneira, a geometria da molécula é linear, com ângulo de 180° entre as duplas ligações. Dada à maior eletronegatividade do oxigênio em relação ao carbono, serão formados nesta estrutura dois dipolos elétricos. Se os vetores que representam estes dipolos forem somados, ver-se-á que a resultante é nula. Em outras palavras, a molécula do CO<sub>2</sub>, mesmo sendo formada por ligações polares, será apolar. Assim sua solubilidade é maior na matriz hidrofóbica da amostra do filme contendo ácido esteárico.

## 4.3 Resultados para os frutos de mirtilo

### 4.3.1 Perda de massa

Para o experimento perda de massa, observou-se um incremento gradativo na perda de massa de todos os frutos, tanto no controle como nos tratamentos GA<sub>6</sub>T<sub>20</sub> e GBT<sub>80</sub>, conforme aumentava o tempo de

armazenamento verificado na Tabela 13. Porém, as análises estatísticas mostraram efeito significativo entre o controle e os tratamentos GA<sub>6</sub>T<sub>20</sub> e GBT<sub>80</sub> durante todo o período de armazenamento. Por outro lado, nenhuma diferença significativa foi observada entre os tratamentos GA<sub>6</sub>T<sub>20</sub> e GBT<sub>80</sub>. Em todas as avaliações realizadas durante o armazenamento ambos os filmes utilizados auxiliaram na contenção da perda de massa quando comparados ao controle.

Tabela 13 - Valores médios da perda de massa (%) de frutos de mirtilo cv. Clímax, revestidos por diferentes biofilmes e armazenados por 30 dias a 5°C e UR, variando entre 75 e 80%.

Tratamentos	Armazenamento (dias)					
	5	10	15	20	25	30
Controle	5,74 a	9,86 a	13,43 a	16,49 a	19,46 a	22,89 a
GA <sub>6</sub> T <sub>20</sub>	4,67 b	7,63 b	10,47 b	13,75 b	16,42 b	18,95 b
GBT <sub>80</sub>	5,01 b	8,51 b	11,22 b	14,19 b	17,09 b	20,35 b

Médias seguidas pela mesma letra na coluna não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

As amostras dos frutos controle, sem cobertura, ao longo do período analisado, apresentaram uma maior perda de massa, culminando ao final de 15 dias com uma perda de 13,43% e após 30 dias com 22,89%.

As amostras de mirtilo revestidas com GA<sub>6</sub>T<sub>20</sub> apresentaram uma perda de peso após 15 dias de 10,47% e após 30 dias, com 18,95%.

No presente estudo o coeficiente de permeabilidade ao vapor d'água do filme GA<sub>6</sub>T<sub>20</sub> ( $1.62 \text{ g água} \cdot \mu\text{m} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{dia}^{-2} \cdot \text{mmHg}^{-1}$ ) é menor do que o coeficiente do filme GBT<sub>80</sub> ( $2.19 \text{ g água} \cdot \mu\text{m} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{dia}^{-2} \cdot \text{mmHg}^{-1}$ ), verificando-se uma consistência nos resultados, visto que os frutos cobertos com GA<sub>6</sub>T<sub>20</sub> (gelatina com adição de ácido esteárico) apresentaram uma menor perda de massa ao longo dos períodos analisados.

De acordo Awad (1993), uma perda de água de apenas 5% resulta não só na perda de massa, mas também no murchamento e na perda de consistência, fatores que afetam a aparência e a consistência firme, ideal para o consumo de muitos frutos. O tipo de superfície e de tecidos do fruto afeta a perda de água. A cutícula representa a barreira principal à entrada à saída de vapor d'água se não estiverem bloqueadas. Os

ferimentos que ocorrem na superfície, devido à atividade de insetos e micro-organismos ou à manipulação descuidada após a colheita, também aceleram a perda de água.

HARDENBURG et al. (1986) verificaram que o mirtilo, devido a ser um fruto pequeno, possui grande área de superfície de exposição por unidade de volume, o que favorece a perda de água pelo processo transpiratório.

Embora ao final do armazenamento o percentual de perda de massa tenha sido superior, 5%, ocasionando murchamento dos frutos conforme Figuras 31 e 32, pode-se observar que as coberturas denominadas como Trat.1 ( $GA_6T_{20}$ ) e Trat. 2 ( $GBT_{80}$ ) mostraram-se efetivas na contenção da perda de massa dos frutos de mirtilo, pois ao se comparar o peso do fruto controle ao final de 30 dias com o coberto com  $GA_6T_{20}$  verifica-se uma diferença de 3,94% entre as perdas de massa. Por outro lado na comparação dos frutos tipo controle com os revestidos com  $GBT_{80}$  a diferença é 2,54%, confirmando a melhor efetividade da cobertura de  $GA_6T_{20}$  no que se refere á barreira da perda de massa do fruto.

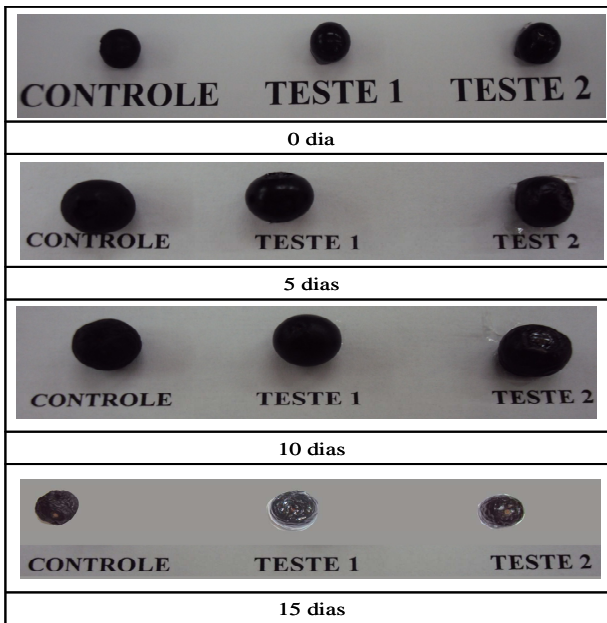


Figura 31 - Aspecto visual dos frutos de mirtilo submetidos aos tratamentos e comparados ao controle durante o período de 0 a 15 dias de armazenamento a 5°C e UR, variando entre 75 e 80%.

Teste 1: amostra coberta com o filme  $GA_6T_{20}$ , e Teste 2: amostra coberta com o filme  $GBT_{80}$

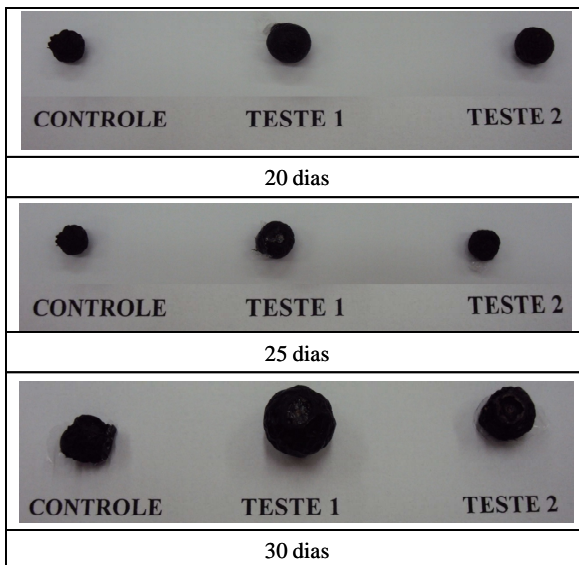


Figura 32 - Aspecto visual dos frutos de mirtilo submetidos aos tratamentos e comparados ao controle durante o período de 20 a 30 dias de armazenamento a 5°C e UR, variando entre 75 e 80%.

Teste 1: amostra coberta com o filme GA<sub>6</sub>T<sub>20</sub>, e Teste 2: amostra coberta com o filme GBT<sub>80</sub>

Segundo Borecka e Plizka (1985), os frutos de mirtilo têm uma vida de prateleira limitada se comparado a outros frutos devido aos processos fisiológicos do amadurecimento e a deterioração causada por fungos. Os resultados experimentais obtidos neste estudo, Figuras 31 e 32, demonstram que os frutos apresentam-se com qualidade para comercialização *in natura* no máximo até 15 dias de armazenamento, ainda com alguma restrição devido ao aspecto de murchamento. As temperaturas e umidades relativas empregadas no experimento foram no intuito de reproduzir as mais próximas condições de armazenamento refrigerado utilizados pelo consumidor.

Resultados similares foram obtidos por Westwood (1992) que relatou o armazenamento para o fruto de até 14 dias, entre 2 e 4°C, com umidade relativa de 90 a 95%.

Para Handenburg et al. (1986), o mirtilo suporta até 2 semanas com temperatura variando entre - 0.5°C a 0°C e umidade relativa de 90 a 95%. Também Eck e Childers (1966) relataram que a estocagem durante 4 semanas a 0°C acarreta perda de qualidade, principalmente devido à desidratação dos frutos.

A Figura 33 apresenta a perda de massa dos frutos controle e

revestidos com os filmes  $GBT_{80}$  e  $GA_6T_{20}$ . Foi possível determinar a taxa (cinética) da perda de massa para cada amostra, obtendo-se os seguintes resultados: controle:  $Y = 0,805X$ ;  $GBT_{80}$ :  $Y = 0,703X$ ;  $GA_6T_{20}$ :  $Y = 0,664X$ . Estas equações permitem modelar ou conhecer a perda de massa em qualquer intervalo de tempo.

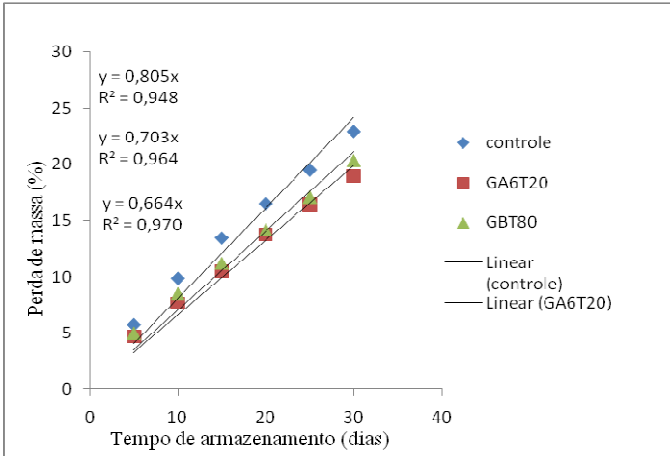


Figura 33 - Perda de massa em função do tempo de armazenamento.

### 4.3.2 pH

O pH dos frutos de mirtilo, geralmente é inferior a 4,5, aumenta no decorrer do amadurecimento e influencia as características sensoriais e a capacidade de conservação dos mesmos (SOUSA, 2007). De acordo com os resultados obtidos, na Tabela 14 pode-se observar que somente aos 10, 15 e 25 dias de armazenamento dos frutos ocorreu alterações na variável pH, com diferenças significativas entre o controle e os tratamentos  $GA_6T_{20}$  e  $GBT_{80}$ .

E, por não haver uma linearidade ao longo do período de armazenamento, estes resultados podem estar atrelados à condição da amostra que foi analisada, isto é, à qualidade e condição de maturação destes frutos na colheita, uma vez que o pH aumenta à medida que o fruto amadurece. Pois no início do armazenamento, as amostras do controle e tratamentos  $GA_6T_{20}$  e  $GBT_{80}$  apresentaram pH igual a 3,55 e os tratamentos  $GA_6T_{20}$  e  $GBT_{80}$  apresentaram pH igual a 3,55 e ao completarem 15 dias apresentaram pH de 3,25, 3,39 e 3,46, respectivamente, mas no entanto ao término de 30 dias atingiram pH de

3,31, 3,39 e 3,39, respectivamente, o que não constitui diferença significativa.

Tabela 14 - Valores médios do pH de frutos de mirtilo cv. Clímax, revestidos por diferentes biofilmes e armazenados por 30 dias a 5°C e UR, variando entre 75 e 80%.

Tratamento	Armazenamento (dias)						
	0	5	10	15	20	25	30
Controle	3,55 a	3,18 a	3,19 a	3,25 a	3,36 a	3,33 a	3,31 a
GA <sub>6</sub> T <sub>20</sub>	3,55 a	3,16 a	3,29 b	3,39 ab	3,38 a	3,58 b	3,39 a
GBT <sub>80</sub>	3,55 a	3,22 a	3,41 c	3,46 b	3,30 a	3,43 ab	3,39 a

Médias seguidas pela mesma letra na coluna não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Ao trabalhar com morangos da cultivar Sequóia, em ambiente refrigerado e atmosfera modificada Scalon et al. (1996) também não observaram alterações significativas de pH depois de 14 dias de armazenamento. Por outro lado, Bicalho (1998) em seu trabalho com mamão, observou aumento do pH ao final do período de armazenamento, o qual atribuiu à redução da acidez total titulável.

#### 4.3.3 Acidez total titulável (ATT)

A acidez de um fruto é medida pela presença dos ácidos orgânicos, que servem de substratos para a respiração, encontram-se dissolvidos nos vacúolos das células tanto na forma livre, como combinada com sais, ésteres, glicosídeos. Em frutos, não só contribuem para a acidez, como também para o aroma característico, porque alguns componentes são voláteis. O teor de ácidos orgânicos tende a diminuir, devido à sua oxidação no ciclo dos ácidos tricarbóxicos, ao processo respiratório ou de sua conversão em açúcares, pois nesta fase ocorre maior demanda energética pelo aumento do metabolismo (CHITARRA; CHITARRA, 1990).

Os valores referentes à acidez dos frutos de mirtilo no decorrer do armazenamento estão descritos na Tabela 15.

Tabela 15 - Valores médios da acidez total titulável (% ácido cítrico) de frutos de mirtilo cv. Clímax, revestidos por diferentes biofilmes e armazenados por 30 dias a 5°C e UR, variando entre 75 e 80%.

Tratamentos	Armazenamento (Dias)						
	0	5	10	15	20	25	30
Controle	0,47 a	0,61 a	0,65 a	0,67 a	0,62 a	0,65 a	0,66 a
GA <sub>6</sub> T <sub>20</sub>	0,47 a	0,48 b	0,47 b	0,55 b	0,54 a	0,50 b	0,53 b
GBT <sub>80</sub>	0,47 a	0,62 ab	0,40 c	0,40c	0,72 a	0,44 b	0,49 b

Médias seguidas pela mesma letra na coluna não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Para os resultados de acidez, a análise de variância apresentou resultados significativos dos tratamentos sobre a acidez titulável dos frutos a partir do 5° dia.

Observou-se uma oscilação nos valores médios da acidez no decorrer do período de avaliação, provavelmente devido ao efeito concentrador da perda de umidade ao longo do armazenamento. Os frutos de mirtilo com 15 dias de armazenamento apresentaram uma diferença significativa de valores de acidez total de 0,67% para frutos tipo controle, 0,55% para frutos de mirtilo revestidos com GA<sub>6</sub>T<sub>20</sub> e 0,40% para os revestidos com GBT<sub>80</sub>. Com o término do prazo de 30 dias de armazenamento não se observou diferença significativa entre os frutos, revestidos com GA<sub>6</sub>T<sub>20</sub> e GBT<sub>80</sub>, com valores de acidez de 0,53 e 0,49%, respectivamente. Porém, se comparados ao controle, que apresentou 0,66% de acidez, a diferença é significativa.

O fato dos frutos apresentarem uma oscilação nos índices de acidez titulável durante o armazenamento corroboram com os dados encontrados por Hojo et al. (2006) que verificaram em pimentões da cv. Ikeda oscilações semelhantes nos índices de acidez em frutos tratados com biofilme de féculas de mandioca, durante 8 dias de armazenamento.

A capacidade tampão de alguns sucos, segundo Chitarra e Chitarra (1990), permite que ocorram variações na acidez titulável sem variações apreciáveis no pH. Contudo, em uma faixa de concentração de ácidos entre 2,5 e 0,5%, o pH aumenta com a redução da acidez, sendo utilizado como indicativo dessa variação.



#### 4.3.4 Sólidos solúveis totais (SST)

Os sólidos solúveis totais representam os compostos solúveis em água presentes nos frutos, como açúcares, vitaminas, ácidos, aminoácidos e algumas pectinas. O teor de sólidos solúveis totais é dependente do estágio de maturação no qual o fruto é colhido e, geralmente, aumenta durante a maturação pela biossíntese ou degradação de polissacarídeos (CHITARRA ;CHITARRA, 1990).

Os sólidos solúveis totais são compostos principalmente por sacarose, frutose e glucose. Os polissacarídeos da parede das células são quebrados durante o amadurecimento, observando-se, assim, a diminuição deste parâmetro durante o processo de amadurecimento de frutas e hortaliças. A maioria dos carboidratos solúveis é completamente metabolizada enquanto o fruto amadurece (MATTOO et al.1995).

Segundo Sousa (2007), um fruto de mirtilo é considerado maduro quando seu teor de sólidos solúveis totais (°Brix) atinge a faixa de 11,3 -16,0.

Os valores referentes a sólidos solúveis totais do mirtilo no decorrer do armazenamento estão descritos na Tabela 16.

Tabela 16 - Valores médios dos sólidos solúveis totais (°Brix), de frutos cv. Clímax, revestidos por diferentes biofilmes e armazenados por 30 dias a 5°C e UR, variando entre 75 e 80%.

Tratamentos	Armazenamento (dias)						
	0	5	10	15	20	25	30
Controle	15,07 a	15,60 a	16,0 a	16,03 a	20,53 a	15,90 a	20,53 a
GA <sub>6</sub> T <sub>20</sub>	15,07 a	13,80 a	21,0 a	15,33 a	17,00 a	21,07 a	17,63 a
GBT <sub>80</sub>	15,07 a	18,83 a	18,0 ab	18,70 a	16,80 a	17,77 ab	16,80 a

Médias seguidas pela mesma letra na coluna não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Os dados dos teores de sólidos solúveis totais dos frutos de mirtilo descritos na Tabela 16 não apresentam diferenças significativas entre as médias obtidas para o controle, GA<sub>6</sub>T<sub>20</sub> e GBT<sub>80</sub>, durante todo o período de armazenamento, embora com oscilações entre os valores encontrados.

Durante o experimento, os teores de sólidos solúveis analisados em amostras de frutos controle oscilaram ao longo do período de armazenamento entre 15,07 e 20,53 °Brix. Já as amostras de frutos

revestidos com GA<sub>6</sub>T<sub>20</sub> apresentaram variação entre 15,07 e 21,07 °Brix e os frutos de mirtilo revestidos com o biofilme de GBT<sub>80</sub> variaram de 15,07 até 18,83 °Brix, ao longo dos 30 dias de experimento.

Estes resultados sugerem que as amostras de frutos de mirtilo analisadas se encontravam em seu ponto ótimo de maturação, uma vez que não houve um aumento estatisticamente significativo dos sólidos solúveis totais durante o período de armazenamento, características estas do processo de amadurecimento, ressaltando também, a característica de frutos não-climatéricos. Carvalho Filho (2000) estudando a conservação de cerejas em ambiente refrigerado, utilizando coberturas comestíveis, observou os tratamentos que usaram zeína como cobertura comestível apresentaram os maiores valores de sólidos solúveis totais (°Brix) durante o período de conservação, demonstrando que este tipo de cobertura não evitou a evolução dos sólidos solúveis totais característicos do processo de amadurecimento, nas circunstâncias em que foram utilizadas. E quando compara as cerejas revestidas com zeína e as sem cobertura (controle), observou que este tipo de cobertura promoveu a aceleração do processo de amadurecimento dos frutos.

#### 4.3.5 Relação SST/ATT

A relação SST/ATT é obtida da razão entre sólidos solúveis totais e acidez total titulável. O experimento realizado com frutos de mirtilo apresentaram os resultados, conforme Tabela 17.

Tabela 17 - Valores médios da razão de sólidos solúveis totais (SST)/acidez total titulável (ATT), de frutos de mirtilo cv. Clímax, revestidos por diferentes biofilmes e armazenados por 30 dias a 5°C e UR, variando entre 75 e 80%.

Tratamento	Armazenamento (dias)						
	0	5	10	15	20	25	30
Controle	31,95 a	25,53 a	24,64 a	23,80 a	34,08 a	24,64 a	31,17 a
GA <sub>6</sub> T <sub>20</sub>	31,95 a	28,95 a	44,15 a	27,99 a	31,37 b	42,27 a	33,23 a
GBT <sub>80</sub>	31,95 a	30,33 a	45,77 a	47,19 a	23,34 ab	41,10 a	34,86 a

Médias seguidas pela mesma letra na coluna não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

A relação de SST/ATT não apresentou diferença significativa até o 15º de armazenamento. No 20º dia verificou-se uma diferença significativa entre frutos controle e frutos tratados com GA<sub>6</sub>T<sub>20</sub> com resultados respectivamente de 34,08 e 31,37. Aos 30 dias de armazenamento os frutos tipo controle e os revestidos com GA<sub>6</sub>T<sub>20</sub> e GBT<sub>80</sub>, apresentaram os resultados de 31,17, 33,23 e 34,86, respectivamente, para a relação SST/ATT, demonstrando que os resultados oscilaram no decorrer do armazenamento, mas não foram significativos para evidenciar uma contenção da relação SST/ATT, em função dos tratamentos utilizados em comparação com o controle. Valores médios da relação SST/ATT para mirtilo de 28,09 - 39,02 foram relatados por Sousa (2007).



## 5 CONCLUSÃO

As propriedades mecânicas dos filmes não obedeceram a nenhuma tendência em relação à composição dos mesmos, principalmente em relação ao ácido esteárico. As condições ambientais de maior umidade relativa (UR) a 62% mostraram um aumento significativo de deformação na ruptura, quando comparadas aos ensaios realizados a 47% de UR.

As análises por microscopia eletrônica de varredura mostraram que filmes compostos por diferentes concentrações de ácido esteárico, apresentaram partículas lipídicas cristalizadas na superfície, sendo estas mais evidenciadas nos filmes com uma maior concentração deste ácido como o GA<sub>8</sub>T<sub>20</sub> e GA<sub>10</sub>T<sub>20</sub>. Estas estruturas, presentes em maior ou menor quantidade, apóiam os dados obtidos de menor coeficiente de permeabilidade ao vapor d'água e menor transparência dos filmes de emulsão de ácido esteárico em relação aqueles sem a presença do lipídio. Já a micrografia do filme GA<sub>6</sub>T<sub>20</sub> apresentou - se lisa, homogênea sem a presença de cristais de ácido esteárico na superfície. Os filmes GBT<sub>80</sub> apresentaram uma matriz coesa, íntegra, com estrias na criofratura. Também os filmes GA<sub>3</sub>T<sub>20</sub> e GA<sub>5</sub>T<sub>20</sub> em suas micrografias apresentaram superfície lisa e fratura com presença de estrias.

A permeabilidade ao CO<sub>2</sub> também foi influenciada pela presença do ácido esteárico, pois filmes emulsionados sem a presença deste composto tiveram uma menor coeficiente de permeabilidade.

Considerando a comparação da transmitância da região UV com a da região do visível, verificou-se que os valores de transmitância foram nulos a 210 nm, indicando que os filmes com gelatina têm uma boa capacidade de proteção a radiação UV.

Os índices de solubilidade apresentaram resultados atípicos, pois verificou se que os filmes puros de gelatina e glicerol (GG) apresentaram uma menor taxa de solubilidade se comparados aos com ácido esteárico, contrariando o que é descrito em muitos estudos, pois ácidos graxos contribuem para a insolubilização da matriz como um todo.

Os espectros obtidos por espectroscopia de infravermelho mostraram que as bandas da amida I e amida II estão situadas entre 1629 cm<sup>-1</sup> e 1548 cm<sup>-1</sup> para o filme GG, enquanto para o filme GBT<sub>80</sub> em 1631 cm<sup>-1</sup> e 1547 cm<sup>-1</sup>, respectivamente. Já para os filmes formulados através da emulsão de ácido esteárico estas bandas estão deslocadas para valores maiores de número de ondas o que caracteriza a presença de

interações químicas entre as moléculas de gelatina e de ácido esteárico e não a simples dispersão das moléculas lipídicas na matriz proteica.

Nos termogramas de DSC foi possível observar certo grau de imiscibilidade dos componentes emulsionados pela observação de alguns picos endotérmicos, principalmente nos filmes formulados sem a presença do ácido esteárico.

No que se refere à cobertura dos frutos de mirtilo, com diferentes biofilmes de gelatina, conclui-se que:

- ✓ Os biofilmes de gelatina promoveram uma barreira significativa à perda de água dos frutos de mirtilo, como consequência, agindo na contenção da perda de massa do fruto se comparado ao controle;
- ✓ Mas estas barreiras não se mostraram muito eficientes em retardar o processo de murchamento após 15 de armazenamento;
- ✓ Nas condições controladas do experimento, os frutos mirtilo cv. Clímax permaneceram aptos para o consumo in natura até 15 dias de armazenamento, devido ao seu aspecto visual e perda de atratividade para comercialização.

Sugere-se para novos estudos com biofilmes comestíveis aplicados em frutos de mirtilo que sejam utilizados diferentes condições de armazenagem, tais como o uso de atmosfera modificada, a fim de verificar o impacto destas sobre coberturas proteicas com gelatina.

## REFERÊNCIAS

ARYANITTOYANNIS, I.; PSOMIADOU, E.; NAKAYAMA, A.; AIBA, S.; YAMAMOTO, N. Edible films made from gelatin, soluble starch and polyols. Part 3. **Food Chemistry**, v. 60, n. 4, p. 593-604, 1997.

AWAD, M. **Fisiologia pós-colheita de frutos**. São Paulo: Nobel, 1993. 114 p.

BANKER, G. S. Film coating theory and practice. **Journal of Pharmaceutical Science**, v. 55, n. 1, p. 81-89, 1966.

BARRETO, P. L. M. **Propriedades Físico-químicas de soluções formadoras e filmes de caseinato de sódio plastificados com sorbitol**. 2003. 114 f. Tese (Doutorado em Química) - Pós graduação em Química, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2003.

BARROS, J. C. da S. M. de; GOES, A. de; MINAMI, K. Condições de conservação pós-colheita de frutos de pimentão (*Capsicum annuum* L.). **Scientia Agricola**, v. 51, p. 363-368, 1994.

BATISTA, J. A.; TANADA-PALMU, P. S.; PASSOS, F. A.; TRANI, P. E.; GROSSO, C. R. F. Vigor de sementes de brócolos submetidas a coberturas biodegradáveis e micronutrientes. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v. 23, n. 3, p. 841-845, jul-set, 2005.

BERGO, P.; SOBRAL, P. J. A. Effects of plasticizer on physical properties of pigskin gelatin films. **Food Hydrocolloids**, v. 21, n. 8, 2006.

BERTAN, L. C. **Desenvolvimento e Caracterização de Filmes Simples e Compostos à base de Gelatina, Ácidos Graxos e Breu Branco**. 2003, 159 f. Dissertação (Mestrado em Alimentos e Nutrição) - Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2003.

BERTAN, L. C.; TANADA-PALMU, P. S.; SIANI, A. C.; GROSSO, C. R. F. Effect of fatty acids and “Brazilian elemi” on composite films based on gelatin. **Food Hydrocolloids**, v. 19, n. 1, p. 73-82, 2005.

BHOWMIK, S. R.; PAN, J. C. Shelf life of mature green tomatoes stored in controlled atmosphere and high humidity. **Journal of Food Science**, v. 57, n. 4, p. 948-953, 1992.

BICALHO, U. de O. **Vida útil pós-colheita de mamão submetido a tratamento com cálcio e filme de PVC**. 1998. 154 f. Tese (Doutorado em Ciência dos Alimentos) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, 1998.

BLUM, J.; AYUB, R. A.; MALGARIM, M. B. **Uso de cera na conservação pós-colheita de caqui cv. Fuyu**. Revista Ceres, v. 56, n. 2, p. 124-127, 2009.

BOBBIO, P. A., BOBBIO, F. O. **Química do Processamento de Alimentos**. Varela: São Paulo, 2001.

BOLZAN, R.P. **Biofilmes Comestíveis para conservação pós-colheita de tomate “Dominador”**. 2008. 168 f. Dissertação (Mestrado em Ciências) – Pós graduação em Agronomia, Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2008.

BORECKA, H. W.; PLISZKA, K. Quality of Blueberry fruit ( *Vaccinium corymbosum* L.) stored under LPS, CA, and normal air storage. **Acta Horticulturae**. Leuven, n. 165, p. 241-249, 1985.

CANEVAROLO JR, S. V. **Ciência dos Polímeros**. São Carlos: Artliber Editora, 2001. 115 p.

CARVALHO, R. A. **Desenvolvimento e caracterização de biofilmes à base de gelatina**. 1997. 77 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia de Alimentos) - Universidade Estadual de Campinas, Faculdade de Engenharia de alimentos, Campinas: 1997.

CARVALHO, R. A.; GROSSO, C. R. F. Efeito to Tratamento térmico e enzimático nas propriedades de filmes e gelatina. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**. Campinas, v. 26, n. 3, p. 495-501, jul-set, 2006.

CARVALHO FILHO, C. D. **Conservação de cerejas (*Prunus avium* L.), cv. Ambrunés, utilizando coberturas comestíveis**. 2000. 123 f. Tese (Doutorado em Eng.Agrícola) - Universidade Estadual de Campinas,



Faculdade de Engenharia Agrícola, Campinas, 2000.

CASTREJÓN, A. D. R.; EICHHOLZ, I.; ROHN, S.; KROH, L. W.; KEIL, S. H. Phenolic profile and antioxidant activity of highbush blueberry (*Vaccinium corymbosum* L.) during fruit maturation and ripening. **Food Chemistry**, v. 109, p. 564-572, 2008.

CHITARRA, M. I. F.; CHITARRA, A. B. **Pós-colheita de frutos e hortaliças: fisiologia e manuseio**. Lavras: ESAL/FAEFE, 1990. 320 p.

COUTINHO, E. F.; CANTILLANO, R. F. F. Conservação pós colheita. In: RASEIRA, M. C. B.; ANTUNES, L. E. C. **A cultura do mirtilo**. Pelotas: Embrapa Clima Temperado, p. 53-60, 2004. (EmbrapaClima Temperado. Documentos, 121).

CRISTIANO, C. M. Z. **Blendas formadas por caseína e gelatina: efeito da adição de plastificante e de agente reticulante e interações com copolímeros**. 2009. 139 f. Tese (Doutorado em Química) - Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2009.

CUQ, B.; GONTARD, N.; GUILBERT, S. Proteins as agricultural polymers for packaging production. **Cereal Chemistry**, v. 75, n. 1, p. 1-9, 1998.

DAVANÇO, T.; PALMU, P. T.; GROSSO, C. Filmes compostos de gelatina, triacetina, ácido esteárico ou capróico: efeito do ph e da adição de surfactantes sobre a funcionalidade dos filmes. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**. Campinas, v. 27, n. 2, abr./jun. 2007.

DONHOWE, I. G.; FENNEMA, O. The effect of relative humidity on water vapor permeance of lipid-hydrocolloid bilayer films. **JOACS**, v. 69, n. 1, p. 1081-1087, 1992.

DUAN, J.; WU, R.; STRIK, C. B.; ZHAO, Y. Effect of edible coatings on the quality of fresh blueberries (Duke and Elliott) under commercial storage condition. **Postharvest Biology and Technology**, v. 59, p. 71-79, 2011.

DURAN, S.; SOLPAN, D.; GÜVEN, O. Synthesis and characterization of acrylamide-acrylic acid hydrogels and adsorption of some textile dyes.

**Nuclear Instruments and Methods in Physics Research B**, v. 151, p. 196-199, 1999.

ECK, P.; CHILDERS, N. F. **Blueberry culture**. New Brunswick: Rutgers, 1966. 378 p.

EUROPEAN PHARMACOPOEIA. **Published in accordance with the convention on the elaboration of a European Pharmacopoeia**. France, 2001.

FAKHOURI, F. M. Efeito de coberturas comestíveis na vida útil de goiabas *innatura* (*Psidium guajava* L.) mantidas sob refrigeração. **Brazilian Journal of Food Technology**, v. 6, n. 2, p. 203-211, 2003.

FAKHOURI, F. M.; FONTES, L. C. B.; GONÇALVES, P. V. M.; GONÇALVES, P. V. M.; MILANEZ, C. R.; STEEL, C. J.; QUEIROZ, F. P. C. 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**, Campinas, v. 27, n. 2, abr./jun. 2007.

GALIETTA, G.; DI GIOLA, L.; GUILBERT, S.; CUQ, B. Mechanical and thermomechanical properties of films based on whey proteins as affected by plasticizer and crosslinking agents. **Journal of Dairy Science**, v. 81, p. 3123-3130, 1998.

GALLAGHER, W. H.; TAO, F.; WOODWARD, C. FTIR Analysis of protein structure. **Biochemistry**, v. 31, p. 4673-4680, 1992.

GALLETA, G. J., BALLINGTON, J. R. Blueberry, cranberries, and lingonberries In: JANICK, J.; MOORE, J. N. **Fruit Breeding**. New York: Jonh Wiley & Sons., p. 1-108, 1996.

GENNADIOS, A. (Ed.). **Protein-Based Films and Coatings**. Florida: CRC Press, 2002.

GIACOMMELLI, V. S. **Morfologia, propriedades térmicas e mecânicas de filmes de proteína isolada de soja/dodecilsulfato de sódio/policaprolactona – triol**. 2005. 103 f. Dissertação ( Mestrado em

Química) - Pós graduação em química, Universidade Federal Santa Catarina, Florianópolis, 2005.

GONTARD, N. **Films et enrobages comestibles**: etude et amelioration des proprietes filmogénes du gluten. França: Université de Montpellier, 1991.

GONTARDE, N.; GUILBERT, S. Bio Packing: Tecnology and properties of edible and/or biodegradable material og agriculture origin. **Boletim da SBCTA**, v. 30, n 1, p. 3-15, 1996.

GONTARDE, N.; GUILBERT, S.; CUG, J. L. Water and glycerol as plasticizers affect mechanical and water vapor barrier properties of an edible wheat glúten film. **Journal of Food Science**, v. 58, p. 206-211, 1993.

GONTARD, N.; GUILBERT. S.; CUQ, J. L. **Journal of Food Science**, v. 5, n. 190, p. 1992.

GUICHARD, J. L. **Aplicações da Gelatina na Europa**. França: Leiner Davis Gelatin, 1994.

GUILBERT, S. Technology and application of edible protective films. In: **Food Packaging and Preservation**, Edr., M. Mathlouthi. New York: Elsevier Applied Science Publissers, v. 19, p. 371-394, 1986.

HANDBOOK OF PHARMACEUTICAL EXCIPIENTS. 3<sup>o</sup>ed. U.S.A. **American Pharmaceutical Association and Pharmaceutical Press**, 2000.

HARDENBURG, R. E.; WATADA, A. E.; WANG, C. Y. **The commercial storage of fruits, vegetables, and florist, and nursery stocks**. Washington: USDA, 1986. 130 p.

HOJO, E. T. D.; CARDOSO, A. D.; HOJO, R. H.; VILAS BOAS, E. V. B.; ALVARENGA, M. A. R. Uso de películas de fécula de mandioca e PVC na Conservação pós-colheita de pimentão. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 31, n. 1, jan./fev. 2007.

INSTITUTO ADOLFO LUTZ. **Métodos físico-químicos para análise de alimentos**. São Paulo: Instituto Adolfo Lutz, 2008. p. 1020. Disponível em: <[http://www.ial.sp.gov.br/index.php?option=com\\_remository&Itemid=7&func=select&id=1&orderby=1&page=4](http://www.ial.sp.gov.br/index.php?option=com_remository&Itemid=7&func=select&id=1&orderby=1&page=4)>. Acesso em: 26 ago. 2009.

JOHNSTON-BANKS, F. A. Gelatine. In: HARRIS, Peter. **Food Gels**. New York: Elsevier Applied Science, 1990. v.7, p. 233-289.

JONGJAREONRAK, A.; BENJAKUL, S.; VISESSANGUAN, W.; TANAKA, M. Effects of plasticizers on the properties of edible films from skim gelatin of bigeye snapper and brownstripe red snapper. **European Food Research and Technology**, v. 19, p. 229-235, 2006.

KAYS, S. J. **Postharvest physiology of perishable plant products**. New York : Van Nostrand Reinhold, 1991. 532 p.

KESTER, J. J., FENNEMA, O. R. Edible films and coatings: a review. **Food Technology**, v. 10, n. 12, p. 4759, 1986.

KLUGE, R. A.; HOFFMANN, A.; NACHTIGAL, J. C.; BILHALVA, A. B.; SANTOS, A. M. Frigoconservação de frutos de mirtilo (*Vaccinium ashei* Reade)CV. Climax. **Revista Brasileira de Agrociência**, v. 1, n. 3, p. 185-188, set./dez. 1995.

KLUGE, R. A.; MINAMI, K. Efeito de ésteres de sacarose no armazenamento de tomates ‘Santa Clara’. **Scientia Agrícola**, Piracicaba, v 54, n. 1-2, p. 39-44, 1997.

KOCA, I.; KARADENIZ, B. Antioxidant properties of blackberry and blueberry fruits grown in the Black Sea Region of Turkey. **Scientia Horticulturae**, v. 121, p. 447- 450, 2009.

LABUZA, T. P. The effect of water activity on reaction Kinetics of food deterioration. **Food Technology**, v. 34, n. 4, p. 36-41,59, 1980.

LIMPISOPHON, K.; TANAKA, M.; OSAKO, K. Characterisation of gelatin – fatty acid emulsions films based on blue shark (*Prionace glauca*) skin gelatin. **Food Chemistry**, v. 122, p. 1095-1101, 2010.

LOHACHOOMPOL, V.; MULHOLLAND, M.; SRZEDNICKI, G.; CRASKE, J. Determination of anthocyanins in various cultivars of highbush and rabbiteye blueberries. **Food Chemistry**, v. 111, p. 249-254, 2008.

LUIZE, A. **Programa de treinamento para engenheiro Júnior**. Maringá: Gelita do Brasil, 1992.

MACIEL, M.I. S.; SILVA, W. S.; SOUZA, K. A.; MELO, E. A.; LIMA, V. L. A. G.; PEDROSA, E. M. R. Modificações pós -colheita em frutos de 16 genótipos de aceroleira armazenados sob refrigeração. **Revista Brasileira de Ciências Agrárias**, v. 3, n. 2, p. 157-153, abr./jun. 2008.

MAIA, L. H.; PORTE, A.; SOUZA, V. F. DE. Filmes comestíveis: Aspectos Gerais, propriedades de barreira a umidade e oxigênio. **Boletim do Centro de Pesquisa de processamento de Alimentos**, v. 18, n. 1, 2000.

MATSUO, Y.; FUGITA, Y.; OHNISHI, S.; TANAKA, T.; HIRABARU, H.; KAI, T.; SAKAIDA, H.; NISHIZONO, S.; KOUNO, I. Chemical constituents of the leaves of rabbiteye blueberry (*Vaccinium ashei*) and characterisation of polymeric proanthocyanidins containing phenylpropanoid units and A- type linkages. **Food Chemistry**, v. 121, p. 1073-1079, 2010.

MATTOO, A. K.; MURATA, T.; PANTASTICO, E. B.; CHACHIN, K.; OGATA, K.; PHAN, C. T. Chemical changes during ripening and senescence. In: PANTASTICO, E.B. **Postharvest Physiology, Handling and Utilization of Tropical and Subtropical Fruits and Vegetables**. Westport: The AVI Publishing, p. 103-127, 1995.

McHUGH, T.H.; KROCHTA, J. M. Milk protein based edible films and coating. **Food Technology**, v. 48, n. 1, p. 97-103, 1994.

McHUGH, T. H.; AUJARD, J.F.; KROCHTA, J. M. Plasticized whey protein edible films: water vapor permeability properties. **Journal of Food Science**, v. 59, n. 2, p. 416-419 e 423, 1993.

MIN-SHENG, S.; SILVA, J. L. Antioxidant activity, anthocyanins, and phenolics of rabbiteye blueberry (*Vaccinium ashei*) by - products as affected by fermentation. **Food Chemistry**, v. 97, p. 447- 451, 2005.

MORENO, M. A.; CASTELL-PEREZ, E.; GOMES, C.; SILVA, P. F.; MOREIRA, R. G. Quality of electron beam irradiation of blueberries (*Vaccinium corymbosum* L.) at medium dose levels (1.0-3.2 kGy). *LWT*, v. 40, p. 1123-1132, 2006.

OLIVEIRA, M. N. **Aplicação de Biofilmes em pré-colheita para o controle da injúria provocada pelo látex em frutos de *Mangifera indica* L. (*Anacardiaceae*)**. 2005. 120 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia) - Pós graduação em Agronomia, Universidade Federal de Alagoas, Rio Largo, 2005.

PEREIRA, L.; SOUSA, A.; COELHO, H.; AMADO, A. M.; RIBEIRO-CLARO, P. J. A. Use of FTIR, FT – Raman and C-NMR spectroscopy for identification of some seaweed phycocolloids. **Biomolecular Engineering**, v. 20, p. 223-228, 2003.

PEROVAL, C. *et al.* Edible arabinoxylan-based films. Effects of lipids types on water vapor permeability, film structure, and other physical characteristics. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 50, p. 3977-3983, 2002.

POPPE, J. Gelatin. In: **Thickening and Gelling Agents for Food**, New York: Ed. Alan Imeson, Blackie Academia & Professional, v. 7, p. 144-168. 1987.

PORTO, L. C. **Filmes formados por gelatina e poli (acrilamida-CO-ácido acrílico)**: Efeito da composição, do plastificante e agente reticulante na propriedades térmicas, mecânicas e absorção de água. 2007. 95 f. Dissertação (Mestrado em Química) - Pós graduação em Química, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2007.

PRIEBBENOW, R. **Aplicações de Gelatina em produtos alimentícios**. Austrália: Leiner Davis Internacional, 1991.

RASEIRA, M. C. B. Classificação botânica, descrição da planta, melhoramento genético e cultivares. In: RASEIRA, M.C. B.; ANTUNES, L. E. C. **A cultura do mirtilo**. Pelotas: Embrapa Clima Temperado, p. 13-26, 2004. (Embrapa Clima Temperado. Documentos, 121).

RESENDE, J. M. **Revestimentos Biodegradáveis para a conservação de coco “anão verde”**. Campinas, 2007.

RIBEIRO, E. P., SERAVALLI, E. A. G. **Química de Alimentos**. São Paulo: Edgard Blücher, 2004.

RODRIGUES, E. **Atividade antioxidante *in vitro* e perfil fenólico de cultivares de mirtilo (*Vaccinium* sp.) produzidas no Brasil**. 2009. 85 p. Dissertação (Mestrado em Ciência dos Alimentos) – Centro de Ciências Agrárias, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2009.

ROGERS, M. D. H. **Rheological properties of gelatin/starch composite gels**. University of Guelph: Canada, 2001.

ROTH, T.; LONCIN, M. Superficial activity of water. In: **Engineering and food**. London : B.M. Mckenna, v. 1, 1984.

ROTTA, J. **Propriedades físico químicas de soluções formadoras e de filmes de quitosana e hidroxipropilmetilcelulose**. 2008. 128 p. Dissertação (Mestrado em Ciência dos Alimentos) - Centro de Ciências Agrárias, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2008.

SANTOS, F. C. **Otimização de poliuretanos para protetores de linhas flexíveis sujeitos ao desgaste abrasivo**. 2008.136 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Mecânica) – Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia, 2008.

SCALON, S. P.; CHITARRA, A. B.; CHITARRA, M. I. F.; ABREU, M. S. Conservação de morangos (fragaria ananassa Duch) cv. Sequóia em atmosfera modificada. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Cruz das Almas, v. 18, n. 3, p. 431-436, 1996.

SCHRIEBER, R.; GAREIS, H. **Gelatine Handbook -Theory and Industrial Practice**. Alemanha: Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA., 2007.

SILVA, E. A. **Secagem de Gelatina** – Análise do perfil de concentração e temperatura no interior do gel. Universidade Estadual de Maringá: Maringá, 1995.

SERAFINI, M.; TESTA, M. F.; VILLÁNO, D.; PECORARI, M.; WIERER, K. V.; AZZINI, E.; BRAMBILLA, A.; MAIANI, G. Antioxidant activity of blueberry fruit is impaired by association with Milk. **Free Radical Biology & Medicine**, v.46, p. 769-774, 2008.

SOBRAL, P.; DE ALVAREDO, J. D.; ZARITZKY, N. E.; LAURINDO, J. B.; GÓMEZ-GUILLÉN, C.; AÑÓN, M. C.; MONTEIRO, P. DENAVI, G.; ORTIZ, S. M.; MAURI, A.; PINOTTI, A.; GARCIA, M.; MARTINO, M. N.; CARVALHO, R. Filmes Based on Biopolymer from Conventional and Non – Conventional Sources. **Food Engineering: Integrated Approches**, p. 193-223, 2008.

SOBRAL P J A.; MENEGALLIF C.; HUBINGER M D.; ROQUES M A. Mechanical, water vapor barrier and thermal properties of gelatin based edible films. **Food Hydrocolloids**, v. 15, p. 423-432, 2001.

SOLOMONS, T. W. G.; FRYHLE, C, B. **Organic Chemistry**. 7. ed. New York, USA: John Wiley & Sons, 2000. 1258 p.

SOUSA, M. B. **Mirtilo**: Qualidade Pós – Colheita. Folhas de Divulgação AGRO 556. n. 8, p. 1-18. 2007.

SRIVASTAVA, A.; AKOH, C. C.; YI, W.; FISCHER, J. KREWER, G. Effect of storage conditions on the biological activity of phenolic compounds of blueberry extract packed in glass bottles. **Journal of Agricultural and Food Chesmistry**, v. 55, p. 2705 -2713, 2007.

TAGER, A. **Physical Chemistry of Polymers**. MIR Publishers, Moscow, 1972. 558 p..

TANG, C., JIANG, Y., WEN, Q. B., YANG, X. Q. **Jounal of Biotechnology**, v. 120, 2005. 296 p.

THOMAZINE, M.; CARVALHO, R. A.; SOBRAL, P. J. A. Physical properties of gelatin films plasticized by blends of glycerol and sorbitol. **Journal of Food Science**, v. 70, p. 172-176, 2005.

USDA. Economic Research Service. (2003). **Trends in the US fresh blueberry industry**. FTS 305, 16 p. Disponível em :



<<http://www.ers.usda.gov/Briefing/FruitAndTreeNuts/fruitnutpdf/blueberry.pdf>>. Acesso em: 5 nov. 2010.

VAN DE VELDE, K.; KIEKENS, P. Development of a flax/polypropylene composite with optimal mechanical characteristics by fiber and matrix modification. **Journal of Thermoplastic Composite Materials**, v. 15, n. 4, p. 281-300, 2002.

VANIN, F.M.; SOBRAL, P.J.A., MENEGALLI, F.C.; CARVALHO, R.A.; HABITANTE, A.M.Q.B. Effects of plasticizers and their concentration on thermal and functional properties of gelatin-based films. **Food Hydrocolloids**, v. 19, p. 899-907, 2005.

VEIS, A. **The Macromolecular Chemistry of Gelatin**. Academic Press - New York and London, 1964.

VICENTINI, N. M.; CEREDA, M. P.; CÂMARA, F. L. A. Revestimentos de fécula de mandioca, perda de massa e alteração da cor de frutos de pimentão. **Scientia Agrícola**, v. 56, n. 3, p. 713-716, 1999.

WARD, A. G.; COURTS, A. **The Science and Technology of Gelatin**. New York: Academic Press, 1977. p. 467-469.

WESTWOOD, M. N. **Fruticultura de Zonas Templadas**. Barcelona: Mundi-Prensa, 1982. 461 p.

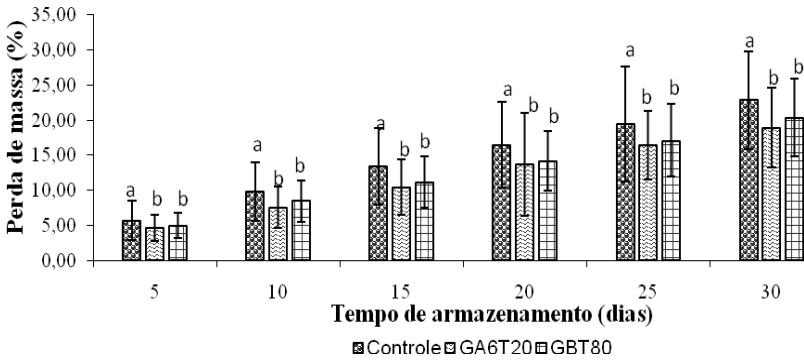
WOLF, K. L. **Propriedades físico-químicas e mecânicas de biofilmes elaborados a partir de fibra e pó de colágeno**. 2007. 103 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia e Ciências de Alimentos) - Instituto de Biociências, Letras e Ciências Exatas da UNESP, Campus de São José do Rio Preto, São José do Rio Preto, 2007.

WONG, D.W.S.; GASTINEAU, F.A.; GREGORSKI, K.S.; TILLIN, S.J.; PAVIATH, A.E. Chitosan-Lipid Filmes: Microstructure and Surface Energy. **Journal of Agriculture and Food Chemistry**, v. 40, p. 540-544, 1992.

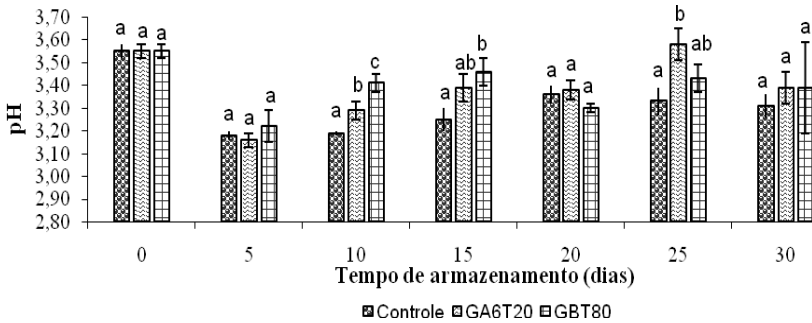


## APÊNDICES

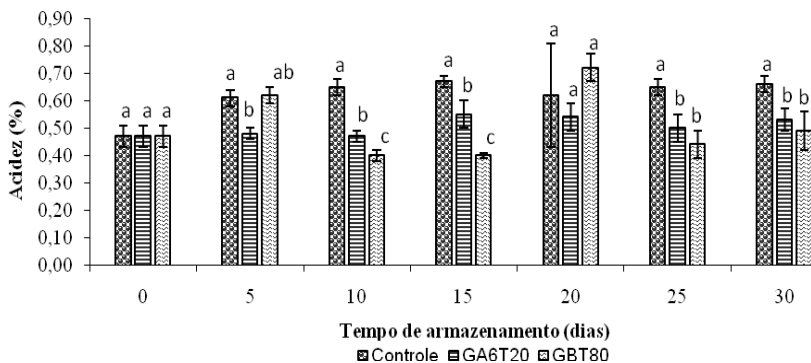
**APÊNDICE A** - Figura dos valores médios da perda de massa (%) de frutos de mirtilo cv. Clímax, revestidos por diferentes biofilmes e armazenados por 30 dias a 5°C e UR, variando entre 75 e 80%.



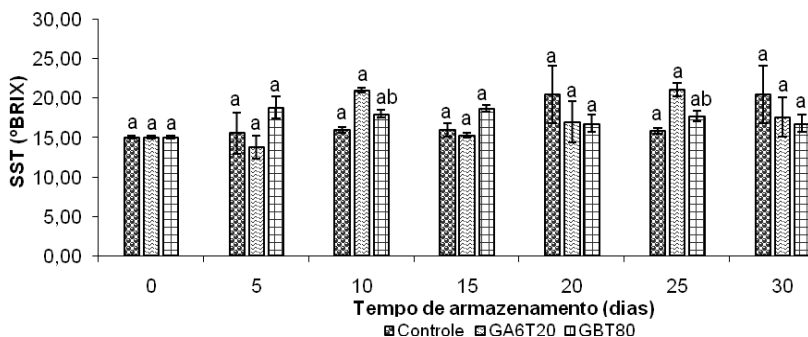
**APÊNDICE B** – Figura dos valores médios da análise do pH de frutos de mirtilo cv. Clímax, revestidos por diferentes biofilmes e armazenados por 30 dias a 5°C e UR, variando entre 75 e 80%.



**APÊNDICE C** - Figura dos valores médios da acidez total titulável (% ácido cítrico) de frutos de mirtilo cv. Clímax, revestidos por diferentes biofilmes e armazenados por 30 dias a 5°C e UR, variando entre 75 e 80%.



**APÊNDICE D** - Figura dos valores médios das análises dos sólidos solúveis totais (°Brix), de frutos de mirtilo cv. Clímax, revestidos por diferentes biofilmes e armazenados por 30 dias a 5°C e UR, variando entre 75 e 80%.



**APÊNDICE E** - Figura dos valores médios da razão sólidos solúveis totais (SST)/acidez total titulável (ATT), de frutos de mirtilo cv. Clímax, revestidos por diferentes biofilmes e armazenados por 30 dias a 5°C e UR, variando entre 75 e 80%.

