



LAURA FONSECA FERREIRA

**DEVELOPMENT OF CASSAVA STARCH/SOY PROTEIN
BLENDS INCORPORATED WITH ACTIVE AGENTS BY
EXTRUSION**

**LAVRAS - MG
2021**

LAURA FONSECA FERREIRA

**DEVELOPMENT OF CASSAVA STARCH/SOY PROTEIN BLENDS
INCORPORATED WITH ACTIVE AGENTS BY EXTRUSION**

Tese apresentada ao Programa de pós-graduação de Engenharia de Biomateriais da Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Engenharia de Biomateriais, para a obtenção do título de Doutor.

Orientadora

Dr^a. Marali Vilela Dias

Coorientadoras

Dr^a. Maria Alice Martins

Dr^a. Soraia Vilela Borges

LAVRAS – MG

2021

Ficha catalográfica elaborada pelo Sistema de Geração de Ficha Catalográfica da Biblioteca Universitária da UFLA, com dados informados pelo(a) próprio(a) autor(a).

Ferreira, Laura Fonseca.

Development of cassavastarch/soy protein blends
incorporated with active agents by extrusion / Laura Fonseca
Ferreira. - 2021.

119 p. : il.

Orientador(a): Marali Vilela Dias.

Coorientador(a): Soraia Vilela Borges, Maria Alice Martins.

Tese (doutorado) - Universidade Federal de Lavras, 2021.

Bibliografia.

1. Embalagem para alimentos. 2. Embalagem ativa. 3.
Biopolímeros. I. Dias, Marali Vilela. II. Borges, Soraia Vilela. III.
Martins, Maria Alice. IV. Título.

LAURA FONSECA FERREIRA

**DEVELOPMENT OF CASSAVA STARCH/SOY PROTEIN BLENDS
INCORPORATED WITH ACTIVE AGENTS BY EXTRUSION
DESENVOLVIMENTO DE BLENDS DE AMIDO DE MANDIOCA/PROTEÍNA
DE SOJA INCORPORADAS COM AGENTES ATIVOS POR EXTRUSÃO**

Tese apresentada ao Programa de pós-graduação de Engenharia de Biomateriais da Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Engenharia de Biomateriais, para a obtenção do título de Doutor.

APROVADA em 30 de abril de 2021.

Dra. Marali Vilela Dias, UFLA

Dra. Maria Alice Martins, Embrapa

Dr. Mário Guimarães Júnior, CEFET-MG

Dr. Juliano Elvis Oliveira, UFLA

Dra. Lizzy Ayra Alcântara Veríssimo, UFLA

Profa. Dra. Marali Vilela Dias

Orientadora

Lavras – MG

2021

AGRADECIMENTOS

Às orientadoras, Marali, por toda a orientação, pelos conhecimentos transmitidos, pelos conselhos e pela paciência, Soraia pelos conhecimentos transmitidos e pelo apoio durante a realização deste trabalho e à Maria Alice pelo apoio durante a realização das análises na Embrapa Instrumentação e pelos conhecimentos transmitidos.

Aos professores Alfredo e Juliano, por cederem a extrusora e a prensa hidráulica para a realização deste projeto e por todos os ensinamentos transmitidos.

Aos membros da banca examinadora, Mário, Maria Alice, Juliano e Lizzy, por gentilmente aceitarem o convite e pela disposição de contribuir com este trabalho.

À Ana Cristina, à Bruna, à Jayne e à Mariá pela amizade, pelos momentos de descontração e por todo apoio, à Danielly e à Ana Carolina pela amizade, pelo apoio e por toda ajuda no processo de extrusão, a companhia de todas vocês deixou essa caminhada mais leve e divertida.

À todos os colegas do laboratório de embalagens e encapsulação pela amizade e apoio durante a realização deste projeto.

À Universidade Federal de Lavras, especialmente ao Programa de Pós-graduação em Engenharia de Biomateriais, ao Departamento de Ciência dos Alimentos e ao Departamento de Engenharia. À Embrapa Instrumentação, São Carlos.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES), pela concessão de bolsa de estudos.

À todos aqueles que direta ou indiretamente contribuíram para a realização deste trabalho.

Meu sincero agradecimento: muito obrigada!

RESUMO

A oxidação lipídica causa a deterioração de alimentos com alto teor de óleos e gorduras. As embalagens ativas são uma alternativa promissora para conservação destes alimentos, uma vez que, além da proteção a fatores externos, tais como oxigênio, luz e umidade que as embalagens convencionais apresentam, são adicionados agentes antioxidantes. Diante do exposto, o estudo teve como objetivo desenvolver e caracterizar blendas biopoliméricas de amido termoplástico de mandioca (ATP) e isolado proteico de soja (PIS) por extrusão e termo-compressão e posteriormente incorporar cascas e sementes de tomate (CST) e micropartículas de extrato de camu-camu (MC) para o desenvolvimento de embalagens ativas. Primeiramente, as blendas de ATP e PIS foram desenvolvidas e caracterizadas. Posteriormente, as CT foram adicionadas a matriz polimérica de ATP nas proporções de ATP: CT de 100:0; 96:4 e 92:8 (ATP₁₀₀-CST₀, ATP₉₆-CST₄ e ATP₉₂-CST₈) para o desenvolvimento de filmes ativos. Os filmes foram caracterizados e aplicados em castanhas-do-pará, em forma de embalagens seladas, para avaliação da capacidade de redução do processo oxidativo. As castanhas-do-pará também foram armazenadas sem embalagem e em uma embalagem comercial de polipropileno (PP) para comparação com as desenvolvidas. Além disso, as MC foram incorporadas a blenda contendo 60 % de proteínas nas proporções de blenda: micropartículas de 100:0, 90:10 e 80:20 (PA₁₀₀-MC₀, PA₉₀-MC₁₀ e PA₈₀-MC₂₀) para o desenvolvimento e caracterização de filmes antioxidantes. A adição de proteína em maiores concentrações aumentou a rigidez e diminuiu a permeabilidade ao vapor de água (PVA) das blendas, provavelmente devido à interação das cadeias poliméricas de ATP e PIS quando em maiores concentrações de PIS (45 e 60%). Portanto, a blenda com 60% de PIS foi selecionada para a incorporação de CST e MC. Entretanto, ao incorporar CST a blenda selecionada, não foi possível a formação de filme pelo método de extrusão e termo-compressão. Portanto, a adição de CT foi realizada na matriz de ATP. A incorporação de CST reduziu a PVA dos filmes. A transparência não foi alterada pela adição de CST, porém os filmes ficaram mais escuros (maior L*) e com coloração amarelo avermelhada (maiores a* e b*). Os tratamentos ATP₉₆-CST₄, ATP₉₂-CST₈ e a embalagem de PP tiveram a mesma eficiência para redução do processo oxidativo, sendo potenciais substitutos para estas embalagens. Também foi observado que a incorporação das MC na blenda ocasionou uma diminuição do teor de umidade da monocamada pela análise de isoterma de sorção de água a 25°C, conseqüentemente, também foi observado uma diminuição nos valores PVA para os filmes PA₉₀-MC₁₀ e PA₈₀-MC₂₀. Além disso, os filmes apresentaram baixa umidade de equilíbrio em atividades de água abaixo de 0,75, mostrando boa estabilidade até esta umidade relativa. Os filmes apresentaram baixa transparência, mostrando boa barreira à luz, e a incorporação de micropartículas resultou em filmes amarronzados. Além disso, foi observado atividade antioxidante de 59,7 % e 79,4 % para os filmes PA₉₀-MC₁₀ e PA₈₀-MC₂₀ enquanto o filme PA₁₀₀-MC₀ apresentou apenas 3,81 %. Os resultados mostram que os filmes PA₉₀-MC₁₀ e PA₈₀-MC₂₀ tem potencial para serem usados em embalagens para alimentos que tenham atividade de água abaixo de 0,75 e que sejam susceptíveis a oxidação lipídica.

Palavras-chave: Blendas poliméricas. Compósitos. Extrusão. Embalagens antioxidantes. Biopolímeros.

ABSTRACT

Lipid oxidation causes the deterioration of foods with high oil and fat content. Active packaging is a promising alternative for the preservation of these foods because, besides the protection to external factors such as oxygen, light and humidity that conventional packaging presents, antioxidant agents are added. Given the above, the study aimed to develop and characterize biopolymer blends of thermoplastic starch from cassava (STP) and soy protein isolate (PIS) by the extrusion method and subsequently incorporate tomato peel and seeds (TPS) and microparticles of camu-camu extract (MC) for the development of active packaging. First, STP and PIS blends were developed and characterized. Subsequently, TPS were added to the STP polymer matrix at STP: TPS ratios of 100:0; 96:4 and 92:8 (STP₁₀₀-TPS₀, STP₉₆-TPS₄ and STP₉₂-TPS₈) for the development of active films. The films were characterized and applied to Brazil nuts, in the form of sealed packages, to evaluate the ability to reduce the oxidative process. Brazil nuts were also stored without packaging and in a commercial polypropylene (PP) packaging for comparison with the developed ones. In addition, MCs were incorporated into blends containing 60 % soy protein at blend (SP): MC ratios of 100:0, 90:10 and 80:20 (SP₁₀₀-MC₀, SP₉₀-MC₁₀ and SP₈₀-MC₂₀) for the development and characterization of antioxidant films. The addition of protein at higher concentrations increased the stiffness and decreased the water vapor permeability (WVP) of the blends, probably due to the interaction of the STP and PIS polymer chains when at higher SIP concentrations (45 and 60%). Therefore, the blend with 60% SIP was selected for the incorporation of TPS and MC. However, when incorporating TPS into the selected blends, film formation was not possible by the extrusion and thermo-compression method. Therefore, the addition of TPS was performed in the STP matrix. The incorporation of TPS reduced the WVP of the films. The transparency was not altered by the addition of TPS, but the films became darker (higher L*) and with reddish yellow coloration (higher a* and b*). The treatments STP₉₆-TP₄, STP₉₂-TP₈ and PP packaging had the same efficiency for reducing the oxidative process, being potential substitutes for these packages. It was also observed that the incorporation of MC in the blend caused a decrease in the moisture content of the monolayer by water sorption isotherm analysis at 25°C, consequently, a decrease in WVP values was also observed for SP₉₀-MC₁₀ and SP₈₀-MC₂₀ films. Furthermore, the films presented low equilibrium moisture at water activities below 0.75, showing good stability up to this relative humidity. The films showed low transparency, showing good light barrier, and the incorporation of microparticles resulted in brownish films. Furthermore, antioxidant activity of 59.7 % and 79.4 % was observed for SP₉₀-MC₁₀ and SP₈₀-MC₂₀ films while SP₁₀₀-MC₀ film showed only 3.81 %. The results show that SP₉₀-MC₁₀ and SP₈₀-MC₂₀ films have potential to be used in food packaging that has water activity below 0.75 and is susceptible to lipid oxidation.

Keywords: Polymer blends. Composites. Extrusion. Antioxidant packaging. Biopolymers.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Difratoograma de raios X do amido de mandioca, característico do tipo C.....	16
Figura 2 – Representação esquemática de uma extrusora.....	18
Figura 3 – Estrutura química do licopeno.....	27
Figura 4 – Imagem da fruta camu-camu.....	29
Figura 5 – Fluxograma do delineamento experimental.....	32

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO.....	9
2	REFERENCIAL TEÓRICO.....	9
2.1	Biopolímeros e polímeros biodegradáveis.....	11
2.2	Proteína isolada de soja.....	12
2.3	Amido de mandioca.....	14
2.4	Processamento de biopolímeros.....	18
2.5	Blendas poliméricas.....	19
2.5.1	Miscibilidade de blendas.....	22
2.6	Rancidez oxidativa em alimentos.....	23
2.7	Embalagens ativas.....	25
2.8	Resíduos da produção de molho de tomate.....	26
2.9	Extrato de camu-camu.....	28
3	PLANEJAMENTO EXPERIMENTAL.....	31
4	REFERÊNCIAS.....	32
	ARTIGO 1: CHARACTERIZATION OF CASSAVA STARCH/SOY PROTEIN ISOLATE BLENDS OBTAINED BY EXTRUSION AND THERMOCOMPRESSION.....	41
	ARTIGO 2: DESENVOLVIMENTO E AVALIAÇÃO DE EMBALAGENS ATIVAS DE AMIDO E CASACA DE TOMATE POR EXTRUSÃO.....	70
	ARTIGO 3: INCORPORAÇÃO DE MICROPARTÍCULAS DE EXTRATO DE CAMU-CAMU EM BLENDS DE PROTEÍNA DE SOJA/AMIDO DE MANDIOCA.....	94

PRIMEIRA PARTE: Introdução e referencial teórico

1 INTRODUÇÃO

A produção de embalagens ativas é uma alternativa para a indústria de alimentos, pois apresentam propriedades que auxiliam na conservação, segurança do consumidor e pode, até mesmo, prolongar a vida útil do alimento, diminuindo assim seu desperdício.

Dentre as embalagens ativas, as embalagens antioxidantes vêm sendo bastante estudadas e algumas já até se encontram no mercado, uma vez que a oxidação é uma das principais causas da degradação de alimentos. O licopeno é um antioxidante natural, presente em frutas e legumes, principalmente no tomate. O tomate contém quantidade elevada de compostos fenólicos e carotenoides, sendo o licopeno o principal constituinte deste último grupo, responsável pela coloração vermelha ao fruto. A casca do tomate pode conter até três vezes mais licopeno que na polpa (KABIR et al., 2015). Cascas e sementes de tomate (CST) são descartadas em grandes quantidades durante a produção de molhos de tomate. Como elas apresentam alto teor de licopeno, as CST têm alto potencial de uso como antioxidante. Além do aproveitamento de um subproduto, o uso das CST é vantajoso por terem baixo custo.

Uma outra alternativa com agente antioxidante natural que pode ser usado em embalagens ativas é o extrato de camu-camu. O camu-camu (*Myrciaria dubia*) é uma fruta nativa da região amazônica que possui alto teor de ácido ascórbico e antocianinas, portanto, seu extrato possui alto poder antioxidante (Rufino et al., 2010). A incorporação de extrato de camu-camu em filmes biopoliméricos, ainda é pouco explorada. Ju & Song (2019) estudaram a incorporação de extrato de camu-camu liofilizado em filmes de amido produzidos por *casting*. Os autores observaram que os filmes contendo o extrato de camu-camu apresentaram alto poder antioxidante pelos testes de eliminação dos radicais estáveis DPPH e 2,2'-azino-bis (ácido 3-etilbenzotiazolina-6-sulfônico) (ABTS).

Para o desenvolvimento das embalagens ativas, o uso de polímeros comestíveis, como amidos e proteínas são materiais interessantes, pois irão interagir diretamente com o alimento, podendo ser até mesmo consumidas. Além disso, são materiais produzidos a partir de matéria-prima renovável, podem ser biodegradáveis, ambos são produzidos em alta escala no Brasil e seu custo de produção é baixo.

A aplicação destes biopolímeros como embalagem para alimentos depende de suas propriedades térmicas, óticas, mecânicas, principalmente de tração e punctura, e da sua permeabilidade ao óleo, vapor de água e outros gases. Estas propriedades dependem da

composição do filme e de seu processamento. Filmes de amido por si só, podem não atender às demandas de determinados alimentos, principalmente devido à sua alta permeabilidade ao vapor de água. O desenvolvimento de blendas ou compósitos biopoliméricos são uma alternativa para melhorar essas propriedades (OLIVEIRA et al. 2017).

Chinma et al. (2014), por exemplo, estudaram o uso de revestimentos comestíveis de amido de mandioca e concentrado proteico de soja, contendo 20% de glicerol para prolongar a vida útil do amendoim torrado durante o armazenamento em ambiente à 27°C por 14 dias. Os amendoins revestidos com as blendas com 50 % de amido de mandioca e 50 % de concentrado proteico apresentaram valores inferiores de umidade, índice de peróxido e ácido tiobarbitúrico que os amendoins não revestidos e os revestidos com 100% de amido de mandioca. Os amendoins revestidos com a blenda também apresentaram maiores escores de cor, sabor, textura e aceitabilidade geral do que os amendoins torrados com o revestimento de 100% de mandioca e sem revestimento. O que indica que a formação da blenda de amido de mandioca e concentrado proteico de soja foi mais eficiente na conservação dos amendoins que o revestimento contendo somente amido e glicerol.

O desenvolvimento de blendas por extrusão de amido e proteína de diversas fontes, como milho, mandioca, ervilha, soro de leite, amendoim, também já foram estudados e mostraram uma melhora das propriedades em relação aos filmes contendo apenas amido (AZEVEDO et al., 2017; OCHOA-YEPES et al., 2019; SUN; SUN; XIONG, 2013)

O desenvolvimento de compósitos poliméricos de amido termoplástico e fibras vegetais também já foi estudado e apresentou melhoras nas propriedades da resistência mecânica e térmica, e de permeabilidade ao vapor de água quando comparado com o filme de amido termoplástico sem fibras (WOLLERDORFER; BADER,1998; TEIXEIRA et al., 2009; MERCI, et al. 2019). Além da fonte de licopeno, as CST também são ricas em fibras, o que pode contribuir para a melhora das propriedades de barreira dos filmes.

O desenvolvimento destes filmes por extrusão é vantajoso quando se objetiva produção em alta escala. Por ser o método mais utilizado industrialmente e já estar consolidado, também facilita a entrada destes materiais no mercado por não ser necessário aquisição de novas máquinas e diferentes métodos de produção (FRANZOSO et al, 2016; OCHOA-YEPES et al, 2019).

Portanto, o estudo teve como objetivo desenvolver e caracterizar blendas biopoliméricas de amido de mandioca e isolado proteico de soja pelo método de extrusão e posteriormente incorporar cascas de tomate e micropartículas de camu-camu para o desenvolvimento de embalagens ativas.

2 REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 Biopolímeros e polímeros biodegradáveis

Os biopolímeros são macromoléculas, incluindo proteínas e polissacarídeos, formados por organismos vivos, como microrganismos, plantas ou animais (PAC, 1992), sendo assim, derivados de fontes renováveis. Portanto, são uma alternativa inovadora para polímeros derivados do petróleo, que é uma matéria-prima não-renovável. Visto que o esgotamento de petróleo é uma preocupação que vem crescendo (INTERNACIONAL ENERGY AGENCY, 2010). Além disso, grande parte dos biopolímeros são também classificados como polímeros biodegradáveis. Para que sejam considerados biodegradáveis estes polímeros devem se degradar em até 180 dias, e quando houver a degradação total, devem apresentar como produtos somente dióxido de carbono e água (ASTM, 2015).

O crescente consumo de materiais poliméricos não biodegradáveis e seu descarte, em grande parte incorreto, têm provocado uma série de danos ao meio ambiente, uma vez que, os mesmos são bastante resistentes ao ataque de microrganismos, e, portanto, levam mais tempo para se degradarem, contribuindo assim para o aumento da quantidade de resíduos poliméricos presentes no meio ambiente. Como os polímeros biodegradáveis gastam poucos meses ou até dias para se degradarem, eles evitam o acúmulo de um grande volume de lixo nos casos de descarte incorreto. Outras alternativas para diminuir a disposição de lixo no meio ambiente são a incineração ou reciclagem desse resíduo (SOUZA; SANTOS; VINHAS, 2016).

Os biopolímeros são usados em uma variedade de aplicações, tais como medicamentos, tintas, produtos alimentícios e materiais de embalagem (PETERSSON; OKSMAN, 2006). Diversas pesquisas vêm sendo realizadas para desenvolver e aplicar biopolímeros a partir de variedades de *commodities* agrícolas e de resíduos de produtos alimentícios, que podem ser amidos (LI et al., 2015; LÓPEZ; GARCÍA; ZARITZKY, 2008), derivados de celulose (FERFERA-HARRAR; DAIRI, 2014; MARTELLI et al., 2017), quitosana ou quitina (CERQUEIRA et al., 2009; DIAS et al., 2014; WU et al., 2016), gomas, proteínas (animal ou vegetal) (AZEVEDO, et al., 2017; LIMPAN et al., 2010; MONEDERO et al., 2009) e lipídeos (MONEDERO et al., 2009; PE; KROCHTA, 2001; WONG et al., 1992). Estes materiais oferecem a possibilidade de obtenção de filmes finos e revestimentos para alimentos frescos ou processados, para estender sua vida útil. Além disso, estes filmes e revestimentos podem por si só agir como aditivos ou como transportadores de aditivos para o alimento acondicionado, como antioxidantes, antimicrobianos, aromatizantes e nutracêuticos (ELSABEE; ABDU, 2013).

Filmes feitos de polissacarídeos como amido, celulose, pectina, alginatos, quitosana e gomas apresentam boa barreira a gases, como O₂ e CO₂, mas não apresentam boa barreira ao vapor de água, devido à alta polaridade deste tipo de polímero. Já os filmes obtidos a partir de proteínas, que podem ser o isolado proteico de soja, a caseína, a gelatina, a zeína, o glúten e a albumina de ovo são boas barreiras ao O₂ e CO₂ em ambientes com baixa umidade relativa, com moderada barreira ao vapor de água e boas propriedades mecânicas (GALUS et al., 2012). Filmes a partir de blendas poliméricas ou compósitos estão sendo bastante estudados, a fim de melhorar as características de permeabilidade, força e flexibilidade. Além disso, quando se adiciona um componente hidrofóbico à suspensão formadora do filme, como óleos essenciais ou outros componentes ativos produzem-se filmes compostos, nos quais o componente hidrofóbico atua como barreira ao vapor de água, além de fornecer o efeito ativo. A proteína ou polissacarídeo fornece a barreira ao oxigênio e às características mecânicas necessárias (ELSABEE & ABDOL, 2013).

Para manter a qualidade dos alimentos de forma eficiente, é necessário selecionar os materiais corretos para embalagem. Uma das várias possibilidades é a incorporação de substâncias ativas, para o desenvolvimento de embalagens ativas (SOUZA et al., 2013).

2.2 Proteína isolada de soja

As proteínas são materiais orgânicos de alta massa molecular (acima de 10.000 g.mol⁻¹), formadas pelo encadeamento de aminoácidos ligados entre si por ligações peptídicas. Representam cerca de 50% a 80% do peso seco da célula, sendo essenciais a todas as células vivas, e estão relacionadas praticamente a todas as funções fisiológicas (STEPHANI et al., 2012).

A estrutura das proteínas pode ser classificada em 4 tipos de estruturas: primárias, secundárias, terciárias e quaternárias, de acordo com sua complexidade. A estrutura primária é dada pelas ligações covalentes que unem os aminoácidos, sendo o nível estrutural mais simples da proteína. A estrutura secundária é definida pela conformação local da cadeia do polipeptídeo, podendo ser em hélices ou folhas. A estrutura terciária origina-se dos dobramentos tridimensionais da cadeia polipeptídica. Essas estruturas são estabilizadas por forças intermoleculares, como ligações de hidrogênio e dissulfeto. Quando uma proteína é formada por mais de um polipeptídeo, estes podem assumir estruturas distintas. A associação destas subunidades em um determinado arranjo espacial é chamada de estrutura quaternária (MARIANO, 2010).

Segundo dados econômicos do Portal Embrapa (2018), a produção mundial de soja em 2017/2018 foi de 336,699 milhões de toneladas, totalizando uma área de 124,580 milhões de hectares de plantação, sendo os EUA o maior produtor mundial, com produção de 119,518 milhões de toneladas, seguido do Brasil, que produziu 116,996 milhões de toneladas. No Brasil, o Mato Grosso lidera o ranking de produção nacional, com produção de 31,887 milhões de toneladas de soja, seguido do Paraná, com produção de 19,070 milhões de toneladas e do Rio Grande do Sul, com produção de 16,968 milhões de toneladas.

A proteína isolada de soja (PIS) é produzida a partir do farelo da soja e é constituída por pelo menos 90% de proteína. Ela é obtida dos flocos desengordurados de soja após a separação da proteína das frações de carboidratos solúveis e insolúveis. A PIS contém cerca de 5% de umidade, 90% de proteína e 0,1% de lipídeos, podendo variar de acordo com o processo de extração (HUA et al., 2004).

A PIS é constituída de carbono, hidrogênio, oxigênio, nitrogênio, enxofre e contém numerosos grupos funcionais polares, como -OH, -NH₂, -COOH e -SH, sua composição é por volta de 50% a 55% de carbono, 6% a 8% de hidrogênio, 20% a 24% de oxigênio, 15% a 18% de nitrogênio e de 0,2% a 0,3% de enxofre (STEPHANI et al., 2012; ZHANG et al., 2016).

Com relação aos aminoácidos formadores das cadeias da proteína de soja, a composição dos grãos de soja contém aproximadamente 18 aminoácidos, sendo os principais asparagina e glutamina, possuem também aminoácidos limitantes como metionina e cisteína (MARIANO, 2010).

No estado nativo, as proteínas da soja apresentam a maioria de suas cadeias na conformação globular (estruturas quaternárias) e as principais estruturas são a 11S e 7S. Nesta conformação, a maioria dos grupos polares e apolares não está disponível devido a ligações internas resultantes das forças de van der Waals e ligações de hidrogênio. Porém, alguns dos grupos mais polares são orientados para a superfície da globulina. Isto tem um papel na solubilidade da PIS, que vai variar com o pH da solução aquosa. O ponto isoelétrico representa o pH no qual uma molécula em solução possui carga elétrica resultante nula e, portanto, não é deslocada em um campo elétrico. Portanto, a solubilidade das proteínas de soja está diretamente relacionada com o pH, a solubilidade é menor próxima a seu ponto isoelétrico (pH entre 4,2 e 4,6) e máxima próxima a pH 7 (OLIVEIRA, 2010).

A viscosidade das proteínas em solução depende de vários fatores, como a conformação espacial das proteínas, seu tamanho, forma, hidratação e flexibilidade. A viscosidade das proteínas da soja está relacionada com sua capacidade de formação de gel, ou seja: quanto menos as proteínas estiverem hidrolisadas, mais viscosa será a solução. Da mesma forma,

processamentos que causam a desnaturação das proteínas, como a extrusão, fazem com que a viscosidade de soluções proteicas seja diminuída, facilitando seu processamento e garantindo a formação de filmes (LACERDA, 2008).

Como no estado nativo grande parte dos grupos polares e apolares está indisponível, devido a ligações internas, é necessário o desnovelamento destas estruturas para a formação de filmes íntegros (AZEVEDO et al., 2015). Para que ocorra o desnovelamento deve haver dissociação das subunidades 7S e 11S, ocasionando o desnovelamento da estrutura terciária e quaternária das subunidades. Este processo pode ser realizado com o aumento da acidez, quando em solução ou com o emprego de altas temperaturas (NANDA, LOCHAN NAYAK, KRISHNA RAO, 2007).

2.3 Amido de mandioca

Amido é um carboidrato dominante de reserva energética de plantas, um biopolímero abundante e relativamente barato. Pode ser extraído de cereais, raízes, tubérculos e leguminosas. Dentre as fontes de amido, a mandioca é um das cultivares alimentares mais conhecidas na atualidade. Oriunda da América do Sul é um dos principais alimentos energéticos consumidos por cerca de 800 milhões de pessoas, principalmente nos países em desenvolvimento (ADEKUNLE; ORSAT; RAGHAVAN, 2016; KARLSTRÖM et al., 2016; TEIXEIRA et al. 2012).

Segundo a Sociedade Brasileira de Mandioca (2017), mais de 80 países produzem mandioca, sendo que o Brasil participa com mais de 15% da produção mundial, com cerca de 25 milhões de toneladas de raízes. É o produto agrícola que apresenta a terceira maior produtividade, contribuindo satisfatoriamente para a economia do país. Dentre os principais estados produtores de mandioca destacam-se: Pará, com participação de 16,9%; Paraná, com 16,2% e Bahia com 15,7%.

O amido de mandioca apresenta propriedades que o tornam interessante para a utilização na indústria. Entre as propriedades, destacam-se a ausência de odor forte, comum em amidos de cereais, inchamento durante o cozimento e menor temperatura de gelatinização em relação ao amido de milho. Além disso, as raízes de mandioca contêm pouca quantidade de proteína, gordura e outros componentes, o que torna simples o processo de extração, possibilitando a obtenção de amido puro e branco. O conteúdo de lipídeos no amido de mandioca é pequeno (< 0,1%), fazendo com que seus derivados não apresentem sabor e aroma de cereais, o que é importante no uso em produtos alimentícios. Outra característica importante é o seu baixo custo, devido, principalmente, à grande produção de mandioca no Brasil (TEIXEIRA, 2016).

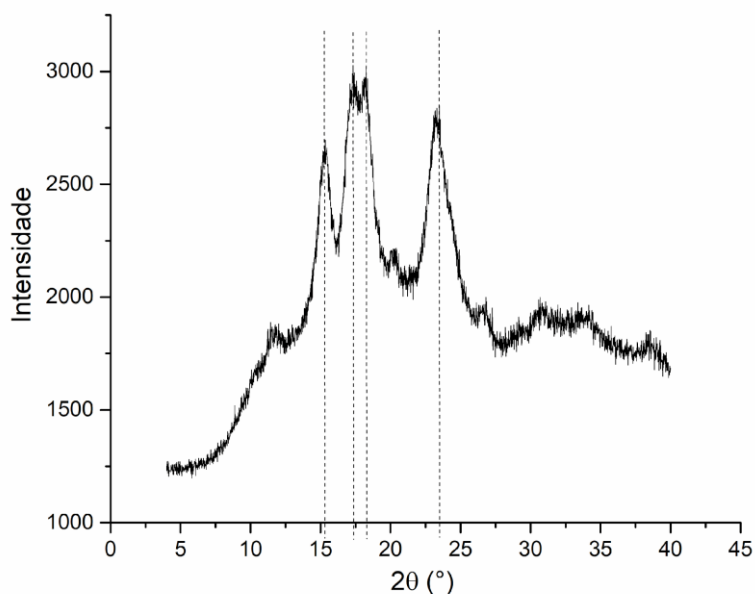
Os grânulos de amido são compostos principalmente por macromoléculas de amilose e amilopectina, sendo ambos polímeros de glicose. A principal diferença estrutural entre estas macromoléculas é que a amilopectina é uma molécula altamente ramificada com alta massa molar, ao passo que a amilose é linear, com menor massa molecular (BULEON et al., 1998).

Um dos principais fatores que determinam as propriedades do grânulo de amido é o arranjo das moléculas lineares e ramificadas, distribuídas dentro do grânulo. As cadeias ramificadas da amilopectina, formam hélices duplas e por isso contribuem para a estrutura cristalina dos grânulos, enquanto a amilose, embora seja linear, apresenta uma conformação helicoidal, que dificulta sua associação regular com outras cadeias, portanto, apresenta conformação amorfa, e está intercalada entre as moléculas de amilopectina (JANE et al., 1992). A parte amorfa permite a absorção de água pelos grânulos de amido, já a parte cristalina tem maior resistência à entrada de água e mantém a estrutura dos grânulos (DENARDIN, 2009).

Um dos principais fatores que determinam as propriedades do grânulo de amido é o arranjo das moléculas lineares e ramificadas distribuídas dentro do grânulo. As cadeias ramificadas da amilopectina, formam hélices duplas e por isso contribuem para a estrutura cristalina dos grânulos, enquanto a amilose, embora seja linear, apresenta uma conformação helicoidal, que dificulta sua associação regular com outras cadeias, portanto, apresenta conformação amorfa, e está intercalada entre as moléculas de amilopectina (JANE et al., 1992). A parte amorfa permite a absorção de água pelos grânulos de amido, já a parte cristalina tem maior resistência à entrada de água e mantém a estrutura dos grânulos (DENARDIN, 2009).

Os grânulos de amido nativo possuem diferentes arranjos em função do comprimento da cadeia ramificada da amilopectina. Estes diferentes arranjos exibirão diferentes espectros de difração de raios X padrões: tipo A, B ou C (AI; JANE, 2015; JANE et al., 1999). O amido polimórfico do tipo A consiste em cadeias ramificadas mais curtas na amilopectina e tem as hélices duplas agrupadas em uma célula unitária monoclinica. O amido do tipo B consiste em cadeias de ramificação mais longas, acondicionadas em uma célula unitária hexagonal. O tipo C é uma mistura dos polimorfos tipo A e B. O amido de mandioca possui estrutura padrão do tipo C, em seu espectro de difração de raios X (Figura 1) é possível observar picos de difração definidos que refletem regiões cristalinas a $2\theta \sim 15^\circ, 17^\circ, 18^\circ$ e 23° (HUANG et al., 2007).

Figura 1 – Difratoograma de raios X do amido de mandioca, característico do tipo C.



Fonte: Do autor (2021).

O amido nativo puro tem comportamento reológico dilatante, ou seja, sua viscosidade aparente aumenta conforme o aumento da tensão, portanto é inviável o seu processamento por extrusão para fabricação de filmes, sem a adição de plastificantes. Os plastificantes são substâncias que ao serem adicionados a um polímero provocam mudanças nas suas propriedades físicas, químicas e mecânicas, pois são moléculas pequenas com caráter hidrofílico que facilmente se acoplam entre as cadeias poliméricas, reduzindo as forças intermoleculares e aumentando a mobilidade das cadeias poliméricas. Água e glicerol são dois plastificantes bastante utilizados no processamento de amido. Processando o amido em alta temperatura e aplicando forças de cisalhamento na presença de plastificantes, as moléculas do plastificante atingem energia cinética suficiente para exceder as ligações de hidrogênio entre as moléculas de amilose e amilopectina, provocando a expansão e conseqüente rompimento do grânulo, ocasionando a perda da cristalinidade e fusão do amido. A temperatura na qual ocorre essa transformação é denominada temperatura de gelatinização e para o amido de mandioca pode variar de 58 a 70 °C (JENKINS; DONALD, 1998; LUCHESE et al., 2017; SCHMIDT 2006).

As transformações mais importantes que ocorrem no processo de extrusão envolvem a morfologia do amido. No estado nativo, a amilose e a amilopectina se apresentam como entidades granulares e semicristalinas, esféricas e poliédricas. A extrusão provoca alterações

em várias propriedades funcionais do amido, as quais dependem principalmente da relação amilose/amilopectina e dos parâmetros operacionais do processo. A desestruturação dos grânulos é função da intensidade do tratamento. Quanto mais drástico o tratamento, maior é a desestruturação. Após esse processo, o amido não se recristaliza, pois, a maior parte de sua estrutura se torna amorfa, estando praticamente ausentes frações cristalinas (AZEVEDO et al., 2017; BONA, 2007).

Devido ao comportamento dilatante do amido e a extrusão ser um processo com aplicação de altas forças de cisalhamento, além do plastificante, também é interessante o uso de um agente de fluxo, como o ácido esteárico, para reduzir a viscosidade do amido. O ácido esteárico é um agente dispersante, que promove uma redução da interação entre as partículas durante o processamento, promovendo uma melhor dispersão das partículas da matriz polimérica e diminuindo possíveis ocorrências de aglomerados de partículas (CALADO, 2015).

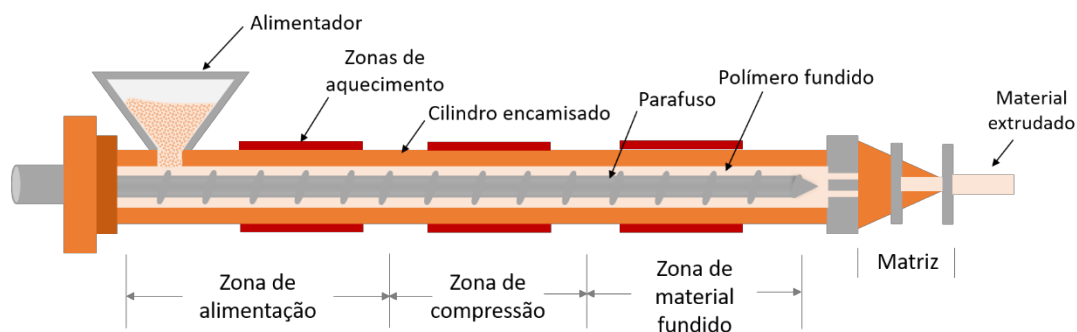
O uso de agente antioxidante durante a extrusão de polímeros também é comum devido à alta temperatura e forças cisalhantes que podem acelerar o processo de oxidação do polímero. Um agente antioxidante comumente utilizado na extrusão de amido é o ácido cítrico.

2.4 Processamento de biopolímeros

Os biopolímeros podem ser processados por dois métodos: utilizando solventes ou por fusão. Dentre os processamentos por fusão, a extrusão é uma das mais importantes técnicas de processamento de polímeros sintéticos atualmente em uso. A maioria dos plásticos sintéticos, como filmes de LDPE (polietileno de baixa densidade), é processada em extrusoras e geralmente passam por duas ou mais extrusoras antes que o produto acabado seja obtido. Assim, a extrusão de biopolímeros aumenta seu potencial comercial, já que não seria necessária a substituição de equipamentos para fabricação de biopolímeros, sendo uma vantagem em relação à técnica por solução (LUO; CAO; MCDONALD, 2016).

A extrusora pode ser subdividida em 3 zonas de processamento: (1) a zona de alimentação, onde a matéria-prima granular é introduzida no cilindro e ligeiramente comprimida com a expulsão do ar; (2) a zona de compressão, onde ocorre um aumento da compressão, maior grau de enchimento e a pressão, a temperatura e a densidade do material aumentam; e finalmente, (3) a zona de material fundido, onde as maiores taxas de cisalhamento, temperaturas e pressões são obtidas juntamente com a textura, cor, densidade e propriedades funcionais do produto final (Figura 2) (HERNANDEZ-IZQUIERDO; KROCHTA, 2008).

Figura 2 - Representação esquemática de uma extrusora.



Fonte: Do autor (2021).

As variáveis controláveis são: a velocidade do parafuso; a configuração do parafuso (localização e dimensões dos elementos individuais do parafuso, como elementos de transporte e blocos de amassamento ao longo do eixo); a relação comprimento / diâmetro do parafuso (L / D); o perfil de temperatura do barril; as taxas de alimentação e formato da matriz. Os parâmetros que são dependentes de resposta ou do sistema, incluem temperatura do produto, distribuição do tempo de permanência, torque, entrada de energia mecânica específica (SME), pressão na matriz e grau de preenchimento do parafuso (FICHTALI; VAN DE VOORT, 1989).

Os efeitos essenciais do processo de extrusão são devido ao alto cisalhamento e temperatura. Foi observado por diversos autores que a ação termomecânica durante o processamento por extrusão conduz à desnaturação das proteínas e à gelatinização dos amidos; efeitos desejados para produção dos filmes (BARRON et al., 2002, BATTERMAN-AZCONA et al, 1999, HARPER E CLARK, 1979, KITABATAKE et al, 1985, LIU et al., 2011, ZHANG et al., 2001).

2.5 Blendas poliméricas

Blendas poliméricas são misturas físicas de dois ou mais tipos de polímeros, sem que haja ligação química primária entre eles, em que ocorre apenas interação intermolecular entre as cadeias poliméricas, predominantemente do tipo secundária. As interações mais comuns são as ligações de hidrogênio nos polímeros que contêm grupos químicos capazes de formar esse tipo de interações; mas também podem ser observadas interações do tipo dipolo-dipolo e dipolo induzido (CANEVAROLO JÚNIOR, 2002).

A produção de blendas é uma tecnologia que está sendo desenvolvida desde a década de 1970 e o interesse no uso desse material vem crescendo. A produção de blendas é uma

alternativa economicamente mais acessível para promover a obtenção de polímeros com propriedades diferentes dos materiais individuais, sem haver a necessidade de investir em novos processos de polimerização, em que é necessário investimento em produção de novos monômeros, processos de polimerização e equipamentos para se produzir o novo polímero, o que gera um custo muito mais elevado em relação ao custo para o desenvolvimento de uma blenda (DE GENNES, 1980; IDE; HASEGAWA, 1974; COUCHMAN, 1978; DE PAOLI, 2009; IMRE; PUKÁNSZKY, 2013).

Blendas de amido e proteína vêm sendo estudadas com o intuito de melhorar as características dos filmes, tanto pelo método de *casting* quanto por extrusão.

Rocha et al., (2014) desenvolveram filmes de amido de mandioca e extrato proteico de soja (13 % a 47 % m/m de substituição do amido) por *casting*. Os autores observaram que o aumento da concentração de proteínas de soja levou ao escurecimento dos filmes, ao aumento da solubilidade e do pH. A menor PVA foi obtida com máximo teor de proteínas (47%). A força de perfuração foi maior em valores maiores de adição de proteínas de soja, 30 % de glicerol e pH neutro.

Chinma et al., (2012) estudaram os atributos sensoriais, propriedades mecânicas, permeabilidade ao vapor de água e propriedades de solubilidade de filmes de amido de mandioca, concentrado proteico de soja (0 a 50 % m/m) e glicerol (0 a 30 % v/m), desenvolvidos por *casting*. Os autores observaram que a adição de proteínas de soja e glicerol em até 30% e 20%, respectivamente, reduziu a viscosidade e melhorou a aparência dos filmes. Observaram também que a resistência à tração, módulo de elasticidade e alongamento na ruptura dos filmes aumentaram, enquanto a solubilidade do filme e permeabilidade ao vapor de água diminuíram com até a concentração de 50 % de concentrado proteico de soja e de 20 % de glicerol.

Sun, Sun e Xiong (2013) estudaram blendas de amido de ervilha e isolado proteico de amendoim plastificado com glicerol (30 % m/m) e desenvolvidos por *casting*. À medida que aumentaram a concentração de isolado proteico de amendoim, a espessura das blendas diminuiu, a opacidade aumentou ligeiramente e a cor intensificou-se. Além disso, a adição de isolado proteico de amendoim reduziu significativamente a resistência à tração, mas aumentou o alongamento. Em relação a resistência à umidade, o valor da solubilidade em água caiu de 22,31 % para 9,78 % quando a incorporação de isolado proteico de amendoim variou de 0 a 50 %. Quando adicionada 40 % de isolado proteico de amendoim, a permeabilidade ao vapor de água dos filmes caiu acentuadamente de 11,18 % para 4,19 %.

Azevedo et al. (2017) estudaram blendas de amido de milho e proteína isolada do soro de leite em blendas poliméricas desenvolvidas por extrusão e observaram filmes homogêneos, o que indica forte adesão interfacial entre a proteína e a matriz de amido termoplástica observada na microscopia eletrônica de varredura. Além disso, a adição de proteína isolada do soro na matriz de amido de milho promoveu um aumento na estabilidade térmica dos materiais, redução da permeabilidade ao vapor de água, aumento da resistência mecânica e diminuição da flexibilidade.

Ochoa-Yepes et al. (2019) compararam os efeitos do processamento térmico (extrusão e termocompressão) com o processamento por *casting* de blenda de amido de mandioca e proteína de lentilha (0 %, 0,75 % e 1,5 % m/m de proteína de lentilha). Observaram que processo de extrusão e termocompressão aumentou significativamente a resistência mecânica e o módulo de elasticidade dos filmes em relação aos filmes produzidos por *casting*. Os autores indicaram que isso ocorreu devido ao efeito plastificante da água, que foi usada em maior quantidade no processamento por *casting*. Além disso, o processo de extrusão e termocompressão diminuiu o teor de umidade, solubilidade em água e permeabilidade ao vapor de água dos filmes em 35 %, 23 % e 50 %, respectivamente, em relação aos filmes produzidos por *casting*. Os autores relataram que isto ocorreu devido à presença de grupos –OH livres em maior quantidade nos filmes produzidos por *casting*, que foi observado pelos espectros de FTIR. Ademais, todas as amostras se apresentaram termicamente estáveis até 240 °C e biodegradadas em composto após 5 semanas.

Chang et al., (2001) estudaram os efeitos dos parâmetros de extrusão nas misturas de isolado proteico de soja e amido de mandioca, variando as concentrações de isolado proteico de soja de 10 % a 25 % m/m e a temperatura de extrusão de 60 °C a 160 °C. Os autores observaram que as maiores concentrações de proteínas de soja nas misturas resultaram nos maiores volumes específicos dos extrudados. Aumentos simultâneos da temperatura do barril e do nível de proteínas de soja aumentaram o índice de absorção de água e diminuíram o índice de solubilidade em água dos extrudados. Também foi observado que a maior diferença nos valores de cor foi para as misturas com a maior concentração de proteínas de soja.

O uso de blenda de amido de mandioca e proteína isolada de soja também já foi estudado por Chinma et al (2014). Nesse estudo, foi avaliado o uso de revestimentos comestíveis de amido de mandioca e concentrado de proteína de soja (0:100 e 50:50) contendo 20 % de glicerol v/m para prolongar a vida útil do amendoim torrado durante o armazenamento em ambiente a 27 °C por 14 dias. Os autores observaram que os valores de absorção de umidade, índice de peróxidos e ácido tiobarbitúrico dos amendoins não revestidos foram maiores que dos

amendoins revestidos com 100% de amido de mandioca, enquanto os amendoins torrados revestidos com a blenda 50:50 tiveram os valores ainda mais baixos. Na análise sensorial, os autores observaram que os amendoins torrados revestidos com a blenda 50:50 apresentaram maiores escores de cor, sabor, textura e aceitabilidade geral do que os amendoins torrados revestidos com filme de amido 100% de mandioca e sem revestimento. O uso da blenda 50:50 também estendeu a vida útil dos amendoins torrados por 14 dias, em comparação, os amendoins torrados não revestidos desenvolveram sabores desagradáveis após o segundo dia de armazenamento em condição ambiente (27 ° C).

2.5.1 Miscibilidade de blendas

Um aspecto importante das propriedades das misturas de polímeros é a miscibilidade de seus componentes. O grau de miscibilidade dos componentes depende das interações entre eles. As blendas podem formar um sistema homogêneo, com uma única fase ou um sistema heterogêneo, multifásico. Blendas miscíveis apresentam apenas uma fase, isto é, os polímeros misturam-se fortemente, não havendo qualquer segregação entre os componentes. Blendas imiscíveis apresentam uma separação natural entre os componentes, formando assim um sistema heterogêneo de duas ou mais fases. Os tipos de blenda dependerão da composição do sistema, da compatibilidade de seus ingredientes, do processamento e da morfologia apresentada pelas fases (ROBESON, 2007).

A partir de diferentes técnicas de caracterização é possível avaliar a miscibilidade das blendas. Por exemplo, a partir de técnicas como análise termo-dinâmico-mecânica (DMA) ou calorimetria diferencial de varredura é possível analisar a temperatura de transição vítrea (Tg) da blenda e a partir da identificação da Tg é possível avaliar a miscibilidade das blendas. Uma blenda é considerada miscível quando apresenta uma única transição vítrea situada em uma faixa de temperatura intermediária às transições dos componentes puros, desde que os componentes puros apresentem Tgs com diferença mínima de 20 °C. Uma blenda parcialmente miscível apresenta duas ou mais transições vítreas, correspondentes às diferentes fases, deslocadas em relação à Tg dos componentes puros. Neste caso, cada fase é constituída de uma mistura miscível contendo diferentes composições. Por outro lado, blendas imiscíveis apresentam Tgs características aos componentes puros (CASSU; FELISBERTI, 2005).

Através da espectroscopia de infravermelho com transformada de Fourier (FTIR), também é possível observar prováveis interações entre os polímeros a partir da observação de alterações nos espectros das blendas em relação aos polímeros puros (LEWANDOWSKA et al., 2016).

A partir de imagens feitas por microscopia eletrônica de varredura é possível analisar a morfologia superficial das blendas e observar se ocorreu a formação de duas ou mais fases. Em blendas miscíveis, as morfologias dos polímeros que as compõem são semelhantes, ou seja, é uma mistura que apresenta aspecto homogêneo e uma mesma morfologia ao longo da estrutura do polímero (GARRIDO et al., 2016).

Outras duas técnicas que podem ser utilizadas para verificar a miscibilidade das blendas são a viscosimetria e o cálculo da energia de Gibbs. Através da viscosimetria é possível avaliar as interações, e se as forças de atração são dominantes ocorre a miscibilidade dos componentes, se as forças repulsivas prevalecem, a imiscibilidade é esperada (LEWANDOWSKA et al., 2016). A energia de Gibbs (ΔG_m) que é dada pela equação $\Delta G_m = \Delta H_m - T \cdot \Delta S_m$, em que T é a temperatura absoluta, ΔH_m e ΔS_m são a variação da entalpia e da entropia de mistura, respectivamente. ΔG_m é afetada pela composição e pela temperatura do sistema. Assim, para que a miscibilidade ocorra, ΔG_m deve ser menor que zero. Além disso, misturas monofásicas são estáveis termodinamicamente se a deriva segunda da energia livre de mistura em função da composição da blenda for positiva, se as duas condições são satisfeitas, então a blenda é miscível, caso contrário, ela é imiscível (ARAÚJO, 2015).

2.6 Rancidez oxidativa em alimentos

Os lipídios estão presentes em quase todas as matérias-primas alimentícias, sendo as principais classes os triglicerídeos, que ocorrem em células de armazenamento de gordura, em plantas e animais. Os fosfolipídios se encontram nas membranas biológicas. Alguns exemplos de alimentos com alta concentração de lipídios são castanhas, leite, carnes e pescados. Podem estar presentes também no processamento de uma grande variedade de alimentos, as gorduras podem ser adicionadas como parte da formulação, como componentes da maionese, da margarina e de óleos de fritura. Essas gorduras são quase totalmente triglicerídeos, sendo, estes, as fontes potenciais mais significativas de oxidação nesses alimentos (KUSANO et al., 1998).

Portanto, oxidação lipídica afeta grandemente a cadeia produtiva de produtos gordurosos e oleosos, além de afetar a qualidade dos produtos, diminui também sua vida útil, pois é uma reação que ocorre em cadeia, ou seja, uma vez iniciada, a reação desencadeia a oxidação de substâncias sensíveis. A oxidação lipídica é um processo complexo que ocorre em três etapas: inicial, auto-oxidação e estágio final de oxidação. Durante cada estágio, os produtos são formados em quantidades variáveis. Os hidroperóxidos (produtos de oxidação primária) são formados quando o oxigênio singlete e os ácidos graxos insaturados são combinados na presença de um catalisador, como ferro, cobre, enzimas, calor, luz, durante o estágio inicial.

Esses compostos de peróxido são reativos e podem combinar-se com gorduras para formar outros produtos reativos durante a fase de auto-oxidação. Produtos secundários de oxidação, alcanos, alcenos, aldeídos e cetonas são formados durante o estágio final. Estes compostos são voláteis e responsáveis pelo *flavor* ou pelo odor de ranço característico (ABREU et al., 2011).

A oxidação dos lipídios presentes nos alimentos resulta no desenvolvimento de aromas indesejáveis, típicos de rancidez, tornando o produto inaceitável para consumo humano. Outros efeitos negativos são a formação de aldeídos tóxicos e a perda da qualidade nutricional devido à degradação do ácido graxo poliinsaturado, visto que o consumo desse tipo de ácido graxo tem sido positivamente correlacionado com a prevenção de doenças cardiovasculares (GÓMEZ-ESTACA et al., 2014).

Para reduzir a oxidação lipídica, várias estratégias têm sido aplicadas, dentre elas a adição direta de antioxidantes aos alimentos e o desenvolvimento de embalagens que se adequam às necessidades de conservação de alimentos gordurosos e oleosos.

As embalagens de vácuo ou de atmosfera modificada combinadas com materiais de embalagem de alta barreira podem limitar a presença de oxigênio, embora nem sempre o oxigênio seja completa e efetivamente eliminado por causa de um conteúdo residual no momento da embalagem ou porque permeia do exterior. Além disso, alguns produtos alimentícios, como carne vermelha fresca ou alguns produtos de peixe, não podem ser embalados sem oxigênio, devido a alterações de cor (GÓMEZ-ESTACA et al, 2014; LÓPEZ-DE-DICASTILLO et al., 2010).

A adição direta de compostos antioxidantes à superfície do alimento pode ser uma limitação, pois assim que os compostos ativos são consumidos em reação, a proteção cessa e o alimento começa a se oxidar a uma taxa aumentada. Por isso, é necessário a adição de uma quantidade elevada de antioxidantes no produto. Além disso, antioxidantes sintéticos são comumente utilizados, como o hidroxil anisol butilado (BHA), o hidroxil tolueno butilado (BHT), propil galato (PG) e a terc-butil-hidroquinona (TBHQ), porém, devido aos riscos de toxicidade, o nível de uso de antioxidantes sintéticos é regulado (TAGHVAEI; JAFARI, 2015).

Em sistemas ativos de embalagem antioxidante, a ação do antioxidante pode ser prolongada por seu contato com o alimento ser de forma gradual, diminuindo também a quantidade de antioxidantes presentes no alimento na hora de consumo, o que prolonga o tempo de conservação do produto e aumenta a segurança do consumidor (GÓMEZ-ESTACA et al., 2014). As embalagens ativas constituem, portanto, uma boa opção para o acondicionamento de produtos com alto teor de óleos ou gorduras.

2.6 Embalagens ativas

A embalagem ativa é uma tecnologia usada para preservar a segurança e a qualidade dos alimentos. A embalagem ativa interage com o produto para preservar a qualidade dos alimentos. A questão global dos problemas ambientais causados pelas embalagens de alimentos a partir de materiais poliméricos à base de petróleo, além da questão sobre os potenciais riscos à saúde associados ao consumo de aditivos sintéticos, têm impulsionado a pesquisa de embalagens ativas com substâncias naturais, materiais renováveis e biodegradáveis (RIBEIRO-SANTOS et al., 2017; SHEN; KAMDEM, 2015).

Dentre as embalagens ativas, são encontradas embalagens absorvedoras de oxigênio, absorvedoras de umidade, antimicrobianas, antioxidantes, aromatizantes, dentre diversas outras possibilidades. As embalagens antioxidantes vêm sendo bastante estudadas, pois a oxidação é, após crescimento microbiano, a principal causa de deterioração de alimentos. A oxidação ocorre principalmente em alimentos com alto conteúdo lipídico, especialmente aqueles com alto grau de insaturação, que são altamente suscetíveis à deterioração. A oxidação destes alimentos causa aromas indesejáveis, típicos de rancidez, resultando na rejeição, a perda da qualidade nutricional e até mesmo na formação de aldeídos atóxicos (GÓMEZ-ESTACA et al., 2014).

Antioxidantes podem ser definidos como substâncias que em concentrações menores que as do substrato oxidável, retardam a oxidação (rancificação), diminuindo a velocidade da reação e, conseqüentemente, a deterioração do produto (FENNEMA; DAMODARAN; PARKIN, 2010.).

Diversos pesquisadores já estudaram a incorporação de antioxidantes naturais em matrizes biopoliméricas e obtiveram bons resultados. Teixeira et al. (2014), por exemplo, avaliaram filmes preparados com proteínas de subprodutos de pescado combinados com três óleos essenciais (alho, cravo e orégano). Eles observaram que os filmes com óleo essencial de cravo apresentaram a maior atividade antibacteriana (contra *Shewanella putrefaciens*) e os filmes com óleo essencial de alho apresentaram maior atividade antioxidante. Já os filmes com óleo essencial de orégano apresentaram propriedades bastante semelhantes ao controle, principalmente em relação à ação antioxidante.

Ferreira et al. (2021) estudaram revestimentos à base de polímeros comestíveis (amido de mandioca e quitosana), incorporados com α -tocoferol para grãos crus de café. Os autores observaram que os revestimentos de amido de mandioca e α -tocoferol apresentam atividade antioxidante média de 39 % e os revestimentos de quitosana e α -tocoferol apresentam

atividades antioxidante que variaram de 36 a 50 %, pela análise de eliminação do radical liver estável DPPH.

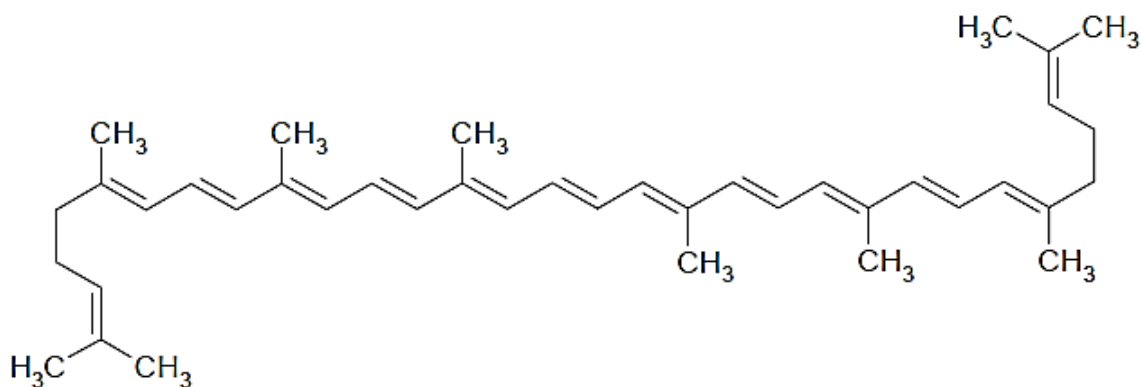
Klongdee; Thongngam; Klinkesorn (2012) desenvolveram filmes compósitos de purê de groselha indiana e metilcelulose. Os autores observaram que os filmes foram altamente eficazes contra a oxidação de castanhas-de-caju.

2.7 Resíduos da produção de molho de tomate

O tomate é um dos vegetais mais consumidos no mundo, tanto na forma *in natura* quanto processado, contém quantidade elevada de compostos fenólicos e carotenoides, sendo o licopeno o principal constituinte deste último grupo, que fornece a cor vermelha ao fruto. Sua composição em carotenoides é de cerca de 80-90% de licopeno e 7-10% de β -caroteno. Os polifenóis presentes no tomate são principalmente ácidos fenólicos, como o ácido gálico e flavonoides como a rutina e a naringenina (FRUSCIANTE et al., 2007).

Os carotenoides possuem um sistema de ligações duplas, essas ocorrem na forma *trans* ou *cis*, de maneira geral a isomerização *trans-cis* é a primeira reação que ocorre para a degradação dos carotenoides (RODRIGUEZ-AMAYA, 2001). O licopeno (C₄₀H₅₆) pertence ao subgrupo dos carotenoides não oxigenados, sendo caracterizado por uma estrutura acíclica e simétrica contendo onze ligações duplas conjugadas, arranjada linearmente. Além das ligações duplas conjugadas, possui duas ligações duplas não conjugadas (Figura 3), o que lhe oferece maior reatividade (RAO, 2002).

Figura 3 - Estrutura química do licopeno.



Fonte: Muniappan, 2012.

O processamento do tomate gera uma grande quantidade de resíduos, principalmente de cascas e sementes do tomate, que muitas vezes é descartada (KNOBLICH; ANDERSON; LATSHAW, 2005). A quantidade de licopeno é cerca de três vezes maior na casca do tomate em relação à quantidade contida na polpa, portanto, é interessante o aproveitamento deste subproduto da indústria de alimentos como agente antioxidante, tendo um custo reduzido por ser um subproduto (SILVA, 2017).

Não foram encontrados, na literatura, estudos da incorporação de cascas de tomate em filmes para avaliação do efeito antioxidante, porém Assis et al. (2017) estudaram a estabilidade à oxidação lipídica de óleo de girassol e manteiga embalados em filmes biodegradáveis de amido de mandioca com adição de licopeno livre e nanoencapsulado extraído das cascas de tomate de resíduos industriais. Eles observaram que os filmes com adição de licopeno livre e nanoencapsulado ofereceram maior proteção à oxidação para ambos os produtos submetidos às condições de oxidação acelerada em relação aos filmes sem licopeno, sendo que o licopeno nanoencapsulado teve melhores resultados quanto à proteção à oxidação.

Além disso, as cascas de tomate secas possuem cerca de 55 % de fibras insolúveis (SILVA, 2017). As fibras insolúveis são compostas principalmente por lignina, pectinas insolúveis, celulose e hemiceluloses. A lignina possui uma grande quantidade de anéis aromáticos com várias ramificações o que leva à degradação da lignina a ocorrer em uma ampla faixa de temperatura que pode ir até a 900 °C (YANG et al., 2007). O que pode contribuir para maior estabilidade térmica destes produtos, em relação ao uso do licopeno puro.

As cascas e sementes de tomate, ao serem incorporadas nos filmes obtidos pelo processo de extrusão, também podem melhorar as propriedades mecânicas de tração dos filmes devido às fibras presentes nas cascas de tomate. Wollerdorfer; Bader (1998) observaram que a incorporação de fibras naturais em matriz polimérica de amido termoplástico aumentou em quatro vezes a resistência à tração, quando comparado com o filme de amido termoplástico sem fibras.

Manrich et al. (2017) extraíram a cutina de resíduos de processamento de tomate para a formulação filmes comestíveis por *casting* com pectina na razão cutina/pectina (50/50 e 25/75) em pH neutro e ácido. Os autores observaram que a incorporação de cutina na matriz de pectina formou filmes resistentes à água com resistência mecânica razoável. Em particular, os filmes 50/50 obtidos por suspensões em pH neutro apresentaram dispersão uniforme de cutina dentro da matriz de pectina. Consequentemente, estes filmes exibiram menor absorção de água e solubilidade do que os filmes produzidos em pH ácido.

Du et al. (2008) estudaram filmes de purê de tomate e pectina incorporados com carvacol, pelo processo de *casting* contínuo e por batelada. A permeabilidade ao vapor de água dos filmes por *casting* em batelada foi maior que nos filmes por *casting* contínuo e a resistência à tração foi menor. Além disso, todos os filmes apresentaram coloração vermelha. Nesse estudo não foi testada a ação antioxidante dos filmes.

2.8 Extrato de camu-camu

O camu-camu, também conhecido como caçari ou araçá d'água (*Myrciaria dubia*), é uma espécie pertencente à família *Myrtaceae* e é uma fruta nativa da região amazônica. É um arbusto com frutos redondos com diâmetro médio de 2,5 cm (ZAPATA; DUFOUR, 1993). Os frutos têm uma casca fina e brilhante com uma polpa rosa e succulenta (Figura 4). Os frutos também possuem elevada atividade antioxidante devido ao seu alto teor de ácido ascórbico (1882 ± 43.2 mg em 100 g de fruta fresca), possui também em sua composição antocianinas (42.2 ± 17.0 mg em 100 g de fruta fresca), flavonoides amarelos (20.1 ± 4.4 mg em 100 g de fruta fresca) e carotenoides (0.4 ± 0.0 mg em 100 g de fruta fresca), tendo um grande potencial para beneficiar a saúde humana (RUFINO et al., 2010).

Devido à presença destes compostos o camu-camu pode trazer diversos benefícios à saúde. Carmo et al. (2019) estudaram a composição fenólica, os efeitos antioxidante *in vitro*, a atividade citotóxica e a inibição das aberrações cromossômicas da cisplatina, induzida de extratos de sementes de camu-camu obtidos com diferentes proporções de água e álcool etílico. O extrato obtido com 50% de água e 50% álcool etílico apresentou capacidade antioxidante, o maior teor de fenólicos totais (4802mg GAE / 100g) e inibiu o crescimento celular de quatro linhas de células cancerosas sem efeitos citotóxicos contra células normais.

Figura 4 – Imagem da fruta camu-camu.



Fonte: Zanin (2019).

Inoue et al. (2008) estudaram as propriedades antioxidantes e anti-inflamatórias do camu-camu em humanos considerados como tendo um estado de estresse oxidativo acelerado. Os autores observaram que após 7 dias de consumo de 70 mL de suco de camu-camu 100%, os marcadores de estresse oxidativo diminuíram significativamente, enquanto o grupo que consumiu vitamina C não houve alteração.

Anhê et al. (2019) avaliaram o efeito do camu-camu na obesidade e em distúrbios imunometabólicos associados em camundongos alimentados com alto teor de gordura e sacarose. O extrato de camu-camu reduziu o ganho de peso, o acúmulo de gordura e a inflamação metabólica dos camundongos. Observaram também que houve melhora da sensibilidade à insulina e proteção contra esteatose hepática.

Visando estes benefícios à saúde, a incorporação do extrato de camu-camu em alimentos também já foi estudada com o intuito de aplicação como aditivos funcionais. Chagas et al. (2021) estudaram o efeito da substituição da farinha de trigo por coprodutos de camu-camu em pó (5% a 20%) na produção de biscoito. Os autores observaram que a incorporação do pó do coproduto camu-camu, com substituição máxima de 20%, não afetou as propriedades físicas dos biscoitos quando comparados aos biscoitos controle, melhorando os fenólicos totais e o potencial antioxidante.

Conceição et al. (2019) estudaram a incorporação do extrato obtido das cascas de camu-camu como ingrediente funcionalizado no iogurte. Os autores concluíram que a adição do

extrato das cascas de camu-camu no iogurte resultou em um enriquecimento em moléculas bioativas no produto sem alterar significativamente sua composição nutricional e perfil de ácidos graxos, sugerindo que pode ser utilizado como ingrediente para alimentos funcionais e aditivo alimentar. Fidelis et al. (2020) também estudaram a incorporação de extrato de sementes de camu-camu liofilizado em iogurte em diferentes concentrações (0, 0,25, 0,5, 0,75 e 1,0 g / 100 g). Os autores observaram que o extrato liofilizado aumentou a capacidade antioxidante do iogurte e o iogurte produzido com 0,25 g/100 g de extrato liofilizado teve um índice de aceitação de 84%.

Grigio et al. (2021) formularam e caracterizaram química e fisioquimicamente diferentes formulações de picolé de camu-camu (sem leite, com leite e com leite + cobertura de chocolate) sem casca e com casca de camu-camu liofilizada. Como resultado, os autores observaram que as formulações de picolé contendo leite em sua composição apresentaram maiores percentuais de aceitação pelos consumidores, maior intenção de compra e contribuíram para melhorar as características sensoriais. Além disso, foi observado que a adição de casca de camu-camu liofilizada às formulações aumentou os teores de biocompostos e o potencial funcional das formulações, proporcionando ingestão de excelentes níveis de compostos benéficos à saúde humana.

A incorporação de extrato de camu-camu em filmes biopoliméricos de amido também já foi estudada por Ju; Song (2019). Neste estudo, os autores desenvolveram um filme biodegradável a partir de amido teff (TFS) com incorporação de extrato de camu-camu, como um material de embalagem antioxidante. Os autores observaram que os filmes amido com extrato de camu-camu mostraram excelentes atividades de eliminação de radicais. Porém, com o aumento do conteúdo de extrato de camu-camu, a resistência à tração dos filmes diminuiu e a permeabilidade ao vapor de água aumentou. Os autores também observaram que os filmes contendo extrato de camu-camu bloquearam a luz ultravioleta completamente na faixa de 200–360 nm.

O uso de micropartículas encapsuladas de agentes antioxidantes em filmes biopoliméricos em relação aos agentes antioxidantes puros têm demonstrado melhor desempenho na prevenção da oxidação lipídica. Assis et al. (2017), por exemplo, observaram que filmes amido com licopeno nanoencapsulado tiveram melhor desempenho na proteção à oxidação de óleo de girassol em condições de oxidação acelerada em relação aos filmes licopeno livre. Além disso, a incorporação de licopeno nanoencapsulado promoveu um aumento da resistência à tração e da barreira à luz UV em comparação ao licopeno livre.

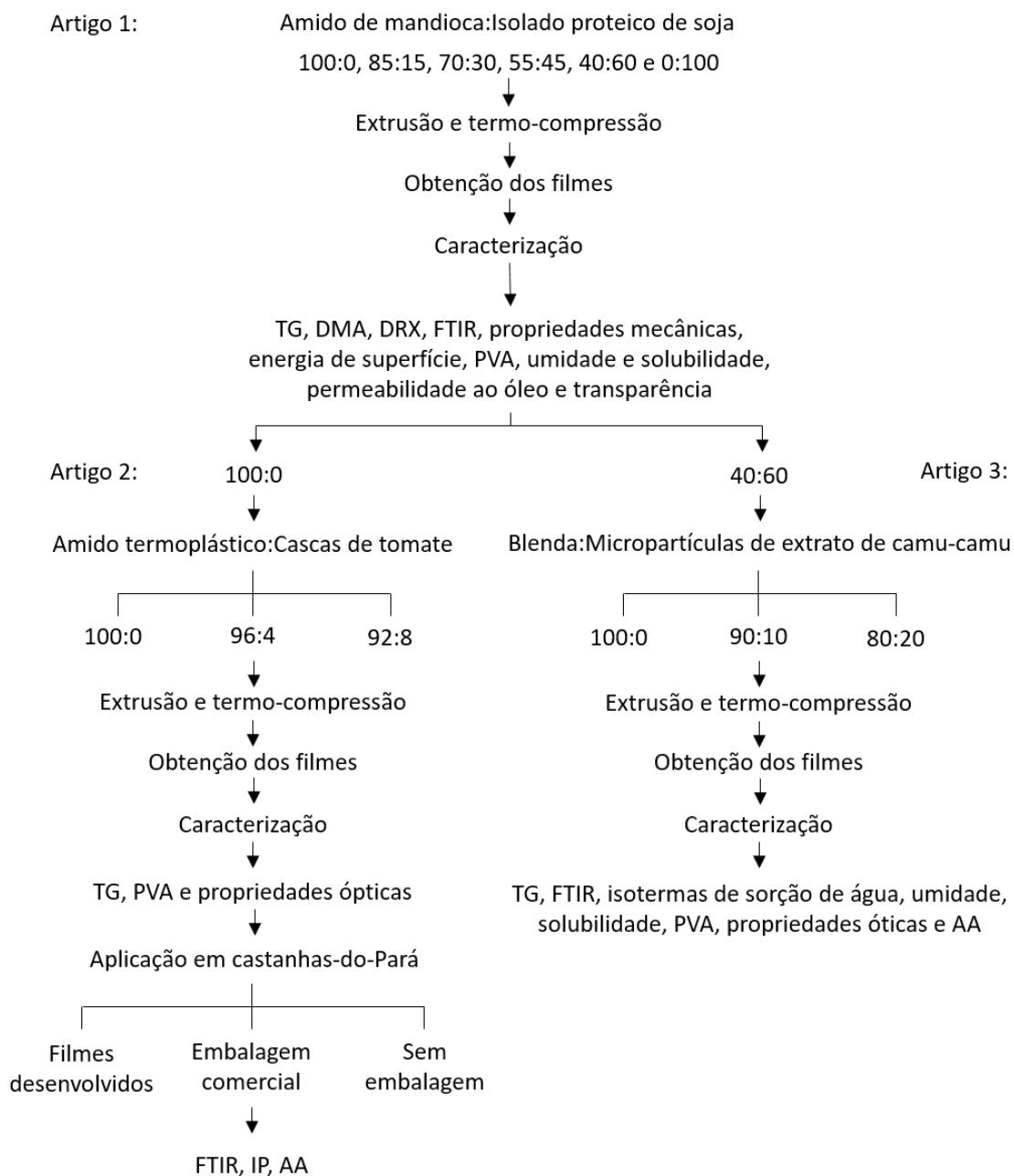
Além disso, o uso de micropartículas encapsuladas no processamento por extrusão pode ser empregado como uma proteção para os compostos ativos, já que a extrusão é um processo que emprega altas temperaturas e forças de cisalhamento nos componentes do material.

O processo de microencapsulação por atomização é um método simples, rápido e de baixo custo baseado na transformação de líquido em pó. O material resultante consiste em um material de parede de revestimento (agentes transportadores) que protege os compostos sensíveis de condições adversas, como luz, oxigênio e umidade. Além disso, os materiais de parede evitam a evaporação de voláteis e ataques químicos, também melhoram as propriedades de dispersão e manuseio, o que facilita a mistura do extrato com o material a ser extrudado (FIGUEIREDO et al., 2020).

3 PLANEJAMENTO EXPERIMENTAL

O trabalho foi dividido em três artigos, em que: no primeiro foi realizado o desenvolvimento e caracterização de blendas de amido de mandioca e isolado proteico de soja pelo processo de extrusão; no segundo foram incorporadas cascas e sementes de tomate aos filmes e aplicados em castanhas-do-pará e no terceiro foram incorporadas micropartículas de extrato de camu-camu e realizado a caracterização dos filmes. Um fluxograma explicando resumidamente o delineamento experimental pode ser observado na Figura 5.

Figura 5 – Fluxograma do delineamento experimental.



Fonte: Do autor (2021).

4 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABREU, D. A. P. *et al.* Natural antioxidant active packaging film and its effect on lipid damage in frozen blue shark (*Prionace glauca*). **Innovative Food Science & Emerging Technologies**, Santiago de Compostela, v. 12, n. 1, p. 50–55, jan. 2011.

ADEKUNLE, A.; ORSAT, V.; RAGHAVAN, V. Lignocellulosic bioethanol: A review and design conceptualization study of production from cassava peels. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, Canada, v. 64, [s. n.], p. 518–530, jul. 2016.

ANHÊ, F. *et al.* Treatment with camu camu (*Myrciaria dubia*) prevents obesity by altering the gut microbiota and increasing energy expenditure in diet-induced obese mice. **Gut**, Québec, v. 68, n. 3, p. 453–464, 1 mar. 2019.

AI, Y.; JANE, J. Gelatinization and rheological properties of starch. **Starch - Stärke**, East Lansing, v. 67, n. 3–4, p. 213–224, 1 mar. 2015.

ARAÚJO, E. M. Desenvolvimento de Blendas Poliméricas visando a Tenacificação dos Polímeros: Uma revisão. **Semina: Ciências Exatas e Tecnológicas**, Londrina, v. 36, n. 1, p. 67–80, 2015.

ASCON; ANVISA. **Canudos comestíveis: saiba como regularizar - RSS - Anvisa**. Disponível em: <http://portal.anvisa.gov.br/rss/-/asset_publisher/Zk4q6UQCj9Pn/content/id/5390739>. Acesso em: 11 jul. 2019.

ASSIS, R. Q. *et al.* Active biodegradable cassava starch films incorporated lycopene nanocapsules. **Industrial Crops and Products**, Porto Alegre, v. 109, [s. n.], p. 818–827, 15 dez. 2017.

AZEVEDO, V. M. *et al.* Development of whey protein isolate bio-nanocomposites: Effect of montmorillonite and citric acid on structural, thermal, morphological and mechanical properties. **Food Hydrocolloids**, Lavras, v. 48, [s. n.], p. 179–188, 2015.

AZEVEDO, V. M. *et al.* Effect of replacement of corn starch by whey protein isolate in biodegradable film blends obtained by extrusion. **Carbohydrate Polymers**, Lavras, v. 157, [s. n.], p. 971–980, 10 fev. 2017.

BARRON, C. *et al.* Energy balance of low hydrated starches transition under shear. **Journal of food science**, Paris, v. 67, n. 4, p. 1426–1437, 20 jul. 2002.

BATTERMAN-AZCONA, S. J.; LAWTON, J. W.; HAMAKER, B. R. Microstructural changes in zein proteins during extrusion. **Scanning**, West Lafayette, v. 21, n. 3, p. 212–216, 1 abr. 1999.

BONA, J. C. **Preparação e caracterização de filmes biodegradáveis a partir de blendas de amido com polietileno**. 115p. Dissertação (Mestrado em Engenharia de Alimentos) – Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis. 2007.

BULEON, A., COLONNA, P., PLANCHOT, V., & BALL, S. Starch granules: Structure and biosynthesis. **International Journal of Biological Macromolecules**, França, v. 23, [s. n.], p. 85–112, 1998.

- CALADO, L. M. **Desenvolvimento de Compósitos Poliméricos: Estudo da sua Reologia e Extrusão**. 2015. 106 f. UNIVERSIDADE DE LISBOA, 2015.
- CANEVAROLO JÚNIOR, S. V. **Ciência dos polímeros: um texto básico para tecnólogos e engenheiros**. São Paulo: [s. n.], 2002.
- CARMO, M. A. V. et al. Hydroalcoholic Myrciaria dubia (camu-camu) seed extracts prevent chromosome damage and act as antioxidant and cytotoxic agents. **Food Research International**, v. 125, [s. n.], p. 108551, 1 nov. 2019.
- CASSU, S. N.; FELISBERTI, M. I. Comportamento dinâmico-mecânico e relaxações em polímeros e blendas poliméricas. **Química Nova**, São José dos Campos, v. 28, n. 2, fev. 2005.
- CERQUEIRA, M. A. et al. Functional polysaccharides as edible coatings for cheese. **Journal of agricultural and food chemistry**, Braga, v. 57, n. 4, p. 1456–62, 25 mar. 2009.
- CHANG, Y. K. et al. Twin-screw extrusion of cassava starch and isolated soybean protein blends. **Food/Nahrung**, Weinheim, v. 45, n. 4, p. 234-240, 21 ago. 2001.
- CHINMA, C.E.; ARIAHU, C.C.; ABU, J.O. Shelf Life Extension of Toasted Groundnuts through the Application of Cassava Starch and Soy Protein-Based Edible Coating. **Nigerian Food Journal**, Minna, v. 32, n. 1, p. 133–138, 1 jan. 2014.
- CHINMA, C. E.; ARIAHU, C. C.; ABU, J. O. Chemical composition, functional and pasting properties of cassava starch and soy protein concentrate blends. **Journal of food science and technology**, Minna, v. 50, n. 6, p. 1179-1185, 15 jul. 2013.
- CHINMA, C. E.; ARIAHU, C. C.; ABU, J. O. Development and characterization of cassava starch and soy protein concentrate based edible films. **International Journal of Food Science & Technology**, Minna, v. 47, n. 2, p. 383–389, 1 fev. 2012.
- CONCEIÇÃO, N. *et al.* By-Products of Camu-Camu [Myrciaria dubia (Kunth) McVaugh] as Promising Sources of Bioactive High Added-Value Food Ingredients: Functionalization of Yogurts. **Molecules**, Bragança, v. 25, n. 1, p. 70, 24 dez. 2019.
- COUCHMAN, P. R. Compositional Variation of Glass-Transition Temperatures. 2. Application of the Thermodynamic Theory to Compatible Polymer Blends. **Macromolecules**, [s. l.], v. 11, n. 6, p. 1156–1161, nov. 1978.
- DAS CHAGAS, E. G. L. et al. Enrichment of antioxidants compounds in cookies produced with camu-camu (Myrciaria dubia) coproducts powders. **LWT**, Pirassununga, v. 137, [s. n.], p. 110472, 1 fev. 2021.
- DE ABREU, F., J. et al. Encapsulation of camu-camu extracts using prebiotic biopolymers: Controlled release of bioactive compounds and effect on their physicochemical and thermal properties. **Food Research International**, Lavras, v. 137, p. 109563, 1 nov. 2020.
- DE GENNES, P. G. Dynamics of fluctuations and spinodal decomposition in polymer blends. **The Journal of Chemical Physics**, [s. l.] v. 72, n. 9, p. 4756–4763, 15 mai. 1980.
- DE PAOLI, M.-A. **Degradação E Estabilização De Polímeros**. p. 286, 2009.

DENARDIN, C. C.; SILVA, L. P. D. Estrutura dos grânulos de amido e sua relação com propriedades físico-químicas. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 39, n. 3, p. 945–954, 9 jan. 2009.

DIAS, M. V. *et al.* Development of chitosan/montmorillonite nanocomposites with encapsulated α -tocopherol. **Food chemistry**, Lavras, v. 165, [s. n.] p. 323–329, 15 dez. 2014.

DU, W.-X. *et al.* Antibacterial Activity against *E. coli* O157:H7, Physical Properties, and Storage Stability of Novel Carvacrol-Containing Edible Tomato Films. **Journal of Food Science**, [s. l.], v. 73, n. 7, p. M378–M383, 1 set. 2008.

ELSABEE, M. Z.; ABDOU, E. S. Chitosan based edible films and coatings: A review. **Materials Science and Engineering: C**, Giza, v. 33, n. 4, p. 1819–1841, 2013.

FENNEMA, O. R.; DAMODARAN, S.; PARKIN, K. L. **Food Chemistry of Fennema**. Porto Alegre, v. 4, [s. n.], p. 366-374, 2010.

FERREIRA, L. F. *et al.* Active coatings of thermoplastic starch and chitosan with alpha-tocopherol/bentonite for special green coffee beans. **International Journal of Biological Macromolecules**, Lavras, v. 170, [s. n.], p. 810–819, 15 fev. 2021.

FICHTALI, J.; VAN DE VOORT, F. R. Fundamental and practical aspects of twin screw extrusion. **Cereal Foods World**, New Orleans, v. 34, n. 11, p. 921-929, 1989.

FIDELIS, M. *et al.* From byproduct to a functional ingredient: Camu-camu (*Myrciaria dubia*) seed extract as an antioxidant agent in a yogurt model. **Journal of Dairy Science**, Ponta Grossa, v. 103, n. 2, p. 1131–1140, 1 fev. 2020.

FRANZOSO, F. *et al.* Extruded versus solvent cast blends of poly(vinyl alcohol- *co* - ethylene) and biopolymers isolated from municipal biowaste. **Journal of Applied Polymer Science**, Torino, v. 133, n. 9, p. n/a-n/a, 5 mar. 2016.

GALUS, S. *et al.* Effect of modified starch or maltodextrin incorporation on the barrier and mechanical properties, moisture sensitivity and appearance of soy protein isolate-based edible films. **Innovative Food Science & Emerging Technologies**, Warsaw, v. 16, [s. n.], p. 148–154, 1 out. 2012.

GARRIDO, T. *et al.* Characterization of agar/soy protein biocomposite films: Effect of agar on the extruded pellets and compression moulded films. **Carbohydrate Polymers**, Donostia-San Sebastián, v. 151, [s. n.], p. 408–416, 20 out. 2016.

GÓMEZ-ESTACA, J. *et al.* Advances in antioxidant active food packaging. **Trends in Food Science & Technology**, Valencia, v. 35, n. 1, p. 42–51, 1 jan. 2014.

GRIGIO, M. L. *et al.* Nutraceutical potential, qualitative and acceptability of different camu-camu popsicle. **Journal of Food Processing and Preservation**, Boa Vista, v. 45, n. 3, p. e15305, 2 mar. 2021.

FERFERA-HARRAR, H.; DAIRI, N. Green nanocomposite films based on cellulose acetate and biopolymer-modified nanoclays: studies on morphology and properties. **Iranian Polymer Journal (English Edition)**, El-Alia, v. 23, n. 12, p. 917–931, 8 nov. 2014.

FRUSCIANTE, L.; CARLI, P.; ERCOLANO, M.R.; PERNICE, R.; DI MATTEO, A.; FOGLIANO, V.; PELLEGRINI, N. Antioxidant nutritional quality of tomato. **Molecular Nutrition & Food Research**. Weinheim, v. 51, [s. n.], p. 609-617, abr. 2007.

FIGUEIREDO, J. *et al.* Stability of camu-camu encapsulated with different prebiotic biopolymers. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, Lavras, v. 100, n. 8, p. 3471–3480, 4 jun. 2020.

HERNANDEZ-IZQUIERDO, V. M.; KROCHTA, J. M. Thermoplastic Processing of Proteins for Film Formation—A Review. **Journal of Food Science**, Davis, v. 73, n. 2, p. R30–R39, 1 mar. 2008.

HARPER, J. M.; CLARK, J. P. Food extrusion. **Critical Reviews in Food Science & Nutrition**, Fort Collins, v. 11, n. 2, p. 155-215, 29 set. 1979.

HUANG, Z.-Q. *et al.* Effect of mechanical activation on physico-chemical properties and structure of cassava starch. **Carbohydrate Polymers**, Nanning, v. 68, n. 1, p. 128–135, 1 mar. 2007.

IDE, F.; HASEGAWA, A. Studies on polymer blend of nylon 6 and polypropylene or nylon 6 and polystyrene using the reaction of polymer. **Journal of Applied Polymer Science**, Florianópolis, v. 18, n. 4, p. 963–974, 1 abr. 1974.

INOUE, T. *et al.* Tropical fruit camu-camu (*Myrciaria dubia*) has anti-oxidative and anti-inflammatory properties. **Journal of Cardiology**, Saga, v. 52, n. 2, p. 127–132, out. 2008.

INTERNACIONAL ENERGY AGENCY. **2018 BP Energy Outlook**. [s. l.: s. n.], 2018. Disponível em: <bp.com/content/dam/bp/en/corporate/pdf/energy-economics/energy-outlook/bp-energy-outlook-2018.pdf>. Acesso em: 19 dez. 2018.

INTERNACIONAL ENERGY AGENCY. **World Energy Outlook**. 2010 edition ed. Paris: [s. n.], 2010. Disponível em: <https://www.iea.org/reports/world-energy-outlook-2010>. Acesso em: 19 dez. 2018.

IUPAC. **Compendium of Chemical Terminology**, 2nd ed. (the "Gold Book"). Compiled by A. D. McNaught and A. Wilkinson. Blackwell Scientific Publications, Oxford (1997). Online version (2019-) created by S. J. Chalk. ISBN 0-9678550-9-8. <https://doi.org/10.1351/goldbook>.

IUPAC. **Compendium of Chemical Terminology**, 2nd ed. (the "Gold Book"). Compiled by A. D. McNaught and A. Wilkinson. Blackwell Scientific Publications, Oxford (1997). Online version (2019-) created by S. J. Chalk. ISBN 0-9678550-9-8. <https://doi.org/10.1351/goldbook>.

JANE, J. *et al.* Effects of Amylopectin Branch Chain Length and Amylose Content on the Gelatinization and Pasting Properties of Starch. **Cereal Chemistry Journal**, v. 76, n. 5, p. 629–637, 1 set. 1999.

JANE, J. L. *et al.* Location of amylose in normal starch granules. I. Susceptibility of amylose and amylopectin to cross-linking reagents. *Cereal Chemistry*, v. 96, n. 4, p. 405–409, 1992.

JENKINS, Paul J.; DONALD, Athene M. Gelatinisation of starch: A combined

SAXS/WAXS/DSC and SANS study. **Carbohydrate Research**, Ames, v. 308, n. 1–2, p. 133–147, 1 mar. 1998.

JU, A.; SONG, K. B. Development of teff starch films containing camu-camu (*Myrciaria dubia* Mc. Vaugh) extract as an antioxidant packaging material. **Industrial Crops and Products**, Daejeon, v. 141, [s. n.], p. 111737, 1 dez. 2019.

KABIR, F., TOW, W. W., HAMAUZU, Y., KATAYAMA, S., TANAKA, S., & NAKAMURA, S. Antioxidant and cytoprotective activities of extracts prepared from fruit and vegetable wastes and by-products. **Food Chemistry**, Kamiina, v. 167, [s. n.], p. 358–62, 15 jan. 2015.

KARLSTRÖM, A. *et al.* Biological Implications in Cassava for the Production of Amylose-Free Starch: Impact on Root Yield and Related Traits. **Frontiers in Plant Science**, Lomma, v. 7, [s. n.] p. 604, 20 maio 2016.

KITABATAKE, N.; MEGARD, D.; CHEFTEL, J. C. Continuous gel formation by HTST extrusion-cooking: soy proteins. **Journal of Food Science**, Paris, v. 50, n. 5, p. 1260-1265, 25 ago. 1985.

KLONGDEE, S.; THONGNGAM, M.; KLINKESORN, U. Rheology and Microstructure of Lecithin-Stabilized Tuna Oil Emulsions Containing Chitosan of Varying Concentration and Molecular Size. **Food Biophysics**, Bangkok, v. 7, n. 2, p. 155–162, 2012.

KNOBLICH, M.; ANDERSON, B.; LATSHAW, D. Analyses of tomato peel and seed byproducts and their use as a source of carotenoids. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, Columbus, v. 1170, [s. n.], p. 1166–1170, out. 2005.

KUSANO, C. *et al.* Lipid Oxidation in Food And Biological Systems: General Mechanisms and Nutritional And Pathological Implications. **Rev. Nutr., Campinas**, São Paulo, v. 11, n. 1, p. 3–14, 1998.

LACERDA, L. D. **AVALIAÇÃO DAS PROPRIEDADES FÍSICO-QUÍMICAS DE PROTEÍNA ISOLADA DE SOJA, AMIDO E GLÚTEN E SUAS MISTURAS**. 2008. 91 f. UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL - INSTITUTO DE QUÍMICA, 2008. Disponível em: <<https://www.lume.ufrgs.br/bitstream/handle/10183/14348/000663723.pdf>>. Acesso em: 27 nov. 2018.

LEWANDOWSKA, K. *et al.* The miscibility of collagen/hyaluronic acid/chitosan blends investigated in dilute solutions and solids. **Journal of Molecular Liquids**, Toruń, v. 220, [s. n.], p. 726–730, 1 ago. 2016.

LI, X. *et al.* Physicochemical properties of corn starch isolated by acid liquid and l-cysteine. **Food Hydrocolloids**, Liaoning, v. 44, [s. n.], p. 353–359, fev. 2015.

LIMPAN, N. *et al.* Properties of biodegradable blend films based on fish myofibrillar protein and polyvinyl alcohol as influenced by blend composition and pH level. **Journal of Food Engineering**, Songkhla, v. 100, n. 1, p. 85–92, set. 2010.

LIU, P. *et al.* Phase transitions of maize starches with different amylose contents in glycerol–water systems. **Carbohydrate Polymers**, Guangdong, v. 85, n. 1, p. 180-187, 22 abr. 2011.

LÓPEZ-DE-DICASTILLO, C. *et al.* Improving the Antioxidant Protection of Packaged Food by Incorporating Natural Flavonoids into Ethylene–Vinyl Alcohol Copolymer (EVOH) Films. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Paterna, v. 58, n. 20, p. 10958–10964, 27 out. 2010.

LÓPEZ, O. V.; GARCÍA, M. A.; ZARITZKY, N. E. Film forming capacity of chemically modified corn starches. **Carbohydrate polymers**, Buenos Aires, v. 73, n. 4, p. 573–81, 5 set. 2008.

LUCHESE, C. L.; SPADA, J. C.; TESSARO, I. C. Starch content affects physicochemical properties of corn and cassava starch-based films. **Industrial Crops and Products**, Porto Alegre, v. 109, [s. n.], p. 619–626, 15 dez. 2017.

LUO, S.; CAO, J.; MCDONALD, A. G. Interfacial Improvements in a Green Biopolymer Alloy of Poly(3-hydroxybutyrate- *co* -3-hydroxyvalerate) and Lignin via in Situ Reactive Extrusion. **ACS Sustainable Chemistry & Engineering**, Beijing, v. 4, n. 6, p. 3465–3476, 6 jun. 2016.

MANRICH, A. *et al.* Hydrophobic edible films made up of tomato cutin and pectin. **Carbohydrate Polymers**, São Carlos, v. 164, [s. n.], p. 83–91, 15 maio 2017.

MARIANO, M. **ESTABILIDADE TÉRMICA DA PROTEÍNA ISOLADA DE SOJA**. 2010. 36 f. UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA CENTRO DE CIÊNCIAS FÍSICAS E MATEMÁTICAS DEPARTAMENTO DE QUÍMICA, 2010. Disponível em: <<https://core.ac.uk/download/pdf/30377767.pdf>>. Acesso em: 15 jul. 2019.

MARTELLI, S. M. *et al.* Edible carboxymethyl cellulose films containing natural antioxidant and surfactants: α -tocopherol stability, in vitro release and film properties. **LWT**, v. 77, [s. n.], p. 21–29, 1 abr. 2017.

MERCI, A., MARIM, R. G., URBANO, A., MALI, S. Films based on cassava starch reinforced with soybean hulls or microcrystalline cellulose from soybean hulls. **Food Packaging and Shelf Life**, Londrina, v. 20, [n. s.], p. 100321, 2019.

MONEDERO, F. M. *et al.* Effect of oleic acid-beeswax mixtures on mechanical, optical and water barrier properties of soy protein isolate based films. **Journal of Food Engineering**, Valencia, v. 91, n. 4, p. 509–515, 2009.

FERFERA-HARRAR, H.; DAIRI, N. Green nanocomposite films based on cellulose acetate and biopolymer-modified nanoclays: studies on morphology and properties. **Iranian Polymer Journal (English Edition)**, El-Alia, v. 23, n. 12, p. 917–931, 2014.

OCHOA-YEPES, O. *et al.* Influence of process (extrusion/thermo-compression, casting) and lentil protein content on physicochemical properties of starch films. **Carbohydrate Polymers**, Buenos Aires, v. 208, n. 4, p. 221–231, mar. 2019.

OLIVEIRA, G. F. **DESENVOLVIMENTO E CARACTERIZAÇÃO DE ISOLADO PROTÉICO DE SOJA MODIFICADO COM HEXAMETAFOSFATO DE SÓDIO**. 2010. 58 f. 2010.

PE, M. B.; KROCHTA, J. M. Lipid Particle Size Effect on Water Vapor Permeability and

Mechanical Properties of Whey Protein / Beeswax Emulsion Films. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Davis, v. 49, n. 2, p. 996–1002, 2001.

PETERSSON, L.; OKSMAN, K. Biopolymer based nanocomposites: Comparing layered silicates and microcrystalline cellulose as nanoreinforcement. **Composites Science and Technology**, Trondheim, v. 66, n. 13, p. 2187–2196, out. 2006.

PORTAL EMBRAPA. **Dados econômicos - Portal Embrapa**. Disponível em: <<https://www.embrapa.br/soja/cultivos/soja1/dados-economicos>>. Acesso em: 19 dez. 2018.

RAO, A.V. Lycopene, tomatoes, and the prevention of coronary heart disease. **Experimental Biology and Medicine**, [s. l.], v. 227, [s. n.], p. 908-913, 2002.

RDC 263/2005. **Ministério da Saúde-MS Agência Nacional de Vigilância Sanitária-ANVISA**. [S. l: s. n.], [S. d.]. Disponível em: <https://bvsms.saude.gov.br/bvs/saudelegis/anvisa/2005/rdc0263_22_09_2005.html>. Acesso em: 11 jul. 2019.

RIBEIRO-SANTOS, R. *et al.* Use of essential oils in active food packaging: Recent advances and future trends. **Trends in Food Science & Technology**, Lisbon, v. 61, [s. n.], p. 132–140, 1 mar. 2017.

ROBESON, Lloyd M. **Polymer blends. A Comprehensive Review**, [S. l: s. n.], 2007.

ROCHA, Geisa Oliveira *et al.* Filmes compostos biodegradáveis a base de amido de mandioca e proteína de soja. **Polímeros**, Rio de Janeiro, v. 24, n. 5, p. 587–595, 1 set. 2014.

RODRIGUEZ-AMAYA, D. B. **A guide to carotenoids analysis in foods**. ILSI Press, Washington DC, USA, 2001.

RUFINO, M. S. M. *et al.* Bioactive compounds and antioxidant capacities of 18 non-traditional tropical fruits from Brazil. **Food Chemistry**, Mossoró, v. 121, n. 4, p. 996–1002, 15 ago. 2010.

SCHMIDT, V.C.R. **Desenvolvimento de bandejas biodegradáveis a partir da fécula de mandioca, calcário e fibra de celulose**. 76p. Dissertação (Mestrado em Engenharia de Alimentos) – Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis. 2006.

SHEN, Z.; KAMDEN, D. P. Development and characterization of biodegradable chitosan films containing two essential oils. **International Journal of Biological Macromolecules**, East Lansing, v. 74, p. 289–296, 2015.

SILVA, L. C. **CARACTERIZAÇÃO QUÍMICA E OTIMIZAÇÃO DO PROCESSO DE EXTRAÇÃO DE LICOPENO**. 2017. 102 f. Universidade Estadual de Campinas, 2017.

Disponível:

<http://repositorio.unicamp.br/bitstream/REPOSIP/331593/1/Silva_LeticiaCardosoDa_M.pdf>. Acesso em: 20 ago. 2018.

SBM. **Sociedade brasileira de mandioca**. Disponível em: <http://sbmandioca.org/>. Acesso em: 15 mai 2018.

SOUZA, A. C. *et al.* Cassava starch composite films incorporated with cinnamon essential

oil: Antimicrobial activity, microstructure, mechanical and barrier properties. **LWT - Food Science and Technology**, São Paulo, v. 54, n. 2, p. 346–352, dez. 2013.

SOUZA, G.; SANTOS, A.; VINHAS, G. Avaliação das propriedades da blenda de poli(3-hidroxibutirato)/quitosana após esterilização térmica ou radiolítica. **Polímeros**, Recife, v. 26, n. 4, p. 352–359, 8 dez. 2016.

STEPHANI, R. *et al.* Dossiê proteínas. **FOOD INGREDIENTS BRASIL**, n. 28, p. 58–90, 2012. Disponível em: <www.revista-fi.comwww.revista-fi.com>. Acesso em: 27 jul. 2019.

SUN, Q.; SUN, C.; XIONG, L. Mechanical, barrier and morphological properties of pea starch and peanut protein isolate blend films. **Carbohydrate Polymers**, Chengyang Distric, v. 98, n. 1, p. 630–637, out. 2013.

TAGHVAEI, M.; JAFARI, S. M. Application and stability of natural antioxidants in edible oils in order to substitute synthetic additives. **Journal of Food Science and Technology**, Gorgan, v. 52, n. 3, p. 1272–1282, 6 mar. 2015.

TEIXEIRA, B. *et al.* Characterization of fish protein films incorporated with essential oils of clove, garlic and origanum: Physical, antioxidant and antibacterial properties. **LWT - Food Science and Technology**, Lisboa, v. 59, n. 1, p. 533–539, 2014.

TEIXEIRA, E. DE M., *et al.* Cassava bagasse cellulose nanofibrils reinforced thermoplastic cassava starch. **Carbohydrate Polymers**, São Carlos, v. 78, n. 3, p. 422–431, 2009.

TEIXEIRA, O. R. **MODIFICAÇÃO DE FÉCULA DE MANDIOCA COM ULTRASSOM E RADIAÇÃO UV**. 2016. 63 f. Universidade Federal Da Bahia Faculdade De Farmácia Programa De Pós-Graduação Em Ciência De Alimentos, 2016.

ZAPATA, S. M.; DUFOUR, J. P. Camu-camu *Myrciaria dubia* (HBK) McVaugh: Chemical composition of fruit. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, Louvain-la-Neuv, v. 61, n. 3, p. 349–351, 1993.

WOLLERDORFER, M.; BADER, H. Influence of natural fibres on the mechanical properties of biodegradable polymers. **Industrial Crops and Products**, Tulln, v. 8, n. 2, p. 105–112, 1 maio 1998.

WONG, D. W. S. *et al.* Chitosan-lipid films: microstructure and surface energy. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Albany, v. 40, n. 4, p. 540–544, abr. 1992.

WU, C. *et al.* Structural properties of films and rheology of film-forming solutions of chitosan gallate for food packaging. **Carbohydrate Polymers**, Hangzhou, v. 146, [s. n.], p. 10–19, 2016.

YANG, H. *et al.* Characteristics of hemicellulose, cellulose and lignin pyrolysis. **Fuel**, Wuhan, v. 86, n. 12–13, p. 1781–1788, 1 ago. 2007.

YU, L.; DEAN, K.; LI, L. Polymer blends and composites from renewable resources. **Progress in Polymer Science**, Melbourne, v. 31, n. 6, p. 576–602, 1 jun. 2006

ZHANG, J.; MUNGARA, P.; JANE, J. Mechanical and thermal properties of extruded soy protein sheets. **Polymer**, Ames, v. 42, n. 6, p. 2569–2578, mar. 2001.

ZHANG, S. *et al.* Soy protein isolate-based films reinforced by surface modified cellulose nanocrystal. **Industrial Crops and Products**, Denton, v. 80, [s. n.], p. 207–213, 1 fev. 2016.

SEGUNDA PARTE: ARTIGOS**ARTIGO 1: CHARACTERIZATION OF CASSAVA STARCH/SOY PROTEIN
ISOLATE BLENDS OBTAINED BY EXTRUSION AND
THERMOCOMPRESSION**

(Artigo publicado na revista *Industrial Crops and Products*)

Laura Fonseca Ferreira¹, Ana Carolina Salgado de Oliveira², Danielly de Oliveira Begali², Alfredo Rodrigues de Sena Neto³, Maria Alice Martins⁴, Juliano Elvis de Oliveira³, Soraia Vilela Borges², Maria Irene Yoshida⁵, Gustavo Henrique Denzin Tonoli⁶, Marali Vilela Dias².

¹Biomaterials Engineering Postgraduated Program, Federal University of Lavras, 37200-900, P.O. Box 3037, Lavras, MG, Brazil.

²Food Science Department, Federal University of Lavras, P.O. Box 3037, 37200-900, Lavras, MG, Brazil.

³Engineering Department, Federal University of Lavras, P.O. Box 3037, 37200-900, Lavras, MG, Brazil.

⁴National Agricultural Nanotechnology Laboratory, Embrapa Instrumentação, São Carlos, 13560-970, SP, Brazil.

⁵Department of Chemistry, Federal University of Minas Gerais, 31270-901, Belo Horizonte, MG, Brazil.

⁶Department of Forest Science, Federal University of Lavras, CEP 37200-900, Lavras, MG, Brazil.

ABSTRACT

To develop biodegradable food packaging, different biopolymer blend ratios of cassava starch (S) and soy protein isolate (P) (S100, S85P15, S70P30, S55P45, S40P60, and P100) were prepared by the extrusion method and then characterized. Before their application in foods, these blends must be characterized to enable the selection of the optimum materials for different packaging applications. For this purpose, the thermal and structural properties of the blends and possible interactions between the polymers were analyzed by thermogravimetric analysis (TG), dynamic mechanical analysis (DMA), X-ray diffraction (XRD), and Fourier-transform infrared (FTIR) spectroscopy. The moisture and oil resistance (surface energy, water vapor permeability (WVP), moisture content and solubility, and oil permeability), mechanical properties (tensile and puncture strength), and transparency of the blends were also investigated. The addition of protein resulted in crosslinking between the starch and protein chains and increased the crystallinity, as observed by FTIR, XRD, and DMA. Consequently, the stiffness of S40P60 increased, presenting a 120% higher elastic modulus, and the WVP decreased 25% compared to S100, likely due to the crosslinking of the polymer chains promoted by the addition of protein. In contrast, the S70P30 blend had greater hydrophilicity, leading to 68% and 17% increase in moisture content and WVP, respectively. The S40P60 blend presented 22% higher water solubility than the other blends. The S85P15 blend exhibited higher dispersive energy ability, and consequently, higher permeability to oil. P100 was 19% less transparent than the other samples. Concerning the studied blends, S40P60 presented a low water vapor and oil permeability and low dispersive energy, while also presenting low transparency. Therefore, the use of this blend should be considered for packaging for foods with high lipid contents.

Keywords: water vapor permeability, surface energy, extrusion, thermocompression.

1. INTRODUCTION

Many food preservation technologies have been researched and developed to stabilize and preserve food quality, ensuring greater safety for consumers and longer shelf life for foods. Among such technologies, the packaging is an important factor in food preservation because the packaging is able to maintain the food characteristics obtained through processing (Barbosa-Pereira et al., 2013; Chien, et. al, 2007; Dias et al., 2013; Junqueira-Gonçalves et al., 2017; Toci et al., 2013).

Among packaging materials, biopolymers have been widely studied as potential substitutes for traditional materials obtained from petroleum given the trend toward sustainability, as observed in the current global scenario (Dias et al., 2014; Elsabee & Abdou, 2013; Ferreira et al., 2018; Frindy et al., 2016; Galus, 2018; Lara et al., 2019; Martínez-Camacho et al., 2010; Viana et al., 2018). Biopolymers are macromolecules, including proteins and polysaccharides, formed by living organisms, such as microorganisms, plants, or animals (IUPAC, 2009). Therefore, biopolymer films are produced from renewable raw materials, typically proteins, polysaccharides or their combination, and are promising alternatives to replace, at least in part, the conventional synthetic polymers used for food packaging (Azevedo et al., 2015; IUPAC, 2009, Souza et al., 2012; Zeponet. al, 2014).

Among the renewable material alternatives, cassava starch and soy protein isolate are considered polymers with great potential to produce biodegradable packaging due to their low cost compared to other biopolymers and abundant production, allowing the use of these materials on an industrial scale. Also, biodegradable and edible films can be produced with these materials (El Halal et al., 2015; S. Zhang et al., 2016).

For the application of these biopolymers in food packaging, it is essential to know their mechanical properties—especially resistance to puncture and traction—to ensure that the packaging does not break during storage and handling of the product. Ensuring the barrier properties, such as oil and water vapor permeability, is also important because they are related to food conservation. Optical properties are also important because they are associated with the acceptance of the product. These properties depend on the composition of the film and its processing. Films made of starch alone may not meet the demands of certain foods, mainly due to their high WVP. The development of biopolymer blends and composites is an alternative to improve these properties. Starches and proteins obtained from different sources, such as corn starch and whey protein isolate (Ochoa-Yepes et al., 2019) and pea starch and peanut protein

isolate (Sun et al., 2013), have been blended by extrusion, and studies have shown these blends to exhibit improved properties compared to films containing only starch.

Chinma et al. (2013) developed blends of cassava starch and soy protein isolate by the casting process and observed that the addition of up to 30% soy protein and 20% glycerol reduced the viscosity and improved the color and appearance of the films. The addition of up to 50% protein and 20% glycerol improved the tensile strength, elastic modulus and elongation of the film but decreased its solubility and WVP.

Studies on cassava starch and soy protein extrudates have shown that it is possible to process these materials using an extruder, and good interaction between the cassava starch and soy protein was observed; however, these studies focused on food manufacturing (Akubor & Ukwuru, 2003; Badrie & Mellows, 1992) or the characterization of pastes (Chang et al., 2001). Studies on the production and characterization of films made from extruding these materials for use in food packaging are still lacking.

Given the abovementioned considerations, the objective of this study was to evaluate the effect of soy protein isolate concentration on blends with cassava starch in terms of the thermal properties (measured by thermogravimetry and dynamic-mechanical thermal analysis), mechanical properties (tensile and puncture strength), and moisture and oil resistance (in terms of water vapor permeability, moisture content, solubility, contact angle, and oil permeability) of the blends intended to be used in food packaging.

2. MATERIALS AND METHODS

2.1 Materials

The soy protein isolate (90%) was obtained from Doremus Alimentos, Guarulhos, Brazil, and the acetylated esterified modified cassava starch (Cassava 406, lot R03_10/09) was from Cassava, Rio do Sul, Brazil. Glycerol (p.a., 95%) was obtained from Êxodo Científica, Sumaré, Brazil. Stearic acid (p.a., 95%) was obtained from Êxodo Científica, Sumaré, Brazil. Citric acid monohydrate (ACS grade, 99.5%) was obtained from Proquimios Comércio e Indústria Ltda.

2.2 Experimental design

A completely randomized design with three replicates was used, where five different polymer blend ratios of the cassava starch (S) and soy protein isolated (P): S100, S85P15, S70P30, S55P45, S40P60 and P100 were tested.

2.3 Development of the blends

The blends were developed following the methodology described by Azevedo et al. (2017), with some modifications. 60% (w/w) polymers (cassava starch/soy protein isolate), 24% (w/w) glycerol, 14% (w/w) distilled water, 1% (w/w) stearic acid and 1% (w/w) citric acid were manually mixture. The blends were prepared with cassava starch (S)/soy protein isolate (P) ratios of S100, S85P15, S70P30, S55P45, S40P60, and P100. The blends were processed in an SLSJ-20 twin-screw extruder with a 20 mm diameter (NZ Philpolymer, São Roque, Brazil) and a screw length-to-diameter ratio (L/D) = 40/1 and seven heating zones. The mixture containing all the materials was manually fed into the barrel by one feeder coupled in the first heating zone. A screw rotation speed of 100 rpm and temperature profile (from hopper to die) of 80, 90, 90, 100, 100, 110, and 110 °C were used. The filament-shaped extrudates were cooled in an air current after being taken out from the die. To obtain the pellets, an automatic pelletizer coupled to an extruder (operating at 120 rpm) with a size of 2 mm was used.

Around 15 g of the obtained pellets were pressed at a temperature of 110 °C in a 370M015 hydraulic press (Matoli, Piracicaba, Brazil) with a 10-ton capacity. Five fast 1-ton pressing cycles were performed, which were followed by two pressing cycles, in which the first was performed at 1.5 ton for 2 min, and the second at 3 ton for 1 min and 30 s. Around 0.4 mm thickness films were obtained (Azevedo et al., 2017; Mendes et al., 2016). The samples were conditioned under controlled temperature, at 23 ± 2 °C and $50 \pm 5\%$ relative humidity (RH) for 48 h prior to testing, according to ASTM D618-00 (ASTM, 2000a).

2.4 Thermal decomposition

Cassava starch and soy protein isolate in powder form were studied by thermogravimetric analysis (TGA) before extrusion to ensure that the processing temperatures would not degrade the components during extrusion. The treatments were also examined using TGA to study the thermal resistance of the blends. Samples weighing ~2.5 mg were heated in a thermogravimetric analyzer (model DTG-60H; Shimadzu, Kyoto, Japan) from room temperature to 500 °C at a heating rate of $10 \text{ °C} \cdot \text{min}^{-1}$ under nitrogen gas (flow rate = $50 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$) to measure the initial degradation temperatures (T_{onset}), mass loss (M_{loss}), and residue (Garrido et al., 2016).

2.5 X-ray diffraction (XRD)

The X-ray diffractograms were obtained on an XRD-6000 diffractometer (Shimadzu, Tokyo, Japan) equipped with a Cu-K α radiation source ($\lambda = 1.5406 \text{ \AA}$), according to the methodology reported by Azevedo et al. (2017), to determine the crystalline structures present in the cassava starch and soy protein isolate before and after processing the blends. The samples were placed on a glass plate. The XRD patterns were recorded over a diffraction angle (2θ) range from 4° to 40° , with a step size of 0.02° and a scan speed of 1° min^{-1} . The diffractometer was operated at 30 kV and 30 mA.

2.6 Fourier-transform infrared (FTIR) spectroscopy

To study the possible interactions between the soy protein isolate and cassava starch, FTIR spectra were recorded on a Vertex 70 spectrophotometer (Bruker, Germany), over a spectral range of $400\text{--}4000 \text{ cm}^{-1}$ at a scan rate of 32 scans/s and spectral resolution of 4 cm^{-1} (Mendes et al., 2016).

2.7 Dynamic mechanical analysis (DMA)

The dynamic mechanical analysis was performed using a Polymer Laboratories DMTA MK-II instrument operated in a tension mode, following ASTM D5023. The dynamic storage modulus (E') and loss factor ($\tan \delta$) were measured as a function of temperature from -70 to $100 \text{ }^\circ\text{C}$, at a constant heating rate of $2 \text{ }^\circ\text{C min}^{-1}$ and displacement amplitude of $64 \text{ }\mu\text{m}$ at a frequency of 1 Hz. The main relaxation temperature, associated with the glass transition temperature (T_g) of the samples, was determined as the temperature at the maximum of the $\tan \delta$ peak, as displayed in the $\tan \delta$ versus temperature curves.

2.8 Mechanical tests

The tensile tests were performed to measure the tensile strength, which represents the maximum stress reached by the blend to tensile, the elastic modulus, which indicates the stiffness of a material, and the elongation, which is a measure of the stretching capacity of a material (Fabra et al., 2008). For the tensile test, the test specimens were cut into strips ($100 \times 10 \text{ mm}$), and the thicknesses were measured at three points of each specimen. The test was performed with a speed of $500 \text{ mm}\cdot\text{min}^{-1}$ and separation of 50 mm between the probes. The collected data were used to determine the mechanical properties, specifically, the elastic modulus (EM, MPa) was calculated from the slope of the linear part of the stress versus strain

diagram, the maximum tensile strength (ρ_{\max} , MPa) was calculated by dividing the maximum force by the cross-sectional area of the blend, and the elongation (ε , %) was calculated by determining the percentage of elongated length relative to the initial length (ASTM, 2002).

The puncture strength of the blends was evaluated with a texture analyzer (model TATX2i, Stable Microsystems, England) with a 5.0-mm diameter spherical probe (P/5S probe). The blends were cut into 4 cm² squares and fixed on a support with a central opening (2.1 cm in diameter). The test was performed by following the method of Azevedo et al. (2015). The maximum load was divided by the thickness (N·mm⁻¹) to eliminate the effect of the different thicknesses throughout the blends, and the maximum strain before rupture (mm) was measured. For the two mechanical tests, five specimens were tested per replicate.

2.9 Surface energy

The surface energy analysis measures the polar and dispersive components. The polar component is related to the polar fraction of the surface, i.e., the part that interacts with water, while the dispersive component is related to the nonpolar part of the surface (Casariego et al., 2008). Through this analysis, it is possible to understand how the blends will interact with water and greasy and oily products.

The surface energy measurements were performed on the samples by calculating the polar and dispersive energy (mN·m⁻¹). For this purpose, the contact angles with water, glycerol, and diiodomethane were measured with a goniometer (Krüss GmbH, Hamburg, Germany) coupled to a computer and digital camera and calculated with the Krüss Advance 1.4.1.2 software using the OWRK method (Zhu et al., 2014).

2.10 Moisture and solubility

The moisture content of the blends was determined by drying the samples in an oven. The blends were cut into 2 x 2 cm sized samples, placed in Petri dishes and oven-dried at 55 °C for 48 h. The samples were weighed before (m_i) and after (m_f) oven drying. The moisture content ($U\%$) values were determined relative to the initial mass and the mass lost during drying by equation 1 (ASTM, 1994):

$$U\% = [(m_i - m_f) / m_f] \times 100 \quad (1)$$

To determine the water solubility, the method described by Ghasemlou; Khodaiyan; Oromiehie (2011) was followed, with some modifications. First, the samples were cut to 4 cm² areas and weighed. The samples were then placed on glass plates and dried at 55 °C for 48 h in a forced air oven. This procedure was necessary to determine the initial mass of the dry samples ($m_{dry\ initial}$). Next, the samples were immersed in 30 mL of distilled water in 50-mL beakers and gently stirred at room temperature (25 °C) for 24 h with a speed of 50 rpm. Subsequently, the samples were removed from the beakers, transferred back to the glass plates, and again dried at 55 °C for 72 h, after which they were weighed again ($m_{final\ dry}$). The water solubility was calculated by equation 2.

$$S\% = [(m_{initial\ dry} - m_{final\ dry})/m_{initial\ dry}] \times 100 \quad (2)$$

2.11 Water vapor permeability (WVP)

The samples were placed in circular cups with a permeation area of 1 cm², and the WVP analyses were performed in a humidity chamber that contained a saturated sodium chloride (NaCl) solution and was maintained with an external relative humidity of 75% RH and a temperature of 23 ± 2 °C. Silica was placed inside the cups to maintain the internal relative humidity at 0% RH, which induced the transport of water vapor into the cups according to the method described by Viana et al. (2018). Five replicates were tested per specimen.

2.12 Oil permeability

The oil permeability was assessed to evaluate the oil barrier capacity of the blends. For this purpose, filter papers and the blends prepared for the test were kept in a chamber with a controlled temperature and humidity (20 ± 3% RH, 23 ± 2 °C) until a constant weight was reached. The blends were cut into 30 cm² squares and placed in direct contact with the filter paper. Five drops of corn oil were placed on the surface of the blend, ensuring that the oil did not move beyond the blend edge, and the samples were kept for 72 h in the same chamber. After 24 h, the blends with oil were removed from the filter paper, and the filter paper was again weighed. The oil permeability was expressed by the mass gain of the filter paper (Wang et al., 2007).

2.13 Transparency

The transparency of the samples was measured in a Bel Spectro S-2000 spectrophotometer (Monza, Italy) operated at 600 nm to measure the percent transmittance (%T), according to ASTM D1746-03 (ASTM, 2003). The blends were cut into 3 x 1 cm pieces and fixed to allow the spectrophotometer beam to pass through the specimens without any obstacles. The transparency (T_{600}) was calculated according to equation 3:

$$T_{600} = (\text{Log } \%T)/x \quad (3)$$

where x is the blend thickness in mm.

2.14 Statistical analysis

The results were analyzed using the Sisvar® software. The data were subjected to analysis of variance (ANOVA), and the means were compared by Tukey's test. The results of the FTIR, XRD, TGA and DMA analyze were subjected to descriptive analysis.

3. RESULTS AND DISCUSSION

3.1 Visual characteristics of the blends

All the treatments had intact and homogeneous structures, except for the P100, which was very brittle, non-uniform and with a brownish color (Figure 1b); therefore, only the DMA, TG, FTIR, XRD, and transparency analyses could be performed on this sample.

In addition, the blends acquired a yellowish hue with the addition of the proteins (Figure 1a). Azevedo et al. (2017) studied the effect of adding whey protein to cornstarch and observed that the yellow hue intensified as the proteins were added. The processing temperature in the presence of protein can promote the Maillard chemical reaction, which is related to non-enzymatic browning, resulting in the development of yellowing (Lopez et al., 2014).

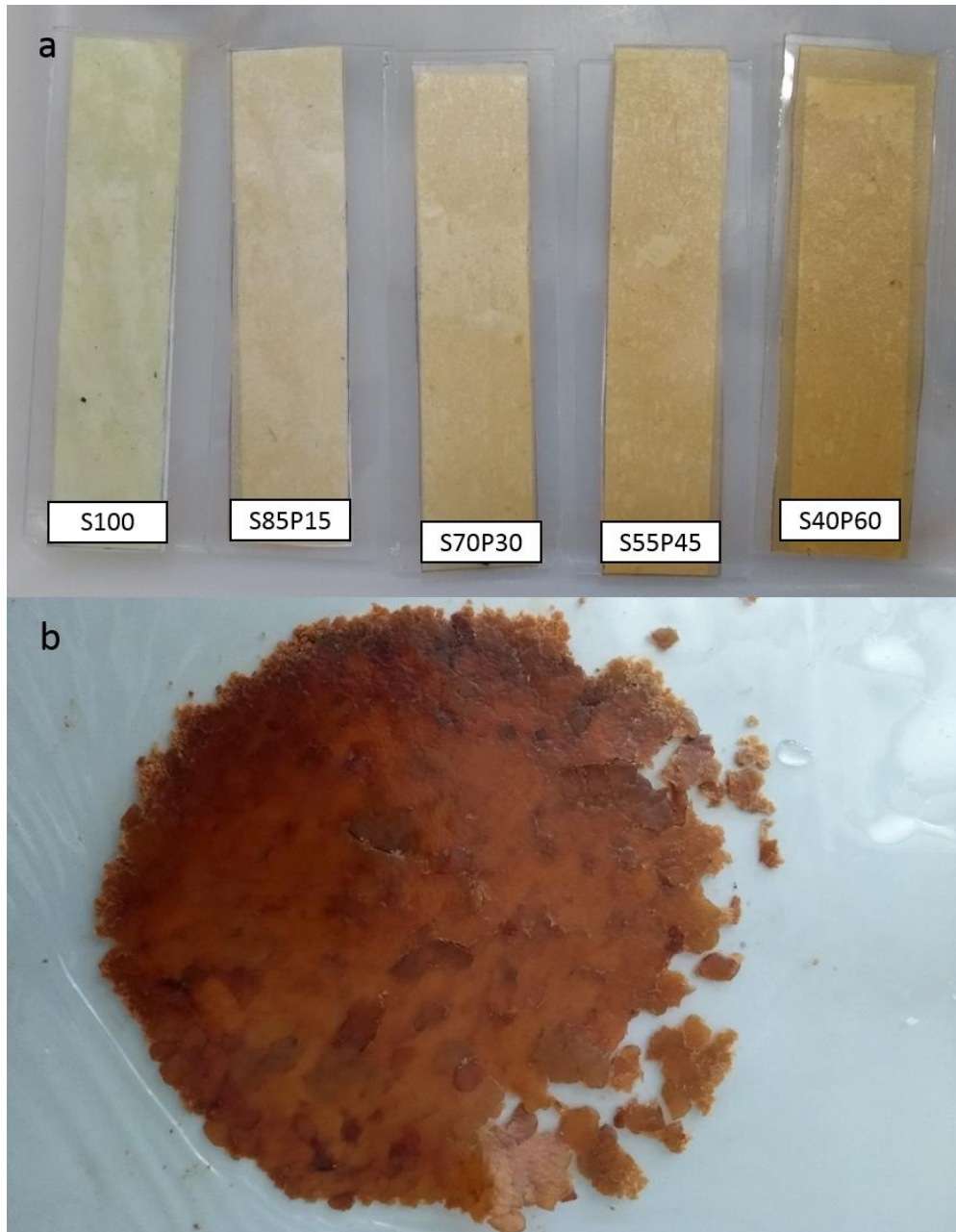


Figure 1. Images of the (a) S100; S85P15; S70P30; S55P45; S40P60 and (b) P100 samples.

3.2 Thermal decomposition

Table 1 presents the measured degradation onset temperature (T_{onset}), the temperature at the maximum degradation rate (T_{max}), and mass loss (M_{loss}) values for the cassava starch and soy protein isolate. In the cassava starch powder TG curve, a mass loss of 13% was observed between 21 and 83 °C, which most likely occurred due to the evaporation of the water present in the starch (Figure 2). The temperature at the onset of the starch degradation peak was 288 °C, and in the respective first derivative curve (DTG), an endothermic peak was observed at 313 °C, where the maximum degradation speed occurred (79 % mass loss of the material). The

elimination of polyhydroxyl groups and depolymerization are the main mechanisms associated with the degradation of polysaccharides (Lomelí-Ramírez et al., 2014). At the end of heating, a residue of 8% of the initial mass was observed.

Table 1. Degradation onset temperature in °C (T_{onset}), temperature at the maximum degradation rate in °C (T_{max}), weight loss in % (W_{loss}) and residue.

Sample	$T_{\text{onset 1}}$	$T_{\text{max 1}}$	$W_{\text{loss 1}}$	$T_{\text{onset 2}}$	$T_{\text{max 2}}$	$W_{\text{loss 2}}$	$T_{\text{max 3}}$	$W_{\text{loss 3}}$	Residue
Starch	21	40	13	288	313	79	-	-	8
Protein	31	47	7	290	310	56	400	9	31
S100	86	136	6	288	310	82	-	-	12
S85P15	63	111	5	272	305	72	-	-	23
S70P30	68	110	6	268	298	66	-	-	28
S55P45	70	107	7	264	296	58	384	8	27
S40P60	72	124	9	253	294	63	400	6	22
P100	34	70	13	219	231	40	312	23	24

In the soy protein isolate powder TG curve (Figure 2), a mass loss of 7% was observed from 31 to 73 °C, which probably occurred due to moisture loss (Ogale et al., 2000). Protein degradation began at 290 °C. Starting at 250 °C, three simultaneous reactions occurred in the soy protein structure. The first reaction is the dissociation of the 7S and 11S subunits of the protein, which are the main quaternary structures (chains in the globular conformation) present in the soy proteins. The second reaction is the unfolding of the secondary and tertiary structure of the protein subunits. And the third reaction is the reassociation of the denatured subunits via disulfide bonds and dipole-dipole and induced dipole forces, resulting in a 56% mass loss. The third mass loss stage at $T_{\text{max}} = 400$ °C, which probably occurred when the S-S, N-O, and O-O bonds of the protein molecules cleaved and resulted in a residue of 30 % (Nanda et al., 2007).

Based on these results, the extrusion temperatures were defined to ensure that both the cassava starch and soy protein isolate were not degraded during extrusion or compression used to prepare the films.

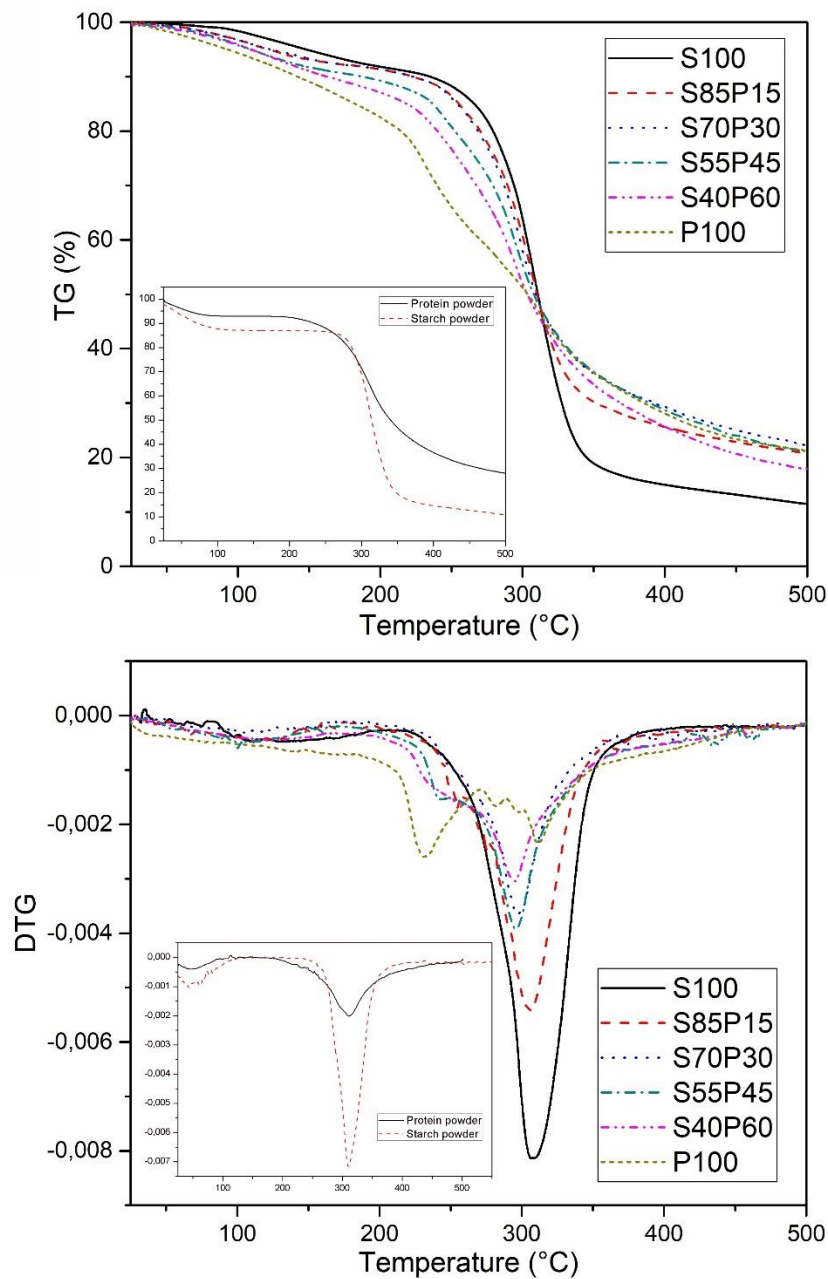


Figure 2. (a) TG and (b) DTG curves of the S100; S85P15; S70P30; S55P45; S40P60; P100; cassava starch powder and soy protein isolate powder.

The TGA curves of S100 and the blends overlapped (Figure 2), reflecting the similar behavior of the treatments. It was observed that S100, P100, and the blends exhibited a small and gradual mass loss in the temperature range from 60 to 180 °C, which is associated with moisture loss. For the prepared blends, the higher the protein concentration, the greater is the moisture loss (Table 1). The second mass loss step was at $T_{\max} \approx 300$ °C for S100 and the blends. This temperature approached the $T_{\max 2}$ observed for the cassava starch and soy protein

isolate powder, indicating that the same degradation of these components occurred in the prepared blends. For P100, the $T_{\max 2}$ was observed to be ~ 230 °C, which shows that P100 was degraded before S100 and the blends, resulting in lower thermal stability. This could explain the non-uniform film formation and the brownish hue. For S55P45, S60P40, and P100, as well as for the soy protein isolate powder, a third degradation step was observed. At this stage of degradation, the S-S, O-N, and O-O bonds of the protein molecules must have been cleaved. A higher percentage of residues was observed for the blends and P100 than for S100. This was probably because soy protein isolate powder had more residue than starch powder (Table 1); therefore, the films with protein presented higher amounts of residue.

3.3 XRD

In the cassava starch powder, XRD patterns corresponding to a semi-crystalline structure were observed with typical crystallinity peaks of A-type at $2\theta = 18.3^\circ$ and 23.4° and B-type at $2\theta = 15.2, 17.2,$ and 26.8° (Figure 3). The mixture of A-type and B-type structures is characteristic of starches with a C-type crystalline structure (Teixeira et al., 2012). These values are similar to those observed by Perotti et al. (2014) ($15.2, 17.2, 18.1,$ and 23.1°), Teixeira et al. (2012) ($15.1, 17.4, 18.1, 23.1$ and 26.1°), and Yuan et al. (2007) ($15.2, 17.4, 20, 23.3,$ and 26.2°) for cassava starch.

The XRD patterns for soybean protein powder (Figure 3) showed two peaks, one at $2\theta = 19.5^\circ$ and a small peak at $2\theta = 11.9^\circ$, corresponding to the α -helix and β -sheet structures in proteins, respectively (Zhao et al., 2015).

The XRD patterns of S100 and S85P15 (Figure 3) showed a small peak at $2\theta = 18.6^\circ$, indicating that most of the starch granules were gelatinized during extrusion and the recrystallization of the amylose molecules was induced during cooling; this peak corresponds to the Vh-type crystal arrangement (Azevedo et al., 2017).

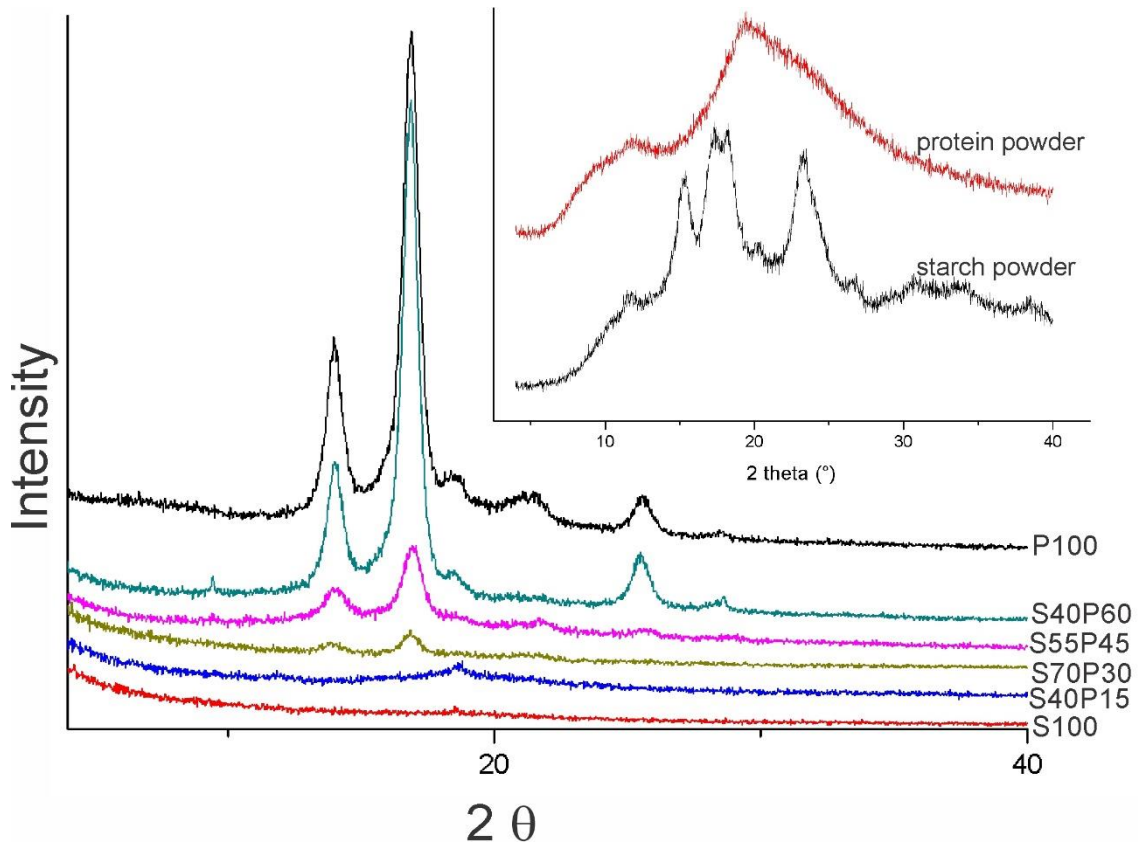


Figure 3. X-ray diffractograms of the P100; S100; S85P15; S70P30; S55P45; S40P60; cassava starch powder and soy protein isolate powder.

In the XRD pattern of P100 (Figure 3), peaks were observed at $2\theta = 14^\circ$, 16.9° , 21.5° , 25.8° , and 28.6° , indicating that the unfolding of soy globular proteins and the recrystallization of peptide molecules occurred during cooling, as new peaks appeared compared to the XRD pattern of the protein powder.

In the XRD pattern of the blend with 15% protein (S85P15), only the characteristic starch peak was observed; no peaks characteristic of the protein was observed, which may be due to the low protein concentration.

As the protein concentration was increased, new peaks characteristic of P100 were observed (Figure 3). Peaks at $2\theta = 14^\circ$ and 16.9° were observed for S70P30, S45P55, and S40P60. In addition, the higher the protein concentration, the greater was the intensity of these peaks, i.e., the higher was the crystallinity. The interaction between protein and starch may have caused the polymer chains to crosslink, which facilitated the association of the polymer chains, resulting in more crystalline blends compared to S100. The starch and protein mixture resulted in lower crystallinity for the blends compared to P100, indicating the existence of intermolecular interactions between starch and protein, which destroyed the original crystalline domains of P100.

3.4 FTIR

Figure 4 shows the FTIR spectra of the samples. The FTIR spectrum of P100 exhibited three characteristic peaks characteristic to proteins: the amide I band at $1,634\text{ cm}^{-1}$, which is associated with the carbonyl group, the amide II band at $1,534\text{ cm}^{-1}$, which corresponds to the angular deformation of N-H, and the amide III band at $1,234\text{ cm}^{-1}$, which is related to the stretching of C-N and angular deformation of N-H. These bands did not appear in the S100 and S85P15 FTIR spectra, and the S70P30, S55P45, and S40P60 FTIR spectra showed these bands at lower intensities. The band observed in the $3,500\text{--}3,000\text{ cm}^{-1}$ range is related to the stretching of O-H and N-H, which enables hydrogen bonds to form; FTIR spectra of all the samples showed this peak. For P100 and S40P60, the band observed in the $3,500\text{--}3,000\text{ cm}^{-1}$ range was tapered, which is characteristic of more N-H bonds, indicating the presence of protein; for the other samples, a more rounded peak was observed, which indicates that more O-H groups are present in the starch (Garrido et al., 2016).

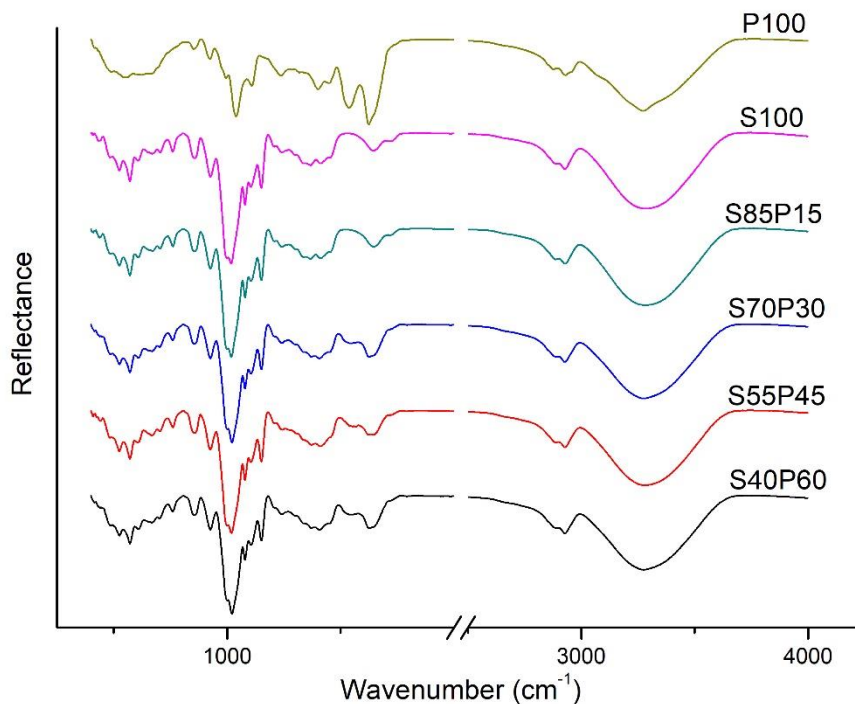


Figure 4. FTIR spectra of the samples P100; S100; S85P15; S70P30; S55P45; and S40P60.

The principal glycerol absorption bands, located in the region from 800 cm^{-1} to $1,100\text{ cm}^{-1}$, were observed in the FTIR spectra of all the films. The peaks at 850 cm^{-1} , 925 cm^{-1} , and 990 cm^{-1} were attributed to the angular deformation of the C-C skeleton. The band at 1020 cm^{-1} was associated with the stretching of the C-O bond at C1 and C3 and the band at $1,080\text{ cm}^{-1}$

is related to the stretching of C-O at C2. For the samples containing starch, these peaks are more intense, especially those at 1,020 and 1,080 cm^{-1} , because the corresponding groups are also present in the polymer matrix of the starch (Garrido et al., 2016). The S100 and S85P15 spectra showed a peak at 1,642 cm^{-1} , which may be attributed to the absorption of water by the starch molecules. A slight increase in the peak intensity at 1,642 cm^{-1} and its displacement to 1,635 cm^{-1} were observed when proteins were added for the S70P30, S55P45, and S40P60 blends. This peak at 1,630 cm^{-1} could be attributed to the C-N stretching vibration and corresponds to the products of the Maillard reaction, which is caused by heating and is induced by the protein and starch interactions. Thus, the peak at 1,630 cm^{-1} indicates some interaction between proteins and starch, which explains the increased crystallinity obtained for these samples (Ochoa-Yepes et al., 2019). There was no intensity increase or displacement of this peak in the S85P15 FTIR spectrum, which may be due to the low protein concentration in this blend. This result corroborates the XRD diffractogram, which did not show an increase of crystallinity for this sample.

3.5 DMA

The $\tan \delta$ vs. temperature curves for S100, P100, and the blends are presented in Figure 5. The $\tan \delta$, also known as the loss tangent, is the ratio of the loss modulus to the storage modulus, and is related to the glass transition temperature (T_g) of the materials (Guo et al., 2015). The measured T_g values obtained from the $\tan \delta$ peaks are presented in Table 2. S100 and P100 showed T_g of 3 and 81 $^{\circ}\text{C}$, respectively. Starch can be more readily plasticized by glycerol than protein, which resulted in lower T_g . This behavior was also observed in starch/zein blends plasticized with glycerol by Corradini et al. (2006). The S85P15 blend presented the same T_g as S100. The low concentration of soy protein did not significantly alter the structure of the film, as seen in the FTIR spectrum and XRD pattern. The S70P30 blend presented an intermediate T_g compared to S100 and P100, which indicates the formation of a homogeneous blend. The S55P45 and S40P60 blends presented two T_g s, intermediate to those presented by S100 and P100. These results suggest that the formation of two phases occurred in S55P45 and S40P60 and that these two phases contain starch and protein in different proportions.

Table 2. Glass transition temperature (T_g ; °C) and storage modulus at 25°C ($E'(25^\circ\text{C})$, MPa) of the samples.

Sample	T_{g1}	T_{g2}	$E'(25^\circ\text{C})$
S100	3	-	31
S85P15	3	-	21
S70P30	20	-	121
S55P45	18	69	70
S40P60	21	66	99
P100	81	-	95

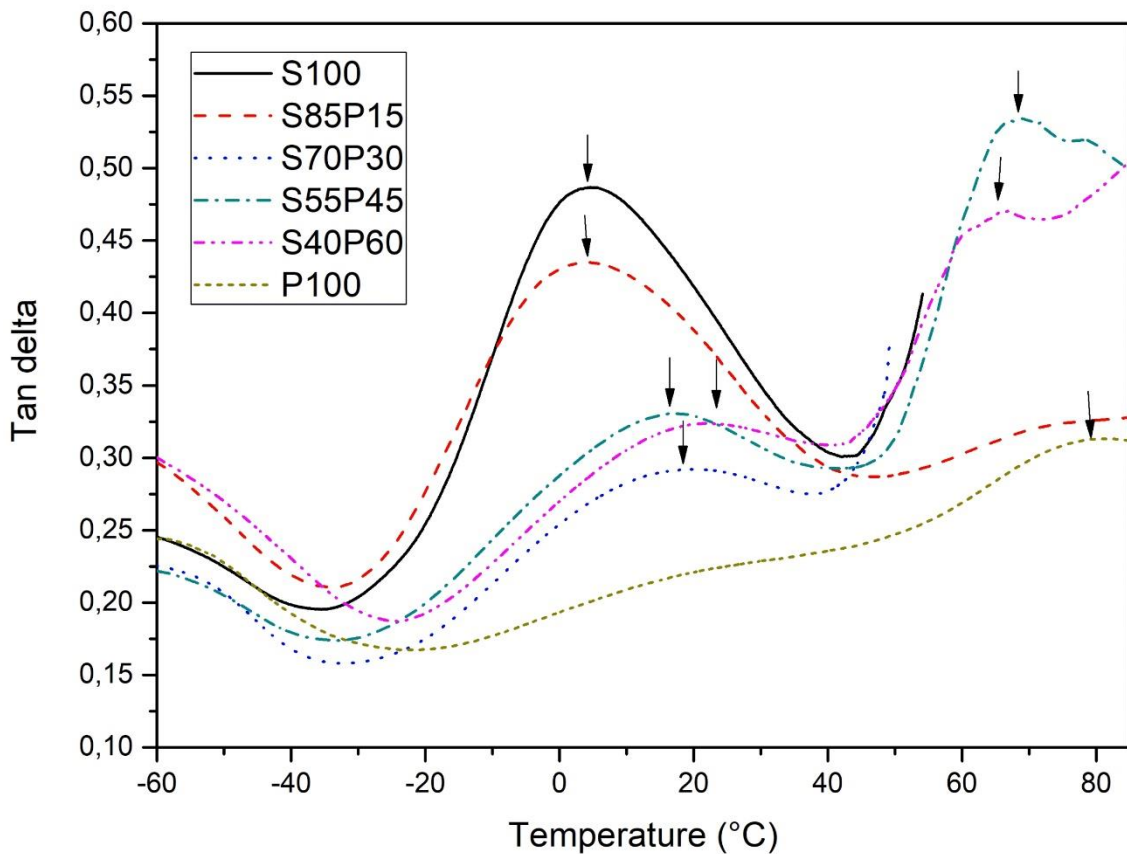


Figure 5. $\tan \delta$ peaks from DMA analysis of the samples S100; S85P15; S70P30; S55P45; S40P60 and P100.

The $\log E'$ curves as a function of temperature are shown in Figure 6. The $\log E'$ values of all the samples decreased with increasing temperature. The decrease in $\log E'$ was smaller for temperatures above T_g and larger after T_g , which is related to the relaxation of polymer

chains (Teixeira et al., 2009). Above 0 °C, log E' was higher for S30P70, S55P45, S60P40, and P100 compared to S100 and S85P15. E' values at 25 °C are listed in Table 2. This may be related to the crosslinking of the proteins with the starch matrix for concentrations above 30%, as observed from the FTIR spectra and the higher crystallinity of the films suggested by the XRD patterns, which hinders the movement of the starch molecular chains, resulting in increased E' (Yin et al., 2020). Furthermore, at 25 °C, P100 had not yet undergone a transition from the vitreous to the rubbery state, which also blocks molecular motion, resulting in a greater E' compared to S100 and S85P15.

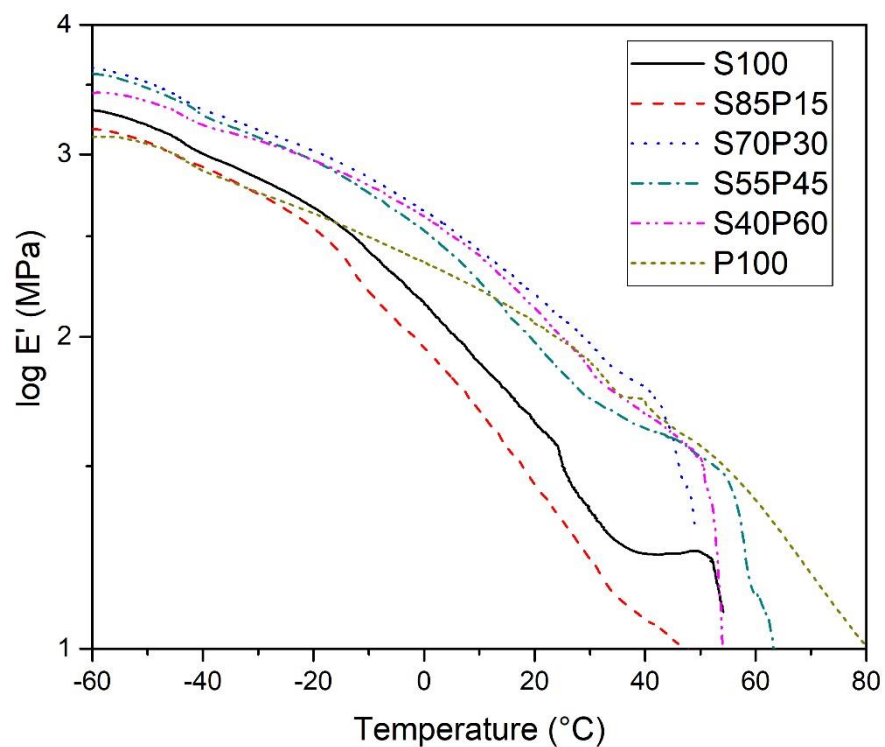


Figure 6. log E' vs. temperature curves of the samples S100; S85P15; S70P30; S55P45; S40P60 and P100.

From the curve of $\tan \delta$ vs. temperature, it is possible to discern the difference between the elastic and viscous components of the material. The greater the intensity of the $\tan \delta$ peak, the greater is the difference, indicating a material where the viscous response predominates compared to the elastic response. Films with protein concentrations above 30% had first peaks smaller than those of S100 and P100, resulting in higher E' values (Guo et al., 2015).

Normally, a flexible packaging with T_g values below the storage temperature is desirable, while the glassy and brittle state usually observed below T_g is not (Lara et al., 2020).

The treated S100, S85P15, and S70P30 films presented both T_g values below 25 ° C, the temperature at which food is normally stored. The S55P45 and S40P60 blends had one of their T_g values below this temperature.

3.6 Mechanical test

EM, ρ_{max} , and ϵ (%) presented a significant difference ($p < 0.05$) among the samples. Table 3 presents the means, and Figure 7 shows the strain-stress curves. EM increased significantly ($p < 0.05$) with increasing the protein concentration in the blends, i.e., the soy protein isolate contributed to forming stiffer blends. Furthermore, the increase in protein concentration significantly ($p < 0.05$) decreased the ϵ of the blends. This effect can be attributed to the crosslinking that occurs between the proteins and starch, which was observed in the FTIR, XRD and DMA (Ochoa-Yepes et al., 2019). The crosslinking reaction limits the movement of the chains, which makes more energy necessary to stretch the polymer chains, i.e, greater EM. The difficult to stretch the chains limits blend elongation (lower ϵ).

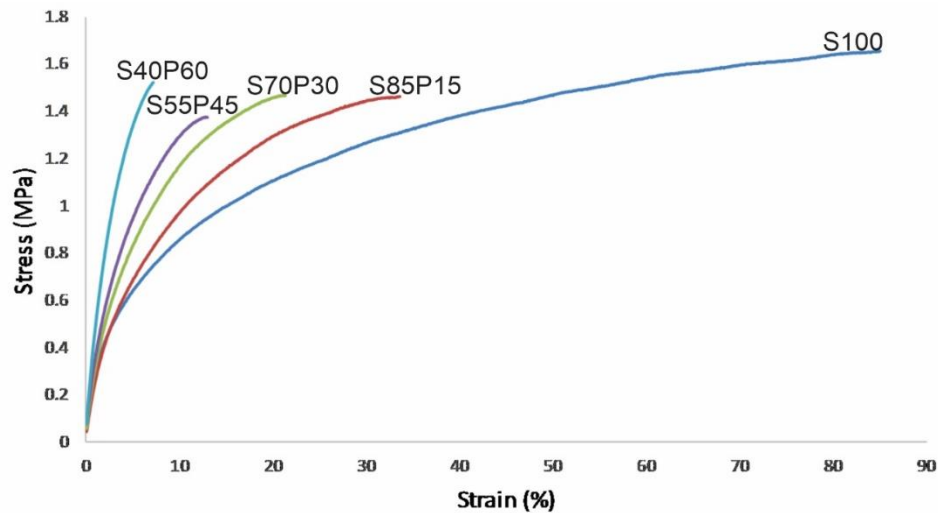


Figure 7. Strain-stress curves of the samples S100; S85P15; S70P30; S55P45; and S40P60.

Table 3. Average values of elastic modulus (EM, MPa), maximum tensile strength (ρ_{\max} , MPa) and elongation (ε , %) of the samples

Sample	EM	ρ_{\max}	ε
S100	2.0 ^a ± 0.04	1.66 ^b ± 0.11	84.98 ^d ± 5.58
S85P15	2.4 ^{a,b} ± 0.03	1.47 ^{a,b} ± 0.04	39.23 ^c ± 1.76
S70P30	3.0 ^{a,b} ± 0.02	1.45 ^{a,b} ± 0.06	21.29 ^b ± 0.11
S55P45	3.3 ^b ± 0.01	1.41 ^a ± 0.05	14.33 ^{a,b} ± 0.81
S40P60	4.4 ^c ± 0.03	1.52 ^{a,b} ± 0.03	8.27 ^a ± 0.24

Two means followed by the different letter in the same column are significantly ($P < 0.05$) different through the Tukey's test.

The S100 had the highest ρ_{\max} , and the lowest ρ_{\max} was observed for the S55P45. When the soy protein concentration was 45%, the formation of two phases occurred, as seems in DMA, probably causing defects in the polymer matrix, which led to a lower ρ_{\max} (Garrido et al., 2016). Although the S60P40 blend also has two phases, it showed no significant difference from the other blends. This is probably because S60P40 showed more intense XRD peaks than the other blends, which indicates more crystallinity. Furthermore, in DMA, the E' at 25 °C was 29 MPa higher than that of S55P45, which could indicate more interactions between starch and protein in S40P60 compared to the S55P45 blend. This probably resulted in steadier polymer chains than those in the S55P45 blend.

For the puncture mechanical properties, a significant difference ($p < 0.05$) was observed for the force/thickness and strain. Table 4 shows that increasing the protein concentration reduced the puncture strength. In addition, a decrease in deformation was observed with increasing soy protein concentration. As observed in the results for EM, the addition of soy protein resulted in stiffer blends, which is probably due to the polymer chains crosslinking. This behavior resulted in the polymer chain being less mobile, i.e., the blends have a lower deformation capacity when a force is applied. The application of an acute puncture force resulted in blends that were less resistant to perforation (Azevedo et al., 2017).

Table 4. Average values of force/thickness ($\text{N}\cdot\text{mm}^{-1}$) and deformation (mm) of the samples

Sample	Force/thickness	Deformation
S100	7.92 ^d \pm 0.37	7.07 ^c \pm 0.17
S85P15	3.82 ^c \pm 0.14	4.25 ^c \pm 0.16
S70P30	2.84 ^b \pm 0.15	3.21 ^b \pm 0.22
S55P45	1.70 ^a \pm 0.13	2.80 ^b \pm 0.13
S40P60	1.15 ^a \pm 0.16	1.98 ^a \pm 0.22

Two means followed by the different letter in the same column are significantly ($P < 0.05$) different through the Tukey's test.

3.7 Moisture and oil resistance

In materials for food packaging applications, the moisture influences chemical and physical material properties, also determining processes such as food spoilage, and properties of food texture and crispiness level. Therefore, it is important to know the moisture proprieties of the material when intended to be applied as food packaging. The measured mean contact angle with water, surface energy and polar and dispersive component values of the S100 and the blends are shown in Table 5, and the means of the moisture content, solubility and WVP are shown in Table 6. The S70P30 had the lowest contact angle with water (CA), which indicates a greater hydrophilicity. Consequently, this sample also exhibited the highest polar component, i.e., a higher free energy on the blend surface for intermolecular interactions with water. This sample, along with S85P15, also exhibited the highest dispersive energy, which indicates that these blends have a higher free energy on their surfaces for interactions with fatty and oily foods rich in lipids, which are nonpolar materials (Wong et al., 1992).

In addition, this same sample (S70P30) had a high moisture content and WVP. This was probably due to the greater ease of the blend to interact with the water in this sample, as observed in the CA and surface energy (SE) results.

The CA or SE and polar components of the other samples did not differ significantly from each other; therefore, the other samples were more hydrophobic than the S70P30. Regarding moisture, the S100 and S85P15 had low moisture contents, and the sample with the highest moisture content was S70P30. Regarding the solubility, S40P60 had a greater water solubility than the other samples, and the other samples were not significantly different from each other.

Table 5. Average values of the contact angle with water (CA, °), surface energy and dispersive and polar components (SE, mN·m⁻¹).

Sample	CA	SE	Dispersive	Polar
100	63.38 ^b ± 9.35	41.93 ^a ± 2.61	30.38 ^a ± 1.21	9.55 ^a ± 2.65
S85P15	67.29 ^b ± 7.42	44.55 ^a ± 5.87	40.97 ^{b,c} ± 1.02	3.58 ^a ± 0.97
S70P30	34.62 ^a ± 1.62	63.29 ^b ± 3.69	42.49 ^c ± 1.22	20.90 ^b ± 2.59
S55P45	51.22 ^{a,b} ± 8.97	47.24 ^a ± 1.21	34.58 ^{a,b} ± 4.92	12.69 ^a ± 2.93
S40P60	60.01 ^b ± 7.21	51.04 ^a ± 7.64	30.90 ^a ± 0.50	11.27 ^a ± 3.11

Two means followed by the different letter in the same column are significantly ($P < 0.05$) different through the Tukey's test.

Table 6. Average values for the moisture content (%), solubility (%), and WVP (g·mm/kPa·h·m²).

Sample	Moisture Content	Solubility	WPV
S100	8.65 ^a ± 0.22	28.87 ^a ± 0.34	2.08 ^{a,b} ± 0.23
S85P15	8.75 ^a ± 2.16	28.08 ^a ± 0.65	1.94 ^{a,b} ± 0.07
S70P30	14.57 ^d ± 0.10	28.99 ^a ± 0.54	2.46 ^b ± 0.23
S55P45	13.24 ^c ± 0.30	30.06 ^a ± 0.57	1.69 ^a ± 0.07
S40P60	12.13 ^b ± 0.24	35.52 ^b ± 2.38	1.56 ^a ± 0.06

Two means followed by the different letter in the same column are significantly ($P < 0.05$) different through the Tukey's test.

Moisture absorption occurs during the initial stage of blend hydration, in which water molecules can form hydrogen bonds between groups such as –OH or –NH₂, which are present mainly on the polymer surface. Therefore, samples with higher protein concentrations (S40P60, S55P45 and S70P30) most likely had more of these groups on their surfaces than S85P15 and S100. Because S70P30 has more –OH or –NH₂ groups on its surface than S40P60 and S55P45, the S70P30 had a higher CA and SE than the other samples. In the water solubility analysis, the polymer is completely hydrated because it is in direct contact with water, and therefore, all the molecules present in the polymer matrix will come into contact with water (Garrido et al., 2016a).

Garrido et al. (2016a) studied blends of soy protein and agar; the authors observed an increased moisture content and reduced solubility with increasing the agar concentrations compared to the film containing only protein and glycerol. The authors attributed this reduction in solubility to the interaction of agar with the denatured and unfolded protein chains, hindering the water solubility of the blend.

This same process may also have occurred for the blends developed in the present study, where a higher concentration of structures not interacting with the starch was observed in the samples whose protein concentration was higher than the starch concentration (S40P60), thus facilitating the interaction of this mixture with water, resulting in a higher solubility. Although the S40P60 showed greater solubility, the other blends also showed about 29% solubility; i.e., the blends formed are not suitable for foods with a high moisture content.

For the WVP, the samples with the lowest permeability, i.e., highest water vapor barrier, were S55P45 and S40P60. As observed for the tensile mechanical properties, the blends with a higher protein concentration than the starch concentration were less flexible, which is probably due to the greater crosslinking of the chains. The greater crosslinking of the chains may have contributed to reducing the WVP due to the decrease in the free spaces available for water molecules to pass through the polymer chains (Zhang, et al., 2016).

After three days of the oil permeability test, only the S85P15 exhibited a mass gain (0.03 g), and the other samples resulted in no mass gain. The S85P15 possessed a high dispersive component, as obtained from the SE test, which means that this sample has a greater affinity for oil, in which nonpolar chains predominate. Therefore, the other blends are suitable for application in food with high lipid content.

3.8 Transparency

The blends exhibited significant differences ($p > 0.05$) in their transparency, and the measured mean values are shown in Table 7. P100 was less transparent than the other samples. The transparency varies mainly due to the composition and internal structure of the material. The polymer crystallinity may decrease the transparency because the crystalline structure reduces light transmission through the film (Azevedo et al., 2017). As observed in the XRD analysis, P100 had greater crystallinity than the other treatments. Besides, the marked darkening of the sample may also have contributed to the decrease in P100 transparency.

Table 7. Average values of transparency ($\log(\%T)/\text{mm}$)

Sample	Transparecy
S100	$3.75^b \pm 0.53$
S85P15	$3.74^b \pm 0.76$
S70P30	$3.60^b \pm 0.40$
S55P45	$3.11^{b\pm} \pm 0.62$
S40P60	$2.63^b \pm 0.35$
P100	$0.70^a \pm 0.41$

Two means followed by the different letter in the same column are significantly ($P < 0.05$) different through the Tukey's test.

P100 was less transparent than the other samples. The transparency varies mainly due to the composition and internal structure of the material. The polymer crystallinity may decrease the transparency because the crystalline structure reduces light transmission through the film (Azevedo et al., 2017). As observed in the XRD analysis, P100 had greater crystallinity than the other treatments. Besides, the marked darkening of the sample may also have contributed to the decrease in P100 transparency.

The visual appearance of films applied as food packaging is of great importance for consumer acceptance. Transparency is desired when wishing to see the packaged food, for example, in the packaging of nuts, fresh fruits and vegetables (Mali, et al., 2004). However, when food can undergo oxidation, low transparency is desired because light accelerates oxidation, which is a photo-oxidation mechanism (Tolentino et al., 2014; Young, 2001). The films exhibit a low transparency and thus are a good option for application in foods that can undergo lipid oxidation.

4. CONCLUSION

The addition of higher protein concentrations increased the crystallinity of the films and, consequently, increased their stiffness and decreased their WVP, which is probably due to the polymer chain crosslinking that was promoted by the proteins at concentrations above 30%, as observed in the FTIR spectra, XRD pattern and DMA analysis. The S70P30 was less hydrophilic, which caused an increase in the moisture content and WVP, and the S85P15 exhibited a greater oil permeability and high dispersive energy. All the samples exhibited a low transparency, with P100 exhibiting the lowest transparency. The S40P60 had a low water vapor

and oil permeability and a high tensile strength and low transparency. Considering the application of these blends in foods with high lipid contents, the S40P60 possessed good properties and exhibited a good potential for this application.

Declaration of competing interest

The authors declare that they have no known competing financial interests or personal relationships that could have appeared to influence the work reported in this paper.

Acknowledgments

This study was financed in part by the Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) – Finance Code 001, the National Council for Scientific and Technological Development (Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico – CNPq), the Research Support Foundation of Minas Gerais (Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais – FAPEMIG) and Embrapa Instrumentation, Brazil.

References

- Akubor, P. I., & Ukwuru, M. U. (2003). Functional properties and biscuit making potential of soybean and cassava flour blends. *Plant Foods for Human Nutrition*, 58(3), 1–12. <https://doi.org/10.1023/B:QUAL.0000040344.93438.df>
- Astm. (2002). D 882: Standard Test Method for Tensile Properties of Thin Plastic Sheeting, 14.
- ASTM. (2003). Standard Test Method for Transparency of Plastic Sheeting 1, 14, 4–7. <https://doi.org/10.1520/D1746-09.2>
- Astm. (1994). Standard test methods for moisture content of paper and paperboard by oven drying. In ASTM (pp. D644-94).
- Azevedo, Viviane Machado, Borges, S. V., Marconcini, J. M., Yoshida, M. I., Neto, A. R. S., Pereira, T. C., & Pereira, C. F. G. (2017). Effect of replacement of corn starch by whey protein isolate in biodegradable film blends obtained by extrusion. *Carbohydrate Polymers*, 157, 971–980. <https://doi.org/10.1016/J.CARBPOL.2016.10.046>
- Azevedo, Viviane M., Dias, M. V., Borges, S. V., Costa, A. L. R., Silva, E. K., Medeiros, É. A. A., & Soares, N. de F. F. (2015). Development of whey protein isolate bio-nanocomposites: Effect of montmorillonite and citric acid on structural, thermal, morphological and mechanical properties. *Food Hydrocolloids*, 48, 179–188.

- <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2015.02.014>
- Badrie, N., & Mellowes, W. A. (1992). Soybean Flour/Oil and Wheat Bran Effects on Characteristics of Cassava (*Manihot esculenta* Crantz) Flour Extrudate. *Journal of Food Science*, *57*(1), 108–111. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.1992.tb05435.x>
- Barbosa-Pereira, L., Cruz, J. M., Sendón, R., Rodríguez Bernaldo de Quirós, A., Ares, A., Castro-López, M., ... Paseiro-Losada, P. (2013). Development of antioxidant active films containing tocopherols to extend the shelf life of fish. *Food Control*, *31*(1), 236–243. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2012.09.036>
- Casariago, A., Souza, B. W. S., Vicente, A. A., Teixeira, J. A., Cruz, L., & Díaz, R. (2008). Chitosan coating surface properties as affected by plasticizer, surfactant and polymer concentrations in relation to the surface properties of tomato and carrot. *Food Hydrocolloids*, *22*(8), 1452–1459. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2007.09.010>
- Chang, Y. K., Hashimoto, J. M., Moura-Alcioli, R., & Martínez-Bustos, F. (2001). Twin-screw extrusion of cassava starch and isolated soybean protein blends. *Nahrung/Food*, *45*(4), 234–240. [https://doi.org/10.1002/1521-3803\(20010801\)45:4<234::AID-FOOD234>3.0.CO;2-R](https://doi.org/10.1002/1521-3803(20010801)45:4<234::AID-FOOD234>3.0.CO;2-R)
- Chien, P.-J., Sheu, F., & Yang, F.-H. (2007). Effects of edible chitosan coating on quality and shelf life of sliced mango fruit. *Journal of Food Engineering*, *78*(1), 225–229. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2005.09.022>
- Chinma, C. E., Ariahu, C. C., & Abu, J. O. (2013). Chemical composition, functional and pasting properties of cassava starch and soy protein concentrate blends. *Journal of Food Science and Technology*, *50*(6), 1179–1185. <https://doi.org/10.1007/s13197-011-0451-8>
- Corradini, E., Souto de Medeiros, E., Carvalho, A. J. F., Curvelo, A. A. S., & Mattoso, L. H. C. (2006). Mechanical and morphological characterization of starch/zein blends plasticized with glycerol. *Journal of Applied Polymer Science*, *101*(6), 4133–4139. <https://doi.org/10.1002/app.23570>
- Dias, M. V., Machado Azevedo, V., Borges, S. V., Soares, N. de F. F., de Barros Fernandes, R. V., Marques, J. J., ... Medeiros, É. A. A. (2014). Development of chitosan/montmorillonite nanocomposites with encapsulated α -tocopherol. *Food Chemistry*, *165*, 323–329. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2014.05.120>
- Dias, M. V., Soares, N. de F. F., Borges, S. V., de Sousa, M. M., Nunes, C. A., de Oliveira, I. R. N., & Medeiros, E. A. A. (2013). Use of allyl isothiocyanate and carbon nanotubes in an antimicrobial film to package shredded, cooked chicken meat. *Food Chemistry*, *141*(3), 3160–3166. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2013.05.148>

- El Halal, S. L. M., Colussi, R., Deon, V. G., Pinto, V. Z., Villanova, F. A., Carreño, N. L. V., ... Zavareze, E. da R. (2015). Films based on oxidized starch and cellulose from barley. *Carbohydrate Polymers*, 133, 644–653. <https://doi.org/10.1016/J.CARBPOL.2015.07.024>
- Elsabee, M. Z., & Abdou, E. S. (2013). Chitosan based edible films and coatings: A review. *Materials Science and Engineering: C*, 33(4), 1819–1841. <https://doi.org/10.1016/j.msec.2013.01.010>
- Fabra, M. J., Talens, P., & Chiralt, A. (2008). Tensile properties and water vapor permeability of sodium caseinate films containing oleic acid-beeswax mixtures. *Journal of Food Engineering*, 85(3), 393–400. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2007.07.022>
- Ferreira, L. F., de Abreu, G. F., Lago, A. M. T., Figueiredo, L. P., Borém, F. M., Martins, M. A., ... Dias, M. V. (2018). Development and application of biopolymer coatings to specialty green coffee beans: Influence on water content, color and sensory quality. *LWT*. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2018.05.037>
- Frindy, S., Primo, A., Qaiss, A. el kacem, Bouhfid, R., Lahcini, M., Garcia, H., ... El Kadib, A. (2016). Insightful understanding of the role of clay topology on the stability of biomimetic hybrid chitosan-clay thin films and CO₂-dried porous aerogel microspheres. *Carbohydrate Polymers*, 146, 353–361. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2016.03.077>
- Galus, S. (2018). Functional properties of soy protein isolate edible films as affected by rapeseed oil concentration. *Food Hydrocolloids*, 85, 233–241. <https://doi.org/10.1016/J.FOODHYD.2018.07.026>
- Garrido, T., Etxabide, A., Guerrero, P., & de la Caba, K. (2016). Characterization of agar/soy protein biocomposite films: Effect of agar on the extruded pellets and compression moulded films. *Carbohydrate Polymers*, 151, 408–416. <https://doi.org/10.1016/J.CARBPOL.2016.05.089>
- Ghasemlou, M., Khodaiyan, F., & Oromiehie, A. (2011). Physical, mechanical, barrier, and thermal properties of polyol-plasticized biodegradable edible film made from kefiran. *Carbohydrate Polymers*, 84(1), 477–483. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2010.12.010>
- IUPAC. (2009). IUPAC Compendium of Chemical Terminology. (M. Nič, J. Jiráť, B. Košata, A. Jenkins, & A. McNaught, Eds.). Research Triangle Park, NC: IUPAC. <https://doi.org/10.1351/goldbook>
- Junqueira-Gonçalves, M. P., Salinas, G. E., Bruna, J. E., & Niranjana, K. (2017). An assessment of lactobiopolymer-montmorillonite composites for dip coating applications on fresh strawberries. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 97(6), 1846–1853.

<https://doi.org/10.1002/jsfa.7985>

- Lara, B. R. B., Araújo, A. C. M. A., Dias, M. V., Guimarães, M., Santos, T. A., Ferreira, L. F., & Borges, S. V. (2019). Morphological, mechanical and physical properties of new whey protein isolate/ polyvinyl alcohol blends for food flexible packaging. *Food Packaging and Shelf Life*, *19*, 16–23. <https://doi.org/10.1016/j.fpsl.2018.11.010>
- Lomeli-Ramírez, M. G., Kestur, S. G., Manríquez-González, R., Iwakiri, S., de Muniz, G. B., & Flores-Sahagun, T. S. (2014). Bio-composites of cassava starch-green coconut fiber: Part II—Structure and properties. *Carbohydrate Polymers*, *102*, 576–583. <https://doi.org/10.1016/J.CARBPOL.2013.11.020>
- Mali, S., Grossmann, M. V. E., García, M. A., Martino, M. N., & Zaritzky, N. E. (2004). Barrier, mechanical and optical properties of plasticized yam starch films. *Carbohydrate Polymers*, *56*(2), 129–135. <https://doi.org/10.1016/J.CARBPOL.2004.01.004>
- Martínez-Camacho, A. P., Cortez-Rocha, M. O., Ezquerra-Brauer, J. M., Graciano-Verdugo, A. Z., Rodríguez-Félix, F., Castillo-Ortega, M. M., ... Plascencia-Jatomea, M. (2010). Chitosan composite films: Thermal, structural, mechanical and antifungal properties. *Carbohydrate Polymers*, *82*(2), 305–315. <https://doi.org/10.1016/J.CARBPOL.2010.04.069>
- Mendes, J. F., Paschoalin, R. ., Carmona, V. B., Sena Neto, A. R., Marques, A. C. P., Marconcini, J. M., ... Oliveira, J. E. (2016). Biodegradable polymer blends based on corn starch and thermoplastic chitosan processed by extrusion. *Carbohydrate Polymers*, *137*, 452–458. <https://doi.org/10.1016/J.CARBPOL.2015.10.093>
- Nanda, P. K., Lochan Nayak, P., & Krishna Rao, K. (2007). Thermal Degradation Analysis of Biodegradable Plastics from Urea-Modified Soy Protein Isolate. *Polymer-Plastics Technology and Engineering*, *46*(3), 207–211. <https://doi.org/10.1080/03602550601152713>
- Ochoa-Yepes, O., Di Giorgio, L., Goyanes, S., Mauri, A., & Famá, L. (2019). Influence of process (extrusion/thermo-compression, casting) and lentil protein content on physicochemical properties of starch films. *Carbohydrate Polymers*, *208*(4), 221–231. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2018.12.030>
- Ogale, A. A., Cunningham, P., Dawson, P. L., & Acton, J. C. (2000). Viscoelastic, Thermal, and Microstructural Characterization of Soy Protein Isolate Films. *Journal of Food Science*, *65*(4), 672–679. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.2000.tb16071.x>
- Souza, D. H. S., Borges, S. V., Dias, M. L., & Andrade, C. T. (2012). Structural evaluation and thermal properties of poly(lactic acid) and different synthetic micas nanocomposites.

- Polymer Composites*, 33(4), 555–561. <https://doi.org/10.1002/pc.22177>
- Sun, Q., Sun, C., & Xiong, L. (2013). Mechanical, barrier and morphological properties of pea starch and peanut protein isolate blend films. *Carbohydrate Polymers*, 98(1), 630–637. <https://doi.org/10.1016/J.CARBPOL.2013.06.040>
- Teixeira, E. de M., Curvelo, A. A. S., Corrêa, A. C., Marconcini, J. M., Glenn, G. M., & Mattoso, L. H. C. (2012). Properties of thermoplastic starch from cassava bagasse and cassava starch and their blends with poly (lactic acid). *Industrial Crops and Products*, 37(1), 61–68. <https://doi.org/10.1016/J.INDCROP.2011.11.036>
- Toci, A. T., Neto, V. J. M. F., Torres, A. G., & Farah, A. (2013). LWT - Food Science and Technology Changes in triacylglycerols and free fatty acids composition during storage of roasted coffee. *LWT - Food Science and Technology*, 50(2), 581–590. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2012.08.007>
- Tolentino, M. C., Kanumfre, F., Bersot, L. dos S., Nagata, N., Carneiro, P. I. B., & Rosso, N. D. (2014). Avaliação da estabilidade foto-oxidativa dos óleos de canola e de milho em presença de antioxidantes sintéticos. *Ciência Rural*, 44(4), 728–733. Retrieved from <http://www.scielo.br/pdf/cr/v44n4/a9114cr2012-0435.pdf>
- Viana, R. M., Sá, N. M. S. M., Barros, M. O., Borges, M. de F., & Azeredo, H. M. C. (2018). Nanofibrillated bacterial cellulose and pectin edible films added with fruit purees. *Carbohydrate Polymers*, 196, 27–32. <https://doi.org/10.1016/J.CARBPOL.2018.05.017>
- Wang, L. Z., Liu, L., Holmes, J., Kerry, J. F., & Kerry, J. P. (2007). Assessment of film-forming potential and properties of protein and polysaccharide-based biopolymer films. *International Journal of Food Science & Technology*, 42(9), 1128–1138. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.2006.01440.x>
- Wong, D. W. S., Gastineau, F. A., Gregorski, K. S., Tillin, S. J., & Pavlath, A. E. (1992). Chitosan-lipid films: microstructure and surface energy. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 40(4), 540–544. <https://doi.org/10.1021/jf00016a002>
- Young, I. S. (2001). Antioxidants in health and disease. *Journal of Clinical Pathology*, 54(3), 176–186. <https://doi.org/10.1136/jcp.54.3.176>
- Zepon, K. M., Petronilho, F., Soldi, V., Salmoria, G. V., & Kanis, L. A. (2014). Production and characterization of cornstarch/cellulose acetate/silver sulfadiazine extrudate matrices. *Materials Science and Engineering C*, 44, 225–233. <https://doi.org/10.1016/j.msec.2014.08.011>
- Zhang, S., Xia, C., Dong, Y., Yan, Y., Li, J., Shi, S. Q., & Cai, L. (2016). Soy protein isolate-based films reinforced by surface modified cellulose nanocrystal. *Industrial Crops and*

Products, 80, 207–213. <https://doi.org/10.1016/J.INDCROP.2015.11.070>

- Zhang, W., Li, S., Zhang, B., Drago, S. R., & Zhang, J. (2016). Relationships between the gelatinization of starches and the textural properties of extruded texturized soybean protein-starch systems. *Journal of Food Engineering*, 174, 29–36. <https://doi.org/10.1016/J.JFOODENG.2015.11.011>
- Zhao, X., Zhu, H., Zhang, B., Chen, J., Ao, Q., & Wang, X. (2015). XRD, SEM, and XPS Analysis of Soybean Protein Powders Obtained Through Extraction Involving Reverse Micelles. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 92(7), 975–983. <https://doi.org/10.1007/s11746-015-2657-9>
- Zhu, Y., Yu, C., Li, Y., Zhu, Q., Zhou, L., Cao, C., ... Du, F. (2014). Research on the changes in wettability of rice (*Oryza sativa*.) leaf surfaces at different development stages using the OWRK method. *Pest Management Science*, 70(3), 462–469. <https://doi.org/10.1002/ps.3594>

ARTIGO 2: APLICAÇÃO DE EMBALAGENS ATIVAS EXTRUDADAS DE AMIDO E RESÍDUO DE TOMATE PARA CONTROLE OXIDATIVO DE CASTANHAS-DO-PARÁ

(Artigo elaborado conforme as normas da revista *LWT - Food Science and Technology*)

RESUMO

O reaproveitamento de cascas e sementes de tomate (CST) para o desenvolvimento de embalagens ativas é vantajoso devido à viabilização do uso de um resíduo agroindustrial. Portanto, o estudo objetivou desenvolver e avaliar embalagens de amido termoplástico de mandioca (ATP) com adição de 0%, 4% e 8% m/m de CST (ATP₁₀₀-CST₀, ATP₉₆-CST₄, ATP₉₂-CST₈, respectivamente) pelo processo de extrusão. Os filmes foram avaliados por microscopia eletrônica de varredura, termogravimetria, permeabilidade ao vapor de água (PVA) e propriedades mecânicas e ópticas. A capacidade de redução do processo oxidativo de castanhas-do-pará durante 60 dias também foi avaliada. A adição de CST aos filmes de amido termoplástico diminuiu a PVA de $2,12 \cdot 10^{-12}$ para $1,70 \cdot 10^{-12}$ g.m⁻¹.s⁻¹.Pa⁻¹, produziu filmes mais rígidos, reduzindo a força na perfuração de 46,3 para 32,2 N e tornou os filmes mais escuros e opacos com coloração amarelo avermelhada. Os tratamentos ATP₉₆-CST₄, ATP₉₂-CST₈ e a embalagem de polipropileno apresentaram valores próximos de índice de peróxido (IP) durante todo o armazenamento e mantiveram o IP abaixo do máximo permitido pela legislação por 30 dias. Isso indica que as embalagens de amido termoplástico e CST tiveram a mesma eficiência apresentada por uma embalagem comercial, produzidas a partir de matéria-prima renováveis e agregando valor a um resíduo agroindustrial.

Palavras-chave: Oxidação lipídica; Castanha-do-pará; Resíduo agroindustrial; TGA; FTIR.

1 INTRODUÇÃO

O amido é um biopolímero bastante estudado para o desenvolvimento de embalagens biopoliméricas, devido ao seu baixo custo, fácil obtenção e alta capacidade de formação de filmes com boa flexibilidade, transparência e rápida degradação (Assis et al., 2017; de Aquino et al., 2015; Ferreira et al., 2020; Wollerdorfer & Bader, 1998; Zepon et al., 2014). Porém, filmes de amido por si só, podem não atender as demandas de determinados alimentos, principalmente devido a sua alta permeabilidade ao vapor de água. Com isso, o desenvolvimento de compósitos biopoliméricos, pode ser uma alternativa para melhorar essas propriedades (Guimarães et al., 2015; Wang et al., 2009; Wollerdorfer & Bader, 1998; Yin et al., 2020). Compósitos biopoliméricos são materiais poliméricos preenchidos com partículas dispersas, como, por exemplo, fibras vegetais. O uso de resíduos agroindustriais para reforçar polímeros frágeis não é apenas uma boa alternativa para aplicação desses subprodutos, que de outra forma iriam para o lixo, mas também vantajosas devido à valorização da cadeia produtiva e agregação de valor ao produto (Lomelí-Ramírez et al., 2014; Garrido et al., 2016; Teixeira et al., 2012; Manrich et al., 2017).

A indústria de molho e extrato de tomate gera excesso de resíduos e subprodutos de tomate, principalmente cascas e sementes (CST), que muitas vezes são descartadas, mas que podem ser aproveitados por conterem quantidades significativas de compostos bioativos e de fibras solúveis e insolúveis, (Knoblich et al., 2005). As fibras presentes nas CST podem servir como reforço para estas embalagens melhorando suas propriedades mecânicas e de permeação do vapor de água (Manrich et al., 2017). Além disso, dentre esses compostos bioativos, o licopeno se destaca pela presença em maior quantidade e por seu forte efeito antioxidante que pode proteger contra o estresse oxidativo tanto o filme como o alimento acondicionado em embalagens contendo esta substância. O teor de licopeno na casca de tomate é cerca de três vezes maior que na polpa, justificando mais uma vez a utilização deste subproduto da indústria de molhos como agente antioxidante para embalagens ativas. E por fim, por se tratar de um resíduo, apresenta um custo reduzido que ao ser aplicado como aditivo em embalagens de alimentos, valorizará a cadeia produtiva do tomate (Silva, 2017).

Dentre as embalagens ativas, as embalagens antioxidantes que contêm antioxidante na sua composição, com o intuito de são bastante exploradas, pois a oxidação é, uma das principais causas de deterioração de alimentos (Aparicio-Fernández et al., 2018; Assis, et al. 2017; Begali et al., 2021; Ferreira et al., 2021). A oxidação ocorre principalmente em alimentos com alto conteúdo lipídico, especialmente aqueles com alto grau de insaturação, que são altamente

suscetíveis à deterioração. A oxidação destes alimentos causa aromas indesejáveis, típicos de rancidez, resultando na rejeição do alimento pelo consumidor, a perda da qualidade nutricional e até mesmo a na formação de aldeído atóxicos (Gómez-Estaca et al., 2014).

Alguns estudos já incorporaram polpa de tomate e compostos da casca de tomate em filmes de pectina e de amido. Du et al. (2008) estudaram filmes de purê de tomate e pectina incorporados com carvacol pelo processo de *casting* contínuo e por batelada. A permeabilidade ao vapor de água dos filmes por *casting* em batelada foi maior que nos filmes por *casting* contínuo e a resistência à tração foi menor. Além disso, todos os filmes apresentaram coloração vermelha. Nesse estudo não foi testada a ação antioxidante dos filmes. Manrich et al. (2017) extraíram a cutina de resíduos de processamento de tomate para a formulação filmes comestíveis por *casting* com pectina na razão cutina/pectina (50/50 e 25/75) em pH neutro e ácido. Os autores observaram que a incorporação de cutina na matriz de pectina formou filmes resistentes à água com resistência mecânica razoável. Em particular os filmes 50/50 obtidos por suspensões em pH neutro apresentaram dispersão uniforme de cutina dentro da matriz de pectina. Conseqüentemente, estes filmes exibiram menor absorção de água e solubilidade do que os filmes produzidos em pH ácido. Assis et al. (2017) extraíram o licopeno de cascas de tomate oriundas de resíduos de processamento de tomate para formação de filmes de amido de mandioca processados por *casting*. Os autores observaram que a adição de licopeno nos filmes de amido foi capaz de retardar o aumento do IP em óleo de soja. Porém, ainda não existe estudo aplicando diretamente as CST nos filmes de amido. Outro diferencial deste estudo é a aplicação do processamento por extrusão e termo-compressão.

O desenvolvimento destas embalagens pelo método extrusão é vantajoso por ser um processo de produção em grande escala e conseqüentemente é amplamente na indústria. Isto facilitará a entrada destes materiais no mercado por não ser necessário aquisição de novas máquinas e diferentes métodos de produção (Ochoa-Yepes et al., 2019).

Diante do exposto, o objetivo deste estudo foi a incorporação de CST, provenientes da indústria de molhos, em filmes de amido de mandioca, pelo processo de extrusão e avaliação da decomposição térmica, barreira a umidade, propriedades ópticas, capacidade de redução do processo oxidativo no acondicionamento de castanhas-do-Pará e possíveis modificações estruturais nos filmes devido as condições ambientais do acondicionamento.

2 MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Material

O amido de mandioca esterificado acetilado foi fornecido pela Cassava, Rio do Sul, Brasil. O glicerol P. A. (99,5%) foi comprado da Sigma-Aldrich, Saint Louis, EUA. O ácido esteárico P. A. (95%) foi comprado da Êxodo Científica, Sumaré, Brasil. O ácido cítrico mono-hidratado A. C. S. (99,5%) foi comprado da Proquimios Comércio e Indústria Ltda. As cascas e sementes de tomate secas (Autorização da SISGEN - AE52C22) foram doadas pela Bunge alimentos, Araçatuba, Brasil.

2.2 Delineamento experimental

Foi utilizado um delineamento inteiramente casualizado com três repetições, onde foram testadas três concentrações de CST (0, 4 e 8%) na matriz polimérica de amido termoplástico (ATP). Para a aplicação dos compósitos ativos em castanhas-do-pará foi realizada um delineamento inteiramente casualizado com dois níveis: embalagem (ATP₁₀₀-CST₀, ATP₉₆-CST₄, ATP₉₂-CST₈, comercial de polipropileno e sem embalagem) e tempo (0; 0,25; 1; 3; 10; 30 e 60 dias).

2.3 Desenvolvimento dos filmes

Antes do desenvolvimento dos filmes, as CST foram trituradas em moinho de bola TE-350 (Tecnal, São Paulo, Brazil), operando a velocidade de 617 golpes/min e câmara de aço inox com capacidade de 235 mL. As CST foram trituradas em dois ciclos de 45 s e peneiradas em peneira de mesh 18, com o objetivo de diminuir e padronizar o tamanho das partículas.

Para desenvolvimento dos filmes foi realizada uma mistura manual de 60% (m/m) do amido de mandioca; 24% (m/m) de glicerol; 14% (m/m) de água destilada; 1% (m/m) de ácido esteárico e 1% (m/m) de ácido cítrico mono-hidratado seguindo a metodologia de Ferreira et al. (2020). Esta mistura foi processada em extrusora dupla rosca NZ Philpolymer, modelo SLSJ20 (São Roque, Brasil), com D/L = 40/1, roscas com espessura de 20 mm e 7 zonas de aquecimento. A velocidade de rotação da rosca foi de 100 rpm e o perfil de temperatura foi 80, 90, 90, 100, 100, 110, 110 °C. A extrusora foi alimentada manualmente na primeira zona de aquecimento com a mistura contendo todos os componentes. Nesta extrusão foram obtidos os peletes de amido termoplástico. Os peletes obtidos foram misturados manualmente às CST nas proporções de peletes de ATP:CST a 100:0; 96:4; 92:8 (ATP₁₀₀-CST₀; ATP₉₆-CST₄; APT₉₂-CST₈) e o

processo de extrusão foi repetido nas mesmas condições.

Os peletes obtidos da segunda extrusão foram prensados a temperatura de 110 °C em prensa hidráulica Matoli, modelo 370M015 (Piracicaba, Brasil), com capacidade para 10 toneladas, sendo realizados 5 ciclos rápidos de prensagem de 1 ton, seguido de dois ciclos de prensagem, o primeiro com 2 ton por 2 min, o segundo com 3 ton por 2 min e 30 s (Ferreira, de Oliveira, et al., 2021).

2.4 Termogravimetria

Foram analisados o amido de mandioca e as CST antes da extrusão para definir o perfil de temperatura na extrusão e, posteriormente os filmes desenvolvidos. Utilizou-se um Analisador Termogravimétrico TGA Q-60H (TA Instruments), operando sob atmosfera de ar sintético com fluxo de 50 ml.min⁻¹, entre a temperatura ambiente e 600 °C a uma taxa de aquecimento de 10 °C.min⁻¹ (Ferreira, de Oliveira, et al., 2021).

2.5 Permeabilidade ao vapor de água

As análises de permeabilidade ao vapor de água (PVA) foram realizadas utilizando cápsulas de *nylon* com área circular de penetração de 21 cm². As cápsulas foram colocadas em uma câmara úmida contendo solução saturada de cloreto de sódio (NaCl), para manter a umidade relativa externa as capsulas a 75% UR, e temperatura 23 °C ± 2 °C. No interior das capsulas foi colocado sílica como dessecante para manter a umidade relativa interna a 0% UR, e o vapor de água ser induzido a entrar na cápsula conforme o método E96/E96M – 10. As cápsulas foram seladas com os filmes e pesadas a cada 24 h por oito dias. Mudanças no peso foram plotadas em função do tempo. PVA (g.m⁻¹.s⁻¹.Pa⁻¹) foi calculado usando a Eq. (1):

$$WVP = \frac{w \cdot x}{A \cdot t \cdot (P_2 - P_1)} \quad (1)$$

em que, w é o ganho de peso da cápsula (g); x é a espessura do filme (m); A é a área exposta do filme (m²); t é o tempo de ganho (s); (P₂ – P₁) é a diferença de pressão de vapor no filme (Pa).

2.6 Propriedades mecânicas

Foram realizados ensaios de tração e perfuração em analisador de textura (Stable Microsystems, modelo TATX2i, Inglaterra), sendo ensaiados 5 corpos de prova para cada replicata em ambos os ensaios.

Para o ensaio de tração, os corpos de prova foram cortados em tiras (100 × 10 mm) e as espessuras foram medidas em 3 pontos de cada corpo de prova. O teste foi realizado com velocidade de 500 mm.min⁻¹ e separação entre as garras de 50 mm. A partir dos dados coletados foram calculados o módulo de elasticidade (E', MPa) pela inclinação da parte linear do diagrama de tensão *versus* deformação, a resistência máxima à tração ($\rho_{m\acute{a}x}$, MPa) dividindo a carga máxima pela área da seção transversal do filme e o alongamento (ϵ , %), pela porcentagem de comprimento alongado a partir do comprimento inicial (ASTM, 2002).

A força máxima suportada à perfuração foi avaliada nos filmes utilizando uma sonda esférica de 5,0 mm de diâmetro (sonda P / 5S). Os filmes foram cortados em quadrados de 4 cm² e fixados em um suporte com abertura central (2,1 cm de diâmetro). O ensaio foi realizado seguindo a metodologia de Azevedo et al. (2015) sendo mensuradas a força máxima na perfuração (PF, N) e a deformação máxima antes da ruptura (DP, mm).

2.7 Propriedades óticas

A transmitância foi determinada usando um espectrofotômetro Bel SPECTRO S-2000 (Monza, Itália). As leituras foram feitas no modo transmitância a 600 nm (%T) conforme o método ASTM D1746-03.

Para mensurar os parâmetros de cor, os filmes foram cortados em quadrados de 4 cm² e foi utilizado um colorímetro Color reader CR-10 (Konica Minolta, Osaka, Japão) com área de medição de 8 mm², em adição à geometria 8/d e condições de iluminante padrão D65 e observador a 10°, para medição dos parâmetros L*, a* e b* conforme a ISO 11 664-4.

2.8 Acondicionamento e armazenamento das castanhas-do-pará

Os filmes foram cortados em retângulos (120 mm x 60 mm), selados nas laterais em seladora Selopratika 350 (Araújo Equipamentos, Porto Alegre, Brasil) formando sacos. Castanhas-do-pará quebradas (3g) foram transferidas para a embalagem e o filme foi selado na parte superior. Como controle as castanhas foram colocadas sem embalagem no mesmo ambiente e também embaladas em sacos de polipropileno transparente (material comumente

utilizado para embalagens de castanhas). Todas as amostras foram armazenadas em uma B.O.D. a $30\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$ e umidade relativa de $70\% \pm 5\%$. As amostras foram coletadas após 0, 0,25; 1; 3; 10; 30 e 60 dias de armazenamento para a determinação do índice de peróxido das castanhas. Os filmes também foram avaliados por espectroscopia de infravermelho com transformada de Fourier (FTIR), cor e atividade antioxidante *in vitro* (Assis, et al 2017).

2.9 Espectroscopia na região do infravermelho com transformada de Fourier

As análises de espectroscopia vibracional no infravermelho foram realizadas com o intuito de avaliar possíveis modificações na estrutura dos filmes após o armazenamento. Foi empregado um espectrômetro FT-IR Varian 600-IR com transformada de Fourier, com acessório GladiATR da Pike Technologies acoplado para medidas por reflectância total atenuada (ATR) a 45° com cristal de seleneto de zinco. A faixa espectral analisada foi de 400 a 4.000 cm^{-1} , resolução de 4 cm^{-1} e 32 varreduras (Ferreira et al., 2021).

2.10 Atividade antioxidante

A atividade antioxidante dos filmes foi avaliada pelo método de captura do radical livre 1,1-difenil-2-picrilhidrazil (DPPH) nos mesmos tempos em que foram coletadas as castanhas-do-Pará. 0,2 g de filme foi cortado em pequenos pedaços e misturados com 2 mL de etanol 80%. A mistura foi vigorosamente agitada em Vortex por 3 min e permaneceu em repouso a temperatura ambiente por 3 h. Em seguida, foram agitadas novamente por mais 3 min em Vortex. Uma alíquota do extrato etanólico foi adicionada com 3,9 mL de DPPH a 0,1 mM em etanol 80%. A mistura foi vigorosamente agitada em Vortex por 1 min e deixada em repouso no escuro por 30 min. A absorbância foi medida a 517 nm usando um espectrômetro (SPECTROPHOTOMETER SP 2000UV). O etanol 80% com DPPH 0,1 mM foi utilizado como controle (A_{controle}). A atividade sequestradora de radicais foi calculada conforme a Equação 3 (Byun et al., 2010):

$$(\%)AA = \frac{A_{\text{controle}} - A_{\text{amostra}}}{A_{\text{controle}}} \times 100 \quad (2)$$

em que, A_{amostra} e A_{controle} são as absorbâncias medidas

A *controle* é a solução DPPH sem a amostra

A *amostra* é a amostra com DPPH

2.11 Determinação do índice de peróxidos

A determinação do índice de peróxidos (IP) das castanhas-do-Pará foi realizada em espectrofotômetro Bel Spectro S-2000 (Monza, Itália) segundo o método padrão IDF 74A:1991. As castanhas foram retiradas das embalagens estudadas trituradas. Uma amostra de 0,03 g de castanha foi pesada em um tubo de ensaio e suspensa em 1,5 mL de hexano. Essa solução foi agitada por 3 vezes durante 10 segundos para extração do óleo. Em seguida, as fases foram separadas por centrifugação a 3000 rpm por 4 minutos ($F = 1569g$), sendo que as extrações foram realizadas em triplicata. Uma alíquota de 100 μL do sobrenadante foram adicionados a 4,8 mL de uma mistura de clorofórmio/metanol (7:3). Para a formação de cor, foram adicionados 25 μL de soluções de cloreto de ferro (II) e 25 μL de tiocianato de amônia. A amostra foi agitada, mantida em repouso (no escuro) por 5 minutos e logo em seguida foi medida a absorbância a 500 nm em um espectrofotômetro - UNICO® Spectrophotometer 2800UV/VIS (United Products & Instruments Inc., New Jersey, Estados Unidos). A leitura do branco foi realizada sem adição do cloreto de ferro, para cada tratamento. O espectrofotômetro foi zerado com a mistura de clorofórmio:metanol (7:3). As medidas foram realizadas em duplicata. Uma curva padrão de absorbância *versus* concentração de Fe^{+3} foi realizada e o coeficiente angular da reta foi utilizado para cálculo do IP seguindo a Equação 4 (Shantha & Decker, 1994):

$$\text{IP} \left(\frac{\text{meq}}{\text{kg}} \right) = \frac{(A_a - A_b) \times c_a}{55,84 \times m \times 2} \quad (4)$$

onde, A_a é a absorbância da amostra; A_b é a absorbância do branco; c_a é o coeficiente angular da curva padrão, m é a massa e 55,86 é o peso do ferro. O denominador fornece a concentração de Fe^{2+} oxidado a Fe^+ em microgramas. A divisão pelo fator 2 é necessária para expressar o valor do peróxido como miliequivalentes de peróxido em vez de miliequivalentes de oxigênio.

2.12 Análise dos resultados

Os resultados das análises de PVA, AA, IP e propriedades ópticas e mecânicas foram analisados utilizando o software Sisvar[®]. Os resultados foram submetidos à análise de variância (ANOVA) com nível de significância de 5% e as médias foram comparadas entre si pelo teste de Tukey (Ferreira, 2019).

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

2.1 Microscopia eletrônica de varredura

Nas micrografias da superfície e do corte transversal dos tratamentos (Figura 1) é possível observar pontos de amido não plastificado ou moléculas de amido que sofreram retrogradação (Begali et al., 2021). Também é possível observar que a adição das CST ocasionou o aparecimento de defeitos nos filmes (Figura 1 – B, C, E e F), estando mais evidentes para o APT₉₂-CST₈ (C e F). Estes defeitos podem ser atribuídos a presença de fibras insolúveis nas CST que, por serem pouco compatíveis com a matriz de ATP, causam a descontinuidade das cadeias poliméricas, favorecendo a formação de defeitos (Moghadam, et al., 2020).

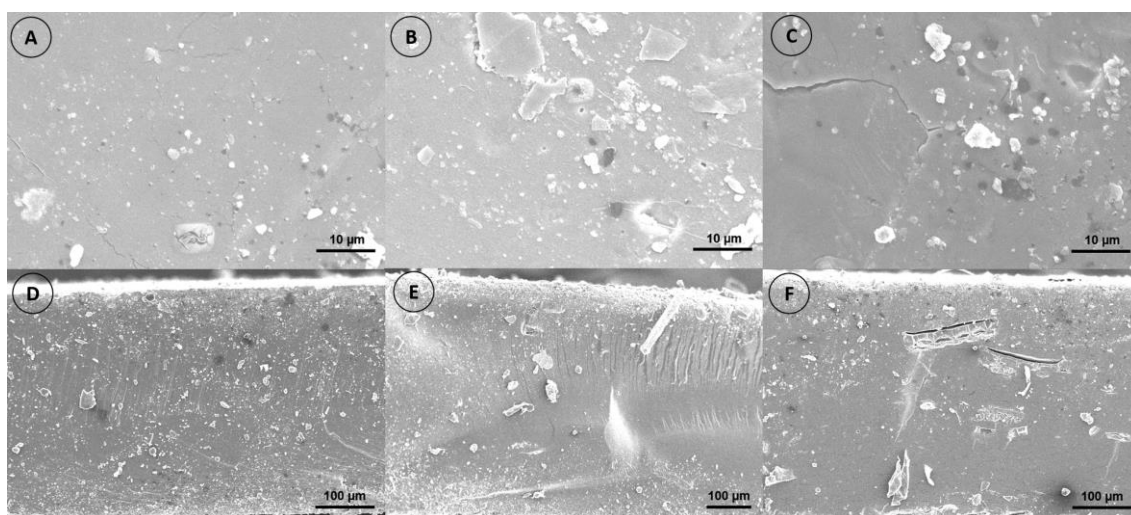


Figura 1 – Micrografias eletrônicas de varredura da superfície e do corte transversal, respectivamente, dos tratamentos ATP₁₀₀-CST₀ (A e D), ATP₉₆-CST₄ (B e E) e APT₉₂-CST₈ (C e F).

3.2 Termogravimetria

Na curva TG do amido de mandioca (Figura 2), foi observada inicialmente uma perda de massa de 13%, que pode ser atribuída a remoção de umidade presente no amido (Tabela 1). Na primeira etapa de degradação do amido, foi observado um pico de perda de massa a 313 °C na curva derivada (DTG), correspondente a velocidade máxima de degradação (T_{max}) e 79% de perda de massa (W_{loss}). Nesta etapa provavelmente ocorreu a eliminação de grupos polihidroxila e a despolimerização das cadeias, os principais mecanismos associados à degradação de polissacarídeos (Lomelí-Ramírez et al., 2014).

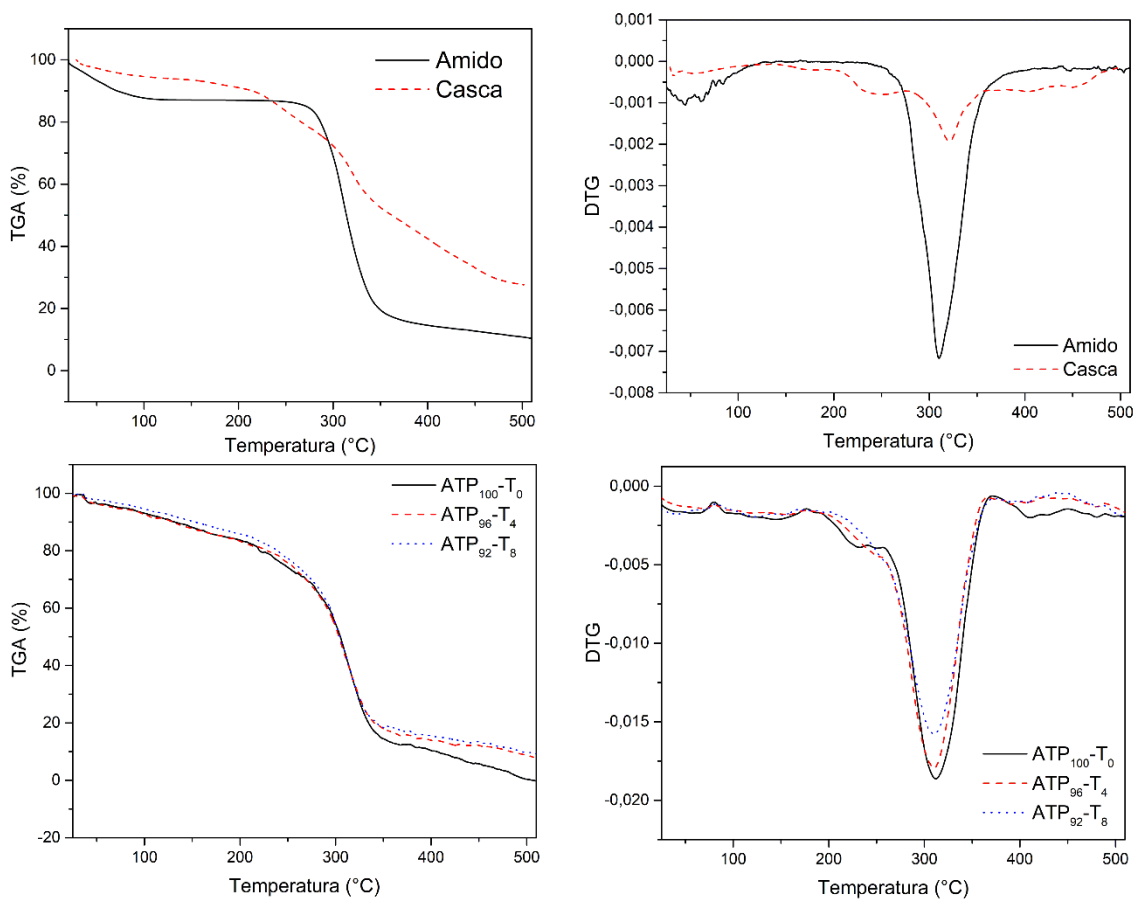


Figura 2 – Curvas de TGA e DTG do amido de mandioca, das CST e dos filmes.

Tabela 1 - Temperatura de início de degradação em °C (T_{onset}), teor de voláteis em % ($W_{voláteis}$) perda de massa em % (W_{loss}) e resíduo final em % do amido em pó, das CST e dos filmes.

Tratamentos	$W_{voláteis}$	$T_{onset 1}$	$W_{loss 1}$	$T_{onset 2}$	$W_{loss 2}$	$T_{onset 3}$	$W_{loss 3}$	$T_{onset 4}$	$W_{loss 4}$	$T_{onset 5}$	$W_{loss 5}$	Resíduo
Amido	13	287	79	-	-	-	-	-	-	-	-	8
CST	4	150	2	199	15	297	33	395	10	446	8	28
ATP ₁₀₀ -CST ₀	15	250	83	-	-	-	-	-	-	-	-	2
ATP ₉₆ -CST ₄	13	250	81	-	-	-	-	-	-	-	-	7
APT ₉₂ -CST ₈	8	250	82	-	-	-	-	-	-	-	-	10

As CST apresentaram várias etapas de degradação (Tabela 1). Este comportamento térmico é caracterizado pela presença de vários componentes, como fibras insolúveis, compostas por ligninas, celulose e hemiceluloses (Silva, 2017), além de carboidratos, lipídios e proteínas em menores quantidades (Brachi et al., 2016b). A perda de peso inicial, de 6% ocorreu devido à evaporação de água e voláteis presentes nas CST. A primeira etapa de degradação térmica iniciou a 150 °C, esta etapa pode ser atribuída a hidrólise de polissacarídeos (Brachi et al., 2016a). Os segundo e terceiro estágios de decomposição podem ser atribuídos à degradação térmica de hemicelulose e celulose. A hemicelulose normalmente se decompõe na faixa de 160-360 °C, enquanto a celulose se degrada em temperaturas mais altas, ou seja, 240-390 °C (Aboyade et al., 2011). Os quarto e quinto estágios podem ser atribuídos a degradação da lignina. Na faixa de 300-500 °C ocorre a liberação de anéis aromáticos, carbonilas, alquilos, CO₂ e CO das moléculas de lignina (Zhang et al., 2012). Segundo Pu & Tang (2017) a degradação térmica do licopeno acontece em na faixa de temperatura de 150 °C a 450 °C. No entanto, uma atribuição clara de todos os eventos de decomposição para uma espécie química específica é dificilmente alcançada devido à abundância de componentes em diferentes quantidades presentes nas CST (Brachi et al., 2016b). A grande porcentagem de resíduos observados ao final da decomposição térmica pode estar relacionada a presença de minerais, gerando uma alta porcentagem de cinzas. As CST possuem altos teores de potássio, sódio, cálcio, magnésio, zinco e ferro (Elbadrawy & Sello, 2016).

Por meio da TG do amido de mandioca e da CST é possível observar que não ocorreu degradação térmica devido às temperaturas de processamento escolhidas, pois todas as zonas

de temperatura da extrusora e a prensa hidráulica trabalharam em temperaturas abaixo das temperaturas de início de degradação observadas.

De forma geral as curvas TG dos filmes apresentaram comportamentos térmicos semelhantes e estão sobrepostas umas às outras (Figura 2), porém apresentaram algumas diferenças na perda de massa. Inicialmente foi observada uma perda de massa pequena e gradual de 13%, 12% e 8% de compostos voláteis na faixa de 25-200 °C dos filmes ATP₁₀₀-CST₀, ATP₉₆-CST₄ e APT₉₂-CST₈, respectivamente. Esta perda está associada com a evaporação da água e do glicerol (Lomelí-Ramírez et al., 2014). A presença das CST pode ter dificultado adsorção de umidade dos filmes, o que resultou em menor umidade inicial, reduzindo da perda de massa nesta etapa para o tratamento com maior proporção de CST. Foi observado apenas uma etapa de degradação para os filmes, com um pico na curva DTG próximo a 310 °C, que corresponde a temperatura com maior velocidade de degradação térmica. Além disso, foi observado uma perda de massa média de 82% nesta mesma etapa. Não foram observados picos nas curvas de ATP₉₆-CST₄ e APT₉₂-CST₈ que correspondam a degradação das CST, provavelmente devido às baixas concentrações de CST em relação à concentração de amido. Ao final da degradação térmica foi observado um resíduo de 2%, 7% e 10% para os tratamentos ATP₁₀₀-CST₀, ATP₉₆-CST₄ e APT₉₂-CST₈, respectivamente. A maior porcentagem de resíduos ao final da degradação térmica para os tratamentos com CST, está associada a presença de minerais nas CST.

3.3 Permeabilidade ao vapor de água

A incorporação de CST reduziu o valor de PVA em relação ao tratamento ATP₁₀₀-CST₀ (Tabela 2) auxiliando para o desenvolvimento de filmes com maior barreira ao vapor de água. Devido ao caráter hidrofóbico as CST dispersas na matriz polimérica podem dificultar a transferência do vapor de água, o que reduz a difusividade do vapor de água no filme (Assis et al., 2017).

O PVA dos filmes é um fator importante para estimar a vida útil do produto, pois a água pode ser transferida do ambiente interno ou externo através do filme (Ballesteros-Mártinez et al., 2020). Em relação a embalagens para castanhas a diminuição da PVA é desejável, pois o ganho de umidade durante o armazenamento pode acarretar o crescimento de fungos, em especial os produtores de aflatoxinas, que necessitam de água e temperatura em condições ótimas para se multiplicarem (Álvares et al., 2012). O polipropileno, material comumente utilizado em embalagens para castanhas, possui PVA em torno de $1,7 \cdot 10^{-15} \text{ g} \cdot \text{m}^{-1} \cdot \text{s}^{-1} \cdot \text{Pa}^{-1}$ (Lee e Jang, 2004).

Tabela 2 – Permeabilidade ao vapor de água dos filmes

Tratamentos	PVA ($10^{-12} \cdot \text{g} \cdot \text{m}^{-1} \cdot \text{s}^{-1} \cdot \text{Pa}^{-1}$)
ATP ₁₀₀ -CST ₀	2,12 ^b ± 0,33
ATP ₉₆ -CST ₄	1,89 ^{a,b} ± 0,32
APT ₉₂ -CST ₈	1,70 ^a ± 0,29

Médias seguidas de uma letra diferente na coluna são significativamente ($p < 0,05$) diferentes pelo teste de Tukey.

3.4 Propriedades mecânicas

Apesar da resistência máxima a tração (RM) não ter alterado significativamente com a adição das CST, os filmes apresentaram aumento significativo ($< 0,05$) do E' e, conseqüentemente, uma redução do ϵ com relação à concentração de CST. Além disso, a FP também reduziu significativamente ($< 0,05$) com a adição de CST (Tabela 3).

Tabela 3 – Médias observadas de resistência máxima à tração ($\rho_{\text{máx}}$), módulo de elasticidade (E'), alongamento (ϵ), força máxima de perfuração (FP) e deformação na perfuração (DP).

Tratamentos	$\rho_{\text{máx}}$ (MPa)	E' (MPa)	ϵ (%)	FP (N)
ATP ₁₀₀ -CST ₀	1,69 ^a ± 0,09	0,16 ^a ± 0,01	48,50 ^c ± 0,69	46,30 ^b ± 3,64
ATP ₉₆ -CST ₄	1,57 ^a ± 0,04	0,21 ^b ± 0,01	24,36 ^b ± 3,20	34,33 ^a ± 2,88
APT ₉₂ -CST ₈	1,46 ^a ± 0,07	0,27 ^c ± 0,01	18,14 ^a ± 0,63	32,16 ^a ± 0,69

Duas médias seguidas de uma letra diferente na mesma coluna são significativamente ($p < 0,05$) diferentes pelo teste de Tukey.

Este comportamento pode ser atribuído a presença de fibras nas CST e pela formação de defeitos na matriz polimérica, como foi observado nas micrografias de MEV. Um comportamento semelhante foi observado por Aparicio-Fernández et al. (2017), que estudaram a adição de cascas em pó de figo-da-índia (*Opuntia ficus-indica* L.) em filmes de carboximetilcelulose e também observaram o aumento na rigidez, resultando na redução do ϵ dos filmes de cerca de 10% para 5% e 4% e na redução da FP de 15,7 N para 7,3 N e 7,7 N, com a adição de 1% e 2% de cascas em pó, respectivamente. Além da presença de defeitos na matriz de ATP, a redução da flexibilidade dos filmes dificulta a mobilidade das cadeias poliméricas, resultando em filmes mais frágeis e quebradiços.

3.5 Propriedades óticas

A transmitância a 600 nm (T_{600}) dos filmes reduziu significativamente ($p > 0,05$) com a adição de CST (Tabela 4). A T_{600} está relacionada com a transparência dos filmes, ou seja, quanto de luz visível passa pelo filme (Han e Floros 1997). Na figura 3 é possível observar que a adição de CST as embalagens dificultou a visualização das castanhas no interior da embalagem.

Tabela 4 –Transparência e parâmetros L^* , a^* e b^* de cor dos filmes

Tratamento	T_{600} (%T)	L^*	a^*	b^*
ATP ₁₀₀ -CST ₀	72,5 ^b ± 0,38	74,56 ^c ± 0,38	2,83 ^a ± 0,05	16,53 ^a ± 0,21
ATP ₉₆ -CST ₄	29,9 ^a ± 0,35	63,37 ^b ± 1,85	5,57 ^b ± 0,60	29,26 ^b ± 3,20
APT ₉₂ -CST ₈	23,6 ^a ± 0,06	60,00 ^a ± 4,03	9,27 ^c ± 1,8	37,30 ^c ± 3,92

Duas médias seguidas de uma letra diferente na mesma coluna são significativamente ($p < 0,05$) diferentes pelo teste de Tukey.

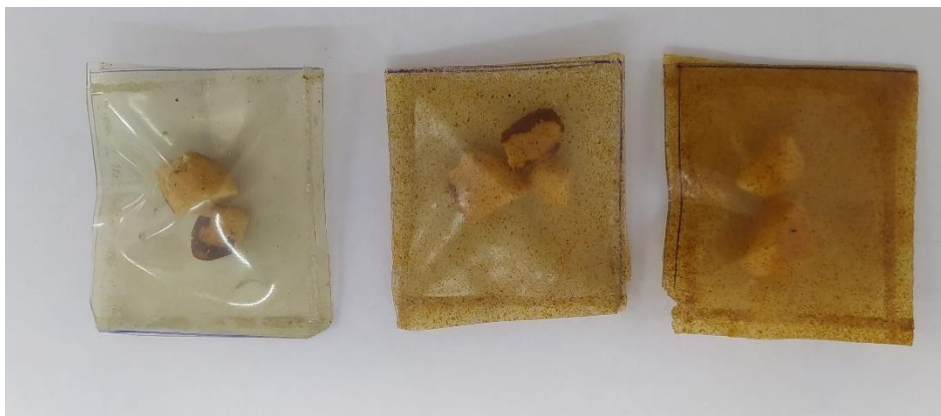


Figura 3 – Castanhas-do-Pará acondicionadas nas embalagens desenvolvidas com os filmes ATP₁₀₀-CST₀, ATP₉₆-CST₄ e APT₉₂-CST₈ da esquerda para a direita.

A adição de CST ocasionou uma alteração significativa ($p < 0,05$) na cor dos filmes (Tabela 4). Com o aumento da concentração de CST, foi observada a redução do L^* , o que caracteriza filmes mais escuros, aumento de valores positivos do a^* , o que representa maior tonalidade avermelhada e aumento de valores positivos do b^* , o que indica maior tonalidade da cor amarela, sendo a coloração amarela mais intensa. Essa coloração e a redução da transmitância ocorre devido ao licopeno presente nas CST, responsável pela coloração avermelhada. Assis et al. (2017) estudaram a incorporação de licopeno em filmes de amido de mandioca e também observaram uma redução da transmitância e do parâmetro L^* e aumento da coloração amarela e vermelha, com maior intensidade da cor amarela.

A adição de CST nos filmes de ATP pode ter grande importância no uso como embalagem para alimentos que sofrem oxidação lipídica, pois apresentaram barreira à luz, o que pode aumentar a estabilidade à oxidação lipídica induzida por foto-oxidação (Assis et al., 2017).

3. 6 Espectroscopia na região do infravermelho com transformada de Fourier

Os espectros de FTIR e as principais mudanças observadas antes e depois do armazenamento estão apresentadas na Figura 4. A banda em $3000-3500\text{ cm}^{-1}$ (Figura 4b) é atribuída ao alongamento dos grupos O-H presentes no amido, água e glicerol, um aumento desta banda pode estar relacionado com a adsorção de água pela matriz polimérica durante o armazenamento. A banda em $\sim 1650\text{ cm}^{-1}$ (Figura 4c) pode estar relacionada com a absorção de água do ambiente e a presença de lipídios que passaram do alimento para a matriz polimérica,

podendo resultar em um efeito plastificante nos filmes (Ochoa-Yepes et al., 2019). Interação entre o alimento armazenado e a embalagem é um resultado esperado, Dias et al. (2013) desenvolveram embalagens de acetato antimicrobianas, incorporadas com isotiocianato de alil e nanotubo de carbono, e testaram estas embalagens em armazenamento de carne de frango cozida desfiada durante os 40 dias de armazenamento. Os autores também observaram a adsorção de umidade e lipídios nas embalagens. Já a banda em $2900-2950\text{ cm}^{-1}$ é atribuída ao alongamento simétrico dos grupos CH, e os picos em 850 cm^{-1} , 925 cm^{-1} e 995 cm^{-1} são atribuídos à deformação angular do esqueleto C – C, estes picos não apresentaram alterações no espectro, o que indica que não ocorreu desestruturação das cadeias poliméricas (Ochoa-Yepes et al., 2019).

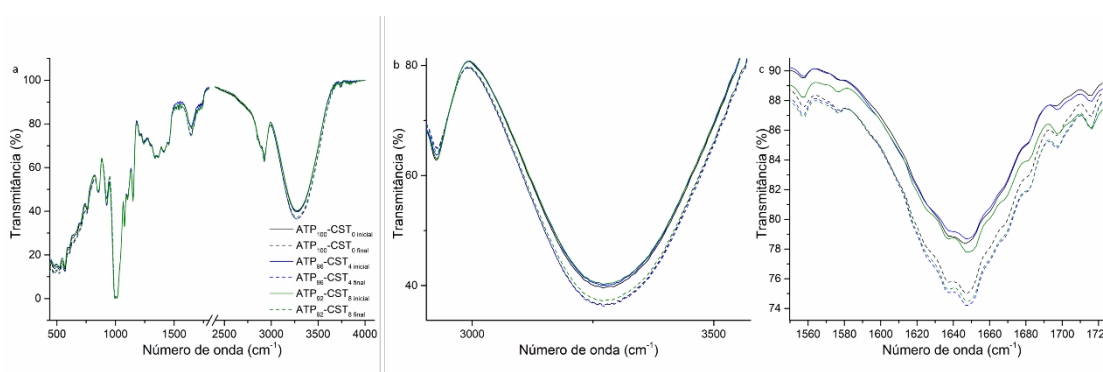


Figura 4 - Espectros de FTIR dos filmes estudados antes e depois do armazenamento

3.7 Estabilidade oxidativa de castanhas-do-pará

Todos os tratamentos apresentaram um aumento significativo ($p>0,05$) para IP durante os 60 dias de armazenamento (Figura 5). Entretanto, o tratamento controle (sem embalagem) apresentou um aumento significativo do IP após 10 dias de armazenamento, já os demais tratamentos este aumento só foi significativo nos 60 dias. O IP é uma medida da concentração de peróxidos e hidroperóxidos formados nos estágios iniciais da oxidação lipídica. O IP é um dos testes mais usados para medir a oxidação primária (Elbadrawy & Sello, 2016). A redução do aumento do IP nos tratamentos com as CST, se deve principalmente a presença de licopeno. Assis et al. (2017) estudaram o armazenamento de óleo de soja em filmes de amido de mandioca sem adição de licopeno e com adição de 5% de licopeno livre e com 5% de licopeno encapsulado em condições próximas a este estudo. Eles observaram uma diferença significativa para o IP entre os filmes de amido e os demais filmes a partir de 19 dias de armazenamento.

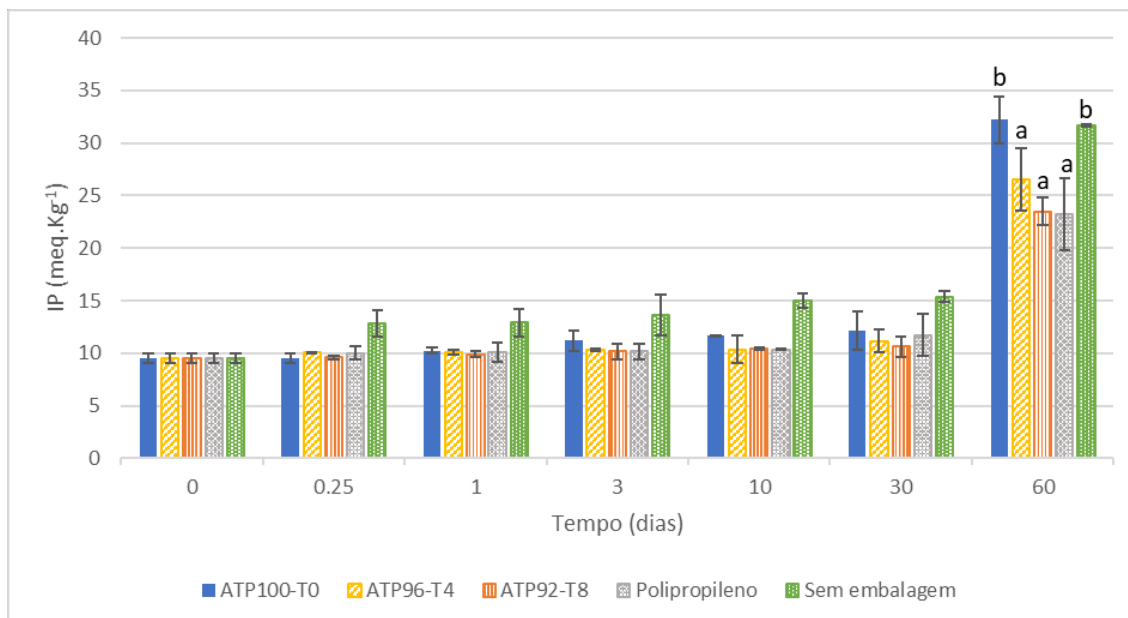


Figura 5 – Médias dos índices de peróxidos das castanhas armazenadas a 35 °C e 70% de UR por 60 dias nas embalagens desenvolvida, em embalagem de polietileno e sem embalagem. Duas médias seguidas de uma letra diferente no mesmo tempo de armazenamento são significativamente ($p < 0,05$) diferentes pelo teste de Tukey. Tempos que não tiveram as letras adicionadas não apresentaram diferença significativa entre os tratamentos.

Até os 30 dias de armazenamento todas as castanhas-do-pará armazenadas em embalagens apresentaram valores de IP abaixo de 15 meq.kg^{-1} , limite estabelecido pela legislação (Brasil, 2005). Já a castanha-do-pará armazenada sem embalagem apresentou um valor médio de IP de $15,4 \text{ meq.kg}^{-1}$ após os 30 dias. Ao final dos 60 dias de armazenamento todos os tratamentos apresentaram valor acima do estabelecido pela legislação. Os tratamentos ATP₉₆-CST₄, ATP₉₂-CST₈ e a embalagem de polipropileno não apresentaram diferença significativa ($p < 0,05$) entre si para valores de IP durante todo o tempo de armazenamento, isso indica que as embalagens com CST tiveram a mesma eficiência apresentada por uma embalagem comercial. Já a embalagem sem adição de CST (A₁₀₀-CST₀) apresentou maior média de IP que as demais embalagens ao final de 60 dias de armazenamento, e não diferiu significativamente do tratamento controle (sem embalagem).

Apesar das embalagens de PP de forma geral apresentarem maior barreira a umidade e maior resistência mecânica que embalagens estudadas, a ação antioxidante das CST incorporadas na embalagem conseguiram compensar esta diferença entre as embalagens e apresentar resultados similares, com as vantagens que estas embalagens são produzidas a partir de matéria-prima sustentável e agregam valor ao subproduto da indústria de molhos de tomate.

3.8 Atividade antioxidante

A atividade antioxidante dos filmes aumentou significativamente ($p < 0,05$) com o aumento da concentração de CST na matriz polimérica de ATP (Figura 6). A ação antioxidante dos filmes se deve principalmente a presença de licopeno e compostos fenólicos nas CST, que possuem capacidade sequestrante do oxigênio singlete (Elbadrawy & Sello, 2016). Durante o período de armazenamento das castanhas-do-pará, as embalagens ATP₉₆-CST₄ e ATP₉₂-CST₈ apresentaram uma queda significativa ($p < 0,05$) da ação antioxidante a partir de 1 e 0,25 dias, respectivamente. Mesmo com essa baixa atividade antioxidante, os filmes ATP₉₆-CST₄ e ATP₉₂-CST₈ foram efetivos em retardar a velocidade de formação de peróxidos.

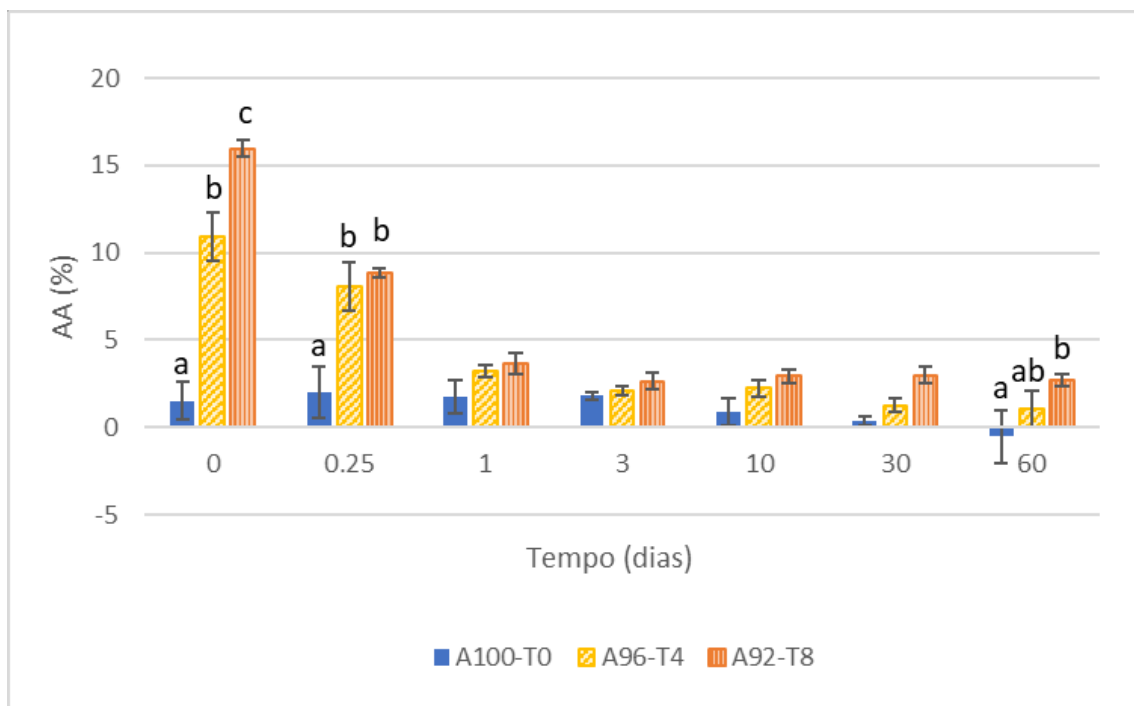


Figura 6 – Atividade antioxidante das embalagens desenvolvidas durante o tempo de armazenamento. Duas médias seguidas de uma letra diferente no mesmo tempo são significativamente ($p < 0,05$) diferentes pelo teste de Tukey. Tempos que não tiveram as letras adicionadas não apresentaram diferença significativa entre os tratamentos.

A presença de oxigênio, a temperatura e a umidade de armazenamento estão diretamente relacionadas com a degradação de compostos ativos (Anguelova & Warthesen, 2000; Buvé et al., 2018; Spínola et al., 2013). Ranveer et al. (2015) avaliaram a estabilidade do licopeno

extraído a partir do subproduto do processamento de tomate, submetido a microencapsulação por *spray drying*. Os autores submeteram o licopeno não encapsulado e o licopeno encapsulado em condições de armazenamento: aberto e embalado hermeticamente e em temperatura ambiente e sob refrigeração por um período de 42 dias. Os autores reportaram que ambas as amostras, ou seja, encapsuladas e não encapsuladas, mostraram melhor retenção de licopeno na ausência de ar. A amostra de licopeno não encapsulado registrou apenas 5,29% de licopeno após 28 dias, enquanto as amostras encapsuladas registraram retenção de 67,57% de licopeno após 42 dias na presença de ar. Os autores também observaram que a temperatura teve efeito significativo na estabilidade de armazenamento do licopeno. Amostra de licopeno encapsulada armazenada em condição refrigerada apresentou retenção de 90,56%, enquanto a amostra armazenada em temperatura ambiente apresentou retenção de 75,6% após 42 dias de armazenamento. Como o presente estudo usou temperatura e umidade acima da temperatura ambiente, isto pode ter contribuído para menor retenção do licopeno nas embalagens durante o tempo de armazenamento.

4 CONCLUSÃO

A adição de CST na matriz de ATP resultou em um aumento na barreira à umidade e da rigidez dos filmes e tornou os filmes mais escuros, opacos e com coloração amarelo avermelhada. Durante o armazenamento das castanhas-do-pará, as embalagens absorveram umidade e gordura pela análise de FITR. Os tratamentos ATP96-CST4, ATP92-CST8 e a embalagem de polipropileno apresentaram valores próximos de IP durante todo o armazenamento e mantiveram o IP abaixo do máximo permitido pela legislação por 30 dias. Isso indica que as embalagens de ATP e CST tiveram a mesma eficiência apresentada por uma embalagem comercial, sendo assim, as embalagens desenvolvidas tem potencial para substituir embalagens convencionais. Além de trazerem vantagens, como o reaproveitamento de um subproduto da indústria de molho de tomate.

Acknowledgments

This study was financed in part by the Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) – Finance Code 001, the National Council for Scientific and Technological Development (Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico – CNPq), the Research Support Foundation of Minas Gerais (Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais – FAPEMIG) and Embrapa Instrumentation, Brazil.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICA

- Aboyade, A. O., Hugo, T. J., Carrier, M., Meyer, E. L., Stahl, R., Knoetze, J. H., & Görgens, J. F. (2011). Non-isothermal kinetic analysis of the devolatilization of corn cobs and sugar cane bagasse in an inert atmosphere. *Thermochimica Acta*, *517*, 81–89.
<https://doi.org/10.1016/j.tca.2011.01.035>
- Andrade P, R. D., Lemus, R. M., & Pérez C, C. E. (2011). MODELS OF SORPTION ISOTHERMS FOR FOOD: USES AND LIMITATIONS MODELOS DE ISOTERMAS DE SORCION PARA ALIMENTOS: USOS Y LIMITACIONES. *La Facultad De Química Farmacéutica, Revista DE*.
- Anguelova, T., & Warthesen, J. (2000). Lycopene Stability in Tomato Powders. *Journal of Food Science*, *65*(1), 67–70. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.2000.tb15957.x>
- Aparicio-Fernández, X., Vega-Ahuatzin, A., Ochoa-Velasco, C. E., Cid-Pérez, S., Hernández-Carranza, P., & Ávila-Sosa, R. (2018). Physical and antioxidant characterization of edible films added with red prickly pear (*Opuntia ficus-indica* L.) cv. San Martín peel and/or its aqueous extracts. *Food and Bioprocess Technology*, *11*(2), 368-379.
- Aquino, A. B., Blank, A. F., & de Aquino Santana, L. C. L. (2015). Impact of edible chitosan–cassava starch coatings enriched with *Lippia gracilis* Schauer genotype mixtures on the shelf life of guavas (*Psidium guajava* L.) during storage at room temperature. *Food Chemistry*, *171*, 108–116.
<https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2014.08.077>
- Assis, R. Q., Lopes, S. M., Costa, T. M. H., Flôres, S. H., & Rios, A. de O. (2017a). Active biodegradable cassava starch films incorporated lycopene nanocapsules. *Industrial Crops and Products*, *109*, 818–827. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2017.09.043>
- Ballesteros-Mártinez, L., Pérez-Cervera, C., & Andrade-Pizarro, R. (2020). Effect of glycerol and sorbitol concentrations on mechanical, optical, and barrier properties of sweet potato starch film. *NFS Journal*, *20*, 1–9. <https://doi.org/10.1016/j.nfs.2020.06.002>
- Brachi, P., Miccio, F., Miccio, M., & Ruoppolo, G. (2016a). Torrefaction of Tomato Peel Residues in a Fluidized Bed of Inert Particles and a Fixed-Bed Reactor. *Energy and Fuels*, *30*(6), 4858–4868. <https://doi.org/10.1021/acs.energyfuels.6b00328>
- Brachi, P., Miccio, F., Miccio, M., & Ruoppolo, G. (2016b). Pseudo-component thermal decomposition kinetics of tomato peels via isoconversional methods. *Fuel Processing*

- Technology*, 154, 243–250. <https://doi.org/10.1016/j.fuproc.2016.09.001>
- Begali, D. O., Ferreira, L. F., de Oliveira, A. C. S., Borges, S. V., de Sena Neto, A. R., de Oliveira, C. R., ... & Sarantopoulos, C. I. (2021). Effect of the incorporation of lignin microparticles on the properties of the thermoplastic starch/pectin blend obtained by extrusion. *International Journal of Biological Macromolecules*, 180, 262-271.
- Brasil, *REGULAMENTO TÉCNICO PARA ÓLEOS VEGETAIS, GORDURAS VEGETAIS E CREME VEGETAL*, (2005) (testimony of Brasil).
https://bvsm.sau.gov.br/bvs/sau/legis/anvisa/2005/rdc0270_22_09_2005.html
- Buvé, C., Kebede, B. T., De Batselier, C., Carrillo, C., Pham, H. T. T., Hendrickx, M., Grauwet, T., & Van Loey, A. (2018). Kinetics of colour changes in pasteurised strawberry juice during storage. *Journal of Food Engineering*, 216, 42–51.
<https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2017.08.002>
- Byun, Y., Kim, Y. T., & Whiteside, S. (2010). Characterization of an antioxidant polylactic acid (PLA) film prepared with α -tocopherol, BHT and polyethylene glycol using film cast extruder. *Journal of Food Engineering*, 100(2), 239–244.
<https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2010.04.005>
- Du, W.-X., Olsen, C. W., Avena-Bustillos, R. J., McHugh, T. H., Levin, C. E., & Friedman, M. (2008). Antibacterial Activity against *E. coli* O157:H7, Physical Properties, and Storage Stability of Novel Carvacrol-Containing Edible Tomato Films. *Journal of Food Science*, 73(7), M378–M383. <https://doi.org/10.1111/j.1750-3841.2008.00892.x>
- Elbadrawy, E., Sello, A. (2016) Evaluation of nutritional value and antioxidant activity of tomato peel extracts, *Arab. J. Chem.* 9 S1010–S1018.
<https://doi.org/10.1016/J.ARABJC.2011.11.011>.
- Elbadrawy, E., & Sello, A. (2016). Evaluation of nutritional value and antioxidant activity of tomato peel extracts. In *Arabian Journal of Chemistry* (Vol. 9, pp. S1010–S1018). Elsevier B.V. <https://doi.org/10.1016/j.arabjc.2011.11.011>
- Ferreira, D. F. (2019). Sisvar: a computer analysis system to fixed effects split plot type designS. *Revista Brasileira de Biometria*, 37(4), 529.
<https://doi.org/10.28951/rbb.v37i4.450>
- Ferreira, L. F., de Oliveira, A. C. S., Begali, D. de O., Neto, A. R. de S., Martins, M. A., de Oliveira, J. E., Borges, S. V., Yoshida, M. I., Tonoli, G. H. D., & Dias, M. V. (2020).

- Characterization of cassava starch/soy protein isolate blends obtained by extrusion and thermocompression. *Industrial Crops and Products*, 160, 113092.
<https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2020.113092>
- Ferreira, L. F., Figueiredo, L. P., Martins, M. A., Luvizaro, L. B., Lara, B. R. B. de, Oliveira, C. R. de, Júnior, M. G., Tonoli, G. H. D., & Dias, M. V. (2021). Active coatings of thermoplastic starch and chitosan with alpha-tocopherol/bentonite for special green coffee beans. *International Journal of Biological Macromolecules*, 170, 810–819.
<https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2020.12.199>
- Garrido, T., Peñalba, M., de la Caba, K., & Guerrero, P. (2016). Injection-manufactured biocomposites from extruded soy protein with algae waste as a filler. *Composites Part B: Engineering*, 86, 197–202. <https://doi.org/10.1016/J.COMPOSITESB.2015.09.058>
- Gómez-Estaca, J., López-de-Dicastillo, C., Hernández-Muñoz, P., Catalá, R., & Gavara, R. (2014). Advances in antioxidant active food packaging. *Trends in Food Science & Technology*, 35(1), 42–51. <https://doi.org/10.1016/J.TIFS.2013.10.008>
- Guimarães, M., Botaro, V. R., Novack, K. M., Teixeira, F. G., & Tonoli, G. H. D. (2015). Starch/PVA-based nanocomposites reinforced with bamboo nanofibrils. *Industrial Crops and Products*, 70, 72–83. <https://doi.org/10.1016/J.INDCROP.2015.03.014>
- Han, J. H., & Floros, J. D. (1997). Casting antimicrobial packaging films and measuring their physical properties and antimicrobial activity. *Journal of Plastic Film and Sheeting*, 13(4), 287–298. <https://doi.org/10.1177/875608799701300405>
- Internacional Energy Agency. (2018). *2018 BP Energy Outlook*.
<https://www.bp.com/content/dam/bp/en/corporate/pdf/energy-economics/energy-outlook/bp-energy-outlook-2018.pdf>
- Jang, J., & Lee, D. K. (2004). Oxygen barrier properties of biaxially oriented polypropylene/polyvinyl alcohol blend films. *Polymer*, 45(5), 1599-1607
- Kim, J. H., Kwei, T. K., & Pearce, E. M. (1992). Thermal Oxidation of Polymer Blends Containing an Antioxidant. *Chemical Engineering Communications*, 116(1), 105–116.
<https://doi.org/10.1080/00986449208936047>
- Kim, S.-J., & Ustunol, Z. (2001). *Solubility and Moisture Sorption Isotherms of Whey-Protein-Based Edible Films as Influenced by Lipid and Plasticizer Incorporation*.
<https://doi.org/10.1021/jf010122q>

- Knoblich, M., Anderson, B., & Latshaw, D. (2005). Analyses of tomato peel and seed byproducts and their use as a source of carotenoids. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 85(7), 1166–1170. <https://doi.org/10.1002/jsfa.2091>
- Lomeli-Ramírez, M. G., Kestur, S. G., Manríquez-González, R., Iwakiri, S., de Muniz, G. B., & Flores-Sahagun, T. S. (2014). Bio-composites of cassava starch-green coconut fiber: Part II—Structure and properties. *Carbohydrate Polymers*, 102, 576–583. <https://doi.org/10.1016/J.CARBPOL.2013.11.020>
- Manrich, A., Moreira, F. K. V., Otoni, C. G., Lorevice, M. V., Martins, M. A., & Mattoso, L. H. C. (2017). Hydrophobic edible films made up of tomato cutin and pectin. *Carbohydrate Polymers*, 164, 83–91. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2017.01.075>
- Nunes, C. A., Freitas, M. P., Pinheiro, A. C. M., & Bastos, S. C. (2012). Chemoface: a novel free user-friendly interface for chemometrics. *Journal of the Brazilian Chemical Society*, 23(11), 2003–2010.
- Ochoa-Yepes, O., Di Gioglio, L., Goyanes, S., Mauri, A., & Famá, L. (2019). Influence of process (extrusion/thermo-compression, casting) and lentil protein content on physicochemical properties of starch films. *Carbohydrate Polymers*, 208(4), 221–231. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2018.12.030>
- Pu, C., & Tang, W. (2017). Encapsulation of lycopene in *Chlorella pyrenoidosa*: Loading properties and stability improvement. *Food Chemistry*, 235, 283–289. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2017.05.069>
- Shantha, N. C., & Decker, E. A. (1994). Rapid, Sensitive, Iron-Based Spectrophotometric Methods for Determination of Peroxide Values of Food Lipids. *Journal of AOAC INTERNATIONAL*, 77(2), 421–424. <https://doi.org/10.1093/jaoac/77.2.421>
- Silva, L. C. (2017). *CARACTERIZAÇÃO QUÍMICA E OTIMIZAÇÃO DO PROCESSO DE EXTRAÇÃO DE LICOPENO* [Universidade Estadual de Campinas]. http://repositorio.unicamp.br/bitstream/REPOSIP/331593/1/Silva_LeticiaCardosoDa_M.pdf
- Souza, G., Santos, A., & Vinhas, G. (2016). Avaliação das propriedades da blenda de poli(3-hidroxi-butirato)/quitosana após esterilização térmica ou radiolítica. *Polímeros*, 26(4), 352–359. <https://doi.org/10.1590/0104-1428.2215>
- Spínola, V., Mendes, B., Câmara, J. S., & Castilho, P. C. (2013). Effect of time and temperature on vitamin C stability in horticultural extracts. UHPLC-PDA vs iodometric

- titration as analytical methods. *LWT - Food Science and Technology*, 50(2), 489–495.
<https://doi.org/10.1016/j.lwt.2012.08.020>
- Teixeira, E. de M., Curvelo, A. A. S., Corrêa, A. C., Marconcini, J. M., Glenn, G. M., & Mattoso, L. H. C. (2012). Properties of thermoplastic starch from cassava bagasse and cassava starch and their blends with poly (lactic acid). *Industrial Crops and Products*, 37(1), 61–68. <https://doi.org/10.1016/J.INDCROP.2011.11.036>
- Wang, N., Zhang, X., Han, N., & Bai, S. (2009). Effect of citric acid and processing on the performance of thermoplastic starch/montmorillonite nanocomposites. *Carbohydrate Polymers*, 76(1), 68–73. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2008.09.021>
- Wollerdorfer, M., & Bader, H. (1998). Influence of natural fibres on the mechanical properties of biodegradable polymers. *Industrial Crops and Products*, 8(2), 105–112. [https://doi.org/10.1016/S0926-6690\(97\)10015-2](https://doi.org/10.1016/S0926-6690(97)10015-2)
- Yang, H., Yan, R., Chen, H., Lee, D. H., & Zheng, C. (2007). Characteristics of hemicellulose, cellulose and lignin pyrolysis. *Fuel*, 86(12–13), 1781–1788. <https://doi.org/10.1016/J.FUEL.2006.12.013>
- Yin, P., Dong, X., Zhou, W., Zha, D., Xu, J., Guo, B., & Li, P. (2020). A novel method to produce sustainable biocomposites based on thermoplastic corn-starch reinforced by polyvinyl alcohol fibers. *RSC Advances*, 10(40), 23632–23643. <https://doi.org/10.1039/d0ra04523c>
- Yuan, Y., Zhang, L., Dai, Y., & Yu, J. (2007). Physicochemical properties of starch obtained from *Dioscorea nipponica* Makino comparison with other tuber starches. *Journal of Food Engineering*, 82(4), 436–442. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2007.02.055>
- Zepon, K. M., Petronilho, F., Soldi, V., Salmoria, G. V., & Kanis, L. A. (2014). Production and characterization of cornstarch/cellulose acetate/silver sulfadiazine extrudate matrices. *Materials Science and Engineering C*, 44, 225–233. <https://doi.org/10.1016/j.msec.2014.08.011>
- Zhang, M., Resende, F. L. P., Moutsoglou, A., & Raynie, D. E. (2012). Pyrolysis of lignin extracted from prairie cordgrass, aspen, and Kraft lignin by Py-GC/MS and TGA/FTIR. *Journal of Analytical and Applied Pyrolysis*, 98, 65–71. <https://doi.org/10.1016/j.jaap.2012.05.009>

ARTIGO 3: INCORPORAÇÃO DE MICROPARTÍCULAS DE EXTRATO DE CAMU-CAMU EM BLENDA DE PROTEÍNA DE SOJA/AMIDO DE MANDIOCA

Laura Fonseca Ferreira, Jayne de Abreu Figueiredo, Alfredo Rodrigues de Sena Neto, Soraia Vilela Borges, Maria Alice Martins, Marali Vilela Dias

RESUMO

Devido ao seu alto potencial antioxidante, a incorporação de extrato de camu-camu em polímeros, é interessante para a obtenção de embalagens ativas antioxidantes e para valorização da cadeia produtiva do camu-camu. Portanto, objetivou-se o desenvolvimento e a avaliação de blendas antioxidantes de isolado proteico de soja/amido de mandioca incorporados com micropartículas encapsuladas de extrato de camu-camu (MC). As blendas foram formuladas contendo 60% de proteína e 40% de amido (PA) e as MC foram posteriormente incorporadas em uma proporção de PA:MC de 100:0, 90:10 e 80:20 (PA₁₀₀-MC₀; PA₉₀-MC₁₀; PA₈₀-MC₂₀, respectivamente). Foram caracterizadas por microscopia eletrônica de varredura (MEV) e espectroscopia na região do infravermelho com transformada de Fourier (FTIR), isotermas de sorção de água, permeabilidade ao vapor de água (PVA), propriedades ópticas e atividade antioxidante. Foi observado boa interação entre PA e MC pelas análises de MEV e FTIR. Os tratamentos apresentaram baixa umidade de equilíbrio em atividades de água (aa) abaixo de 0,75. Além disso, a incorporação de MC diminuiu o teor de umidade da monocamada e a umidade de equilíbrio dos tratamentos, conseqüentemente, também foi observado uma diminuição da PVA. PA₁₀₀-MC₀ apresentou estabilidade térmica até 220 °C, enquanto PA₉₀-MC₁₀ e PA₈₀-MC₂₀ tiveram início de degradação próximos à 180 °C, devido a menor estabilidade térmica das MC. Os tratamentos apresentaram baixa transparência, e a incorporação de MC resultou em uma tonalidade marron avermelhada. Foi observado atividade antioxidante de 59,7% e 79,4% para PA₉₀-MC₁₀ e PA₈₀-MC₂₀, respectivamente, enquanto PA₁₀₀-MC₀ apresentou apenas 3,81%. Os resultados mostram que PA₉₀-MC₁₀ e PA₈₀-MC₂₀ tem potencial para serem usados em embalagens para alimentos secos que sejam susceptíveis a oxidação lipídica.

Palavras-chave: Embalagens ativas; isotermas de sorção de água; propriedades ópticas, FTIR.

1. INTRODUÇÃO

A embalagem desempenha um papel fundamental na cadeia de abastecimento alimentar, pois atende à necessidade fundamental de manter a qualidade e segurança dos alimentos, desde a produção até o consumo final, evitando quaisquer alterações químicas e biológicas indesejadas. Assim, a embalagem atua como uma barreira para proteger os alimentos de influências ambientais, como oxigênio, umidade, luz, poeira, pragas, voláteis e contaminação química e microbiológica. A embalagem ativa é uma alternativa para manter ou prolongar a vida útil de produtos alimentícios, garantindo sua qualidade, segurança e integridade, pois ela compreende um sistema de embalagem que interagem com o alimento que liberaram ou absorvem substâncias para o alimento (Byun et al., 2010; Cruz-Romero et al., 2013; de Castro e Silva et al., 2019; Dias et al., 2013; López-de-Dicastillo et al., 2010; Pavoni et al., 2019; Pelissari et al., 2009; Teixeira et al., 2014; Yildirim et al., 2018; Zhang et al., 2020).

Dentre as embalagens ativas, as embalagens antioxidantes são bastante estudadas, pois uma das principais causas da deterioração dos alimentos é a oxidação lipídica (Abdollahi et al., 2012; Assis et al., 2017; Barbosa-Pereira et al., 2013; Dias et al., 2014; Ferreira, et al., 2021; Granda-Restrepo et al., 2009; Lomeli-Ramírez et al., 2014; López-de-Dicastillo et al., 2010; Zhang et al., 2020). O camu-camu (*Myrciaria dubia* Mc. Vaugh) é uma fruta nativa da região amazônica, contém excesso de vitamina C, mais do que a acerola e o açaí (Rufino et al., 2010). O camu-camu também possui polifenóis, como o ácido gálico e o ácido elágico, este último presente em quantidades consideráveis independentemente da maturidade da fruta (Chirinos et al., 2010). Porém, o camu-camu ainda é pouco explorado comercialmente. Assim, a aplicação de extrato de camu-camu como agente antioxidante em embalagens ativas é promissor, devido ao seu rico conteúdo em vitamina C e polifenóis e pela valorização da cadeia produtiva do camu-camu (Ju & Song, 2019).

O uso de biopolímeros em embalagens ativas, como amido de mandioca e isolado proteico de soja, é interessante por serem materiais atóxicos, pois estes materiais irão interagir diretamente com alimento (Youssef & El-Sayed, 2018). Além disso, são materiais produzidos a partir de matéria-prima renovável, podem ser biodegradáveis (Assis et al., 2017; González et al., 2011), são produzidos em grande escala no Brasil e possuem baixo custo de produção em relação a outros biopolímeros.

Um fator importante no desenvolvimento de novas embalagens é conhecer a resistência à umidade das embalagens. O teor de umidade influencia as propriedades químicas e físicas do material, determina também processos como deterioração dos alimentos e propriedades de textura e corânica. Conhecer o comportamento de sorção de água dos materiais para embalagens

de alimentos, pode ser usado para prever informações sobre as mudanças de estabilidade e qualidade do produto alimentício embalado. Mais do que isso, permite prever o comportamento do material sob diferentes condições de umidade dentro e fora da embalagem (Lara et al., 2020). A PVA dos materiais para embalagem também é um fator importante para estimar a vida útil do produto, pois com essa análise é possível prever quanto de vapor de água pode ser transferida do ambiente interno ou externo através do material (Ballesteros-Mártinez et al., 2020).

As propriedades óticas dos materiais também são importantes no desenvolvimento de embalagens para alimentos, visto que estão intimamente ligadas a aceitação do produto. Além disso, as embalagens podem servir como barreira a luz para alimentos que sejam sensíveis a oxidação, já que a presença de luz pode catalisar reações de oxidação (Dias et al. 2014).

A produção de polímeros em larga escala pelo processo de extrusão é vantajosa por ser o método mais utilizado industrialmente e já estar consolidado, também facilita a entrada destes materiais no mercado por não serem necessárias aquisições de novas máquinas e diferentes métodos de produção (Franzoso et al., 2016; Ochoa-Yepes et al., 2019).

Diante do exposto, o objetivo deste estudo foi desenvolver blendas ativas de proteína isolada de soja e amido de mandioca incorporadas com micropartículas encapsuladas de extrato de camu-camu e avaliar a morfologia, por FTIR e MEV; a resistência a umidade, pela análise de isoterma de sorção de água, umidade e PVA; a decomposição térmica, por meio de termogravimetria, as propriedades óticas de cor e transparência, e atividade antioxidante *in vitro* pelo método de eliminação do radical estável de 1,1-difenil-2-picrilhidrazil (DPPH).

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Material

O isolado proteico de soja com 90% de proteínas foi adquirido pela Doremus Alimentos, Guarulhos, Brasil. O amido de mandioca esterificado acetilado foi fornecido pela Cassava, Rio do Sul, Brasil (SISGEN authorization AE52C22). O glicerol P. A. (99,5%) foi adquirido pela Sigma-Aldrich, Saint Louis, EUA. O ácido esteárico P. A. (95%) foi adquirido pela Êxodo Científica, Sumaré, Brasil. O ácido cítrico monohidratado A. C. S. (99,5%) foi adquirido pela Proquimios Comércio e Indústria Ltda. As micropartículas encapsuladas de extrato de camu-camu (SISGEN authorization AE52C22) com inulina como material de parede e com diâmetro médio de superfície de 8.68 μm , foram desenvolvidas em laboratório e caracterizadas por estudos prévios (Figueiredo et al., 2020a; Figueiredo et al., 2020b).

2.2 Delineamento experimental

Foi utilizado um delineamento inteiramente casualizado com três repetições, onde foram testados os efeitos da incorporação de três concentrações de micropartículas encapsuladas de extrato de camu-camu (MC) (0, 10, 20 %) na blenda polimérica de isolado proteico de soja e amido termoplástico (PA).

2.3 Desenvolvimento das blendas ativas

A PA foi realizada de acordo com a metodologia descrita por Ferreira et al. (2021). Para isso, 36% (m/m) de isolado de proteína de soja; 24% (m/m) de amido de mandioca; 24% (m/m) de glicerol; 14% (m/m) de água destilada; 1% (m/m) de ácido esteárico e 1% (m/m) de ácido cítrico mono-hidratado foram misturados manualmente e processados em extrusora dupla-rosca co-rotativa NZ Philpolymer, modelo SLSJ20 (São Roque, Brasil), com rosca de diâmetro (D) = 20 mm, com L/D = 40, equipado com sete zonas de aquecimento. A alimentação foi feita manualmente, e a mistura contendo todos os ingredientes foi adicionada na primeira zona de aquecimento. A velocidade de rotação da rosca foi de 100 rpm e o perfil de temperatura foi de 80, 90, 90, 100, 100, 110, 110 ° C, da zona de alimentação até a saída da matriz. Os peletes das blendas foram obtidos utilizando um peletizador acoplado à extrusora.

Para incorporação das MC. Os peletes obtidos foram misturados manualmente às MC nas proporções de peletes de AP:MC de 100:0; 90:10; 80:20 (PA₁₀₀-MC₀; PA₉₀-MC₁₀; PA₈₀-MC₂₀) e o processo de extrusão foi repetido utilizando o mesmo equipamento e mesma alimentação operando a velocidade de rotação da rosca de 100 rpm e o perfil de temperatura foi 70, 80, 90, 90, 95, 100, 100 °C. Os peletes obtidos da segunda extrusão foram prensados a temperatura de 110 °C em prensa hidráulica Matoli, modelo 370M015 (Piracicaba, Brasil), com capacidade para 10 toneladas, sendo realizados 5 ciclos rápidos de prensagem de 1 ton, seguido de dois ciclos de prensagem, o primeiro com 1.5 ton por 2 min, o segundo com 3 ton por 3 min (Ferreira, et al., 2021).

2.4 Espectroscopia na região do infravermelho com transformada de Fourier

Foi empregado um espectrômetro FT-IR Varian 600-IR com transformada de Fourier, com acessório GladiATR da Pike Technologies acoplado para medidas por reflectância total atenuada (ATR). A faixa espectral analisada foi de 400 a 4.000 cm⁻¹, resolução de 4cm⁻¹ e 32 varreduras (Ferreira et al., 2021).

2.5 Isoterma de sorção de água

A isoterma de adsorção de água foi determinada por método gravimétrico estático na temperatura de 25 °C utilizando soluções salinas saturadas de cloreto de lítio, cloreto de magnésio, nitrato de magnésio, cloreto de sódio, cloreto de potássio e sulfato de potássio, com atividades de água (a_a) de 0,113; 0,328; 0,529; 0,753; 0,843 e 0,988, respectivamente. Os modelos matemáticos de Guggenheim, Anderson e de Boer (GAB) (Van den Berg & Bruin, 1981), de Halsey (Halsey, 1948), Smith (Smith, 1947) e de Oswin (Oswin, 1946) foram ajustados aos dados da isoterma de adsorção de umidade e a atividade de água, a partir das Equações 1 a 4, respectivamente:

$$X_{eq} = X_0 \cdot C \cdot K \cdot a_a / [(1 - K \cdot a_a) (1 - K \cdot a_a + C \cdot K \cdot a_a)] \quad (1)$$

em que, X_{eq} é a umidade de equilíbrio (b.s.), a_a é a atividade de água, X_0 é umidade da monocamada (b.s.), C é a constante de Guggenheim e K é constante da equação.

$$X_{eq} = [-A / (T \cdot \ln a_a)]^{1/B} \quad (2)$$

em que, X_{eq} é a umidade de equilíbrio (b.s.), a_a é a atividade de água, A é constante e T é a temperatura.

$$X_{eq} = A + B \cdot \log(1 - a_a) \quad (3)$$

em que, X_{eq} é a umidade de equilíbrio (b.s.), a_a é a atividade de água, A e B são constantes.

$$X_{eq} = A[a_a / (1 - a_a)]^B \quad (4)$$

em que, X_{eq} é a umidade de equilíbrio (b.s.), a_a é a atividade de água, A e B são constantes.

2.6 Termogravimetria

A degradação térmica dos tratamentos estudados foi analisada em um Analisador Termogravimétrico TGA Q-60H (TA Instruments). Este equipamento foi operado sob atmosfera de ar sintético com fluxo de 50 mL.min⁻¹, entre a temperatura ambiente e 600 °C a uma taxa de aquecimento de 10 °C.min⁻¹ (Ferreira et al., 2021).

2.7 Microscopia eletrônica de varredura

A morfologia dos tratamentos foi realizada em microscópio eletrônico de varredura JSM 6510 JEOL (Peabody, Massachusetts, USA) com voltagem de aceleração de 10 kV. Foram obtidas imagens de superfície e da fratura criogênica dos tratamentos. Para isso, os corpos-de-prova foram montados em “stubs” com fita de carbono em posições para observação superficial e transversal, posteriormente revestidos em ouro sob vácuo (metalização) e fotomicrografados (Begali et al., 2021).

2.8 Permeabilidade ao vapor de água

A permeabilidade ao vapor de água (PVA) dos tratamentos foi avaliada pelo método gravimétrico, de acordo com o método E96/E96M – 10. Os tratamentos foram selados em cápsulas de nylon com área circular de penetração de 21cm² contendo sílica como dessecante no seu interior, para manter a umidade relativa interna próximo de 0% de umidade relativa (UR). As cápsulas foram colocadas em uma câmara úmida contendo com solução saturada de cloreto de sódio (NaCl), para manter a umidade relativa externa a 75% UR, e temperatura 23°C ± 2°C. As cápsulas foram pesadas a cada 24 h por oito dias. Mudanças no peso foram plotadas em função do tempo. A PVA (g.m⁻¹.s⁻¹.Pa⁻¹) foi calculado usando a Equação 5:

$$PVA = \frac{w \cdot x}{A \cdot t \cdot (P_2 - P_1)} \quad (5)$$

em que, w é o ganho de peso da cápsula (g); x é a espessura do material (m); A é a área exposta do material (m²); t é o tempo de ganho (s); (P₂ – P₁) é a diferença de pressão de vapor externo e interno nas cápsulas (Pa).

2.9 Propriedades óticas

Para avaliação da transparência dos tratamentos foi usado um espectrofotômetro Bel SPECTRO S-2000 (Monza, Itália). As leituras foram feitas no modo transmitância (%T) a 600nm de acordo com o método ASTM D1746-03. A transparência a 600 nm (T₆₀₀) foi calculada pela Equação (6) de Han e Floros (1997):

$$T_{600} = (\text{Log \%T}) / \delta \quad (6)$$

em que, δ é a espessura do polímero.

Para mensurar os parâmetros de cor dos tratamentos, foi utilizado um colorímetro Color reader CR-10 (Konica Minolta, Osaka, Japão) com área de medição de 8 mm, em adição à geometria 8/d e condições de iluminante padrão D65 e observador a 10°, para medição dos parâmetros L*, a* e b* de acordo com a ISO 11 664-4.

2.10 Atividade antioxidante

A atividade antioxidante dos tratamentos foi avaliada pelo método de captura do radical livre 1,1-difenil-2-picrilhidrazil (DPPH). 0,2 g de cada tratamento foi cortado em pequenos pedaços e misturados com 2 mL de etanol 80%. As misturas foram vigorosamente agitadas em Vortex por 3 min e permaneceram em repouso a temperatura ambiente por 3 h. Em seguida, foram agitadas novamente por mais 3 min em Vortex. Uma alíquota do extrato etanólico foi adicionada com 3,9 mL de DPPH a 0,1 mM em etanol 80%. As misturas foram vigorosamente agitadas em Vortex por 1 min e deixadas em repouso no escuro por 30 min. A absorbância foi medida a 517 nm usando um espectrômetro (SPECTROPHOTOMETER SP 2000UV). O etanol 80% com DPPH 0,1 mM foi utilizado como controle (A_{controle}). A atividade sequestradora de radicais foi calculada de acordo com a Equação 7 (Byun et al., 2010):

$$(\%)AA = \frac{A_{\text{controle}} - A_{\text{amostra}}}{A_{\text{controle}}} \times 100 \quad (7)$$

em que, A_{controle} é a solução DPPH sem a amostra e A_{amostra} é a amostra com DPPH

2.11 Análise dos resultados

Os resultados das análises de umidade, solubilidade, PVA, AA e propriedades ópticas foram avaliados utilizando o software Sisvar[®]. Os resultados foram submetidos à análise de variância (ANOVA) e as médias foram comparadas entre si pelo teste de Tukey ao nível de significância de 5% (Ferreira, 2019).

Os espectros de FTIR foram normalizados utilizando o software Origin[®] 9.0.

Os parâmetros das equações ajustadas nas isotermas de adsorção foram estimados, correlacionando o modelo de GAB aos dados experimentais, utilizando regressão não linear Quasi-Newton a um nível de 5% de significância. O ajuste adequado foi considerado com base no coeficiente de determinação (R^2) e no módulo do desvio relativo médio (E), definido pela Equação (8):

$$E = \left(\frac{100}{N}\right) \sum_{i=1}^n \frac{|m_i - m_{pi}|}{m_i} \quad (8)$$

Em que, m_i é o valor experimental, m_{pi} o valor predito e N a população de dados experimentais.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 Espectroscopia na região do infravermelho com transformada de Fourier

Na Figura 1 é possível observar os espectros de FTIR dos tratamentos. A banda situada próximo a 3260 cm^{-1} está relacionada ao alongamento de O–H e N–H. A banda em 2927 cm^{-1} corresponde ao alongamento simétrico dos grupos C–H. Ambas as bandas são características tanto da PA (Ferreira et al., 2020) quanto das MC (Figueiredo et al., 2020a). A banda em 1632 cm^{-1} está relacionada com a vibração de alongamento de C–N dos polissacarídeos e proteínas presentes em PA (Ferreira et al., 2020), em PA90-MC10 e PA80-MC20 foi observado um aumento de intensidade deste pico (Figura 1b), o que pode indicar que as proteínas presentes na PA se ligaram com a inulina presente nas MC. O pico em 933 cm^{-1} é atribuído a ligação C–O–C e também foi observado um aumento da intensidade desta banda para os tratamentos PA90-MC10 e PA80-MC20 (Figura 1c), o que pode indicar que também ocorreu interação entre a inulina e o amido presente na PA. A banda em 1024 cm^{-1} corresponde à flexão C–O–H e aparece em todos os tratamentos (Figueiredo et al., 2020a). Em 817 cm^{-1} foi observado um ligeiro pico para PA90-MC10 e PA80-MC20 (Figura 1d). Este pico corresponde às deformações angulares de anéis aromáticos dos compostos fenólicos presentes no extrato de camu-camu (Larrosa et al., 2018).

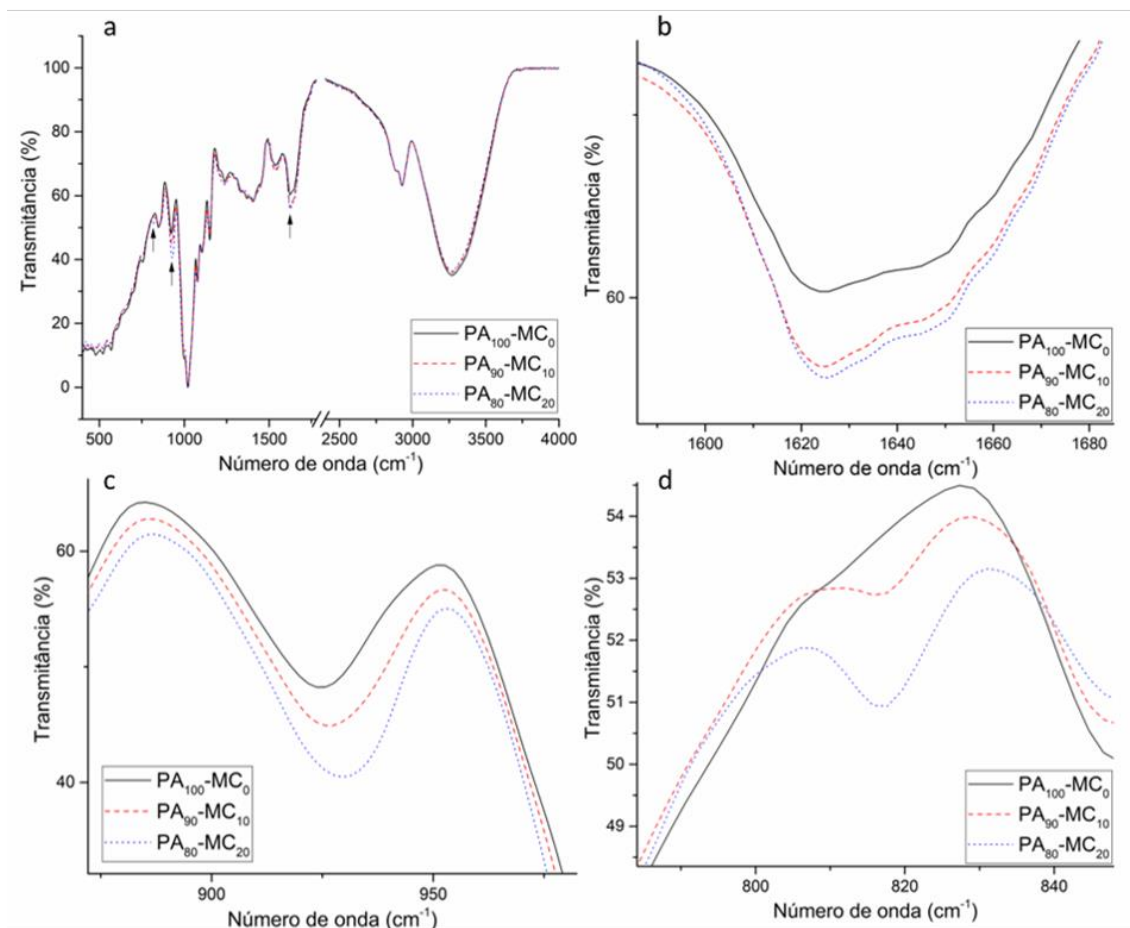


Figura 1 - Espectros de FTIR dos tratamentos PA₁₀₀-MC₀ (blenda de 60 % de isolado proteico e 40 % de amido termoplástico) PA₉₀-MC₁₀ (90 % da blenda e 10 % de micropartículas de extrato de camu-camu encapsulado) e PA₈₀-MC₂₀ (80 % da blenda e 20 % de micropartículas de extrato de camu-camu encapsulado).

3.2 Microscopia eletrônica de varredura

As micrografias de superfície dos tratamentos (Figura 2a, b e c) exibiram partículas que podem ser grânulos de amido ou proteína não plastificados ou moléculas que sofreram recristalização (Begali et al., 2021), as partículas diminuíram com o aumento da proporção de MC. Nas micrografias do corte transversal dos tratamentos (Figura 2d, e e f) é possível observar uma estrutura mais rugosa e menos homogênea para o tratamento PA100-MC0 (Figura 2 d) quando comparado com os demais tratamentos. O tratamento PA80-MC20 foi o que apresentou uma estrutura mais compacta e mais homogênea (Figura 2 f). A inulina, que é o material de parede das MC, interagiu quimicamente com o amido e a proteína da PA, como pode ser observado nos espectros de FTIR. A microencapsulação com materiais de parede compatíveis com a matriz polimérica facilita a dispersão das micropartículas no polímero, isso pode ter

auxiliado para a formação de uma estrutura mais íntegra e com menos rachaduras e defeitos (Crizel et al., 2018).

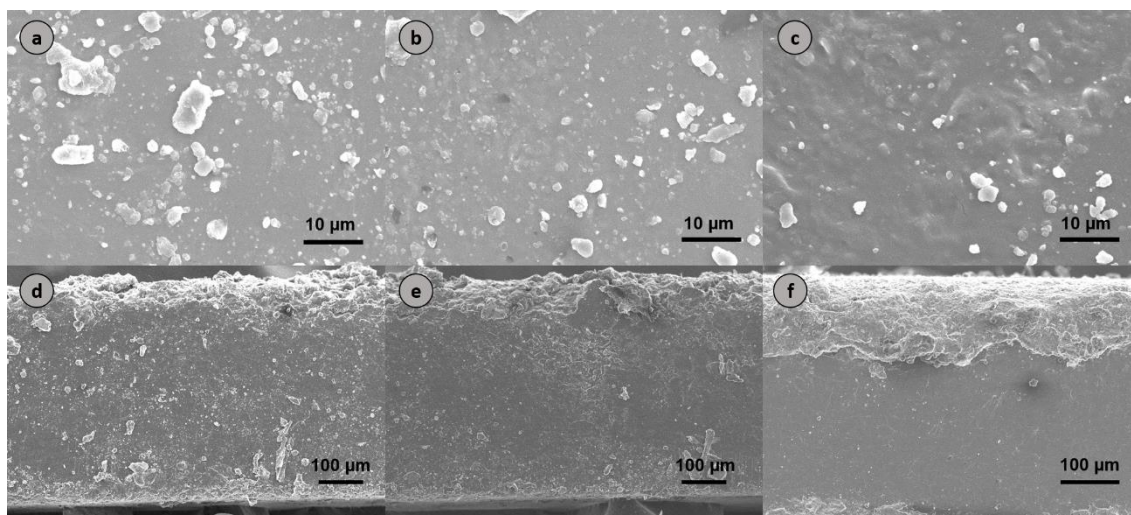


Figura 2 – Micrografias de MEV da superfície e do corte transversal dos tratamentos (a e d) PA₁₀₀-MC₀ (blenda de 60 % de isolado proteico e 40 % de amido termoplástico); (b e e) PA₉₀-MC₁₀ (90 % da blenda e 10 % de micropartículas de extrato de camu-camu encapsulado) e (c e f) PA₈₀-MC₂₀ (80 % da blenda e 20 % de micropartículas de extrato de camu-camu encapsulado), respectivamente.

3.3 Isotermas de sorção de água

O modelo de GAB se ajustou melhor aos dados experimentais, apresentando R² acima de 99% e valores de E(%) abaixo de 10% para todos os tratamentos (Tabela 1). O modelo matemático de GAB descreve de maneira satisfatória o comportamento de isotermas de adsorção de água em uma ampla faixa de atividade de água (a_w). Foi demonstrado que ele se ajusta bem aos dados de adsorção de umidade para muitos produtos alimentícios (Samaniego-Esguerra et al., 1991), bem como para filmes de isolado proteico (Azevedo et al., 2015; Kim & Ustunol, 2001; Lara et al., 2020) e de amido (Martelli et al., 2017; Perdomo et al., 2009).

Tabela 1 – Valores estimados dos parâmetros e coeficientes estatísticos para adequação do modelo de GAB às isotermas de adsorção a 25°C dos tratamentos.

Coeficientes	PA₁₀₀-MC₀	PA₉₀-MC₁₀	PA₈₀-MC₂₀
X₀	15,2822	12,4037	12,1848
C	36751,7	15096,8	721,96
K	0,9349	0,9558	0,9530
R²	0,9973	0,9993	0,9975
E(%)	4,272	3,712	4,567

X₀: teor de umidade da monocamada (g de água·100g⁻¹ base seca); C, K: constantes do modelo relacionadas com propriedades de monocamada e multicamada, respectivamente; R²: coeficiente de determinação; E (%): módulo de desvio relativo médio; PA₁₀₀-MC₀: blenda de 60 % de isolado proteico e 40 % de amido termoplástico; PA₉₀-MC₁₀: 90 % da blenda e 10 % de micropartículas de extrato de camu-camu encapsulado e PA₈₀-MC₂₀: 80 % da blenda e 20 % de micropartículas de extrato de camu-camu encapsulado.

PA₉₀-MC₁₀ e PA₈₀-MC₂₀ apresentaram valores do teor de umidade da monocamada (X₀) (Tabela 1) e umidade de equilíbrio (X_{eq}) menores (Figura 3) que PA₁₀₀-MC₀. Como foi observado nos espectros de FTIR e nas micrografias de MEV, ocorreu interação química entre as MC e a PA, o que resultou em um material mais íntegro. Isso provavelmente dificultou a penetração de moléculas de água na matriz polimérica. Crizel et al. (2018) estudaram isotermas de sorção de água a 25 °C de filmes biodegradáveis de gelatina incorporados com micropartículas encapsuladas de casca do mamão em pó. Os autores observaram resultado semelhante ao observado neste estudo, os filmes de gelatina apresentaram maior X_{eq} quando comparados com os filmes incorporados com as micropartículas. Este comportamento foi atribuído a maior compactação da matriz polimérica com a incorporação das micropartículas, o que dificulta a penetração de umidade no filme. Os autores relataram que à devido a compatibilidade dos materiais de parede da microencapsulação com a matriz polimérica, ocorreu a dispersão das micropartículas no polímero e o preenchimento de espaços livres na matriz polimérica.

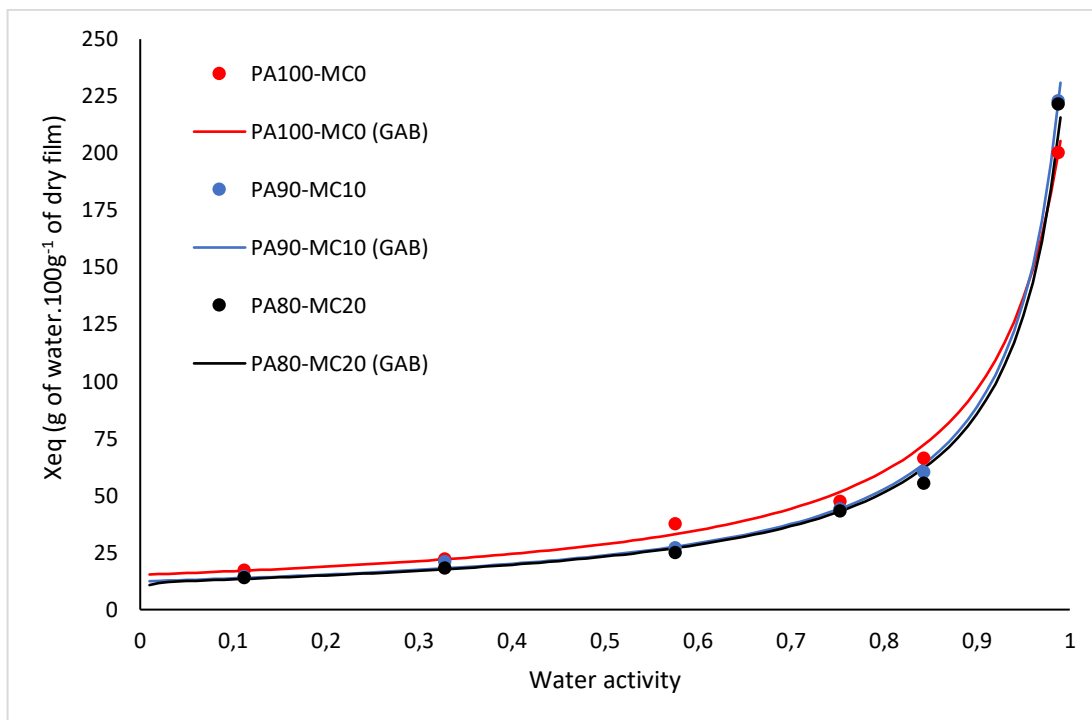


Figura 3 - Isotermas de adsorção dos tratamentos, pontos experimentais e curvas ajustadas ao modelo de GAB a 25°C. Xeq: teor de umidade de equilíbrio; PA₁₀₀-MC₀: blenda de 60 % de isolado proteico e 40 % de amido termoplástico; PA₉₀-MC₁₀: 90 % da blenda e 10 % de micropartículas encapsuladas de extrato de camu-camu e PA₈₀-MC₂₀: 80 % da blenda e 20 % de micropartículas encapsuladas de extrato de camu-camu.

O valor de X₀ corresponde ao teor de água fortemente adsorvida em locais específicos do material, enquanto X_{eq} corresponde ao teor de umidade de equilíbrio alcançado pelo material em uma determinada condição atmosférica por um longo período. A redução dos valores de X_{eq} e X₀ é vantajoso para materiais destinados à embalagem de alimentos, pois quanto maior a X_{eq} e X₀, menor é a resistência a umidade do material, causando maiores mudanças nas estruturas físicas e favorecendo a desintegração deste material (Goula et al., 2008).

Nas curvas de isotermas de adsorção de umidade preditas pelo modelo de GAB dos tratamentos testados a 25 °C é possível observar que todos os tratamentos apresentaram um aumento nos valores de X_{eq} com o aumento da aa, podendo ser observado uma maior adsorção de água nas aa acima de 0,75 (Figura 3). Lara et al., (2020) observaram um comportamento semelhante para blendas de isolado proteico de soro de leite e álcool polivinílico. Os autores atribuíram este comportamento a dois possíveis fatores: ao efeito plastificante causado pelas moléculas de água e à maior pressão de vapor em maiores aa. Isto porque em valores acima de

0,70 de atividade de água, há uma maior quantidade de água livre disponível para participar de reações químicas e físicas. Com isso, as moléculas de água podem causar alterações estruturais como o efeito plastificante e intumescimento, o que aumenta o volume livre e facilita a entrada de água no material, resultando em maiores quantidades de água sorvida. O outro fator ocorre, pois, a sorção de vapor de água é diretamente afetada pela pressão quando existe uma interação considerável entre o vapor de água e o polímero, como é o caso em macromoléculas hidrofílicas. Neste caso aa acima de 0,75 resultam em pressões de vapor mais altas, pois a atividade de água é a razão entre a pressão de vapor de água de um material e a pressão de vapor de água pura na mesma temperatura, facilitando assim a adsorção de água pelo polímero. Com base na classificação de Brunauer, Emmett e Teller, materiais com $0 \leq K \leq 1$ e $C > 2$ são do tipo II e aqueles com $0 \leq K \leq 1$ e $0 \leq C \leq 2$ são do tipo III (Mohammadi et al., 2014). Portanto, os tratamentos exibiram um comportamento do tipo II. Essa isoterma considera a existência de multicamadas na superfície interna de um material (Andrade et al., 2011). Estudos realizados em filmes de isolado proteico (Azevedo et al., 2015; Kim & Ustunol, 2001; Lara et al., 2020) e de amido (Martelli et al., 2017; Perdomo et al., 2009).

Em relação ao aspecto visual dos tratamentos, foi observado maior opacidade a partir da aa de 0,75 para todos os tratamentos devido à grande adsorção de umidade. Em 0,84 foi possível observar água condensada na superfície e em 0,9 os tratamentos estavam com uma maior quantidade de água em sua superfície e estavam parcialmente solubilizados (Figura 4). Devido a maior adsorção de umidade e alteração no aspecto visual do material, é recomendado sua aplicação em embalagens para alimentos com aa abaixo de 0,75 e armazenagem em UR abaixo de 75%.

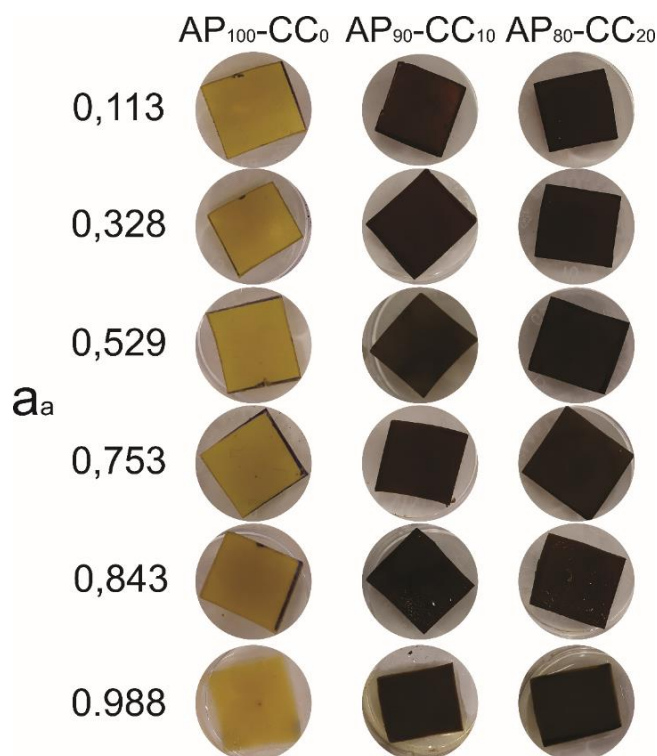


Figura 4 – Aspecto final dos tratamentos submetidos às diferentes umidades relativas na temperatura de 25 °C. PA₁₀₀-MC₀: blenda de 60 % de isolado proteico e 40 % de amido termoplastico; PA₉₀-MC₁₀: 90 % da blenda e 10 % de micropartículas de extrato de camu-camu encapsulado e PA₈₀-MC₂₀: 80 % da blenda e 20 % de micropartículas de extrato de camu-camu encapsulado.

3.4 Umidade e permeabilidade ao vapor de água

Os valores de umidade e PVA dos tratamentos reduziram significativamente ($p < 0,05$) com a adição de MC (Tabela 2). A umidade e a PVA dos polímeros estão diretamente relacionadas com a adsorção de água. A PVA depende de três mecanismos para ocorrer o transporte do vapor de água nos polímeros: sua adsorção na superfície do material, a difusão através do material e, finalmente, dessorção do vapor de água na superfície (Garrido et al., 2016). Como foi observado na análise de isoterma de sorção de água, o X_{eq} foi menor para PA₉₀-MC₁₀ e PA₈₀-MC₂₀, ou seja, os tratamentos contendo MC tiveram menor sorção de água. Este comportamento resultou em menores valores de PVA e umidade para estes tratamentos.

Tabela 2 – Umidade (%) e permeabilidade ao vapor de água (PVA) dos tratamentos

Tratamentos	Umidade	PVA
PA ₁₀₀ -MC ₀	14.4 ^b ± 0,7	1,33 ^b ± 0,09
PA ₉₀ -MC ₁₀	12.7 ^a ± 0,2	1,14 ^{a,b} ± 0,04
PA ₈₀ -MC ₂₀	11,8 ^a ± 0,3	1,02 ^a ± 0,10

Duas médias seguidas de uma letra diferente na mesma coluna são significativamente ($p < 0,05$) diferentes pelo teste de Tukey.

3.5 Termogravimetria

Foi observado uma leve perda de massa na faixa de 50 a 175 °C, que está associada à perda de umidade e compostos voláteis (Figura 5), para PA₉₀-MC₁₀ e PA₈₀-MC₂₀. A redução da massa (W_{loss}) na primeira etapa foi um pouco menor em relação ao PA₁₀₀-MC₀. O que indica que os tratamentos contendo as MC tiveram menor adsorção de umidade que o PA₁₀₀-MC₀, este resultado corrobora com os valores de X_0 e X_{eq} observados na análise de isotermas de sorção de água.

Para PA₉₀-MC₁₀ e PA₈₀-MC₂₀, na segunda etapa de degradação, foi observado o pico na DTG com velocidade máxima de degradação (T_{max}) em 203 °C e 213 °C, respectivamente (Tabela 3). Este pico de perda de massa não foi observado na curva de DTG de PA₁₀₀-MC₀, pois está associado a degradação das micropartículas de camu-camu. Figueiredo et al. (2020a) observaram que a degradação da inulina presente na parede das MC ocorreu em torno de 180 °C. O aumento da temperatura de degradação das MC na PA quando comparado TG delas isoladas, realizada no estudo de Figueiredo et al. (2020a), pode ser explicado devido à interação das MC com a PA. Além disso, foi observado um deslocamento de 10 °C para PA₈₀-MC₂₀ em relação a PA₉₀-MC₁₀, o camu-camu é rico em compostos antioxidantes, como o ácido ascórbico (Fidelis et al., 2018), a presença de agentes antioxidantes no material pode ter retardado sua termo-oxidação (Kim et al., 1992). Nesta etapa, PA₈₀-MC₂₀ apresentou maior perda de massa quando comparado com PA₉₀-MC₁₀, o que era esperado, pois, PA₈₀-MC₂₀ contém maior porcentagem de micropartículas encapsuladas de extrato de camu-camu.

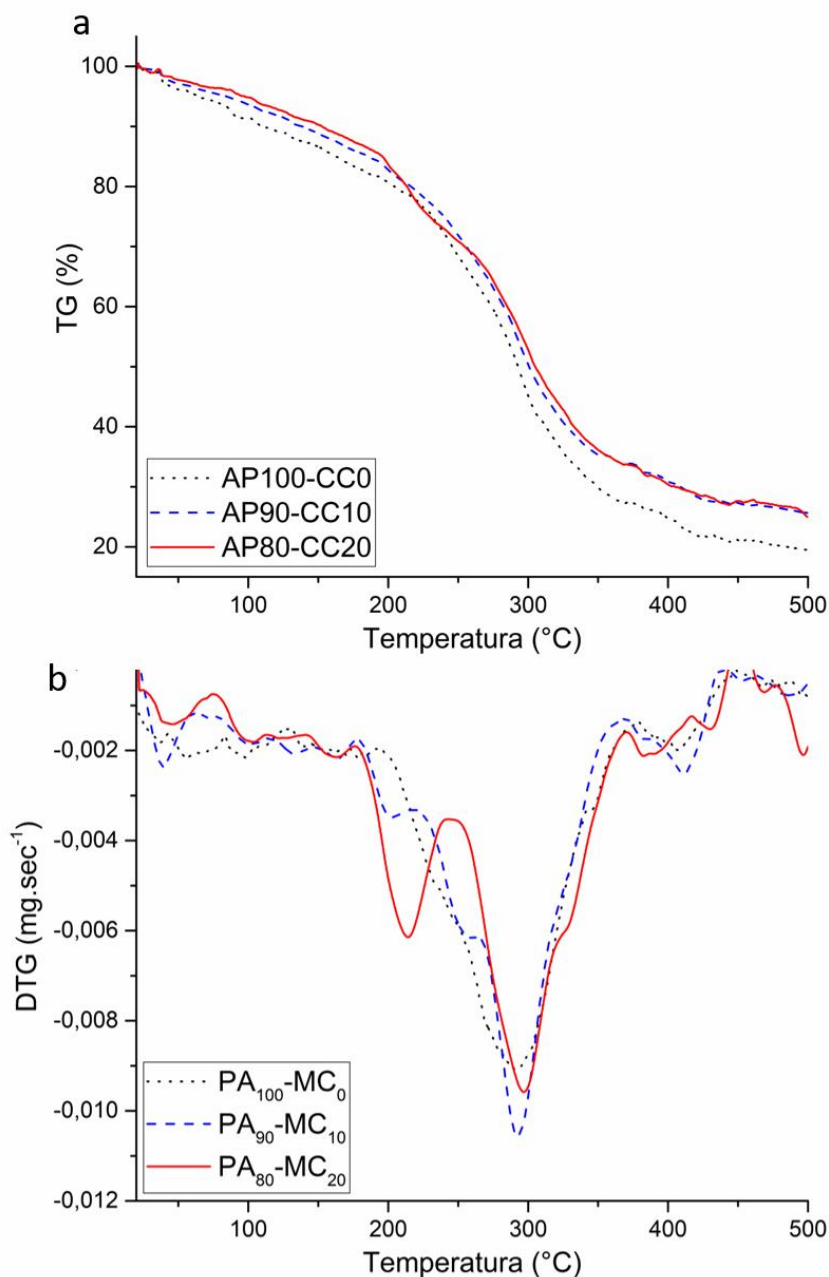


Figura 5 – Curvas de TGA e DTG dos tratamentos PA₁₀₀-MC₀ (blenda de 60 % de isolado proteico e 40 % de amido termoplastico) PA₉₀-MC₁₀ (90 % da blenda e 10 % de micropartículas encapsuladas de extrato de camu-camu) e PA₈₀-MC₂₀ (80 % da blenda e 20 % de micropartículas encapsuladas de extrato de camu-camu).

Na segunda etapa de degradação térmica de PA₁₀₀-MC₀ e na terceira etapa de PA₉₀-MC₁₀ e PA₈₀-MC₂₀ foi observado um pico nas curvas de DTG próximos a 290 °C. Este pico está associado a degradação térmica da blenda polimérica PA (Ferreira et al., 2020). Com a

redução da concentração de PA nos tratamentos, foi observado uma redução na W_{loss} nesta etapa.

Tabela 3 - Temperatura de início de degradação em °C (T_{onset}), temperatura com máxima velocidade de degradação em °C (T_{max}) e perda de massa em % (W_{loss}) dos tratamentos.

Tratamentos	T_{onset1}	W_{loss1}	T_{onset2}	T_{max2}	W_{loss2}	T_{onset3}	T_{max3}	W_{loss3}
PA ₁₀₀ -MC ₀	60	20	220	289	50	-	-	-
PA ₉₀ -MC ₁₀	48	16	189	203	6	225	293	43
PA ₈₀ -MC ₂₀	45	15	193	213	17	252	297	31

3.6 Propriedades óticas

A adição de MC não causou diferença significativa ($p > 0,05$) para transparência (Tabela 4) e reduziu significativamente ($p > 0,05$) os valores de ângulo hue (h) e L.

Tabela 4 – Médias mensuradas de hue (°), L e transparência ($\log(\%T)/mm$) dos tratamentos estudados

Tratamentos	hue	L	Transparência
PA ₁₀₀ -MC ₀	73,00 ^b ± 0,80	59,73 ^b ± 1,42	1,42 ^a ± 0,24
PA ₉₀ -MC ₁₀	50,77 ^a ± 1,44	29,93 ^a ± 0,91	1,21 ^a ± 0,32
PA ₈₀ -MC ₂₀	49,13 ^a ± 1,04	27,17 ^a ± 1,56	0,96 ^a ± 0,131

Duas médias seguidas de uma letra diferente na mesma coluna são significativamente ($p < 0,05$) diferentes pelo teste de Tukey.

O ângulo h representa a tonalidade de cor, este parâmetro indica o tom da cor responsável por estimar a posição da amostra no espaço de cor CLh (Ajandouz et al., 2001). Os tratamentos apresentaram valores de h entre o amarelo (90°) e o vermelho (0°), sendo que PA₁₀₀-MC₀ ficou mais próximo ao amarelo e PA₉₀-MC₁₀ e PA₈₀-MC₂₀ ficaram mais próximos ao vermelho. Também é possível observar uma coloração marrom em PA₉₀-MC₁₀ e PA₈₀-MC₂₀, que ocasionou um aumento do parâmetro L*. O parâmetro L* indica o grau de claridade da cor. Para o sistema CIELAB usado para medir este parâmetro, a escala de luminosidade varia de 0, que indica totalmente preto, a 100, que indica totalmente branco (Ajandouz et al.,

2001), ou seja, os tratamentos apresentaram um escurecimento significativo com a adição de MC. O escurecimento e a coloração avermelhada de PA₉₀-MC₁₀ e PA₈₀-MC₂₀ estão relacionados a presença de antocianinas, betalainas e clorofila no extrato de camu-camu (Figueiredo et al., 2020b; Rodrigues et al., 2020).

Os tratamentos apresentaram baixa transparência. Ju & Song (2019) estudaram a transmitância na região do UV de filmes de amido com extrato de camu-camu por *casting* e observaram que o filme contendo 2% de extrato de camu-camu bloquearam completamente a luz UV. Estes resultados indicam que os tratamentos têm uma boa propriedade de barreira à luz, sendo assim, eles apresentam boa aplicabilidade como material de embalagem para alimentos sensíveis aos raios de luz

3.7 Atividade antioxidante

A concentração de MC alterou significativamente ($p < 0,05$) a atividade antioxidante dos tratamentos (Tabela 5). O aumento da concentração de MC ocasionou um aumento da atividade antioxidante. A atividade antioxidante do extrato de camu-camu é atribuída principalmente pela presença de ácido ascórbico e compostos fenólicos em sua composição (Fidelis et al., 2018; Rodrigues et al., 2020). O ácido ascórbico é o antioxidante solúvel mais abundante nas plantas, e o camu-camu se destaca pela alta concentração deste componente, com $1882 \pm 43,2$ mg em 100 g de fruta fresca, seguido da acerola $1357 \pm 9,5$ mg em 100 g de fruta fresca e da jabuticaba $238 \pm 2,2$ mg em 100 g de fruta fresca (Rufino et al., 2010). Figueiredo et al. (2020b) relataram o conteúdo total em torno de 935 mg de ácido ascórbico por 100 mL para as micropartículas de extrato de camu-camu encapsuladas com inulina.

Tabela 5 – Atividade antioxidante (%) dos tratamentos pelo método de eliminação do radical estável DPPH.

Tratamentos	Atividade antioxidante (%)
PA ₁₀₀ -MC ₀	$3,81^a \pm 0,4$
PA ₉₀ -MC ₁₀	$59,7^b \pm 6,5$
PA ₈₀ -MC ₂₀	$79,4^c \pm 5,1$

Médias seguidas de uma letra diferente na mesma coluna são significativamente ($p < 0,05$) diferentes pelo teste de Tukey.

Ju e Song (2019) estudaram a incorporação de extrato de camu-camu em filme de amido em concentração de 0,3 a 2% (m/v) de extrato de camu-camu em relação ao volume total da solução pelo processo de *casting*. Estes autores observaram atividade antioxidante de 43 a 89% pela análise de sequestro do radical DPPH.

A oxidação lipídica interfere grandemente a cadeia produtiva de produtos gordurosos e oleosos, além de afetar a qualidade dos produtos, diminui também sua vida de útil, pois essa reação ocorre em cadeia, ou seja, uma vez que iniciada, a reação desencadeia a oxidação de substâncias sensíveis. Em sistemas de embalagem antioxidante, a ação do antioxidante pode ser prolongada por seu contato com o alimento ser gradual, o que prolonga o tempo de conservação do produto e aumenta a segurança do consumidor (GÓMEZ-ESTACA et al., 2014). Os materiais desenvolvidos com MC constituem, portanto, uma boa opção para o acondicionamento de produtos com alto teor de óleos ou gorduras.

4. CONCLUSÃO

Os tratamentos apresentaram aumento expressivo dos valores de Xeqs em aa acima de 0,75 e boa proteção a luz. A incorporação de MC na blenda polimérica PA auxiliou para a formação de uma matriz polimérica mais íntegra, em particular, o PA80-MC20 foi o que apresentou estrutura mais homogênea. Isso se deve as interações químicas entre a blenda PA e as MC, como foi observado no FTIR. O PA80-MC20 apresentou menor PVA e maior atividade antioxidante entre os tratamentos. Sendo assim, este tratamento é recomendado para desenvolvimento de embalagens para alimentos secos, que sejam armazenados em ambientes com umidade relativa abaixo de 75%, que sejam susceptíveis a oxidação lipídica, como alimentos oleaginosos, farelo de grãos, farinhas de cereais.

Acknowledgments

This study was financed by the Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) – Finance Code 001, the National Council for Scientific and Technological Development (Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico – CNPq), the Research Support Foundation of Minas Gerais (Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais – FAPEMIG) and Embrapa Instrumentation, Brazil.

REFERENCIAS

- Abdollahi, M., Rezaei, M., & Farzi, G. (2012). A novel active bionanocomposite film incorporating rosemary essential oil and nanoclay into chitosan. *Journal of Food Engineering*, *111*(2), 343–350. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2012.02.012>
- Ajandouz, E. H., Tchiakpe, L. S., Ore, F. D., Benajiba, A., & Puigserver, A. (2001). Effects of pH on Caramelization and Maillard Reaction Kinetics in Fructose-Lysine Model Systems. *Journal of Food Science*, *66*(7), 926–931. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.2001.tb08213.x>
- Al-Muhtaseb, A. H., McMinn, W. A. M., & Magee, T. R. A. (2002). Moisture sorption isotherm characteristics of food products: A review. *Food and Bioproducts Processing: Transactions of the Institution of Chemical Engineers, Part C*, *80*(2), 118–128. <https://doi.org/10.1205/09603080252938753>
- Andrade P, R. D., Lemus, R. M., & Pérez C, C. E. (2011). MODELS OF SORPTION ISOTHERMS FOR FOOD: USES AND LIMITATIONS MODELOS DE ISOTERMAS DE SORCION PARA ALIMENTOS: USOS Y LIMITACIONES. *La Facultad De Química Farmacéutica, Revista DE*.
- Assis, R. Q., Lopes, S. M., Costa, T. M. H., Flôres, S. H., & Rios, A. de O. (2017). Active biodegradable cassava starch films incorporated lycopene nanocapsules. *Industrial Crops and Products*, *109*, 818–827. <https://doi.org/10.1016/J.INDCROP.2017.09.043>
- Azevedo, V. M., Silva, E. K., Gonçalves Pereira, C. F., da Costa, J. M. G., Borges, S. V., Gonçalves Pereira, C. F., da Costa, J. M. G., Borges, S. V., Gonçalves Pereira, C. F., da Costa, J. M. G., & Borges, S. V. (2015). Whey protein isolate biodegradable films: Influence of the citric acid and montmorillonite clay nanoparticles on the physical properties. *Food Hydrocolloids*, *43*, 252–258. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2014.05.027>
- Barbosa-Pereira, L., Cruz, J. M., Sendón, R., Rodríguez Bernaldo de Quirós, A., Ares, A., Castro-López, M., Abad, M. J., Maroto, J., & Paseiro-Losada, P. (2013). Development of antioxidant active films containing tocopherols to extend the shelf life of fish. *Food Control*, *31*(1), 236–243. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2012.09.036>
- Byun, Y., Kim, Y. T., & Whiteside, S. (2010). Characterization of an antioxidant polylactic acid (PLA) film prepared with α -tocopherol, BHT and polyethylene glycol using film cast extruder. *Journal of Food Engineering*, *100*(2), 239–244. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2010.04.005>

- Carmo, E. L. do, Teodoro, R. A. R., Félix, P. H. C., Fernandes, R. V. de B., Oliveira, É. R. de, Veiga, T. R. L. A., Borges, S. V., & Botrel, D. A. (2018). Stability of spray-dried beetroot extract using oligosaccharides and whey proteins. *Food Chemistry*, *249*, 51–59. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2017.12.076>
- Chinma, C. E., Ariahu, C. C., & Abu, J. O. (2014). Shelf Life Extension of Toasted Groundnuts through the Application of Cassava Starch and Soy Protein-Based Edible Coating. *Nigerian Food Journal*, *32*(1), 133–138. [https://doi.org/10.1016/s0189-7241\(15\)30106-5](https://doi.org/10.1016/s0189-7241(15)30106-5)
- Chirinos, R., Galarza, J., Betalleluz-Pallardel, I., Pedreschi, R., & Campos, D. (2010). Antioxidant compounds and antioxidant capacity of Peruvian camu camu (*Myrciaria dubia* (H.B.K.) McVaugh) fruit at different maturity stages. *Food Chemistry*, *120*(4), 1019–1024. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2009.11.041>
- Cruz-Romero, M. C., Murphy, T., Morris, M., Cummins, E., & Kerry, J. P. (2013). Antimicrobial activity of chitosan, organic acids and nano-sized solubilisates for potential use in smart antimicrobially-active packaging for potential food applications. *Food Control*, *34*(2), 393–397. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2013.04.042>
- Castro e Silva, P., Pereira, L. A. S., Lago, A. M. T., Valquíria, M., de Rezende, É. M., Carvalho, G. R., Oliveira, J. E., & Marconcini, J. M. (2019). Physical-Mechanical and Antifungal Properties of Pectin Nanocomposites / Neem Oil Nanoemulsion for Seed Coating. *Food Biophysics*, *14*(4), 456–466. <https://doi.org/10.1007/s11483-019-09592-0>
- de Moraes Crizel, T., de Oliveira Rios, A., Alves, V. D., Bandarra, N., Moldão-Martins, M., & Hickmann Flôres, S. (2018). Biodegradable Films Based on Gelatin and Papaya Peel Microparticles with Antioxidant Properties. *Food and Bioprocess Technology*, *11*(3), 536–550. <https://doi.org/10.1007/s11947-017-2030-0>
- Dias, M. V., de Medeiros, H. S., Soares, N. de F. F., Melo, N. R. de, Borges, S. V., Carneiro, J. de D. S., & Pereira, J. M. T. de A. K. (2013). Development of low-density polyethylene films with lemon aroma. *LWT - Food Science and Technology*, *50*(1), 167–171. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2012.06.005>
- Dias, M. V., Machado Azevedo, V., Borges, S. V., Soares, N. de F. F., de Barros Fernandes, R. V., Marques, J. J., Medeiros, E. A. A., & Medeiros, É. A. A. (2014). Development of chitosan/montmorillonite nanocomposites with encapsulated α -tocopherol. *Food Chemistry*, *165*, 323–329. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2014.05.120>
- Ferreira, D. F. (2019). Sisvar: A Computer Analysis System To Fixed Effects Split Plot Type Designs. *Revista Brasileira De Biometria*, *37*(4), 529. <https://doi.org/10.28951/rbb.v37i4.450>

- Ferreira, L. F., de Oliveira, A. C. S., Begali, D. de O., Neto, A. R. de S., Martins, M. A., de Oliveira, J. E., Borges, S. V., Yoshida, M. I., Tonoli, G. H. D., & Dias, M. V. (2020). Characterization of cassava starch/soy protein isolate blends obtained by extrusion and thermocompression. *Industrial Crops and Products*, *160*, 113092. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2020.113092>
- Ferreira, L. F., Figueiredo, L. P., Martins, M. A., Luvizaro, L. B., bLara, B. R. B. de, Oliveira, C. R. de, Júnior, M. G., Tonoli, G. H. D., & Dias, M. V. (2021). Active coatings of thermoplastic starch and chitosan with alpha-tocopherol/bentonite for special green coffee beans. *International Journal of Biological Macromolecules*, *170*, 810–819. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2020.12.199>
- Fidelis, M., Santos, J. S., Escher, G. B., Vieira do Carmo, M., Azevedo, L., Cristina da Silva, M., Putnik, P., & Granato, D. (2018). In vitro antioxidant and antihypertensive compounds from camu-camu (*Myrciaria dubia* McVaugh, Myrtaceae) seed coat: A multivariate structure-activity study. *Food and Chemical Toxicology*, *120*, 479–490. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2018.07.043>
- Figueiredo, J., MT Lago, A., M Mar, J., S Silva, L., A Sanches, E., P Souza, T., A Bezerra, J., H Campelo, P., A Botrel, D., & V Borges, S. (2020b). Stability of camu-camu encapsulated with different prebiotic biopolymers. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, *100*(8), 3471–3480. <https://doi.org/10.1002/jsfa.10384>
- Figueiredo, J., Andrade Teixeira, M., Henrique Campelo, P., Maria Teixeira Lago, A., Pereira de Souza, T., Irene Yoshida, M., Rodrigues de Oliveira, C., Paula Aparecida Pereira, A., Maria Pastore, G., Aparecido Sanches, E., Alvarenga Botrel, D., & Vilela Borges, S. (2020a). Encapsulation of camu-camu extracts using prebiotic biopolymers: Controlled release of bioactive compounds and effect on their physicochemical and thermal properties. *Food Research International*, *137*, 109563. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2020.109563>
- Franzoso, F. et al. (2016) Extruded versus solvent cast blends of poly(vinyl alcohol- co - ethylene) and biopolymers isolated from municipal biowaste. *Journal of Applied Polymer Science*, *133*(9).
- Gómez-Estaca, J., López-de-Dicastillo, C., Hernández-Muñoz, P., Catalá, R., & Gavara, R. (2014). Advances in antioxidant active food packaging. *Trends in Food Science & Technology*, *35*(1), 42–51. <https://doi.org/10.1016/J.TIFS.2013.10.008>
- González, A., Strumia, M. C., & Alvarez Igarzabal, C. I. (2011). Cross-linked soy protein as material for biodegradable films: Synthesis, characterization and biodegradation. *Journal*

- of *Food Engineering*, 106(4), 331–338. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2011.05.030>
- Goula, A. M., Karapantsios, T. D., Achilias, D. S., & Adamopoulos, K. G. (2008). Water sorption isotherms and glass transition temperature of spray dried tomato pulp. *Journal of Food Engineering*, 85(1), 73–83. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2007.07.015>
- Granda-Restrepo, D., Peralta, E., Troncoso-Rojas, R., & Soto-Valdez, H. (2009). Release of antioxidants from co-extruded active packaging developed for whole milk powder. *International Dairy Journal*, 19(8), 481–488. <https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2009.01.002>
- Guedes-Oliveira, J. M., Costa-Lima, B. R. C. da, Muzzi Cunha, L. C., Salim, A. P. A. de A., Baltar, J. D., Fortunato, A. R., & Conte-Junior, C. A. (2018). Impact of *Myrciaria Dubia* Peel and Seed Extracts on Oxidation Process and Colour Stability of Ground Lamb. *CyTA - Journal of Food*, 16(1), 931–937. <https://doi.org/10.1080/19476337.2018.1512529>
- Halsey, G. (1948) Physical adsorption on non-uniform surfaces. *Journal of Chemistry Physics*, 16, pp. 931-937.
- Han, J. H., & Floros, J. D. (1997). Casting antimicrobial packaging films and measuring their physical properties and antimicrobial activity. *Journal of Plastic Film and Sheeting*, 13(4), 287–298. <https://doi.org/10.1177/875608799701300405>
- Ju, A., & Song, K. Bin. (2019). Development of teff starch films containing camu-camu (*Myrciaria dubia* Mc. Vaugh) extract as an antioxidant packaging material. *Industrial Crops and Products*, 141, 111737. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2019.111737>
- Lara, B.R.B., Dias, M. V., Guimarães Junior, M., de Andrade, P. S., de Souza Nascimento, B., Ferreira, L. F., & Yoshida, M. I. (2020). Water sorption thermodynamic behavior of whey protein isolate/ polyvinyl alcohol blends for food packaging. *Food Hydrocolloids*, 103. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2020.105710>
- Larrosa, A. P. Q., Camara, Á. S., Pohndorf, R. S., da Rocha, S. F., & Pinto, L. A. de A. (2018). Physicochemical, biochemical, and thermal properties of *Arthrospira* (*Spirulina*) biomass dried in spouted bed at different conditions. *Journal of Applied Phycology*, 30(2), 1019–1029. <https://doi.org/10.1007/s10811-017-1265-5>
- Lomauro, C., Bakshi, A., Lebensmittel-Wissenschaft, T. L.-, & 1985, undefined. (1985). Evaluation of food moisture sorption isotherm equations. Part I: Fruit, vegetable and meat products. *Elsevier*, 18(2), 111–117. https://www.researchgate.net/profile/Theodore_Labuza/publication/279900186_Evaluation_of_food_moisture_sorption_isotherm_equations_Part_I_Fruit_vegetable_and_meat_products/links/55edc90d08ae199d47be70e5/Evaluation-of-food-moisture-sorption-

isotherm-equations-Part-I-Fruit-vegetable-and-meat-products.pdf

- Lomeli-Ramírez, M. G., Kestur, S. G., Manríquez-González, R., Iwakiri, S., de Muniz, G. B., & Flores-Sahagun, T. S. (2014). Bio-composites of cassava starch-green coconut fiber: Part II—Structure and properties. *Carbohydrate Polymers*, *102*, 576–583. <https://doi.org/10.1016/J.CARBPOL.2013.11.020>
- López-de-Dicastillo, C., Alonso, J. M., Catalá, R., Gavara, R., & Hernández-Muñoz, P. (2010). Improving the Antioxidant Protection of Packaged Food by Incorporating Natural Flavonoids into Ethylene–Vinyl Alcohol Copolymer (EVOH) Films. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, *58*(20), 10958–10964. <https://doi.org/10.1021/jf1022324>
- Martelli, S.M., C. Motta, T. Caon, J. Alberton, I.C. Bellettini, A.C.P. do Prado, P.L.M. Barreto, V. Soldi, Edible carboxymethyl cellulose films containing natural antioxidant and surfactants: α -tocopherol stability, in vitro release and film properties, *LWT*. *77* (2017) 21–29. <https://doi.org/10.1016/J.LWT.2016.11.026>.
- Ochoa-Yepes, O., Di Gioglio, L., Goyanes, S., Mauri, A., & Famá, L. (2019). Influence of process (extrusion/thermo-compression, casting) and lentil protein content on physicochemical properties of starch films. *Carbohydrate Polymers*, *208*(4), 221–231. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2018.12.030>
- Oswin, C.R. (1946) The kinetics of package life III. The isotherm. *Journal of Chemical Industry*, *65*, 419-421.
- Pavoni, J. M. F., Luchese, C. L., & Tessaro, I. C. (2019). Impact of acid type for chitosan dissolution on the characteristics and biodegradability of cornstarch/chitosan based films. *International Journal of Biological Macromolecules*, *138*, 693–703. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2019.07.089>
- Pelissari, F. M., Grossmann, M. V. E., Yamashita, F., & Pined, E. A. G. (2009). Antimicrobial, mechanical, and barrier properties of cassava starch-chitosan films incorporated with oregano essential oil. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, *57*(16), 7499–7504. <https://doi.org/10.1021/jf9002363>
- Perdomo J, Cova A, Sandoval AJ, García L, Laredo E, Müller AJ. Glass transition temperatures and water sorption isotherms of cassava starch. *Carbohydr Polym*. 2009 Mar 17;76(2):305–13.
- Rodrigues, L. M., Romanini, E. B., Silva, E., Pilau, E. J., da Costa, S. C., & Madrona, G. S. (2020). Camu-camu bioactive compounds extraction by ecofriendly sequential processes (ultrasound assisted extraction and reverse osmosis). *Ultrasonics Sonochemistry*, *64*,

105017. <https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2020.105017>
- Rufino, M. do S. M., Alves, R. E., de Brito, E. S., Pérez-Jiménez, J., Saura-Calixto, F., & Mancini-Filho, J. (2010). Bioactive compounds and antioxidant capacities of 18 non-traditional tropical fruits from Brazil. *Food Chemistry*, *121*(4), 996–1002. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2010.01.037>
- Samaniego-Esguerra, C. M., Boag, I. F., & Robertson, G. L. (1991). Comparison of regression methods for fitting the GAB model to the moisture isotherms of some dried fruit and vegetables. *Journal of Food Engineering*, *13*(2), 115–133. [https://doi.org/10.1016/0260-8774\(91\)90014-J](https://doi.org/10.1016/0260-8774(91)90014-J)
- Smith, S.E. (1947) The sorption of water vapour by high polymers *Journal of the American Chemical Society*, *69*, p. 646
- Teixeira, B., Marques, A., Pires, C., Ramos, C., Batista, I., Saraiva, J. A., & Nunes, M. L. (2014). Characterization of fish protein films incorporated with essential oils of clove, garlic and origanum: Physical, antioxidant and antibacterial properties. *LWT - Food Science and Technology*, *59*(1), 533–539. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2014.04.024>
- Towns, J. K. (1995). Moisture content in proteins: its effects and measurement. In *Journal of Chromatography A* (Vol. 705, Issue 1, pp. 115–127). [https://doi.org/10.1016/0021-9673\(94\)01257-F](https://doi.org/10.1016/0021-9673(94)01257-F)
- Van den Berg, C., Bruin, S. Water activity and its estimation in food systems L.B. Rockland, G.F. Stewart (Eds.), *Water activity: influences on food quality*, Academic Press, New York (1981), pp. 147-177.
- Yildirim, S., Röcker, B., Pettersen, M. K., Nilsen-Nygaard, J., Ayhan, Z., Rutkaite, R., Radusin, T., Suminska, P., Marcos, B., & Coma, V. (2018). Active Packaging Applications for Food. In *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety* (Vol. 17, Issue 1, pp. 165–199). Blackwell Publishing Inc. <https://doi.org/10.1111/1541-4337.12322>
- Youssef, A. M., & El-Sayed, S. M. (2018). Bionanocomposites materials for food packaging applications: Concepts and future outlook. In *Carbohydrate Polymers* (Vol. 193, pp. 19–27). Elsevier Ltd. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2018.03.088>
- Zhang, W., Li, X., & Jiang, W. (2020). Development of antioxidant chitosan film with banana peels extract and its application as coating in maintaining the storage quality of apple. *International Journal of Biological Macromolecules*, *154*, 1205–1214. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2019.10.275>