INSTITUTO DE PESQUISAS ENERGÉTICAS E NUCLEARES
Autarquia Associada à Universidade de São Paulo

Incorporação e nanoencapsulação de agentes antioxidantes em filmes de amido e ação da irradiação por feixes de elétrons

BRUNA SAPORITO TEIXEIRA

Tese apresentada como parte dos requisitos para obtenção do Grau de Doutor em Ciências na Área de Tecnologia Nuclear - Aplicações

Orientadora:
Profa. Dra. Nélida Lucia del Mastro

São Paulo
2022

INSTITUTO DE PESQUISAS ENERGÉTICAS E NUCLEARES
Autarquia Associada à Universidade de São Paulo

Incorporação e nanoencapsulação de agentes antioxidantes em filmes de amido e ação da irradiação por feixes de elétrons

Versão Corrigida

Versão original disponível no IPEN

BRUNA SAPORITO TEIXEIRA

Tese apresentada como parte dos requisitos para obtenção do Grau de Doutor em Ciências na Área de Tecnologia Nuclear - Aplicações

Orientadora:
Profa. Dra. Nélida Lucia del Mastro

São Paulo
2022

Autorizo a reprodução e divulgação total ou parcial deste trabalho, para fins de estudo e pesquisa, desde que citada a fonte.

Como citar:

TEIXEIRA, B. S. ***Incorporação e nanoencapsulação de agentes antioxidantes em filmes de amido e ação da irradiação por feixes de elétrons***. 2022. 142 f. Tese (Doutorado em Tecnologia Nuclear), Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares, IPEN-CNEN, São Paulo. Disponível em: ‹http://repositorio.ipen.br/› (data de consulta no formato: dd/mm/aaaa)

Ficha catalográfica elaborada pelo Sistema de geração automática da Biblioteca IPEN, com os dados fornecidos pelo(a) autor(a).

Teixeira, Bruna Saporito
Incorporação e nanoencapsulação de agentes antioxidantes em filmes de amido e ação da irradiação por feixes de elétrons / Bruna Saporito Teixeira; orientadora Nélida Lucia Del Mastro. -- São Paulo, 2022.
142 f.

Tese (Doutorado) - Programa de Pós-Graduação em Tecnologia Nuclear (Aplicações) -- Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares, São Paulo, 2022.

1. filmes ativos. 2. radiação ionizante. 3. amido de batata. 4. hibisco. 5. cúrcuma. I. Mastro, Nélida Lucia Del, orient. II. Título.

Aos meus pais, Angela e Luiz,
meu irmão Cesar e a
minha avó Tilinha (*in memoriam*),
por todo amor e incentivo.

AGRADECIMENTOS

À minha orientadora, Profa. Dra. Nélida Lucia del Mastro, por todo o incentivo e conhecimentos transmitidos durante todos esses anos, exemplo de profissionalismo e pessoa, não foi por acaso que a escolhi.

Ao Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares (IPEN/CNEN) pela oportunidade e disponibilidade da realização deste trabalho, foi um enorme prazer fazer parte dessa Instituição.

À Elizabeth Somessari e ao Dr. Samir, do Centro de Tecnologia das Radiações (CTR), pela gentileza e enorme atenção no processamento de irradiação das amostras.

À Dra. Margarida, do Centro de Tecnologia das Radiações, por todo empenho e ajuda sempre que solicitado.

À Dra. Anna Lucia Villavicencio, pela disponibilidade da utilização do laboratório de Tecnologia de Alimentos.

À Comissão Nacional de Energia Nuclear (CNEN/SP) pela bolsa de doutorado concedida.

À Dra. Amanda Koike e Dra. Sandra Kitahara, pela contribuição na qualificação da tese e pela amizade.

Aos meus amigos do IPEN, Gabriel, Amanda, Vanessa Uehara, Vanessa (Carioca), Patricia, Bianca, Raynara, Jaqueline, Livia, Regiane e Flavio pela troca de conhecimento e incentivo.

À Bruna e a Paula, pelo auxílio no departamento administrativo do Ensino do IPEN.

Ao Instituto de Pesquisas Tecnológicas (IPT/SP), no nome do Prof. Dr. Adriano Marim de Oliveira, que me recebeu de uma forma ímpar no Instituto e disponibilizou a utilização dos equipamentos. A todo o pessoal do laboratório LPP, em especial a Ariane, que me auxiliou nas secagens das partículas.

Ao Instituto de Tecnologia de Alimentos (ITAL/Campinas), pelos cursos realizados e troca de conhecimentos.

À Dra. Lillian Barros e Dra. Isabel Cristina F. R. Ferreira, por terem me recebido no Instituto Politécnico de Bragança (IPB/Portugal) e por terem contribuído enormemente para a realização deste trabalho.

A todos os meus amigos do Centro de Investigação de Montanha (CIMO/Portugal), Eliana, Cristina, Filipa, Inês, Fran, Emanueli e Junior, pela troca de conhecimentos.

Ao Prof. Dr. Jorge Mancini, Profa. Dra. Maria Cristina Marcucci, Prof. Dr. Rogerio Lopes Vieites, por gentilmente aceitarem o convite de ser banca e contribuírem para a avaliação do trabalho.

Ao meu irmão, Cesar, por todo incentivo, torcida, carinho e amor. Estamos juntos sempre.

A minha avó, Tilinha, por todo o carinho e amor.

Aos meus pais, Angela e Luiz, por sempre acreditarem em mim e pelo amor incondicional, com toda a certeza eu não conseguiria sem o apoio de vocês, esse trabalho é nosso.

MUITO OBRIGADA a todos que contribuíram para que esta pesquisa fosse realizada.

GRATIDÃO.

“Não é sobre chegar no topo do mundo e saber que venceu. É sobre escalar e sentir que o caminho te fortaleceu”

(Ana Carolina Vilela)

RESUMO

TEIXEIRA, B. S. ***Incorporação e nanoencapsulação de agentes antioxidantes em filmes de amido e ação da irradiação por feixes de elétrons.*** 2022. 142 f. Tese (Doutorado em Tecnologia Nuclear), Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares, IPEN-CNEN, São Paulo.

O desenvolvimento de filmes biodegradáveis é uma alternativa ao uso de embalagens não amigáveis ao meio ambiente. Para produção desses filmes, diversos polímeros naturais podem ser utilizados, dentre eles, o amido, no qual apresenta boas características, propriedades e facilidade para sua obtenção. A adição de antioxidantes naturais livres ou encapsulados pode contribuir ainda mais no desenvolvimento de filmes funcionais com atividade antioxidante. O objetivo deste trabalho foi desenvolver filmes ativos, à base de polímeros naturais de fonte renovável, o amido, pela técnica *casting* e extrusão, adicionados com compostos bioativos de hibisco e cúrcuma livres e nanoencapsulados e ação da irradiação por feixes de elétrons. Procedeu-se a extração por micro-ondas e ultrassom dos compostos bioativos do hibisco e da cúrcuma com diferentes solventes e temperaturas, assim como a caracterização em relação à atividade antioxidante, determinação dos compostos fenólicos, atividade anti-inflamatória e antimicrobiana. Foi realizado a encapsulação desses compostos através da secagem por vaporização (*nanospray dryer)* e caracterizados quanto às propriedades físicas, fisico-químicas, morfológicas, bioativas, parâmetros colorimétricos, diâmetro e tamanho das partículas. As partículas mais estáveis dos extratos foram incorporadas nos filmes preparados por extrusão. As soluções filmogênicas para a técnica *casting* foram preparadas nas concentrações de 5% (p/v) de amido de batata, 3% de glicerol, 0.5% de propionato de cálcio ($C_6H_{10}CaO_4$) sob agitação constante até gelatinização do amido. Os filmes com os compostos bioativos foram preparados com solução de 1 e 2% de hibisco e cúrcuma, com as mesmas proporções de plastificante glicerol e conservante (propionato de cálcio). Análise do perfil de viscosidade desses hidrogéis foi realizado. Os filmes processados por extrusão foram preparados com as partículas encapsuladas com os compostos bioativos. Foram elaboradas 5 formulações: filme de amido, filme de

amido com nanoapartículas de hibisco a 1 e 2% e filme de amido com nanopartícula de cúrcuma a 1 e 2%. Após o preparo os filmes foram irradiados com feixes de elétrons com doses de 5, 10, 20 e 40 kGy. A irradiação ionizante foi utilizada com o intuito de verificar a influência nas propriedades bioplásticas dos filmes à base de amido, assim como as propriedades mecânicas e de barreira. Estes bioplásticos foram caracterizados quanto às propriedades físicas, fisico-químicas, morfológicas, biotivas, mecânicas, de barreira e térmicas. As propriedades dos filmes estudados foram afetadas dependendo da proporção de antioxidante adicionado.

Palavras-chave: filmes ativos, radiação ionizante, amido de batata, hibisco, cúrcuma, feixes de elétrons.

ABSTRACT

TEIXEIRA, B. S. ***Incorporação e nanoencapsulação de agentes antioxidantes em filmes de amido e ação da irradiação por feixes de elétrons.*** 2022. 142 f. Tese (Doutorado em Tecnologia Nuclear), Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares, IPEN-CNEN, São Paulo.

The development of biodegradable films is an alternative to the use of environmentally unfriendly packaging. For these productions, several natural polymers can be used, among them, starch, which has good characteristics, and it is easy to obtain. The addition of free or encapsulated natural antioxidants can further contribute to the development of functional films with antioxidant activity. The objective of this work was to develop active films, based on natural polymers from a renewable source, starch, by the technique of casting and extrusion, added with free and nonencapsulated bioactive compounds of hibiscus and turmeric and the action of irradiation by electron beams. The bioactive compounds of hibiscus and turmeric were extracted by microwave and ultrasound with different solvents and temperatures, as well as characterization in relation to antioxidant activity, determination of phenolic compounds, anti-inflammatory, and antimicrobial activities. The encapsulation of these compounds was carried out by vaporization drying (nanospray dryer) and characterized in terms of physical, physical-chemical, morphological, bioactive, colorimetric parameters and particle diameter and size. The most stable particles of the extracts were incorporated into the films prepared by extrusion. The film-forming solutions for the casting technique were prepared at concentrations of 5% (w/v) of potato starch, 3% glycerol and 0.5% calcium propionate ($C_6H_{10}CaO_4$) under constant agitation until starch gelatinization. The films with the bioactive compounds were prepared with a 1 and 2% solution of hibiscus and turmeric, with the same proportions of glycerol plasticizer, and preservative (calcium propionate). Analysis of the viscosity profile of these hydrogels was performed. The films processed by extrusion were prepared with the particles encapsulated with the bioactive compounds. Five formulations were prepared: starch film, starch film with 1 and 2% hibiscus nanoparticles and starch film with 1 and 2% turmeric nanoparticles. After preparation, the films were irradiated

with electron beam at doses of 5, 10, 20 e 40 kGy. Ionizing irradiation was used to verify the influence on the bioplastic properties of starch-based films, as well as the mechanical and barrier properties modifications. These bioplastics were characterized in terms of physical, physicochemical, morphological, bioactive, mechanical, barrier and thermal properties. The properties of the films studied were affected depending on the proportion of antioxidant added.

Keywords: Active film, ionizing radiation, potato starch, hibiscus, turmeric, electron beam.

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO…… 19

2 OBJETIVO…… 22

2.1 Objetivo Geral……22

2.2 Objetivos Específicos…… 22

3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA……..23

3.1 Biopolímeros/Polissacarídeos……..23

3.2 Amido ou Fécula……24

3.3 Radicais Livres, Antioxidantes e Compostos Fenólicos…….. 29

3.4 Composto Bioativo – Hibisco……31

3.5 Compostos Bioativos – Cúrcuma…… 35

3.6 Encapsulação…… 37

3.7 Secagem por vaporização (*spray drying*)…….. 39

3.8 Filmes biodegradáveis à base de amido/fécula…… 41

3.9 Modificação de polímeros por ação da radiação ionizante…… 43

3.10 Reticulação e degradação dos polímeros……47

4 MATERIAL E MÉTODOS……...50

4.1 Processo de extração dos compostos bioativos do hibisco e cúrcuma…… 52

4.2 Preparação dos extratos obtidos (concentrado e liofilizado)…….. 53

4.3 Caracterização dos extratos……53

4.3.1 Método da Atividade Antioxidante.....53

4.3.2 Determinação dos Compostos Fenólicos.....55

4.3.3 Avaliação da atividade anti-inflamatória.....56

4.3.4 Avaliação da atividade antimicrobiana e antifúngica.....57

4.4 Preparação das nanopartículas……...58

4.4.1 Preparação dos extratos utilizados na encapsulação..... 58

4.4.2 Preparação dos materiais de parede..... 58

4.4.3 Obtenção das partículas.....58

4.5 Caracterização das partículas……..60

4.5.1 Atividade de água (Aa)..... 60

4.5.2 Distribuição do tamanho das partículas por espalhamento de luz dinâmico (DLS)..... 60
4.5.3 Determinação do potencial zeta (carga de superfície)..... 60
4.5.4 Obtenção dos parâmetros colorimétricos..... 61
4.5.5 Atividade antioxidante – DPPH..... 62
4.6 Método de desenvolvimento dos filmes biodegradáveis por *casting*……..62
4.6.1 Filmes a base de amido.....62
4.6.2 Filmes com a adição dos compostos bioativos: hibisco e cúrcuma..... 63
*4.*7 Hidrogéis para a formação dos filmes por *casting*……63
4.8 Desenvolvimento dos filmes por extrusão…… 64
4.9 Processo de irradiação……..66
4.10 Caracterização dos filmes por *casting*……..67
4.10.1 Espessura e teor de umidade.....67
4.10.2 Propriedade mecânica: resistência à perfuração (força de ruptura).....68
4.10.3 Fração solúvel em água..... 68
4.10.4 Capacidade de absorção de água (CAA).....69
4.10.5 Taxa de Permeabilidade ao oxigênio (TP'O_2)..... 69
4.10.6 Análise Termogravimétrica.....70
4.10.7 Análise de Espectroscopia no Infravermelho com Transformada Fourier (FTIR)..... 70
4.10.8 Espectroscopia RAMAN.....70
4.10.9 Propriedades ópticas dos filmes.....71
4.10.10 Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)..... 71
4.10.11 Atividade antioxidante via inibição por DPPH..... 71
4.11 Caracterização dos filmes por extrusão……...72
4.12 Análise estatística…… 72

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO…… 72
5.1 Extração dos compostos de hibisco e cúrcuma……72
5.1.1 Atividade antioxidante pelo método da atividade captadora de radicais (DPPH) e inibição de hemólise oxidativa (OxHLIA).....72
5.1.2 Compostos fenólicos dos extratos de hibisco..... 75

5.1.3 Atividade anti-inflamatória..... 79
5.1.4 Atividade antimicrobiana e antifúngica..... 80
5.2 Encapsulação dos compostos bioativos de hibisco e cúrcuma……..89
5.2.1 Análise do Potencial Zeta (PZ), Distribuição do tamanho das partículas (DLS) e Atividade de água (Aa).....89
5.2.2 Análise colorimétrica das partículas..... 92
5.2.3 Análise da capacidade antioxidante das partículas pelo método DPPH..... 94
5.3 Hidrogéis de amido…… 95
*5.*4 Filmes preparados por *casting*……97
5.4.1 Análise visual, espessura e umidade..... 97
5.4.2 Fração solúvel em água e capacidade de absorção de água (CAA)..... 99
5.4.3 Taxa de Permeabilidade ao oxigênio (TP'O_2) para os filmes de amido e adicionados de hibisco (1%) e cúrcuma (1%).....103
5.4.4 Propriedades mecânicas: resistência à perfuração (força de ruptura).....104
5.4.5 Análise termogravimétrica (TG).....105
5.4.6 Análise de espectroscopia no infravermelho com transformada Fourier (FTIR)..... 109
5.4.7 Espectroscopia RAMAN..... 112
5.4.8 Propriedades ópticas dos filmes.....114
5.4.9 Análise antioxidante dos filmes pelo método DPPH..... 117
5.4.10 Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)..... 118
5.5 Filmes de amido, e adicionados com partículas de hibisco (1 e 2%) e partículas de cúrcuma (1 e 2%) preparados por extrusão…… 120
5.6 Sugestões das aplicações de filmes com base de amido contendo antioxidantes……125

6 CONCLUSÃO……126

7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS……..128

LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1. Estrutura básica da amilose (A) e amilopectina (B)……25
FIGURA 2. Estrutura da amilopectina e suas cadeias……... 26
FIGURA 3. Esquema de comparação das características estruturais das macromoléculas de amido…….. 27
FIGURA 4. Subdivisão dos compostos bioativos presentes no vegetais……31
FIGURA 5. A) Foto da planta, (B) cálice de hibisco, (C) cálice desidratado e (D) cálice em pó de hibisco……... 32
FIGURA 6. Estrutura geral das antocianidinas mais comuns, onde R_1, R_2, R_3, podem ser átomos de hidrogênio, hidroxilas ou metoxilas……....34
FIGURA 7. (A) Fotos da planta, do (B) rizoma de *Curcuma longa L.* fresco e (C) cúrcuma em pó……..35
FIGURA 8. Estrutura química dos curcuminóides presentes na *Curcuma longa L.*, onde Curcumina R1=OCH_3 e R2=OCH_3, Demetoxicurcumina R1= OCH_3 e R2=H, Bisdemetoxicurcumina R1=H e R2=H……...36
FIGURA 9. Esquema do funcionamento do *nanospray*……. 40
FIGURA 10. Modificações químicas nos polímeros após processo de irradiação por feixes de elétrons……..46
FIGURA 11. Mecanismo simplificado dos processos de reticulação e degradação…… 47
FIGURA 12. Mecanismo geral da reação de reticulação em uma cadeia polimérica……...48
FIGURA 13. Cisão heterolítica em uma cadeia polimérica após o processo de irradiação……48
FIGURA 14. Eventos na radiação no estado sólido de carboidratos……...49
FIGURA 15. Fluxograma de desenvolvimento e análises dos filmes de amido com antioxidantes de hibisco e cúrcuma……...51
FIGURA 16. A) Dispositivo ultrassônico (SoniClean2) e (B) Micro-ondas Ethos EASY…….. 53
FIGURA 17. *Nano Spray Dryer* B-90 com a tecnologia de malha vibratória para geração de spray, o coletor de partículas eletrostáticas. Processo de coleta de partículas eletrostáticas: (A) Partículas secas depositadas no cilindro de coleta (pequenas perdas no eletrodo estrela no centro), (B) Cilindro de coleta com

raspador de partículas, (C) Pó recuperado manualmente no papel coletor, (D) Pó em um frasco de vidro hermético……...59
FIGURA 18. Esquema da camada estacionária do fluido ligada à partícula dispersada (Zetasizer, 2004)…….. 61
FIGURA 19. Parâmetros de Cor La*b* (Minolta, 2020)……..61
FIGURA 20. Esquema da produção de filmes com a técnica *casting*……. 63
Figura 21. (A) Extrusora dupla-rosca (Processo 11, ThermoElectron-Germany) e (B) subsistemas que compõem uma extrusora dupla-rosca…… 65
FIGURA 22. A) Pelletizador utilizado para cortar a amostra antes da formação dos filmes. B) Amostra pronta a ser peletizado. C) Amostra pelletizadas prontas para a formação dos filmes. D) Filmes sendo formados……....66
FIGURA 23. Acelerador de elétrons Dynamitron II (IPEN-CNEN/SP) com as amostras prontas para irradiação…….. 67
FIGURA 24. Esquema do teste de resistência à perfuração (força de ruptura)….68
FIGURA 25. Perfil fenólico do extrato metanólico em 280 nm (A) e 370 nm (B)...78
FIGURA 26. Microscopia dos pós da formulação P1 de hibisco e cúrcuma com 30% de maltodextrina.....90
FIGURA 27. Distribuição de tamanho por espalhamento de luz dinâminco (DLS) das partículas resultantes das formulações P1, P2 e P3 de hibisco e cúrcuma. ..92
FIGURA 28. Perfil de viscosidade dos hidrogéis preparados para a formação dos filmes por *casting*……..95
FIGURA 29. Filmes preparados com extrato de hibisco 1 e 2%, respectivamente e irradiados nas doses 0, 5, 10, 20 e 40 kGy……..97
FIGURA 30. Filmes preparados com extrato de cúrcuma 1 e 2%, respectivamente e irradiados nas doses 0, 5, 10, 20 e 40 kGy.....98
FIGURA 31. Solubilidade em água dos filmes de amido e adicionados de hibisco e cúrcuma (1 e 2%) por *casting*..... 101
FIGURA 32. Capacidade de absorção de água dos filmes adicionados de hibisco.....102
FIGURA 33. Capacidade de absorção de água dos filmes adicionados de cúrcuma (1 e 2%)……....103
FIGURA 34. Coeficiente de permeabilidade ao oxigênio dos filmes de amido e adicionados de hibisco (1%) e cúrcuma (1%) irradiados com doses de 0 e 40 kGy……....104

FIGURA 35. Força máxima de ruptura dos filmes de amido e adicionados de hibisco (1 e 2%) e cúrcuma (1 e 2%) irradiados preparados por *casting*.....105
FIGURA 36. Curvas termogravimétricas dos filmes de amido nas doses 0 e 40 kGy……....106
FIGURA 37. Curvas termogravimétricas dos filmes de amido adicionados de hibisco (1 e 2%), respectivamente, irradiados com doses de 0 e 40 kGy.....107
FIGURA 38. Curvas termogravimétricas dos filmes de amido adicionados de cúrcuma (1 e 2%), respectivamente, irradiados com doses de 0 e 40 kGy……..108
FIGURA 39. Espectros no infravermelho com transformada Fourier de filmes de amido irradiados nas doses 0 e 40 kGy……..110
FIGURA 40. Espectros no infravermelho com transformada Fourier dos filmes adicionados de hibisco (1 e 2%), irradiados com doses de 0 e 40 kGy.....111
FIGURA 41. Espectros no infravermelho com transformada Fourier dos filmes adicionados de cúrcuma (1 e 2%), irradiados com doses de 0 e 40 kGy…… 112
FIGURA 42. Espectro Raman dos filmes de amido 0 e 40 kGy…… 112
FIGURA 43. Espectro Raman de filmes adicionados de cúrcuma (1 e 2%), irradiados com doses 0 e 40 kGy……114
FIGURA 44. Micrografias obtidas por microscopia eletrônica de varredura dos filmes de amido adiconados de extratos de cúrcuma (1 e 2%) nas doses irradiadas de 0 e 40 kGy……..118
FIGURA 45. Micrografias obtidas por microscopia eletrônica de varredura dos filmes de amido adicionados de extrato de hibisco (1 e 2%) irradiados nas doses 0 e 40 kGy……...119
FIGURA 47. Filmes de amido, e adicionados de partículas de hibisco (1 e 2%) e partículas de cúrcuma (1 e 2%) preparados pelo método de extrusão e irradiados…… 121

LISTA DE TABELAS

TABELA 1. Biopolímeros encontrados na natureza e suas funções……23
TABELA 2. Características físico-químicas dos cálices de *Hibiscus sabdariffa*.... 33
TABELA 3. Grupos substituintes de hidroxilas do cátion flavílio encontradas na natureza e importantes em alimentos.....34
TABELA 4. Composição química da *Curcuma Longa* L……36
TABELA 5. Estrutura química dos curcuminóides presentes na *Curcuma Longa* L……...37
TABELA 6. Métodos utilizados na elaboração das partículas……...38
TABELA 7. Interações da radiação ionizante com a matéria e suas consequências..... 44
TABELA 8. Parâmetros das extrações dos compostos bioativos de hibisco e cúrcuma……..52
TABELA 9. Proporção do material de parede para a produção das partículas…..58
TABELA 10. Desenvolvimento dos filmes de amido por extrusão (%)…… 64
TABELA 11. Condições do processo de irradiação dos filmes……67
TABELA 12. Atividade antioxidante - DPPH e OxHLia dos extratos de hibisco.... 73
TABELA 13. Atividade antioxidante: DPPH e OxHLia dos extratos de cúrcuma...75
TABELA 14. Dados espectrais de massa e tentativa de identificação dos compostos fenólicos presentes nos extratos etanólicos e metanólicos de hibisco.....76
TABELA 15. Quantificação ($mg.g^{-1}$ de extrato) dos compostos fenólicos, ácidos fenólicos totais, flavonóides totais e compostos fenólicos totais presentes nos extratos de hibisco..... 77
TABELA 16. Atividade anti-inflamatória dos extratos de cúrcuma.....79
TABELA 17. Atividade antibacteriana dos extratos de hibisco por ultrassom..... 81
TABELA 18. Atividade antifúngica dos extratos de hibisco por ultrassom.....82
TABELA 19. Atividade antibacteriana da extração do hibisco por micro-ondas....83
TABELA 20. Atividade antifúngica da extração do hibisco por micro-ondas..... 84
TABELA 21. Atividade antibacteriana da extração da cúrcuma por ultrassom.....85
TABELA 22. Atividade antifúngica da extração da cúrcuma por ultrassom.....86
TABELA 23. Atividade antibacteriana da extração da cúrcuma por micro-ondas. 87
TABELA 24. Atividade antifúngica da extração da cúrcuma por micro-ondas.....88

TABELA 25. Caracterização das partículas encapsuladas com diferentes proporções de material de parede e ativo.....91
TABELA 26. Parâmetros de cor (parâmetros físicos) obtidos das partículas encapsuladas com diferentes materiais de parede e ativo.....93
TABELA 27. Avaliação da capacidade antioxidante (DPPH) das partículas..... 94
TABELA 28. Propriedades dos hidrogéis……. 96
TABELA 29. Espessura e Umidade dos filmes de hibisco e cúrcuma preparados por *casting* e irradiados…….. 99
TABELA 30. Regiões espectrais encontradas em carboidratos……113
TABELA 31. Parâmetros de cor dos filmes de amido por *casting*……..116
TABELA 32. Atividade antioxidante dos filmes de amido pelo método DPPH….117
TABELA 33. Propriedades fisico-químicas dos filmes de amido, e adicionados de partículas de hibisco (1 e 2%) e partículas de cúrcuma (1 e 2%) extrusados e irradiados com diferentes doses…….. 122
TABELA 34. Parâmetros de cor dos filmes extrusados……...124

1 INTRODUÇÃO

Nos últimos anos, filmes ou revestimentos produzidos a partir de polímeros naturais têm sido propostos como alternativa para aumentar a vida útil de alimentos, na forma de embalagens primárias, e, ao mesmo tempo reduzir a poluição ambiental decorrente do uso de embalagens sintéticas não degradáveis. Os materiais utilizados para produção de embalagens biodegradáveis são oriundos de matérias-primas agrícolas ou resíduos das indústrias de processamento de alimentos, farmacêuticas, entre outras. Polissacarídeos, proteínas e lipídeos são os principais biopolímeros empregados para produção de revestimentos comestíveis, denominados de funcionais ou ativos quando combinados com agentes antioxidantes ou antimicrobianos (FU et al., 2017) e são capazes de produzir matrizes contínuas (SHOJAEE-ALIABADI et al., 2013). Embalagens ativas apresentam interação desejável com o produto, com manutenção da estabilidade, qualidade e consequente aumento da vida de prateleira. Inúmeros agentes naturais podem ser utilizados beneficamente para a formulação de filmes ativos, como pigmentos, vitaminas, compostos fenólicos ou a adição de extratos e produtos que contenham tais compostos em sua composição (SOUZA et al., 2011; MARTINS et al., 2012; IAHNKE et al., 2015; REIS et al., 2015; PAGNO et al., 2016; PIÑEROS-HERNANDEZ et al., 2017).

Dentre os polissacarídeos que são utilizados para produção de revestimentos comestíveis, o amido recebe atenção especial por apresentar baixo custo, ser abundante e renovável. Além disso, está presente sob várias formas em função da origem da matéria-prima gerando diferentes alternativas a serem pesquisadas na área de filmes (ANDRADE-MAHECHA, 2012).

O amido representa uma parte da reserva energética de plantas, está conformado quimicamente por cadeias lineares de glicose unidas por ligações α (1→4) e cadeias ramificadas unidas por ligações α (1→6) (BEMILLER & WHISTLER, 2009). As propriedades do amido são em função da sua origem botânica, da morfologia e da estrutura do grânulo, da composição e da proporção das cadeias de amilose e amilopectina (FUENTES et al., 2019; HOOVER, 2001).

O uso de aditivos, como antioxidantes, pode levar à mudança da matriz polimérica, com menor permeabilidade ao vapor de água, menor transmissão de

luz, maior resistência à tração ou elongamento na ruptura, dependente da característica e interação do aditivo adicionado, de caráter hidrofóbico ou hidrofílico, que pode proporcionar maior proteção aos alimentos durante o armazenamento (BARBOSA-PEREIRA et al., 2013; NORONHA et al., 2014; MEDINA JARAMILLO et al., 2016).

A nanotecnologia vem recebendo grande atenção por proporcionar maior estabilidade aos compostos bioativos em escala nanométrica, como a solubilidade de compostos hidrofóbicos em matrizes hidrofílicas e uma liberação contínua e controlada dos compostos ao longo do tempo (LOBATO et al., 2013; DOS SANTOS et al., 2015; DA SILVA et al., 2016).

A encapsulação é um processo em que pequenas partículas sólidas, gotículas líquidas ou gasosas são revestidas por um material de parede, ou incorporadas em uma matriz homogênea ou heterogênea. Esta técnica apresenta várias vantagens dentre as quais se destacam a proteção ao oxigênio e à umidade, resultando em maior estabilidade, aumento da biodisponibilidade e liberação controlada do recheio, e a redução da higroscopicidade de produtos hidrofílicos, pela encapsulação em materiais de parede hidrofóbicos (ABBAS et al., 2012).

Agentes antioxidantes oriundos de fontes naturais, como extratos de plantas, surgem como uma possível alternativa para substituição dos agentes sintéticos, sendo que sua adição em filmes à base de biopolímeros possibilita a produção de embalagens ativas (BITENCOURT et al., 2014).

O desenvolvimento de embalagens ativas antioxidantes a partir de bases poliméricas degradáveis também se mostra como uma opção para oferecer ao mercado materiais ambientalmente adequados. A ideia de trabalhar com uma fonte biodegradável e com antioxidantes naturais, pode oferecer ao mercado e ao consumidor uma embalagem que, além de exercer suas funções tecnológicas, também atenda às demandas atuais de proteção ao meio ambiente e segurança ao consumidor. As embalagens ativas antioxidantes são promissoras tendo em vista que podem inibir ou retardar as reações de oxidação dos alimentos.

A irradiação com radiação ionizante é uma tecnologia bem estabelecida na área de esterilização de produtos na área médica, reticulação de polímeros, conservação de alimentos e objetos de arte, sendo aplicada comercialmente em países desenvolvidos e em desenvolvimento (IAEA, 2004a,b). Também, o uso da

síntese induzida por radiação ionizante se destaca como um método para produção de materiais com melhores propriedades mecânicas (GUVEN, 2005; INAMURA et al., 2010).

A literatura ainda é escassa no tema de desenvolvimento de filmes biodegradáveis irradiados incorporados com compostos bioativos. A adição a filmes biodegradáveis de extratos naturais por nanoencapsulação pode ser uma técnica promissora para aumentar a solubilidade destes compostos, além de proporcionar melhor estabilidade frente a diversos fatores.

A hipótese considerada no presente trabalho é que a adição do extrato de hibisco e cúrcuma na formulação da solução filmogênica produzirá filmes com atividade antioxidante. Será necessário verificar o efeito sobre as propriedades, assim como o tratamento com a irradiação dos filmes após a secagem. Os polifenóis presentes nesses extratos poderiam induzir rearranjos estruturais nas macromoléculas e com o tratamento com irradiação sejam afetadas as propriedades, tanto física quanto quimicamente.

As embalagens ou revestimentos comestíveis à base de polímeros naturais contendo extratos vegetais desempenham um papel importante na indústria alimentícia. Quando encapsulados em nanoescala, sua bioatividade pode ser potencializada, possibilitando a redução das doses necessárias para garantir a atividade biológica. A combinação de irradiação com polímeros naturais ativos pode aumentar a radiossensibilidade microbiana e reduzir a dose de tratamento individual, mantendo a qualidade e a segurança do produto alimentício. O tratamento por radiação também pode servir como uma ferramenta para reticulação e para compatibilização reativa de polímeros naturais, melhorando as propriedades dos filmes.

2 OBJETIVO

2.1 Objetivo Geral

Desenvolvimento e caracterização de filmes bioativos de amido de batata contendo antioxidantes naturais, hibisco e cúrcuma, para possível aplicação na área de embalagem de alimentos. Efeito da ação da radiação ionizante nesses filmes.

2.2 Objetivos Específicos

- Extração com solventes orgânicos assistida por micro-ondas e ultrassom de compostos bioativos de hibisco (*Hibiscus sabdariffa L.*) e da cúrcuma (*Curcuma Longa L.*) e identificação dos compostos presentes nos extratos;
- Avaliação da atividade antioxidante, anti-inflamatória, antimicrobiana, teor de compostos fenólicos dos extratos estudados;
- Produção de nanopartículas dos compostos bioativos contidos nos extratos empregando diferentes materiais de encapsulação;
- Verificação da influência do uso de diferentes concentrações de agentes encapsulantes (materiais de parede) sobre as propriedades físico-químicas (atividade de água, tamanho médio das partículas, potencial zeta, cor e capacidade antioxidante) das nanopartículas obtidas por *nanospray dryer;*
- Desenvolvimento de filmes de amido bioativos pelo método de moldagem (*casting*) e de extrusão;
- Avaliação do efeito da irradiação por feixes de elétrons nas propriedades térmicas, mecânicas e morfológicas dos filmes.

3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1 Biopolímeros/Polissacarídeos

O desenvolvimento de produtos a base de polímeros naturais, biopolímeros e/ou biodegradáveis oferece diversas alternativas em busca de um processo de desenvolvimento mais sustentável (ABD El-REHIM, 2006; MA et al., 2012).

Os biopolímeros podem ser definidos como macromoléculas de elevada massa molar (superior à 10^4 $g.mol^{-1}$), constituídas por monômeros ligados covalentemente, que são sintetizados por organismos vivos (STEINBUCHEL, 2003; KOLYBARA et al., 2004). A TAB.1 apresenta biopolímeros encontrados na natureza e respectivas funções (ALLAN et al., 1993; STEINBUCHEL, 2003).

TABELA 1. Biopolímeros encontrados na natureza e suas funções (STEINBUCHEL, 2003)

Polímero	Monômero	Funções
Ácidos nucléicos (DNA e RNA)	Nucleotídeos	Carrega as informações genéticas
Proteínas	Aminoácidos	Catálise biológica (enzimas), fatores de crescimento, materiais estruturais (lãs, couro, seda, cabelo, tecido conectivo), hormônios (insulina), toxinas, anticorpos
Polissacarídeos (Carboidratos)	Monossacarídeos	Material estrutural de plantas e organismos superiores (celulose, quitina), armazenamento de energia (glicogênio, amido), secreções microbianas
Polihidroxialcanoatos	Ácidos graxos	Reserva de energia de micro-organismos
Polifenóis	Fenóis	Materiais estruturais em plantas (lignina), estrutura do solo (húmus, turfa), mecanismo de defesa em plantas
Polifosfatos	Fosfatos	Materiais inorgânicos para armazenamento de energia
Polissilfetos	Sulfetos	Materiais inorgânicos para armazenamento de energia

Quanto à estrutura química, os biopolímeros são classificados em polissacarídeos, poliésteres ou poliamidas (PRADELLA, 2006). Têm em comum o fato de todos serem produzidos a partir de matérias-primas renováveis.

Os polissacarídeos se destacam pela complexidade estrutural, visto serem constituídos de dezenas, centenas ou mesmo, milhares de unidades de um único ou de diferentes tipos de monossacarídeos, unidos entre si através de ligações glicosídicas, constituindo longas cadeias com massa molar superior a 10^6 $g.mol^{-1}$ (BOBBIO & BOBBIO, 1992a). Estas macromoléculas diferem entre si na composição química, no tipo de ligação glicosídica, no grau de ramificação e no comprimento de suas cadeias laterais (GUITIÉRREZ et al., 1996; CORRADI DA SILVA et al., 2006). Por isso, existe uma grande diversidade estrutural das moléculas sintetizadas pelos micro-organismos, o que permite que apresentem distintas propriedades funcionais.

A maioria dos polissacarídeos apresentam estrutura ramificada, como é o caso do amido e do glicogênio. Cabe ressaltar que a estrutura da macromolécula tem influência no seu comportamento em solução aquosa. Por exemplo, grandes variações no grau de ramificação podem afetar a solubilidade dos polímeros (SUTHERLAND, 1998). Tem-se ainda que o aumento no teor de ramificações reduz a cristalinidade, o que resulta em alteração das características mecânicas dos polímeros. Em geral, à medida que aumenta a quantidade de ramificações, a estrutura torna-se mais compacta, ou seja, sua superfície diminui e, consequentemente, diminui sua rigidez e aumenta a sua solubilidade em água (CORRADI DA SILVA et al., 2006).

Dentre os polissacarídeos mais utilizados na formação de coberturas ou blendas poliméricas estão os derivados hidrossolúveis de celulose (PASTOR et al., 2011), amido (BERTUZZI et al., 2007), quitosana (DUTTA et al., 2009), entre outros.

3.2 Amido ou Fécula

Muitos consideram amido ao produto amiláceo extraído das partes aéreas dos vegetais, ou seja, é o que está acima da terra. Fécula seria o produto amiláceo extraído das partes subterrâneas comestíveis dos vegetais (tubérculos,

raízes e rizomas), ou seja, é o que está enterrado. Entretanto, o único componente da fécula é o amido.

O amido é um biopolímero de glicose formado de duas macromoléculas, a amilopectina e a amilose (FIG.1), que são a maior parte reserva de energia dos vegetais superiores. Elas são sintetizadas no interior de organelas celulares denominadas amiloplastos, e à medida que crescem ganham a forma única de uma estrutura semicristalina e mais densa que a água chamada grânulo (JARVIS & LÓPEZ-JUEZ, 2013).

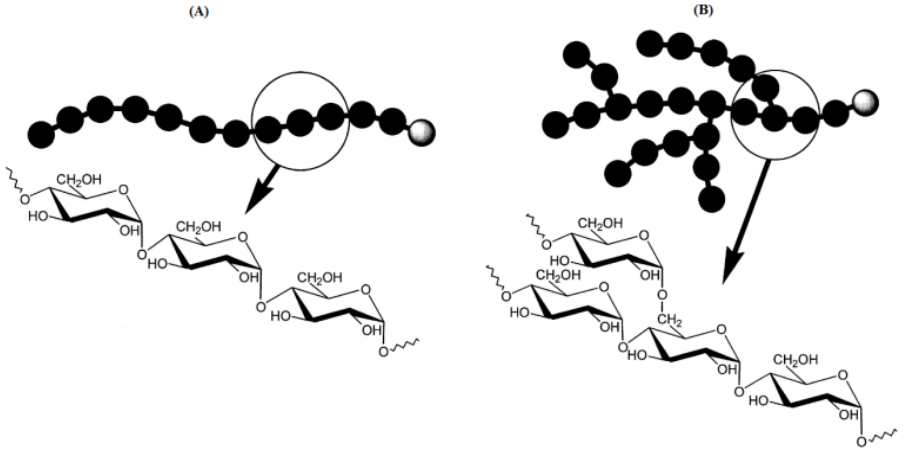


FIGURA 1. Estrutura básica da amilose (A) e amilopectina (B)
Fonte: KNILL & KENNEDY, 2004.

A amilopectina é uma das maiores macromoléculas naturais. Partes das moléculas formam regiões cristalinas dispersas na porção amorfa do grânulo (JANE, 2009; OOSTERGETEL & VAN BRUGGEN, 1993; PÉREZ et al., 2009). Por isso, o amido é um material birrefringente e a medida dessa propriedade indica a presença de cristais de amilopectina (BILIADERIS, 2009).

A estrutura ramificada da amilopectina é formada por três tipos de cadeias: A, B e C (FIG.2). As cadeias tipo A se ligam por uma das extremidades redutoras às cadeias B ou C e não ligam entre si, as cadeias B se ligam a A ou a C no carbono 6 da unidade de anidroglicose (AGU) e há apenas uma cadeia C que carrega a extremidade redutora (Φ) da molécula (HIZUKURI, 1985; JANE, 2009).

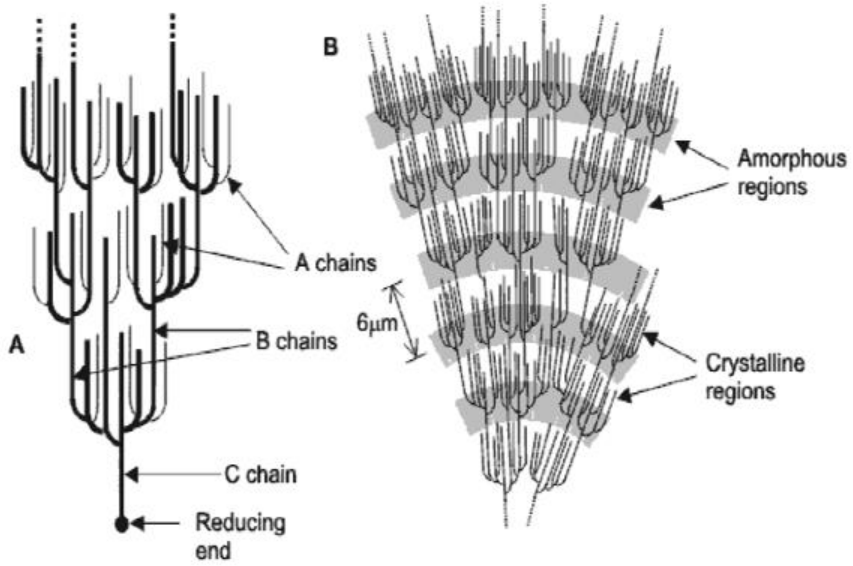


FIGURA 2. Estrutura da amilopectina e suas cadeias.

(A) Classificação das cadeias da amilopectina em tipo A, B e C. (B) Estrutura da amilopectina formando as regiões amorfas e cristalinas no grânulo de amido. Fonte: DENARDIN & SILVA, 2009.

A estrutura da amilopectina é altamente complexa e ramificada, existindo vários modelos para representá-la, o mais citado é conhecido como modelo de “clusters”, em que a amilopectina é constituída por uma cadeia principal “C” que contém um terminal redutor da molécula e muitas cadeias ramificadas, longas e/ou curtas, essas cadeias ramificadas são classificadas como “A” e “B”. As “B” são mais internas e ramificadas, possuem aproximadamente 40 unidades de glicose. As cadeias “A”, mais externas e cristalinas, não são ramificadas, com cerca de 15 unidade de glicose (FIG. 2) (WAIGH et al., 2000; DANIELS & DONALD, 2003; CARVALHO, 2008).

Essas cadeias se entrelaçam com giro para a esquerda e formam as hélices duplas. Tais hélices conferem rigidez às moléculas de amilopectina e isso auxilia as hélices a se emparelharem, dando assim origem aos cristais (BERTOFT et al., 2016; HIZUKURI et al., 1983; PÉREZ et al., 2009). Os cristais, por sua vez, se agrupam em regiões cristalinas chamadas de *clusters*, as quais podem se organizar em dois arranjos: o monoclínico ou o hexagonal (PÉREZ et al., 2009).

As hélices duplas estão compactadas de tal modo que não há espaço vazio no arranjo monoclínico. Elas estão unidas por ligações de hidrogênio de forma

direta uma à outra e indiretamente por meio de quatro moléculas de água alocadas no interior de cada célula unitária do cristal. No arranjo hexagonal (FIG.3), seis hélices duplas formam um hexágono no qual 18 moléculas de água formam ligações de hidrogênio que mantêm as hélices unidas. No espaço central da célula unitária, mais 18 moléculas de água formam uma estrutura em rede, organizada com número de coordenação próximo de quatro (BRUBACH, 2005; PÉREZ et al., 2009; WARREN et al., 2013).

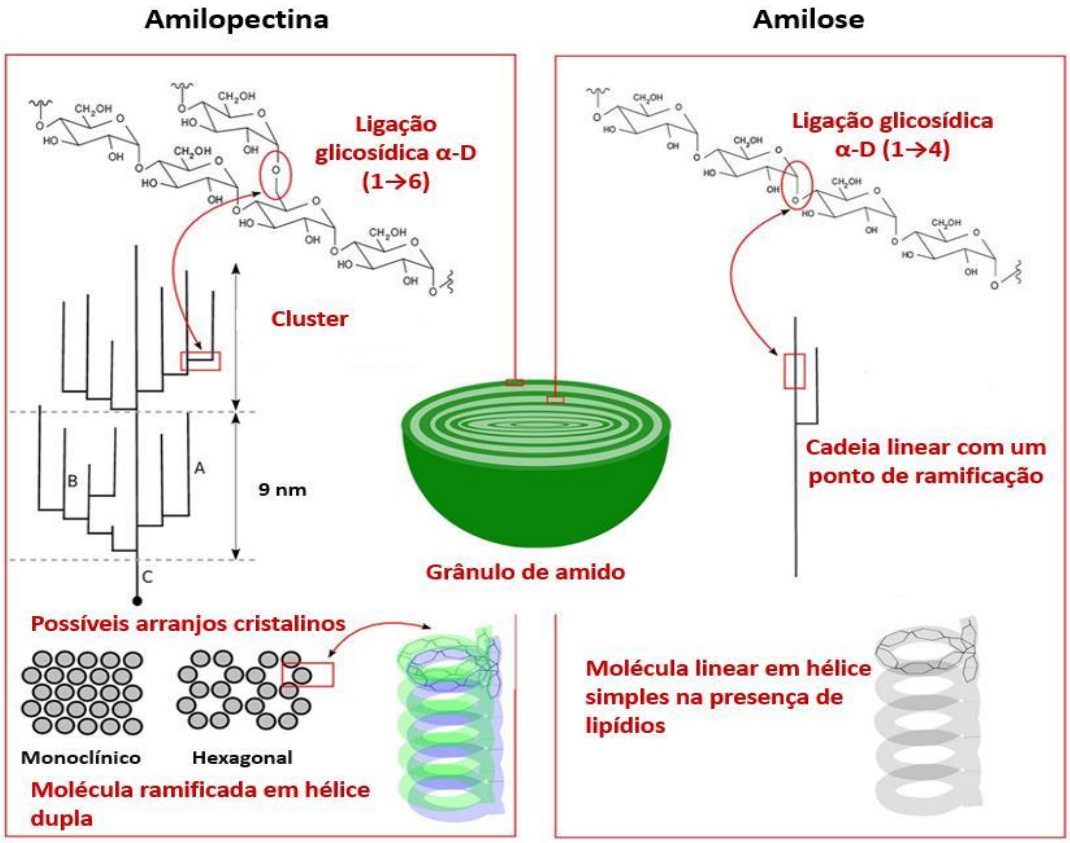


FIGURA 3. Esquema de comparação das características estruturais das macromoléculas de amido.
Fonte: Adaptado de RAGUIN & EBENHOH, 2017.

Se as hélices se organizarão em arranjo monoclínico ou hexagonal, isso dependerá da temperatura e da quantidade de água. Como essas condições podem variar durante a polimerização e a cristalização das moléculas do amido, os dois arranjos podem coexistir em um mesmo grânulo (JANE 2009; PÉREZ et al., 2009).

O formato final do grânulo pode ser esférico, oval, elipsoidal ou discóide de dimensões características que variam de 0.1 a 100 µm. Essa variabilidade de

tamanho do grânulo deve ser considerada ao avaliar suas propriedades físicas (JANE 2009; PÉREZ et al., 2009).

A amilose compõe geralmente até 30/100g do amido nativo, suas unidades de anidroglicose estão unidas principalmente por ligações α-D-(1 → 4) e com poucos pontos de ramificação, como mostrado na FIG. 1 (JANE, 2009). As moléculas de amilose estão isoladas e dispersas nas regiões amorfas entre as moléculas de amilopectina. A literatura sugere que essas moléculas estão entrelaçadas com as de amilopectina o que mantém o grânulo coeso (BILIADERIS, 2009).

As cadeias dos poucos pontos de ramificação assumem a forma de dupla hélice, mesmo assim não cristalizam à medida que crescem. No entanto, se estiverem próximas de moléculas de lipídios, as moléculas de amilose se enrolam, formando os complexos amilose-lipídio, como esquematizado na FIG. 3. Estes se forem impedidos de se movimentar por interação energética ou por efeito estérico, se organizam como cristais (GODET et al., 1996; ZOBEL, 1988).

A gelatinização do amido ocorre na presença de dois principais fatores, o calor e a umidade. Primeiramente, os grânulos incham devido à absorção de água, e a organização cristalina do amido é rompida irreversivelmente. A teoria de Jenkins e Donald (1998) relata que primeiro a água entra nos anéis de crescimento amorfo, e a um certo grau de inchaço, o estresse de rompimento é transmitido através das conexões das moléculas das regiões amorfas às cristalinas. As moléculas de amilose começam a escoar pelos grânulos, uma vez que são rompidos sob cisalhamento. Nesta etapa a viscosidade aumenta ao máximo, porém os grânulos do amido ainda permanecem intactos. O pico máximo de viscosidade é seguido pela diminuição da viscosidade da pasta, quando os grânulos se rompem e as moléculas de amido são dispersas na fase aquosa. A taxa, a extensão de inchaço e a quebra dependem do tipo e quantidade de amido, do gradiente de temperatura, da força de cisalhamento e a composição da mistura (DEBET & GIDLEY, 2007). A temperatura de gelatinização da maioria dos amidos é na faixa de 60 a 80 °C.

A amilose é considerada a responsável pelo processo de retrogradação. Existe uma relação entre o comprimento da cadeia de moléculas de amilose e a

facilidade em retrogradar; moléculas muito grandes ou muito curvas têm dificuldade em se reassociarem, diminuindo a velocidade de retrogradação (PERONI, 2003).

A retrogradação é o processo que ocorre quando as moléculas de amido gelatinizadas começam a se reassociar favorecendo uma estrutura mais ordenada. Sob condições favoráveis, esta estrutura ordenada pode se desenvolver em forma cristalina (DONALD, 2004). Durante a retrogradação, as moléculas de amilose formam associações de duplas hélices de 40 a 70 unidades de glicose, sendo que a amilopectina forma duplas hélices menores, devido às restrições impostas pela estrutura ramificada das moléculas e o comprimento das ramificações. Essa reassociação ocorre de forma molecular e estrutural mais fraca que a encontrada na molécula nativa, portanto, menos energia é requerida para fundir os cristais reestruturados (SASAKI et al., 2000).

O amido pode se tornar um termoplástico em processos de extrusão e moldagem, na presença de plastificantes, como a água e o glicerol. Neste processo, os grânulos são quebrados em fragmentos, rompendo as ligações de hidrogênio perdendo sua estrutura semicristalina, ocorrendo assim uma parcial despolimerização (AVÈROUS, 2004). Filmes funcionais à base de amido surgiram como materiais promissores e estão sendo desenvolvidos em diferentes laboratórios. Para melhorar seus atributos positivos e/ou minimizar seus defeitos, o amido pode ser modificado física e/ou quimicamente para a maioria das aplicações.

3.3 Radicais Livres, Antioxidantes e Compostos Fenólicos

Os radicais livres são assim denominados por possuírem um ou mais elétrons desemparelhados em sua estrutura, tornando-se altamente instáveis e quimicamente muito reativos (BIANCHI & ANTUNES, 1999). São formados através da perda ou ganho de um elétron a partir de uma espécie não-radical através da cisão homolítica da ligação covalente ($R – H \rightarrow R^* + H^*$).

Sob condições normais, os radicais livres são essenciais para o funcionamento do organismo atuando como mediadores na transferência de elétrons em várias reações bioquímicas, como na destruição de patógenos, no controle do crescimento, em processos de desintoxicação, entre outros (ARAÚJO, 2015; ANGERAMI et al., 2012).

Os antioxidantes são compostos capazes de neutralizar os radicais livres, doando a estes um elétron da sua molécula, impedindo assim a reação oxidativa sobre lipídios, aminoácidos, moléculas insaturadas e bases de DNA (BARBOSA et al., 2010). Podem ter origem enzimática dentro das células sanguíneas, como a superóxido dismutase, glutationa peroxidase e catalase, ou não-enzimática, frente à ingestão de alimentos ricos em vitaminas A, C e E, minerais como zinco, selênio, cobre, manganês (ANGERAMI et al., 2012) e compostos bioativos (DALLA NORA, 2012).

Segundo a *Food and Drug Administration* (FDA), antioxidantes são substâncias usadas para preservar alimentos através do retardo da deterioração, rancidez e descoloração decorrente da auto-oxidação (ADEGOKE et al., 1998). Tais compostos atuam sequestrando as espécies reativas de oxigênio e complexando/quelando os íons metálicos (MELO et al., 2008; RETO et al., 2008).

Os vegetais produzem dois tipos de metabólitos: os primários, responsáveis pela sua sobrevivência – fotossíntese, assimilação de nutrientes – e os secundários, cuja atividade relaciona-se à proteção da planta. Na gama de metabólitos secundários produzidos pelos vegetais, incluem-se os compostos bioativos (SILVA et al., 2010). Os compostos bioativos, também chamados de fitoquímicos, são estruturas orgânicas obtidas de fonte vegetal, geralmente de baixo peso molecular, que exercem atividades benéficas ao organismo humano, como redução do risco de doenças coronarianas, atividade antioxidante, estimulação do sistema imunológico, redução da pressão sanguínea, regulação hormonal, entre outras (CARRATU, 2005). Os principais elementos com propriedades bioativas nos vegetais são os compostos fenólicos ou polifenóis (que abrangem o maior grupo de substâncias), os carotenóides e os glicosinolatos (FIG.4).

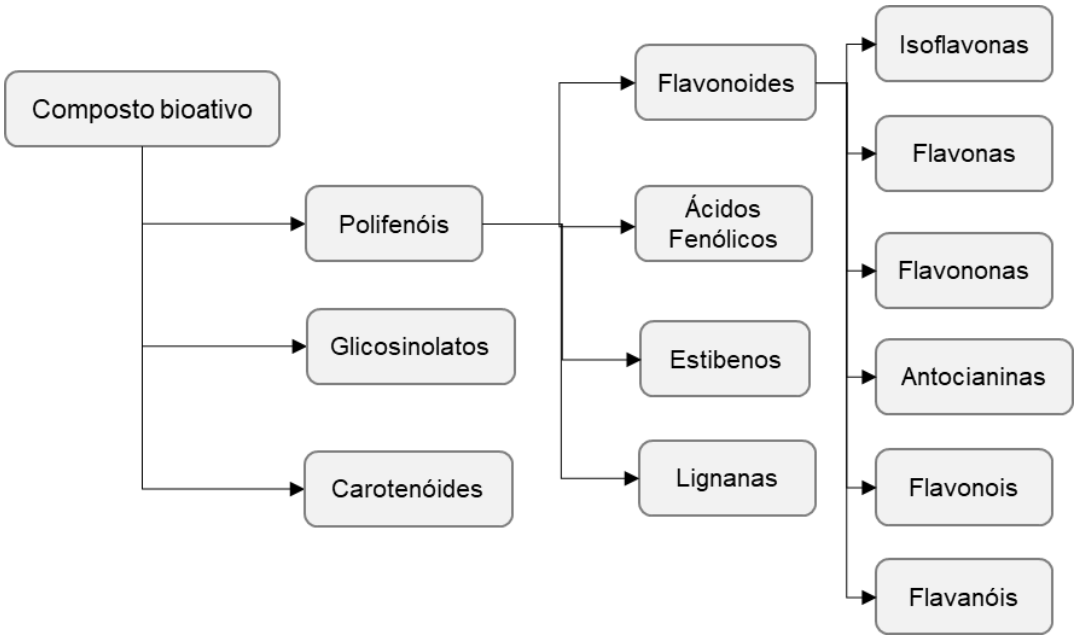


FIGURA 4. Subdivisão dos compostos bioativos presentes no vegetais
Fonte: Horst, 2007.

Para o estudo, o de maior interesse são os compostos fenólicos, importantes metabólitos secundários encontrados em frutas e vegetais. São também chamados polifenóis, formadas por um anel aromático com uma ou mais hidroxilas, incluindo os seus grupos funcionais (ANGELO & JORGE, 2007). Essa característica estrutural está diretamente ligada a sua atividade antioxidante, sendo influenciada, particularmente, pelo número e posição dos grupos hidroxila e pela natureza das substituições nos anéis aromáticos (BALASUNDRAM et al., 2006). São encontrados em frutas, sementes, flores e em alguns alimentos industrializados como componente que tenha sido adicionado (BRAVO, 1998).

3.4 Composto Bioativo - Hibisco

Existem mais de 300 espécies de hibisco (*Hibiscus sp.*) distribuídas em regiões tropicais e subtropicais ao redor do mundo (FIG.5). Para muitas delas são atribuídas propriedades medicinais como antibacteriana, neuro e hepatoprotetora, antidiabética, antioxidante, antimutagênico e anti-hipertensiva, como é o caso do *H. sabdariffa L*. Este, pertence à classe das Dicotiledôneas, família das Malváceas e gênero *Hibiscus*. Nativo do continente africano é conhecido popularmente como hibisco, rosela, groselha, azedinha, quiabo azedo, caruru-azedo, caruru-da-guiné e quiabo-de-angola, além de receber outros nomes como cardadé, rosa da Jamaica,

té de Jamaica (espanhol); red sorrel ou Jamaica sorrel (inglês); cardade (italiano); afrikanische malve (alemão) ou roselle (francês) (VIZZOTO et al., 2009).

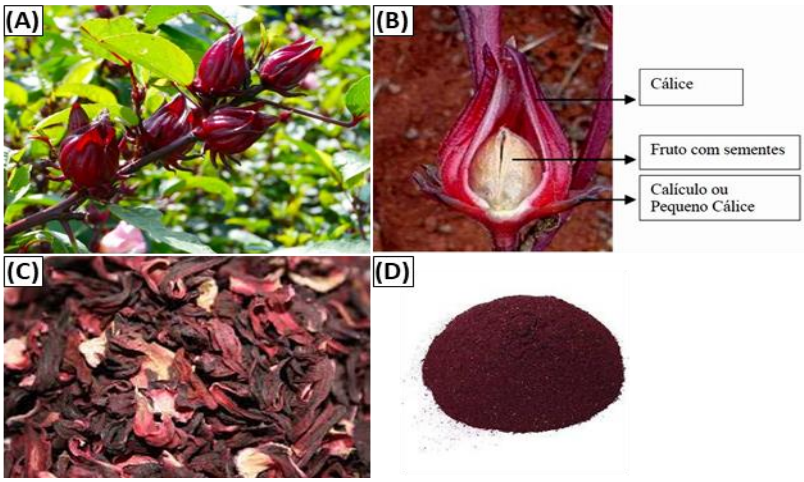


FIGURA 5. A) Foto da planta, (B) cálice de hibisco, (C) cálice desidratado e (D) cálice em pó de hibisco.

O cálice é a parte mais utilizada e estudada do hibisco, principalmente devido às antocianinas presentes (PRENESTI et al., 2007; SANCHEZ-MENDOZA et al., 2008), que tem como teores médios 350 $mg.kg^{-1}$ de matéria seca, onde a delfinidina 3-sambubiosídeo e cianidina 3-sambubiosídeo, representam 71 e 29% do total de antocianinas, respectivamente (CISSE et al., 2009a, 2011). A TAB. 2 mostra as características físico-químicas dos cálices do hibisco. Os principais constituintes do *H. sabdariffa* relevantes ao uso farmacológico são ácidos orgânicos, antocianinas, polissacarídeos e flavonoides.

TABELA 2. Características físico-químicas dos cálices de *Hibiscus sabdariffa*

Componentes	Valores médios
Umidade ($g.100g^{-1}$)	86,3
Proteínas ($g.100g^{-1}$)	6,6
Lipídeos ($g.100g^{-1}$)	2,3
Fibras ($g.100g^{-1}$)	8,8
Cinzas ($g.100g^{-1}$)	5,6
Glicídios ($g.100g^{-1}$)	8,1
Ácido málico ($g.100g^{-1}$)	1,36
Ácido ascórbico ($mg.100g^{-1}$)	72,0
Antocianinas ($mg.100g^{-1}$)	350,0

Fonte: Adaptado de CISSE et al., 2009a.

As antocianinas são pigmentos hidrossolúveis classificados quimicamente dentro do grupo dos compostos fenólicos, e compreendem a maior classe de compostos dentro do subgrupo dos flavonoides (GIUSTI & JING, 2008), são derivadas polihidróxi e/ou polimetóxi glicosilados do cátion 2-fenilbenzopirílio, conhecido como cátion flavílio, que consiste em dois anéis aromáticos unidos por uma unidade de três carbonos e condensados por um oxigênio. A molécula de antocianina é constituída por duas ou três porções: uma aglicona (antocianidina), cuja fórmula é composta por 15 carbonos (15 C) ligados em forma de três anéis $C_6C_3C_6$, um grupo de açúcares e, frequentemente, um grupo de ácidos orgânicos (FIG.6) (MERCADANTE & BOBBIO, 2008).

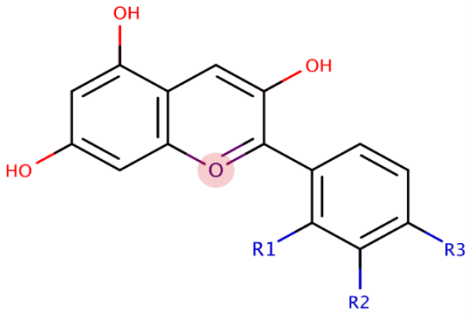


FIGURA 6. Estrutura geral das antocianidinas mais comuns, onde R_1, R_2, R_3, podem ser átomos de hidrogênio, hidroxilas ou metoxilas.

O cátion flavílio por si não é considerado uma antocianina, pois necessita ter substituições nos anéis aromáticos, nas posições representadas pelos radicais R1 e R2 (DOMINGUINI et al., 2014). As substituições e os compostos que são gerados estão indicados na TAB.3.

TABELA 3. Grupos substituintes de hidroxilas do cátion flavílio encontradas na natureza e importantes em alimentos.

Antocianidinas	R1	R2	R3
Cianidina	OH	OH	H
Delfinidina	OH	OH	OH
Pelargonidina	H	OH	H
Petunidina	OMe	OH	OH
Malvidina	OMe	OMe	OMe
Peonidina	OMe	OH	H

Fonte: DOMINGUINI et al., 2014

Vários estudos têm identificado, delfinidina-3-sambubiosideo e a cianidina-3-sambubiosideo como as principais antocianinas presentes nos extratos do cálice e das folhas do hibisco (VILLANUEVA-CARVAJAL, 2013, DA-COSTA-ROCHA et al., 2014). A propriedade mais importante das antocianinas é sua atividade antioxidante, que desempenha um papel fundamental na prevenção de doenças cardiovasculares, neurológicas, câncer e diabetes (KONCZAK & ZHANG, 2004).

3.5 Compostos Bioativos - Cúrcuma

A *Curcuma Longa L.*, conhecida também como açafrão da Índia, gengibre dourado ou cúrcuma (FIG. 7), é uma planta monocotiledônea, do tipo herbácea, pertence à família Zingiberácea, nativa do sudeste asiático, mais precisamente das florestas tropicais da Índia onde ocorre a máxima diversidade genética (SASIKUMAR, 2005).

FIGURA 7. (A) Fotos da planta, do (B) rizoma de *Curcuma longa L.* fresco e (C) cúrcuma em pó.

Fonte: COLLINO, 2014.

A composição química encontrada no rizoma da cúrcuma é influenciada por vários fatores tais como: cultivo, tipo de plantio, solo, disponibilidade hídrica, época de colheita, clima, entre outros. Entre os componentes da cúrcuma estão: carboidratos (4,7–8,2%), ácidos graxos (1,7–3,3%), óleos essenciais (2,44%), curcuminóides (curcumina, demetoxicurcumina e bisdemetoxicurcumina), cujo conteúdo aproximado é de 2%, mas também pode estar entre 2,5 e 5% do peso seco, e outros polipeptídios como a turmerina (0,1% do extrato seco) (SRINIVAS et al., 1992). Os demais constituintes, temos em porcentagens abaixo descritos (TAB. 4).

TABELA 4. Composição química da *Curcuma Longa* L.

Constituinte	Composição (%)
Curcuminóides	1-6
Óleos essenciais	3-7
Fibra alimentar	2-7
Minerais	3-7
Proteína	6-8
Gordura	5-10
Umidade	6-13
Carboidratos	60-70

Fonte: NELSON et al, 2017.

A coloração amarela dos rizomas é principalmente atribuída aos compostos fenólicos classificados como curcuminóides. Estes compostos fenólicos são divididos em três principais substâncias: a curcumina (80%), a desmetoxicurcumina (DMC) (18%) e a bis-desmetoxicurcumina (BDMC) (2%), que são diferenciadas apenas pela quantidade de grupos metoxila (OCH_3) presentes na estrutura química (TAB 5). A curcumina apresenta dois grupos metoxila, a desmetoxicurcumina contém apenas um grupo metoxila e a bis-desmetoxicurcumina não apresenta grupo metoxila (FIG. 8) (ANAND et al., 2008; GOEL & AGGARWAL, 2010).

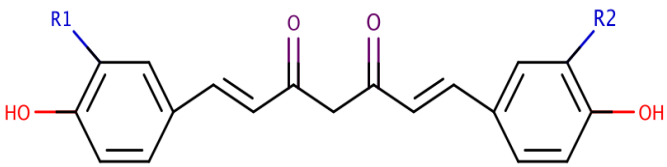


FIGURA 8. Estrutura química dos curcuminóides presentes na *Curcuma longa L.*, onde Curcumina R1=OCH_3 e R2=OCH_3, Demetoxicurcumina R1= OCH_3 e R2=H, Bisdemetoxicurcumina R1=H e R2=H

TABELA 5. Estrutura química dos curcuminóides presentes na *Curcuma Longa L.*

Curcuminóides	R1	R2
Curcumina	OCH3	OCH3
Demetoxicurcumina	OCH3	H
Bisdemetoxicurcumina	H	H

Fonte: GOEL & AGGARWAL, 2010.

A curcumina é um polifenol hidrofóbico, praticamente insolúvel em água o que limita não apenas a sua solubilidade/dispersão em matrizes de alimentos, mas também a sua biodisponibilidade. Apresenta características antioxidantes, anti-inflamatórias, hepatoprotetoras, antimutagênicas e antimicrobianas em vários sistemas do corpo, sendo considerada uma alternativa segura e não tóxica para medicamentos convencionais, apresentando um papel promissor no tratamento de câncer e outras doenças (GUIMARÃES et al., 2011; NAGPAL & SOOD, 2013; XIE et al., 2015). É estável em pH ácido (pH= 3,0 - 6,5), porém instável em pH neutro ou alcalino, devido à rápida degradação hidrolítica (SHARMA et al., 2005; SUN et al., 2012; ZLOTOGORSKI et al., 2013; PRASAD et al., 2014). A encapsulação é uma alternativa para melhorar a estabilidade e biodisponibilidade de corantes naturais (BRAGA et al., 2013).

3.6 Encapsulação

A encapsulação é um processo no qual ocorre a formação de partículas, onde um ingrediente ativo (sólido, líquido ou gás) é recoberto por uma fina camada de outro material (MUNIN & EDWARDS-LÉVY, 2011), podendo ser aplicada a ativos lipossolúveis e/ou hidrossolúveis.

O método clássico de formação de cápsulas é caracterizado pela utilização de uma parede polar revestindo um núcleo apolar ou vice-versa. A imiscibilidade entre o composto ativo e a solução/suspensão do agente encapsulante é o que permite a formação inicial das cápsulas, pois a tentativa de homogenização dessa mistura gera uma emulsão na qual a fase contínua é

composta por um solvente contendo o agente encapsulante e a fase descontínua o composto ativo (ALVIM, 2005).

A técnica possibilita o isolamento e a manutenção de substâncias ativas no interior de uma microestrutura, fornecendo proteção ao ingrediente encapsulado contra condições adversas do meio, tais como: luz, umidade, oxigênio e interações com outros compostos, estabilizando o produto, aumentando a vida útil e promovendo a liberação controlada do encapsulado em condições pré-estabelecidas (HORST, 2009). O material a ser encapsulado pode ser denominado núcleo, material ativo ou fase interna. O material que forma o revestimento é denominado material de parede, carregador, membrana, casca ou revestimento (FAVARO-TRINDADE et al., 2008).

Os procedimentos para obtenção das partículas podem ser classificados em físicos: *spray drying, spray chilling, spray cooling*, leito fluidizado, co-cristalização e processos utilizando fluidos supercríticos; físico-químicos: coacervação, gelificação iônica, evaporação-extração por solvente e formação de lipossomas; e químicos: inclusão molecular e polimerização interfacial (TAB. 6) (GIBBS et al., 1999; GOUIN; MUNIN & EDWARDS-LÉVY, 2011).

TABELA 6. Métodos utilizados na elaboração das partículas

Físico-químicos	Químicos	Físicos
Coacervação simples ou complexa, Separação de fases, envolvimento lipossômico	Polimerização interfacial, inclusão molecular	*Spray drying, spray coating, spray chilling,* Leito fluidizado, extrusão, liofilização, co-cristalização

Fonte: Adaptado de SUAVE et al., 2006.

A primeira etapa do processo de encapsulação consiste na seleção do agente encapsulante adequado (GHARSALLAOUI et al., 2007). A eficiência do encapsulamento e a estabilidade das partículas são influenciadas diretamente pela escolha do material de parede ou material carreador. O material encapsulante é selecionado em função das propriedades físicas e químicas do composto, da aplicação e do método de encapsulação (SUAVE et al., 2006). O material da parede

ideal deve ser de fácil manipulação durante o processo; não reagir com o núcleo; possuir baixa higroscopicidade, para facilitar a manipulação e evitar aglomeração; possuir capacidade de selar e manter o agente ativo no interior da cápsula; ser capaz de fornecer proteção máxima para o núcleo contra condições adversas, possuir as propriedades desejadas de liberação do material ativo e possuir viabilidade econômica (GHARSALLAOUI et al., 2007; SILVA et al., 2014).

Dentre os materiais de parede existentes, os comumente utilizados são os carboidratos, como amidos hidrolisados, modificados, celulose, gomas e ciclodextrinas; lipídeos e proteínas, como gelatina, proteínas do leite e da soja (VAIDYA et al., 2006; JAFARI et al., 2008).

A seleção de um material de parede adequado é importante para a estabilidade dos compostos, e vários autores têm demonstrado que o uso efetivo de maltodextrina, goma arábica e a combinação de ambas podem proporcionar a formação de partículas mais homogêneas para a encapsulação (IDHAM et al., 2012; SOUZA et al., 2015; SILVA et al.,2014).

3.7 Secagem por vaporização (*spray drying*)

A tecnologia de *spray drying* é uma técnica bem estabelecida, barata e direta, apresentando como principal limitação o número reduzido de materiais para encapsulação disponíveis. É comumente utilizado na indústria de alimentos para a produção de alimentos em pó e aglomerados (SHISHIR & CHEN, 2017). As principais variáveis do processo de secagem por *spray drying* são de ordem operacional, como a temperatura do ar de entrada e saída, padrão do fluxo de ar, distribuição de temperatura e umidade, tempo de residência, e de ordem estrutural, como geometria da câmara e o tipo do atomizador (RÉ, 1998; CARDOSO, 2000).

O processo de secagem consiste em três etapas: atomização da solução (1), secagem/desidratação das gotículas líquidas (2) e recuperação da partícula ou pó (3), conforme mostrado na FIG. 9. Na atomização, a alimentação, no estado líquido, é aspergida dentro de uma câmara de secagem com circulação de ar quente e dispersa em pequenas partículas. Nessa etapa, haverá a maximização da área superficial da alimentação líquida, de forma a conferir maior eficiência para a secagem.

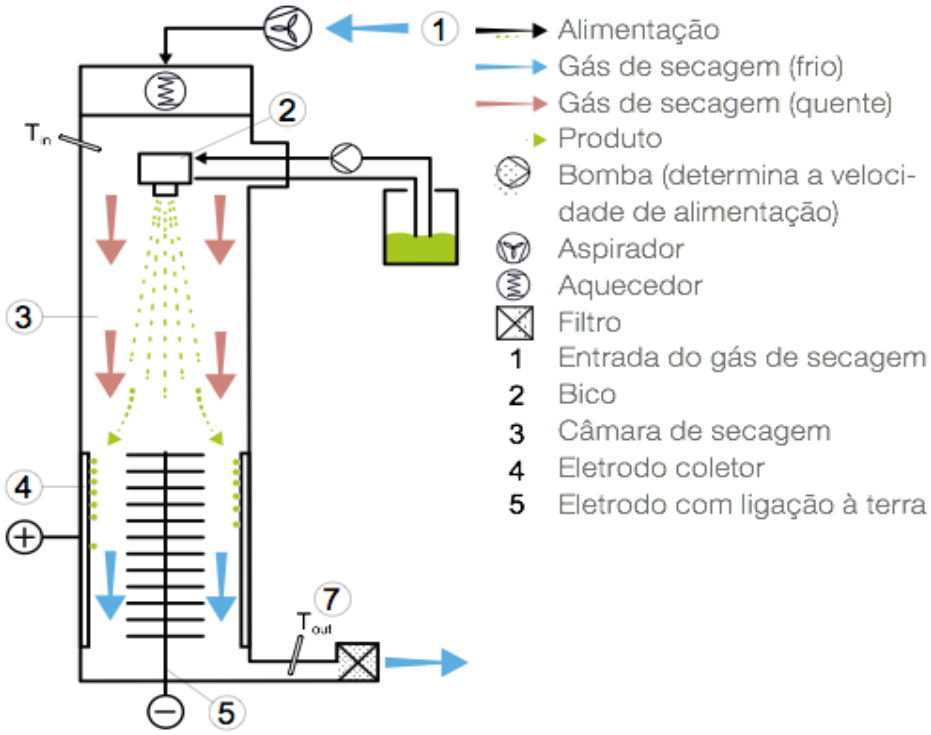


FIGURA 9. Esquema do funcionamento do *nanospray*
Fonte: BUCHI, 2017.

As propriedades da partícula final obtida dependerão diretamente do tipo de atomizador utilizado e do seu desempenho. Após essa etapa, as gotículas atomizadas entrarão em contato com o ar quente. O ar quente aumenta a temperatura das gotículas, ocasionando-lhes a evaporação da água nelas contida. Os sólidos remanescentes do material encapsulante envolverão o material ativo, formando as partículas, que podem ter forma esférica ou oval, com crosta suave ou áspera, dependendo das características do composto e das condições estabelecidas no processo de secagem. Após o fim da secagem, as partículas secas são separadas por meio de um ciclone, sendo recuperadas no final em um recipiente específico (SHISHIR & CHEN, 2017; SILVA et al., 2014).

Suave et al. (2006) e Santos et al. (2000) afirmam que o processo de *spray drying* apresenta algumas vantagens sobre os outros métodos de encapsulação, como o controle eficiente das propriedades e a qualidade do produto, utilização para materiais sensíveis ao calor. Além disso, possibilitam-se grandes produções em operação contínua com equipamento simples, produção de

partículas relativamente uniformes e esféricas. Dentre as desvantagens do método, está a baixa eficiência energética, resultante do transporte da energia pelo ar de saída, dificultando a obtenção de uma condição de ar saturado (AGHBASHLO et al., 2012; KAJJYAMA & PARK, 2011).

3.8 Filmes biodegradáveis à base de amido/fécula

Como já mencionado, polissacarídeos, proteínas e lipídeos são os principais biopolímeros empregados para produzir revestimentos comestíveis, e denominados de funcionais ou ativos quando combinados com agentes antioxidantes ou antimicrobianos (YU & CHEN, 2009).

Para produzir filmes à base de amido, é necessário converter uma forma semicristalina nativa em uma forma amorfa de amido. Duas abordagens diferenciadas pelo conteúdo de água no sistema são tipicamente usadas, gelatinização e fusão do amido. Embora ambos destruam a forma semicristalina nativa de amido, resultando em polímeros de amido amorfo, as propriedades mecânicas e de permeabilidade dos filmes são bastante diferentes. Este processo requer a gelatinização do amido, com excesso de água (> 65% p/p de conteúdo de água) e calor. O mecanismo de formação de filmes depende da concentração de sólidos e do teor de amilose. A formação de filmes ocorre pela agregação e empacotamento dos grânulos de amido intumescidos de uma dispersão com concentração relativamente elevada de sólidos (LIU & HAN, 2005).

O amido é suspenso em água com concentração de 3% a 5% p/p, aquecido a temperatura que varia de 60 a 95 °C e agitado simultaneamente. Durante o aquecimento da suspensão, ocorre a hidratação das moléculas de amido. O processo continua resultando em mudanças na forma e no tamanho dos grânulos, estruturas semelhantes a blocos mais ou menos esféricos, desenrolamento de dupla hélice e destruição cristalina (VERMEYLEN et al., 2006).

A solução é posteriormente seca à medida que a concentração de amido aumenta, produzindo um gel úmido seguido por um filme seco. A remoção de água durante a etapa de desidratação pode causar filmes de amido quebradiços. Assim, os plastificantes são frequentemente incluídos em preparações de moldagem de filme de amido (TALJA et al., 2007). Existem dois sistemas principais de gelificação

de amido possivelmente envolvidos nos processos de fundição: compactação e separação de fase macromolecular.

Durante o processo de secagem, ocorre a retrogradação ou recristalização das moléculas de amido. Posteriormente, o arranjo molecular do amido nos filmes fundidos é semicristalino. Dependendo dos tipos de amido, os filmes de amido não plastificado exibem uma leve cristalinidade do padrão do tipo B com cristalinidade relativa diferente após armazenamento de quatro semanas (LIU & HAN, 2006). A formação de filmes a partir de soluções diluídas de amido segue a ordem de formação de helicóides, agregação ou gelificação e reorganização dos agregados, sendo o início primariamente dirigido pelo resfriamento e o segundo pela desidratação (LIU & HAN, 2005).

Os plastificantes mais comumente usados em filmes biodegradáveis são: glicerol (ALVES et al., 2007; FAMÁ et al., 2007), polietilenoglicol (PARRA et al., 2004) e outros polióis como sorbitol, manitol, sacarose (VEIGA-SANTOS et al., 2005 a;b; ATTARIAN et al., 2006). Sua adição resulta em materiais com maior percentagem de elongação, melhor flexibilidade e extensibilidade. Apresentam alto ponto de fusão e baixa volatilidade, quando adicionados a outro material, provocam mudanças nas suas propriedades físicas, químicas e mecânicas (MCHUGH & KHOCHTA,1994).

Os plastificantes alteram a flexibilidade dos filmes devido à habilidade em reduzir as pontes de hidrogênio entre as cadeias dos polímeros e interferir no espaço molecular (MALI & GROSSMANN, 2003). Seu mecanismo de ação envolve a diminuição, pelas moléculas do plastificante, das forças de Van der Waals que atuam entre as cadeias poliméricas reduzindo a atração intermolecular e, por consequência, aumentando a flexibilidade da cadeia polimérica, provocando interferências nas condições de processamento e propriedades do produto (FORINI, 2008). Ele deve ser uniformemente distribuído e posicionado entre as moléculas de amido, assegurando certo grau de interação através de pontes de hidrogênio, de modo a evitar a separação de fases e a recristalização tanto do plastificante quanto do amido.

Em geral, os filmes de amido são transparentes, fáceis de processar, fornecem boa barreira contra oxigênio e dióxido de carbono, são facilmente biodegradáveis e compatíveis com outros materiais, o que facilita sua elaboração.

No entanto, apresentam alta permeabilidade ao vapor de água, alta solubilidade em água e são muito higroscópicos, frágeis e quebradiços (ACOSTA et al., 2013; DE SOUZA et al., 2009).

Vários estudos se concentraram na atividade antioxidante de filmes a base de amido contendo antioxidantes naturais. Os polifenóis são normalmente os principais componentes desses ingredientes naturais, que atuam como um agente antioxidante. Tipos, métodos de extração, tamanhos e formas dos compostos incorporados nos filmes influenciaram muito a função antioxidante, bem como as propriedades mecânicas e de barreira dos filmes. Os filmes com adição de antioxidantes naturais são vistos hoje, como uma das tecnologias mais interessantes na tecnologia de filmes ativos. Esses filmes podem proteger os alimentos tanto contra danos físicos, como contra danos químicos, além de possibilitar uma redução no teor de conservantes nos alimentos (AKHATAR et al., 2012, 2013). Além da produção de filmes ativos, pode-se, devido à presença de compostos fenólicos, observar que em alguns casos foi possível melhorar as propriedades físico-químicas destes materiais (BITENCOURT et al., 2014; HOQUE et al., 2011; RATTAYA et al., 2009).

3.9 Modificação de polímeros por ação da radiação ionizante

A radiação eletromagnética ionizante ou radiação ionizante é definida na maioria dos casos como um conjunto de partículas – os fótons. É qualquer radiação com ou sem massa de repouso que pode remover elétrons de átomos e moléculas por meio de transferência de energia e movimento. Pode-se compreender como radiações ionizantes a radiação eletromagnética (raio X, raios gama, fótons de aniquilação), partículas carregadas rápidas (alfa, beta, elétrons Auger e feixes produzidos em aceleradores de partículas como elétrons), pósitrons, prótons, dêuterons, íons em geral e produtos de fissão nuclear além da radiação cósmica e os nêutrons livres com quaisquer energia cinética e origem (YOSHIMA, 2009). As principais interações que ocorrem na matéria de acordo com a probabilidade, ou seja, em ordem de ocorrência em função da energia do fóton, estão apresentadas na TAB. 7.

TABELA 7. Interações da radiação ionizante com a matéria e suas consequências.

Interação	Mudança no meio	Mudança na radiação incidente	Radiação ionizante produzida
Espalhamento coerente (espalhamento da radiação pelo átomo)	-	Direção de propagação	REM espalhada de mesma energia
Efeito Fotoelétrico (ejeção de elétron ligado)	Ionização e excitação do átomo, recuo do núcleo	Fóton é absorvido	Elétron rápido, raios X característicos, elétrons Auger
Efeito Compton (espalhamento do fóton por um elétron)	Ionização do átomo	Fóton perde energia e muda de direção	Elétron rápido, fóton com menor energia, espalhado
Produção de Pares (energia do fóton é consumida na criação do par)	Recuo do núcleo; aniquilação do pósitron	Fóton é absorvido	Elétron e pósitrons rápidos, raios X de aniquilação
Reação Fotonuclear (ejeção de nucleon ligado)	Núcleo modificado (Z ou A) e excitado	Fóton é absorvido	Partículas subnucleares, em geral nêutrons

Fonte: Adaptado de YOSHIMURA, 2009.

No processo de irradiação de um material por feixes de elétrons, as partículas ou fótons transferem sua energia para as moléculas, desencadeando um processo de ionização e a formação de compostos intermediários (ALLONAS et al., 2012).

A radiação ionizante provoca mudanças na estrutura molecular do polímero. As mudanças provocadas pela dissipação de energia da radiação incidente, depende da transferência de energia linear (LET). A radiação gama tem baixa LET, enquanto a radiação por feixe de elétrons desprende energia alta por unidade de energia linear. Em determinadas situações, a EB é mais eficiente do que a exposição à radiação eletromagnética, isto porque a radiação eletromagnética possui um poder de penetração maior. É de grande importância a estabilidade radioquímica, a energia de ligação existente entre os átomos de carbono (C-C), muda de acordo com a classificação do átomo de carbono em uma cadeia molecular (carbono primário, secundário, terciário e quaternário) (ARNDT & LECHNER, 2013).

A energia necessária para a cisão das ligações C-C nos carbonos primários, é de 348 $kJ.mol^{-1}$, enquanto nos carbonos quaternários é necessário somente 327 $kJ.mol^{-1}$. Quanto maior o nível de ramificações, mais baixa será a estabilidade radioquímica devido ao processo de transferência de energia. Quando o processo de irradiação se dá com uma fonte de energia alta, as cisões das cadeias poliméricas não são completamente aleatórias (ARNDT & LECHNER, 2013).

As modificações introduzidas nas moléculas poliméricas por radiação ionizante dependem também do tipo e das características dos polímeros (massa molar, grau de cristalinidade e estrutura molecular) e das condições e do meio em que os polímeros foram irradiados (presença de oxigênio ou atmosfera inerte, solventes e aditivos) (TIMUS et al., 2000).

O processo é iniciado com a ejeção de elétrons secundários com energia cinética necessária para induzir ionizações. Esse processo resulta na formação de moléculas ionizadas e moléculas excitadas que posteriormente se recombinam ou se dissociam para produzir radicais livres ou íons (TIMUS et al., 2000).

A formação de radicais livres é o processo mais importante da interação da radiação ionizante com os polímeros. Estes radicais livres têm uma participação importante nas reações químicas que ocorrem nos polímeros irradiados (TABATA, 1983).

Na equação 1, é mostrado o mecanismo geral de ocorrência após a presença de radiação de alta energia na macromolécula, induzindo a ionização e a formação do radical livre, sendo: (ALLONAS et al., 2012).

hv – Fótons de alta energia

e^- - Elétron

$M\bullet^+$ - Cátion radical

M^* - Macromolécula excitada

$$M + hv \rightarrow M\bullet^+ + e^- \text{ (Ionização primária)}$$

$$M + e^- \rightarrow M\bullet^+ + e^- \; ou \; M^* \qquad (1)$$

A formação de radicais livres é capaz de iniciar reações de polimerização ou outras reações envolvendo os radicais livres nas moléculas dos polímeros como reticulação, cisão das cadeias, ramificação e reações de oxidação. Na FIG. 10,

estão as modificações químicas ocorridas nos polímeros após processo de radiação por feixe de elétrons (ALLONAS et al., 2012).

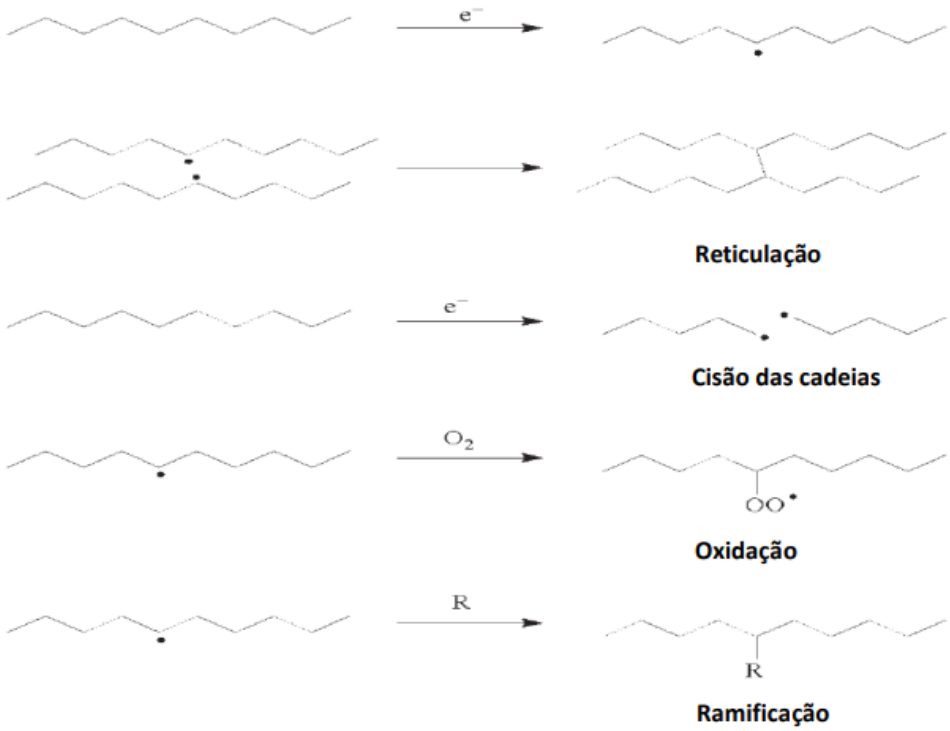


FIGURA 10. Modificações químicas nos polímeros após processo de irradiação por feixes de elétrons
Fonte: ALLONAS et al., 2012.

Allonas et al. (2012) descreveram que a taxa de iniciação (*vi*) de reações de polimerização ou reações envolvendo radicais livres, depende da dose absorvida (*D*) e da taxa de formação de radicais (*Ki [M]*) (Equação 2).

$$M \xrightarrow{\mathcal{K}i} R \bullet$$

$$vi = \mathcal{K}i[M]D \qquad (2)$$

A atração Coulombiana produz cátions que desaparecem após a recombinação com os elétrons. Esse fenômeno produz uma macromolécula muito excitada. As macromoléculas que se encontram em estado excitado, decaem para o estado fundamental, emitindo fluorescência e fosforescência por meio da cisão heterolítica (DE PAOLI, 2008; FERRO, 2009).

Assim pode-se ter a recombinação de radicais livres adjacentes levando a reticulação ou ciclização de polímeros por meio da união de suas moléculas poliméricas formando estruturas tridimensionais interligadas. Também, pode-se ter a degradação que é a cisão da estrutura molecular do polímero, formando moléculas menores, oligômeros e monômeros (DE PAOLI, 2008; FERRO, 2009).

3.10 Reticulação e degradação dos polímeros

As radiações de energia alta como raios X, raios gama e feixes de elétrons, resultam em processos que desencadeiam a reticulação e a degradação de materiais poliméricos. Enquanto a reticulação cria ligações entre as cadeias moleculares adjacentes, aumentando sua massa molar devido a formação de estruturas tridimensionais melhorando suas propriedades mecânicas e químicas, a degradação diminui a massa molar dos polímeros e podem gerar produtos de oxidação (ARNDT & LECHNER, 2013).

Na FIG. 11, é mostrado um mecanismo simplificado dos processos de reticulação e degradação. Durante o processo de degradação é desencadeado o processo de oxidação da cadeia polimérica. O processo de oxidação altera a massa molar do polímero devido a formação de produtos como gás hidrogênio (H_2), gás carbônico (CO_2) e água (H_2O) (ALLONA et al., 2012).

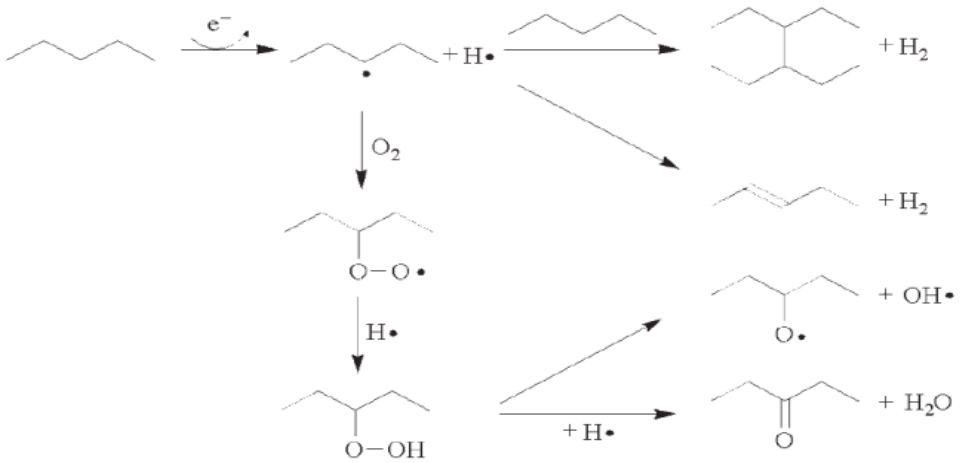


FIGURA 11. Mecanismo simplificado dos processos de reticulação e degradação

Fonte: ALLONA et al., 2012.

O mecanismo comum das reações de reticulação por radiação ionizante, envolve a abstração do hidrogênio irradiado da cadeia polimérica, criando um radical. Na FIG. 12, é mostado o mecanismo geral da reação de reticulação que ocorre em uma cadeia polimérica após o processo de irradiação (DE PAOLI, 2008).

FIGURA 12. Mecanismo geral da reação de reticulação em uma cadeia polimérica

Fonte: DE PAOLI, 2008.

No caso do mecanismo da degradação por radiação ionizante, ocorre a partir da quebra ou ruptura da ligação C-C induzida pela radiação. Na FIG.13, é mostrado o mecanismo geral da reação de cisão heterolítica (o par de elétrons fica ligado somente a um dos fragmentos, formando ânions) que ocorre em uma cadeia polimérica após a radiação ionizante, dando início a degradação (DE PAOLI, 2008).

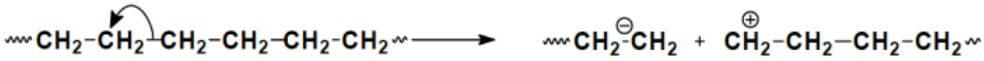


FIGURA 13. Cisão heterolítica em uma cadeia polimérica após o processo de irradiação

Fonte: DE PAOLI, 2008.

A irradiação de polissacarídeos no estado sólido induz a formação de radicais nas cadeias moleculares como resultado da ação direta da radiação (IAEA, 2004). Ocorre dois eventos: transferência direta de energia para a macromolécula para produzir macrorradicais e a geração de radicais primários devido à presença de água. Na FIG. 14 está representado o curso de degradação de carboidratos no estado sólido. Os principais efeitos são: fragmentação, hidrólise e rearranjo levando a produtos de baixo peso molecular. Quando polissacarídeos como amido, celulose, quitosana e dextrose são submetidos a radiação de alta energia, muitos produtos são formados, como: H_2, CH_4, CO_2 e substâncias com baixa massa molecular, tal como, água, formaldeído, metanol, aldeídos, cetonas e açúcares (IAEA, 2004).

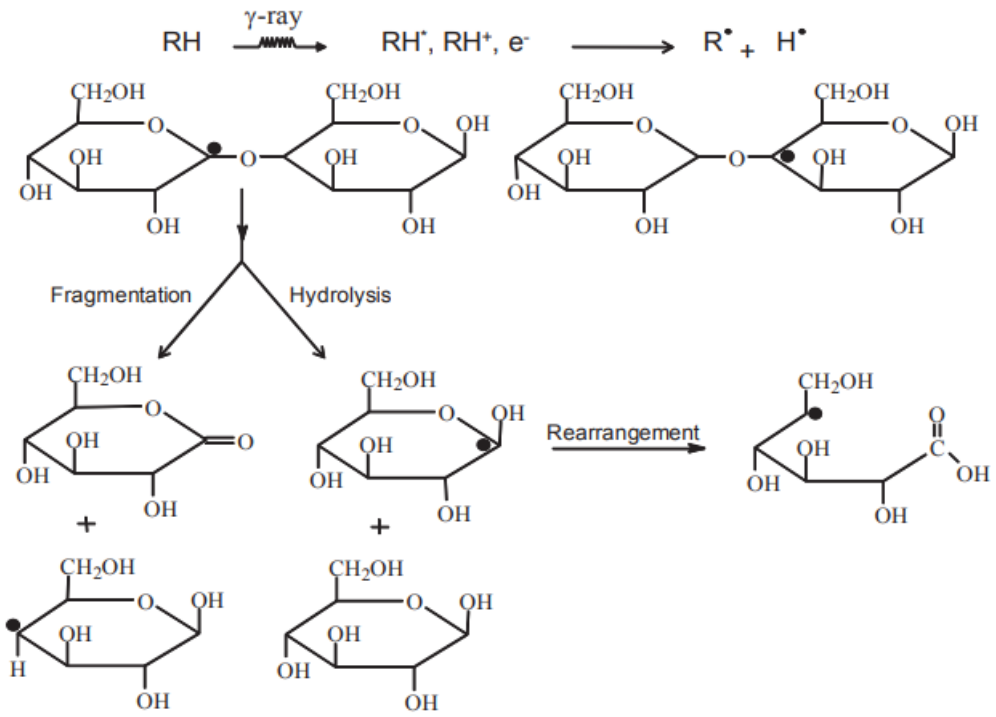


FIGURA 14. Eventos na radiação no estado sólido de carboidratos
Fonte: IAEA, 2004.

A massa molar é reduzida devido à cisão predominante da cadeia principal, através da clivagem da ligação glicosídica C-O-C entre as unidades. Quando a radiação de alta energia é absorvida diretamente, cátions e elétrons são gerados.Os cátions gerados são rapidamente transformados em radicais livres por desprotonação. Durante a radiólise no estado sólido de polissacarídeos, a cisão da ligação glicosídica leva a uma diminuição no peso molecular das macromoléculas (IAEA, 2010).

Pesquisas tem se concentrado no uso de tratamento de irradiação para melhorar as propriedades bioplásticas à base de amido, assim como as propriedades mecânicas e de barreira, porque se espera que o tratamento de irradiação melhore e aprimore as propriedades, tanto física quanto quimicamente (ALI et al., 2016). A indústria de embalagens de alimentos tem um interesse particular no uso de compostos que sejam inicialmente biodegradáveis e biocompatíveis com os mais diversos tipos de produtos alimentícios (QIU et al., 2004; GÓMEZ-GUILLÉN et al., 2011).

4 MATERIAL E MÉTODOS

O fluxograma apresentando o desenvolvimento e caracterização dos filmes bioativos de amido de batata contendo antioxidantes está apresentado na FIG.15. A parte experimental foi dividida em 3 etapas. Na primeira etapa foi realizada a extração dos compostos bioativos das amostras em pó de hibisco e da cúrcuma por micro-ondas e ultrassom com diferentes solventes e temperaturas; e analisados, a fim de determinar qual o tipo de extração com maior concentração de antioxidante. Na segunda etapa, foi realizada a encapsulação da solução extraída com o melhor solvente da etapa anterior com material de parede (maltodextrina e goma arábica), com o intuito de obter a partícula mais estável e na terceira etapa, o desenvolvimento dos filmes de amido por dois métodos: *casting* e extrusão. Pelo método *casting*, foi utilizado a solução do extrato com maior poder antioxidante obtido pelo método DPPH nas concentrações de 1 e 2% nas formulações dos filmes de amido. Para o método de extrusão foi realizado com a incorporação das partículas mais estáveis a 1 e 2% na formulação. Após o seu desenvolvimento, os filmes ativos foram irradiados e caracterizados.

O amido de batata foi adquirido no comércio local de São Paulo (SP, Brasil). Todos os reagentes utilizados foram de padrão analítico. As amostras de hibisco e cúrcuma foram obtidas na forma de pó da Empresa Zona Cerealista Ltda. Os solventes utilizados nas extrações: metanol e etanol adquiridos da Sigma-Aldrich. As células RAW 264.7 foram adquiridas da ECACC (European *Collection of Animal Cell Culture)* (Salisbury, UK). O *Griess Reagent System Kit* foi adquirido da Promega. A água foi tratada num sistema de purificação Milli-Q (TGI Pure Water Systems). Maltodextrina 10DE da Empresa *Daxia*-Ingredientes e Aditivos Ltda e a goma arábica da Instantgum ™-Nexira.

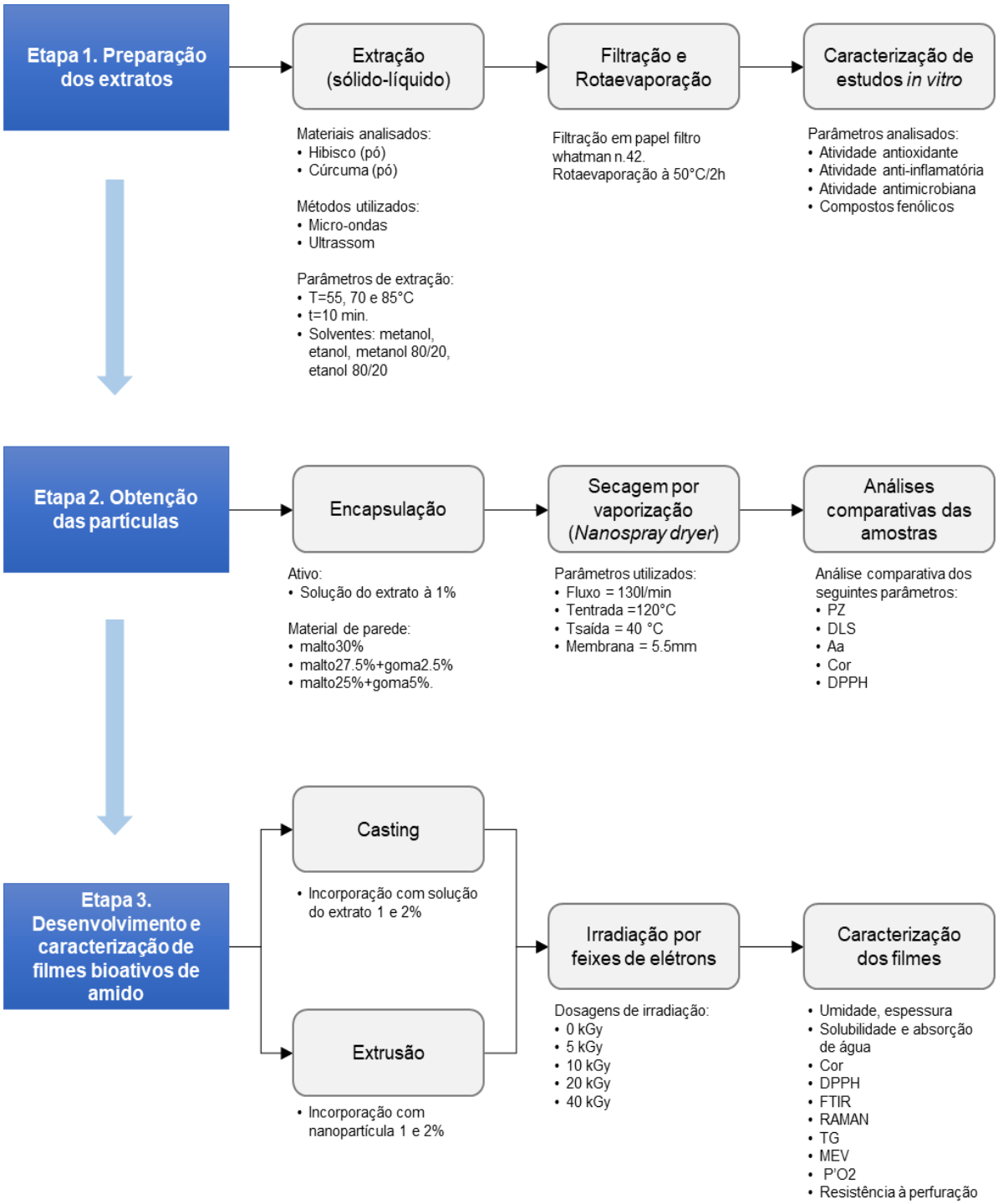


FIGURA 15. Fluxograma de desenvolvimento e análises dos filmes de amido com antioxidantes de hibisco e cúrcuma.

4.1 Processo de extração dos compostos bioativos do hibisco e cúrcuma

As extrações foram realizadas por micro-ondas e ultrassom. Para a extração assistida por calor (UAE) em banho ultrassônico e extração assistida por micro-ondas (MAE), as variáveis consideradas foram: temperatura e composição do solvente extrator. Os parâmetros foram iguais para os dois tipos de extrações. O tempo foi de 10 minutos para cada tipo de temperatura (55, 70 e 85 °C) com os seguintes solventes: metanol, etanol, metanol/água (80/20) e etanol/água (80/20). Para todos os ensaios, seguiu-se a proporção de 1:10 ($g.mL^{-1}$) (TAB.8).

TABELA 8. Parâmetros das extrações dos compostos bioativos de hibisco e cúrcuma

Extrações por Micro-ondas e Ultrassom	
temperatura	55, 70 e 85°C
tempo	10 minutos
amostra	1g
solvente	Metanol Etanol $MeOH/H_2O$ (80/20) $EtOH/ H_2O$ (80/20)
volume	10 mL

O processo MAE foi realizado no equipamento Ethos EASY-Advanced Microwave Digestion System, utilizando reservatórios fechados, fluxo de exaustão de $3m^3.min^{-1}$, frequência do magnetron de 2450 MHz (FIG. 16). A UAE foi realizada num dispositivo ultrassônico (SoniClean2) equipado com um temporizador digital e um controlador de temperatura, com frequência de 40 kHz. As amostras em forma de pó (4,0 g) foram extraídas com 40 mL para cada tipo de solvente e temperatura.

FIGURA 16. A) Dispositivo ultrassônico (SoniClean2) e (B) Micro-ondas Ethos EASY.

4.2 Preparação dos extratos obtidos (concentrado e liofilizado)

A amostra de extrato concentrado foi dividida em duas porções, sendo uma armazenada em frasco âmbar à temperatura de 4°C para posterior utilização (extrato concentrado) e a outra porção foi submetida ao processo de liofilização (extrato liofilizado).

A solução extrativa foi filtrada em papel filtro whatman n.42 e concentrada em evaporador rotativo Fisatom modelo 802, a uma temperatura de 50°C.h^{-1}. A amostra de extrato concentrado foi submetida ao processo de liofilização. Para o processo de liofilização, as amostras foram congeladas a -20 °C por 24 horas. Em seguida, foram transferidas para o liofilizador VLP 195 FD-115, Thermo Fischer Scientific, temperatura de condensação de -40°C por 5 horas. Após a secagem, as amostras foram acondicionadas em frasco escuro hermeticamente fechado e armazenado no dessecador.

4.3 Caracterização dos extratos

4.3.1 Método da Atividade Antioxidante

4.3.1.1 Atividade captadora de radicais DPPH

Este método estima a habilidade de compostos antioxidantes (ou antirradicais), presentes na amostra, se ligarem ao DPPH* (2,2-difenil-1-picrilhidrazil), um radical livre orgânico estável. Na sua forma radical o DPPH* tem uma banda de absorção a 515 nm a qual desaparece ao ser reduzido por um composto antioxidante (AH) ou espécies radicais (R*). Ao ser reduzido (os

antioxidantes transferem um hidreto para o DPPH), há uma descoloração do radical, que passa do violeta a um tom amarelado. Quanto maior a concentração de antioxidantes no meio, mais rápida a reação. Pesou-se 25 mg do extrato liofilizado e adicionou-se 5 mL do solvente da extração. Assim, obtêm-se uma solução-mãe com uma concentração de 5 mg. mL^{-1}. A partir desta foi realizado 8 diluições sucessivas (5 a 0,019 $mg.mL^{-1}$).

Após colocou-se 30 µL de cada uma das soluções de extrato numa placa de 96 poços e 270 µL de solução metanólica de DPPH ($6x10^{-5}$M). Preparou-se um branco com o solvente de extração em vez da solução de extrato. Esperou-se 60 minutos em ambiente escuro para a realização da leitura da placa com absorbância a 515 nm em um leitor de Microplacas ELX800 (Bio-Tek, Instruments, Inc. M Winooski, VT, EUA). A atividade de eliminação de radicais (AER) foi calculada de acordo com a equação (3):

$$AER(\%) = \frac{(ADPPH - AA)}{ADPPH} X100 \quad (3)$$

Onde, AA é a absorbância da amostra e ADPPH é a absorbância da solução DPPH.

A concentração de amostra que leva a eliminar 50% de radicais livres (CE) foi calculada a partir do gráfico de percentagem AER em função da concentração da amostra.

4.3.1.2 Inibição da hemólise oxidativa (OxHLIA)

Para a realização deste método, foi efetuada uma colheita de sangue de ovelha. A amostra de sangue foi centrifugada (Multifuge X1R, Thermo Fisher Scientific; 2900 rpm, 5 min, 10°C) e o sobrenadante foi descartado de modo a recuperar apenas os eritrócitos. Estes foram submetidos a uma primeira lavagem com NaCl (150 mM) seguida de três lavagens com tampão fosfato-salino (PBS; pH 7,4), com centrifugação e remoção do sobrenadante a cada lavagem (EVANS et al., 2013). Preparou-se, então, uma solução de eritrócitos a 2,8% (v/v), ressuspendendo em PBS. Em microplacas de 48 poços foram adicionados 200 µL da solução de eritrócitos a 400 µL de PBS (controle), de água (hemólise completa)

ou da amostra dissolvido em PBS (20 a 0,625 mg. mL^{-1}). As microplacas foram submetidas a pré-incubação com agitação (37°C, 10 min) para posterior adição de 200 µL de dicloridrato de 2,2'-azobis(2-amidinopropano) (AAPH; 160 mM). Após medição da densidade ótica a 690 nm, as microplacas foram novamente incubadas nas mesmas condições para medições a cada 10 min (TAKEBAYASHI et al., 2012). A percentagem da população de eritrócitos que permaneceu intacta (PE) foi calculada da seguinte forma:

$$PE(\%) = \frac{(St - CHo)}{(So - CHo)} x100 \quad (4)$$

Onde, St e So correspondem à densidade óptica da amostra nos instantes t e 0 min, respectivamente, e *CHo* é a densidade óptica da hemólise completa a 0 min. Os resultados foram expressos como tempo de atraso da hemólise (Δt), que foi calculado da seguinte forma:

$$\Delta t(min) = Ht60(amostra) - Ht60(controle) \quad (5)$$

Onde, Ht60 é o tempo correspondente a 60% de hemólise (min) obtido graficamente a partir da curva de hemólise para cada concentração de amostra antioxidante.

Posteriormente, foram estabelecidas correlações lineares entre os valores de Δt e as diferentes concentrações de amostra (TAKEBAYASHI et al., 2012). A partir das mesmas, foi calculada a concentração capaz de retardar a hemólise em 60 min (EC (60min), µg.mL).

4.3.2 Determinação dos Compostos Fenólicos

O perfil fenólico foi determinado por LC-DAD-ESI/MSn (Dionex Ultimate 3000 UPLC, Thermo Scientific, San Jose, CA, EUA). Esses compostos foram separados e identificados conforme descrito por Bessada et al., 2016. Os extratos obtidos foram redissolvidos na concentração de 10 $mg.mL^{-1}$ com a mistura metanol:água (80:20, v/v). Uma dupla detecção online foi realizada usando um DAD (280, 330 e 370 nm como comprimentos de onda preferidos) em um espectrômetro de massa (MS). A detecção de MS foi realizada em modo negativo, usando um espectrômetro de massa Linear Ion Trap LTQ XL (Thermo Finnigan, San Jose, CA, EUA) equipado com uma fonte ESI.

A identificação dos compostos fenólicos foi realizada com base em seu comportamento cromatográfico e espectros UV-vis e de massa por comparação com compostos padrão, quando disponíveis, e dados relatados na literatura dando uma tentativa de identificação. A aquisição dos dados foi realizada com o sistema de dados Xcalibur® (Thermo Finnigan, San Jose, CA, EUA). Para análise quantitativa, uma curva de calibração para cada padrão fenólico disponível foi construída com base no sinal UV-vis. Para os compostos fenólicos identificados para os quais um padrão comercial não estava disponível, a quantificação foi realizada através da curva de calibração do padrão disponível mais semelhante: ácido hidroxibenzóico ($y = 15111x – 94455$, $R^2 = 0,9981$), ácido p-cumárico ($y = 58334x – 449872$, $R^2 = 0,9992$) e quercetina-3-O-glicosídeo ($y = 21719x – 88805$, $R^2 = 0,9994$). Os resultados foram expressos em $mg.g^{-1}$ de extrato.

4.3.3 Avaliação da atividade anti-inflamatória

A atividade anti-inflamatória foi avaliada segundo metodologia descrita por Corrêa et al. (2015). Para o ensaio, os extratos foram dissolvidos em água a uma concentração de 8 $mg.mL^{-1}$ e submetidos a diluições de 400 a 1,56 $\mu g.mL^{-1}$. A linha celular de macrófagos de camundongos RAW 264.7, foi cultivada em meio DMEM, suplementado com 10% de soro fetal bovino inativado por calor, 1% de L-glutamina, 1% de aminoácidos não-essenciais e 1% de antibióticos (penicilina e estreptomicina) a 37°C, 5% de CO_2 e atmosfera umidificada.

Para cada experiência, as células foram destacadas com um raspador de células, foram preparadas suspensões celulares com uma densidade de $5x10^5$ $células.mL^{-1}$. A viabilidade celular foi calculada pelo teste da exclusão de azul de tripano, onde se verificou ser inferior a 5%. Em seguida as células foram transferidas em microplacas de 96 poços com 150.000 células/poço, e foram incubadas durante 24h a 37 °C com 5% de CO_2.

Posteriormente, as células foram tratadas com as várias concentrações de cada extrato por 1h. Em seguida, procedeu-se à estimulação celular pela adição de lipopolissacarídeos (LPS; 1 $\mu g.mL^{-1}$) aos poços, durante 24 horas. Foram realizados controles na ausência de LPS para observar se estes induziam alterações a níveis basais de óxido nítrico (NO). As amostras e o LPS foram

preparados em DMEM suplementado e a dexametasona (é um glicocorticoide sintético que faz parte da classe dos corticosteroides, com alto poder anti-inflamatório) foi utilizada como controle positivo.

A presença de óxido nítrico foi determinada através da utilização do Kit de Reagente *Griess,* que contém sulfanilamida, hidrocloreto de N-(1-naftil) etilenodiamina (NED) e soluções nitradas. Para isso, 100 µL do sobrenadante da cultura celular foram transferidos para outra placa e misturados com sulfanilamida e soluções NED e mantidos em repouso por 5 minutos à temperatura ambiente. O óxido nítrico produzido foi determinado através da absorbância a 540 nm (leitor de microplacas Biotek ELX800) e comparado com a curva de calibração padrão ($y = 0,007x + 0,1328$, $R^2 = 0,9982$). O valor de EC50 foi calculado a partir do gráfico que descreve a percentagem de inibição da produção de NO *versus* a concentração da amostra.

4.3.4 Avaliação da atividade antimicrobiana e antifúngica

Os extratos foram dissolvidos em água ($10 mg.mL^{-1}$) e o potencial antibacteriano foi avaliado aplicando-se a metodologia descrita por Sokovic et al., (2010). Neste ensaio, as bactérias Gram-positivas: *Staphylococcus aureus* (ATCC 11632), *Bacillus cereus* (isolado clínico), *Listeria monocytogenes* (NCTC 7973), bem como as seguintes bactérias Gram-negativas: *Escherichia coli* (ATCC 25922), *Salmonella typhimurium* (ATCC 13311) e *Enterobacter cloacae* (ATCC 35030) foram utilizadas para determinar o potencial da atividade antimicrobiana das amostras. As concentrações inibitórias mínimas (CMI) e bactericidas mínimas (CMB) foram determinadas, a estreptomicina e ampicilina foram utilizadas como controles positivos.

Para os ensaios antifúngicos, foi aplicado a metodologia descrita por Sokovic e Van Griensven (2006) e utilizados seis micromicetes: *Aspergillus fumigatus* (isolado humano), *Aspergillus niger* (ATCC 6275), *Aspergillus versicolor* (ATCC11730), *Penicillium funiculosum* (ATCC 36839), *Trichoderma viride* (IAM 5061) e *Penicillium verrucosum var. cyclopium* (isolado alimentar). A CMI e a concentração fungicida mínima (CMF) foram avaliadas usando o cetoconazol (é um fármaco antimicótico ou antifúngico derivado do imidazol) como controle positivo.

4.4 Preparação das nanopartículas

4.4.1 Preparação dos extratos utilizados na encapsulação

A extração foi realizada de acordo com o capítulo anterior, a cúrcuma com o solvente metanol 85 °C e o hibisco com metanol 80/20 85 °C, por 10 min no ultrassom na proporção 1:10, esses parâmetros apresentaram maior quantidade de antioxidantes para o teste de DPPH. Após, o extrato foi filtrado (papel Whatman n.42) e, em seguida, concentrado em um evaporador rotativo (BUCHI Rotaevaporator) até que 90% do solvente fosse removido.

4.4.2 Preparação dos materiais de parede

Os materiais de parede (agentes carreadores) utilizados foram maltodextrina 10 DE (Daxia-Ingredientes e Aditivos) e goma arábica (Instantgum), de modo que os sólidos totais fossem iguais a 30% (p/v). As proporções estão apresentadas na TAB 9.

TABELA 9. Proporção do material de parede para a produção das partículas

	Material de parede (%)	
Formulação	Goma	Maltodextrina
P1	0	30
P2	2.5	27.5
P3	5	25

Cada formulação foi preparada pela mistura e reidratação dos veículos em água destilada. Após a dissolução, a mistura foi colocada durante a noite no refrigerador (5 ± 1 °C) para obtenção da hidratação completa. No dia seguinte, os extratos de hibisco e cúrcuma foram adicionados na proporção de 1:20 (extrato: material de parede, m/m) e homogeneizado.

4.4.3 Obtenção das partículas

Os pós foram obtidos utilizando um Nano Spray Dryer B-90 (BUCHI), com fluxo de ar de 130 $L.min^{-1}$, temperatura de entrada de 120 ± 2 °C e saída de

40 ± 2 °C, pressão de 35-40 mbar, foi utilizado uma membrana de 5.5 mm (FIG. 17). Os pós coletados do ciclone foram acondicionados em embalagens de vidro âmbar e armazenados em dessecadores até o momento da realização das análises.

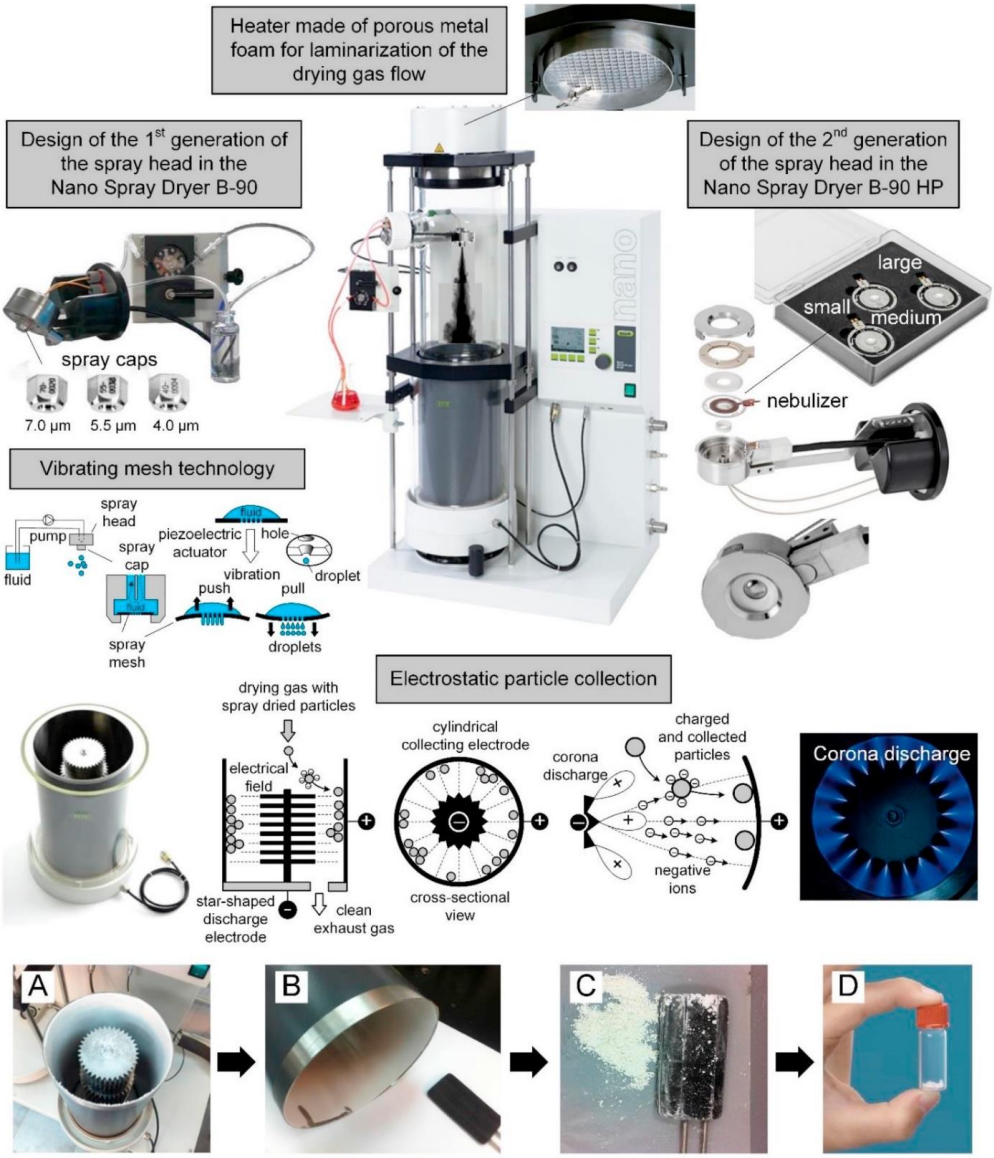


FIGURA 17. *Nano Spray Dryer* B-90 com a tecnologia de malha vibratória para geração de spray, o coletor de partículas eletrostáticas. Processo de coleta de partículas eletrostáticas: (A) Partículas secas depositadas no cilindro de coleta (pequenas perdas no eletrodo estrela no centro), (B) Cilindro de coleta com raspador de partículas, (C) Pó recuperado manualmente no papel coletor, (D) Pó em um frasco de vidro hermético.
Fonte: JAFARI et al., 2021.

4.5 Caracterização das partículas

4.5.1 Atividade de água (Aa)

A atividade de água das amostras encapsuladas foi determinada utilizando um medidor de atividade de água (Marca: Aqualab Pullman, EUA; Modelo: 4TE), em temperatura de 25 °C em triplicata.

4.5.2 Distribuição do tamanho das partículas por espalhamento de luz dinâmico (DLS)

A distribuição do tamanho foi obtida por espectroscopia de correlação de fótons (PCS-photon correlation spectroscopy) utilizando-se o equipamento Litesizer500 (Anton Paar, NY, EUA), com um laser de He-Ne de 627 nm, ângulo de incidência de 125°, na temperatura de 20° C em triplicata. Antes da análise as amostras foram diluídas com água destilada. O espalhamento dinâmico de luz (Dynamic light scattering-DLS) é uma técnica bem estabelecida para medir o tamanho de partículas na faixa de tamanho de nanômetros a µm.

A dispersão dinâmica de luz (também conhecida como dispersão de luz quase elástica e espectroscopia de correlação de fótons) é particularmente adequada para a medição do tamanho e distribuição de tamanho de partículas, emulsões e moléculas dispersas ou dissolvidas em um líquido. Partículas, emulsões e moléculas em suspensão sofrem movimento browniano. Este é o movimento induzido pelo bombardeio por moléculas de solvente que estão se movendo devido à sua energia térmica.

4.5.3 Determinação do potencial zeta (carga de superfície)

A análise do potencial zeta foi realizada por medidas de mobilidade eletroforética, utilizando o equipamento Litesizer500 (Anton Paar, NY, EUA). As amostras foram diluídas em água, com a cubeta DTS1070, a 25°C e a condutividade ajustada para 50 $mS.cm^{-1}$. Foram realizadas 3 determinações independentes. A FIG. 18, mostra o esquema da carga de superfície medida pelo potencial zeta.

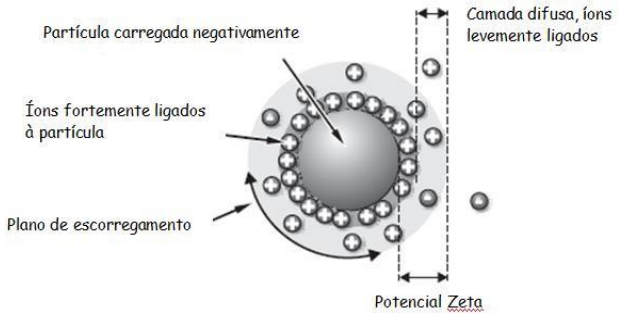


FIGURA 18. Esquema da camada estacionária do fluido ligada à partícula dispersada (Zetasizer, 2004).

4.5.4 Obtenção dos parâmetros colorimétricos

A análise de colorimetria instrumental foi realizada no colorímetro (Minolta). A leitura ocorreu com o iluminante D65 e ângulo de visão com abertura de 10º, sendo que o sistema de leitura utilizado foi o CIE (Commission Internationale de l'Eclairage) (FIG.19).

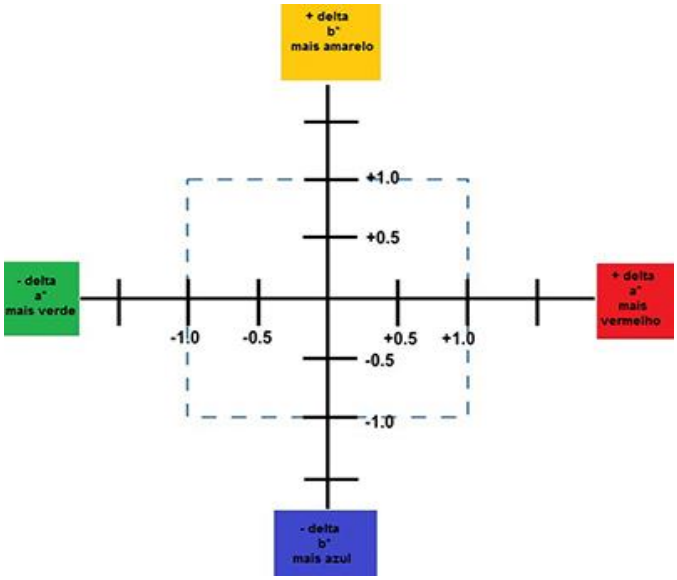


FIGURA 19. Parâmetros de Cor La*b* (Minolta, 2020).

Foram determinados os fatores (L, a*, b*) e calculados os valores de croma (C*ab) e diferença total de cor (ΔE). A determinação do parâmetro C*ab foi determinada pela Equação 6:

$$C = \sqrt{(a*)^2 + (b*)^2} \quad (6)$$

onde:

C: croma (saturação da cor)

b*: cromaticidade no eixo variando do amarelo/azul

a*: cromaticidade no eixo variando do vermelho/verde

A diferença total de cor (ΔE) foi obtida pela Equação 7:

$$\Delta E = \sqrt{(L - L0)^2 + (a - a0)^2 + (b - b0)^2} \quad (7)$$

Onde: L*: índice de luminosidade da amostra, L0*: índice de luminosidade do padrão, a* e b*: parâmetros croma da amostra, a0* e b0*: parâmetros croma do padrão. Os parâmetros foram calibrados contra uma placa branca padrão de referência, usando como padrão (L0* = 96,33, a0* = 0,06 e b0* = 0,28).

4.5.5 Atividade antioxidante - DPPH

Para análise, 10 mg do encapsulado foi dissolvido em 2 mL de água. A mistura foi filtrada em papel de filtro (0,45 µm). Foi realizado 5 diluições sucessivas a partir dessa solução. Após, seguiu-se a mesma metodologia do item 4.3.1.1.

4.6 Método de desenvolvimento dos filmes biodegradáveis por *casting*

4.6.1 Filmes a base de amido

Os filmes de amido de batata foram produzidos (FIG. 20) conforme Pelissari et al., (2013) com algumas adaptações, através do método *casting*, o qual consiste na secagem de uma suspensão formadora de filme (SFF) aplicada sobre um suporte.

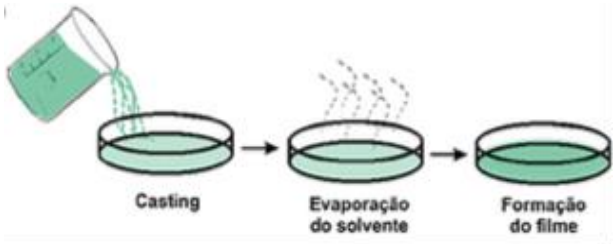


FIGURA 20. Esquema da produção de filmes com a técnica *casting*

O processo de obtenção dos filmes foi realizado pela homogeneização de uma solução aquosa a uma concentração de 5% (p/v) de amido $(C_6H_{10}O_5)_n$, 3% de glicerol ($C_3H_8O_3$) (p/v), 0.5% de propionato de cálcio ($C_6H_{10}CaO_4$) sob agitação constante até gelatinização do amido. O hidrogel formado foi mantido em repouso por 1h à temperatura ambiente. Após esse período, 80 g de SFF foram vertidas em placas de acrílico (18 x 21 cm) e estas foram submetidas à secagem em uma câmara com circulação de ar sob temperatura (25 °C) e umidade relativa (50% UR) controladas, por um período de 72h ou até secagem dos filmes. Os filmes foram acondicionados em dessecadores a 58 % UR até a irradiação.

4.6.2 Filmes com a adição dos compostos bioativos: hibisco e cúrcuma

Esses filmes foram preparados com a mesma formulação dos materiais sólidos do item anterior, com a adição da solução aquosa de hibisco e cúrcuma com diferentes concentrações (1 e 2%). Foi realizada a extração (1:10 p/v) do hibisco com metanol 80/20 a 85 °C e na cúrcuma a extração foi com metanol a 85 °C, por 10min no ultrassom, após foi realizado a filtração e rotaevaporação dos compostos. Os parâmetros escolhidos foram os que obtiveram maior resultado no teste de DPPH para o método de extração por ultrassom. Foi realizado uma solução aquosa com 1 e 2% de cada tipo de compostos bioativo e adicionado na formulação para gelatinização e secagem. O objetivo para a preparação desses filmes foi o desenvolvimento de filmes ativos com agentes antioxidantes.

4.7 Hidrogéis para a formação dos filmes por *casting*

As propriedades dos hidrogéis dos filmes foram medidas utilizando um analisador de viscosidade rápido (modelo RVA-4500 da Perten Instruments,

Warriewood/Austrália), com o auxílio do software Thermocline para Windows, versão 3. As análises foram realizadas no Instituto de Tecnologia de Alimentos (ITAL-Campinas/Brasil) em duplicata com os seguintes parâmetros: tempo/temperatura 50 °C/1 min, aquecimento de 50 °C a 95 °C a uma taxa de 6 °C.min^{-1}, constante a 95 °C/2 min e 30 seg e resfriamento de 95 °C a 50 °C a uma taxa de 6 °C.min^{-1}. A viscosidade foi expressa em centiPoise (cP).

4.8 Desenvolvimento dos filmes por extrusão

Foram preparadas 5 formulações para a extrusão dos filmes. Os materiais foram processados em extrusora dupla-rosca (diâmetro da rosca de 16 mm e relação L/D de 40) (Processo 11, ThermoElectron-Germany) (FIG.21) e a seguir pelletizados. O perfil de temperatura foi o mesmo para todos os materiais testados (80, 90, 90, 100, 110, 110 e 100 °C) do alimentador até a extremidade da matriz. A velocidade de rotação do parafuso foi de 150 rpm e 0,5 kg.h^{-1} de taxa de alimentação. As proporções preparadas para o desenvolvimento dos filmes de amido extrusados com as partículas de hibisco e cúrcuma estão apesentadas na TAB. 10.

TABELA 10. Desenvolvimento dos filmes de amido por extrusão (%)

Filme por extrusão	Amido de batata	Glicerol	Água	Propionato de cálcio (conservante)	Partícula encapsulada de hibisco**	Partícula encapsulada de cúrcuma*
F1	64	20	15	1	-	-
F2	63	20	15	1	1	-
F3	63	20	15	1	-	1
F4	62	20	15	1	2	-
F5	62	20	15	1	-	2

**Partícula encapsulada de hibisco (ativo 1%, maltodextrina 30%, proporção 1:20)

*Partícula encapsulada de cúrcuma (ativo 1%, maltodextrina 30%, proporção 1:20).

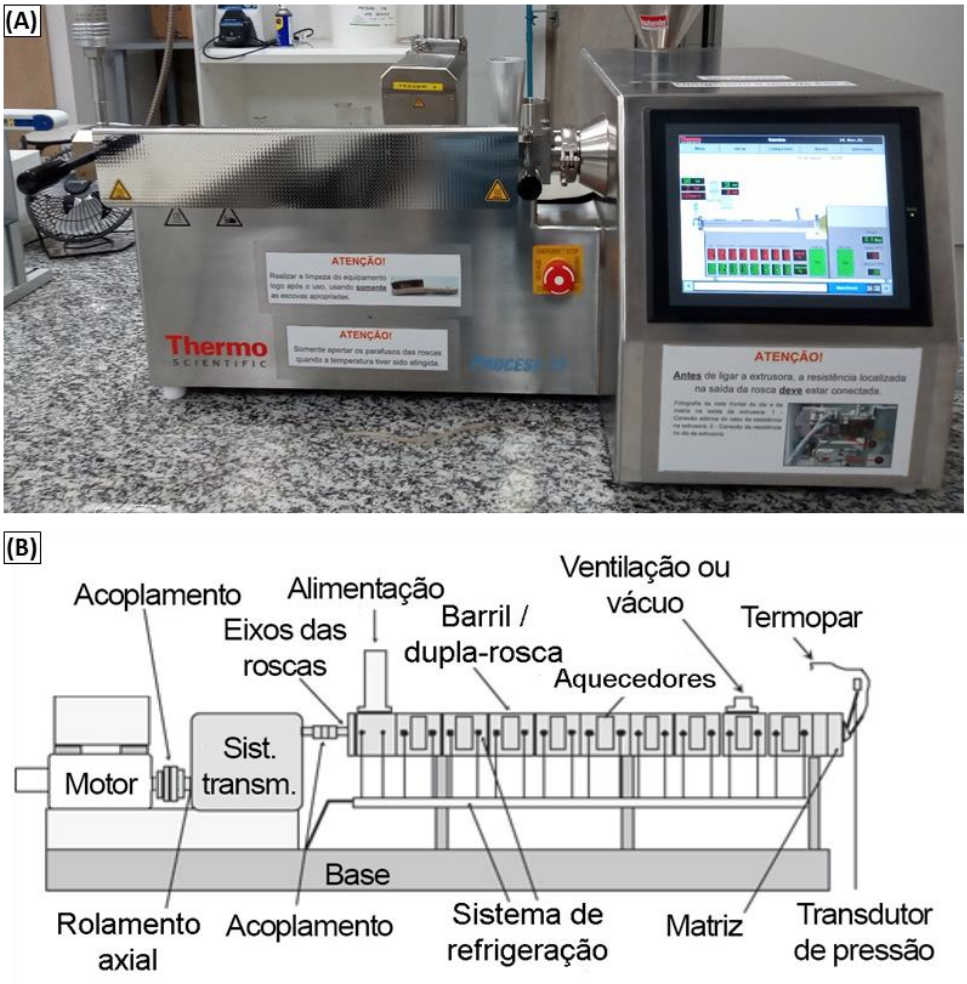


Figura 21. (A) Extrusora dupla-rosca (Processo 11, ThermoElectron-Germany) e (B) subsistemas que compõem uma extrusora dupla-rosca.
Fonte: Adaptado de GILES et al., 2004.

A FIG.22 apresenta o processo de formação dos filmes extrusados. O processamento dos filmes foi realizado em duas etapas: mistura das amostras em pó para a formação dos pellets e dos pellets para a formação dos filmes.

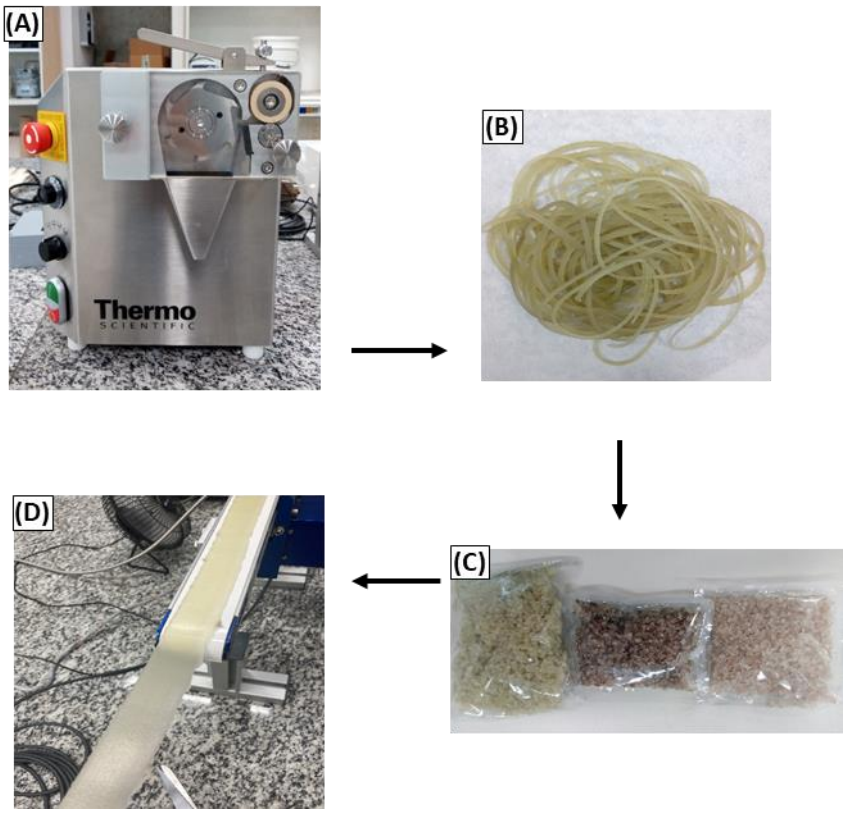


FIGURA 22. A) Pelletizador utilizado para cortar a amostra antes da formação dos filmes. B) Amostra pronta a ser peletizado. C) Amostra pelletizadas prontas para a formação dos filmes. D) Filmes sendo formados.

4.9 Processo de irradiação

Após a secagem e a extrusão dos filmes a base de amido de batata foi realizado a irradiação no acelerador de elétrons Dynamitron II, Radiation Dynamics Inc. localizado no Centro de Tecnologia das Radiações (CETER), IPEN-CNEN/SP (FIG. 23). As amostras foram irradiadas em temperatura ambiente com doses de 5, 10, 20 e 40 kGy, conforme parâmetros da TAB.11. Para cada tratamento foi mantida uma dose não irradiada como referência. Após a irradiação, as amostras foram colocadas em dessecadores e armazenadas até análises. As doses escolhidas foram baseadas em análises preliminares onde foram escolhidas uma faixa de doses que manteve as melhores propriedades nos filmes. A dosimetria foi realizada usando dosímetros de pellets de alanina calibrados de acordo com o padrão internacional ISO/ASTM l51607 (2004).

FIGURA 23. Acelerador de elétrons Dynamitron II (IPEN-CNEN/SP) com as amostras prontas para irradiação

TABELA 11. Condições do processo de irradiação dos filmes

Amostra	Dose Total (kGy)	Dose por passada (kGy)	Energia (MeV)	Corrente do feixe (mA)	Taxa de dose ($kGy.s^{-1}$)
Filme Casting	40	5	0.550	3.21	22.38
Filme Extrusão	40	5	0.939	4.29	22.39

4.10 Caracterização dos filmes por *casting*

4.10.1 Espessura e teor de umidade

A espessura dos filmes foi medida com auxílio de um micrômetro digital (Digimatic Micrometer Series 293 MDC-Lite, Mitutoyo Corporation) com precisão de 0,001 mm, a partir de uma média de 10 medições aleatórias.

O teor de umidade dos filmes foi determinado segundo a técnica da ASTM D644-94 (ASTM, 2004). As amostras foram pesadas e levadas à estufa (Quimis, Q314M292, Brasil) a 105 °C por 24 horas. A umidade dos filmes foi calculada a partir da Equação 8.

$$Umidade(\%) = \left(1 - \frac{mf}{mi}\right) x100 \qquad (8)$$

Sendo: mi: massa inicial dos filmes antes da secagem (g); mf: massa final dos filmes após a secagem (g).

4.10.2 Propriedade mecânica: resistência à perfuração (força de ruptura)

As análises das propriedades mecânicas dos filmes foram realizadas em um texturômetro TA. TX Plus Texture Analyzer, empregando-se o programa “Texture Exponent 32” (Stable Micro Systems, Surrey, UK, Inglaterra) (FIG 24).

Para o teste de resistência à perfuração (força de ruptura), o equipamento foi conectado a uma célula de carga de 50 kg; o software utilizado foi o Exponent e os acessórios acoplados para realizar os experimentos foram suporte para filme (HDP/FSR) e probe esférico de aço inoxidável de 5 mm de diâmetro (P/5S). Os ensaios foram realizados em uma velocidade constante de 0,5 mm s^{-1} e a distância de 15 mm. Para cada ensaio foi utilizado 10 corpos de prova de 30 mm^2 para todas as doses estudadas.

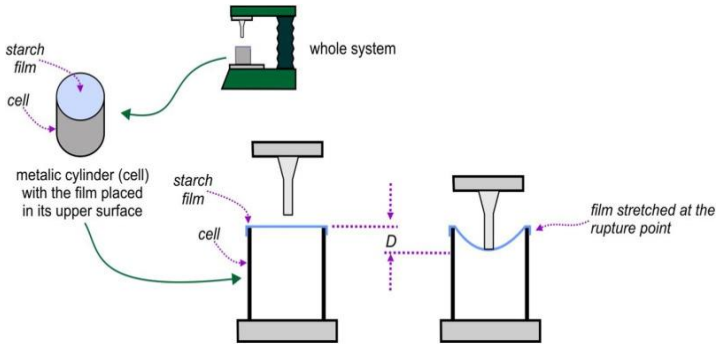


FIGURA 24. Esquema do teste de resistência à perfuração (força de ruptura)
Fonte: Castanha, 2017.

4.10.3 Fração solúvel em água

A determinação da fração solúvel em água dos filmes foi realizada segundo a metodologia descrita por Gontard et al. (1992), na qual uma amostra de massa seca inicial conhecida com 2 cm de diâmetro foi imersa em 50 mL de água destilada a 25 °C por 24 horas, sob agitação esporádica. Após, os filmes insolúveis foram submetidos a secagem em estufa a 105 °C por 24 horas para determinação da massa seca final da amostra. A fração solúvel em água foi calculada conforme a Equação 9.

$$S(\%) = \frac{(mi - mf)}{mi} x100 \quad (9)$$

Onde, S: fração solúvel em água (%), mi: massa seca inicial da amostra (g), mf: massa seca final da amostra (g).

4.10.4 Capacidade de absorção de água (CAA)

A capacidade de absorção de água dos filmes foi realizada utilizando o método descrito por Chiono et al. (2008). Amostras dos filmes foram cortadas em quadrados (10 x 10 mm) e pesadas (mi). Em seguida, foram colocadas em água destilada e armazenadas em temperatura ambiente durante 24 h. Após, os filmes intumescidos foram removidos da água, secos com papel absorvente e pesados (mf). Cada ensaio foi realizado em triplicata. Assim, o cálculo de absorção do filme (A) foi realizado de acordo com a equação 10:

$$A(\%) = \frac{(mf - mi)}{mi} x100 \qquad (10)$$

Onde: A=Absorção de água em (%); mf= massa final da amostra e mi=massa inicial.

4.10.5 Taxa de Permeabilidade ao oxigênio (TP'O_2)

As taxas de permeabilidade ao oxigênio (TP'O_2) foram determinadas pelo método coulométrico, segundo procedimento descrito na norma ASTM-F 1927 (2020), em equipamento OXTRAN, modelo 2/22, operando com oxigênio puro como gás permeante. Os ensaios foram realizados a 23 °C e a 50% UR. A área efetiva de permeação de cada corpo de prova foi de 50cm^2. Os resultados foram obtidos foram corrigidos para 1atm de gradiente de pressão parcial de oxigênio, entre as duas superfícies do filme. Este gradiente corresponde à força motriz para a permeação do oxigênio através do filme. As doses dos filmes analisados foram de 0 e 40 kGy. A partir da taxa de permeabilidade ao oxigênio, calculou-se o coeficiente de permeabilidade ao oxigênio (PO_2), como segue:

$$PO_2 = \frac{TP'O_2 xe}{p} \qquad (11)$$

Onde, PO_2 = coeficiente de permeabilidade ao oxigênio (mL (CNTP). µm. m^{-2}.dia^{-1}.atm^{-1}), TP'O_2 = taxa de permeabilidade ao oxigênio (mL(CNTP). m^{-2}.dia^{-1}), e= espessura média do corpo de prova (µm), p= pressão parcial de oxigênio na

câmara de gás permeante da célula de difusão, visto que a pressão parcial de O_2 na câmara do gás de arraste (N_2 + H_2) é considerada nula.

4.10.6 Análise Termogravimétrica

As propriedades térmicas dos filmes, controle e 40kGy foram determinadas utilizando equipamento de TGA-50 da marca Shimadzu, sob atmosfera de nitrogênio, com vazão de 50 $mL.min^{-1}$, razão de aquecimento de 10°C/min em um intervalo de temperatura iniciando em temperatura de aproximadamente 25 a 500 °C. As análises foram realizadas com amostras de aproximadamente 5 mg, em cadinhos de platina.

4.10.7 Análise de Espectroscopia no Infravermelho com Transformada Fourier (FTIR)

Os espectros de infravermelho com transformada Fourier de cada filme foram obtidos usando um espectrômetro Perkin-Elmer. Para cada medição, foram feitas 25 varreduras no comprimento de onda de 400 a 4000 cm^{-1} com uma resolução de 4 $cm^{-1,}$ à temperatura de 25 ºC. Os espectros foram coletados em duplicatas. Esta análise objetivou determinar as modificações na escala molecular induzida entre moléculas e polímeros sob doses de irradiação de feixes de elétrons.

4.10.8 Espectroscopia RAMAN

O equipamento utilizado foi o microscópio Raman XploRA PLUS (Horiba Jobin Yvon), com comprimento de onda e potência do laser de 785 nm e 85 mW, na grade de1200 gr/mm, o aumento e N.A. da lente objetiva: 10X 0,25 N.A. O software usado para aquisição e processamento foi o LabSpec6. As amostras analisadas foram os filmes com doses de 0 e 40 kGy. Não foi possível realizar esta análise com os filmes de hibisco, pois a coloração do filme interferia no laser impossibilitando a imagem no equipamento.

4.10.9 Propriedades ópticas dos filmes

Os filmes foram submetidos a análises de cor e opacidade usando um colorímetro (UltraScan VIS, HunterLab, Virginia, EUA) no modo transmitância com sistema de classificação da CIELab e iluminante D65 (HUNTERLAB, 1996). Os parâmetros foram classificados diretamente pelo software EasyMatch QC: L (branco = 100, preto = 0); a (vermelho = positivo, verde = negativo); b (amarelo = positivo; azul = negativo). A diferença de cor (ΔE*) for determinada através da Equação 12:

$$\Delta E = \sqrt{(L - L0)^2 + (a - a0)^2 + (b - b0)^2} \quad (12)$$

Onde: L*: índice de luminosidade da amostra, L0*: índice de luminosidade do padrão, a* e b*: parâmetros croma da amostra, a0* e b0*: parâmetros croma do padrão. Os parâmetros foram calibrados contra uma placa branca padrão de referência, usando como padrão (*L0** = 96,33, *a0** = 0,06 *e b0** = 0,28).

4.10.10 Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)

Foram analisadas as superfícies e as amostras com fratura dos filmes controle e 40kGy, em um Microscópio Eletrônico de Varredura (MEV) compacto, modelo TM 3000 da marca Hitachi, utilizando 30 acelerações de 5 KeV e fita adesiva de carbono para fixação.

4.10.11 Atividade antioxidante via inibição por DPPH

A atividade antioxidante dos filmes foi avaliada pelo método 2,2-difenil-1-picrilhidrazil (DPPH) com adaptações. Aproximadamente 1g de cada filme foi colocado em um frasco revestido com alumínio contendo 5 mL de água destilada, e agitado a 150 rpm por 3h em seguida foi deixado em repouso à temperatura ambiente por 24h. O sobrenadante foi analisado, realizando 5 diluições sucessivas. A metodologia foi conforme item 4.3.1.1.

4.11 Caracterização dos filmes por extrusão

As análises de espessura e umidade, absorção de água, propriedades ópticas dos filmes, atividade antioxidante via inibição por DPPH foram analisadas da mesma forma dos filmes preparados por *casting.*

4.12 Análise estatística

Os resultados obtidos nos ensaios foram submetidos à análise de variância (ANOVA), com método Tukey, utilizando o *software* Statgraphics Centurion XVI (StatPoint Technologies, Inc. Warrenton, VA, EUA). A análise visa verificar a existência de diferença significativa entre as médias, dentro de um nível de significância de 5%.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 Extração dos compostos de hibisco e cúrcuma

5.1.1 Atividade antioxidante pelo método da atividade captadora de radicais (DPPH) e inibição de hemólise oxidativa (OxHLIA)

Os resultados apresentados na TAB.12 e 13 da capacidade antioxidante pelo método DPPH e OxHLIA dos compostos bioativos extraídos por micro-ondas e ultrassom, fornecem valores de EC50, no qual valores mais baixos de EC50 correspondem a uma maior capacidade antioxidante.

O solvente que com maior atividade antioxidante para a extração por micro-ondas de hibisco pelo método DPPH foi o etanol 80/20 à 85ºC, IC50=0,38±0,01 $\mu g.mL^{-1}$. Já para a extração de hibisco por ultrassom foi o metanol 80/20 85 ºC (0,36±0,02 $\mu g.mL^{-1}$). Para os dois métodos de extrações, a temperatura influenciou no aumento da atividade antioxidante, ou seja, maior a temperatura de extração maior a atividade antioxidante.

Com base nos resultados do ensaio de OxHLIA de hibisco para a extração por micro-ondas o solvente com maior atividade antioxidante foi o etanol 80/20 a 55°C (58±4 $\mu g.mL^{-1}$); para ultrassom o solvente mais ativo foi o metanol 80/20 55°C (47±4 $\mu g.mL^{-1}$). Nas extrações realizadas por micro-ondas quanto

menor a temperatura de extração (55°C) maior atividade antioxidante para o teste de OxHLIA. Nas extrações por ultrassom, em relação a temperatura, os resultados não foram conclusivos.

TABELA 12. Atividade antioxidante - DPPH e OxHLia dos extratos de hibisco

Hibisco		
DPPH (EC50; µg.mL^{-1})		
Solvente	**Micro-ondas**	**Ultrassom**
MeOH 55°C	1,10±0,03^{a}	0,73±0,04^{a}
MeOH 70°C	0,82±0,02^{b}	0,52±0,004^{c}
MeOH 85°C	0,74±0,02^{c}	0,46±0,01^{b}
EtOH 55°C	1,56±0,01^{a}	1,05±0,05^{b}
EtOH 70°C	1,48±0,07^{a}	0,59±0,003^{a}
EtOH 85°C	0,93±0,03^{b}	0,53±0,02^{c}
MeOH80 55°C	0,73±0,01^{a}	0,88±0,07^{a}
MeOH80 70°C	0,66±0,02^{b}	0,68±0,037^{b}
MeOH80 85°C	0,55±0,01^{c}	0,36±0,02^{c}
EtOH80 55°C	0,86±0,02^{b}	4,32±0,43^{a}
EtOH80 70°C	1,67±0,02^{a}	3,82±0,42^{b}
EtOH80 85°C	0,38±0,01^{c}	2,41±0,13^{c}
***OxHLIA (EC50; µg.mL^{-1}); Δt = 60 min**		
MeOH 55°C	63±3^{c}	91±6^{c}
MeOH 70°C	162±4^{a}	171±5^{b}
MeOH 85°C	111±5^{b}	229±9^{a}
EtOH 55°C	75±3^{b}	194±10^{b}
EtOH 70°C	82±4^{b}	272±9^{a}
EtOH 85°C	101±3^{a}	83±6^{c}
MeOH80 55°C	217±11^{c}	47±4^{c}
MeOH80 70°C	243±18^{b}	109±9^{b}
MeOH80 85°C	395±20^{a}	220±10^{a}
EtOH80 55°C	58±4^{c}	202±14^{a}
EtOH80 70°C	320±10^{a}	184±8^{b}
EtOH80 85°C	235±12^{b}	159±7^{c}

Os resultados são expressos como média ± desvio padrão. Valores de EC50 correspondem à concentração de extrato responsável por inibir 50% da oxidação. *Concentração de extrato necessária para manter 50% da população de eritrócitos intacta por 60 min. (LOCKOWANDT et al., 2019). Em cada coluna letras diferentes representam diferenças significativas ($p \leq 0,05$).

Conforme demonstrado na TAB. 13, a atividade antioxidante pelo método DPPH das extrações de cúrcuma por micro-ondas o solvente que apresentou a melhor atividade antioxidante foi o metanol 80/20 55°C (0,22±0,01 $\mu g.mL^{-1}$) e para o ultrassom foi o metanol 85°C (0,09±0,002 $\mu g.mL^{-1}$).

Todos os solventes com as diferentes temperaturas apresentaram resultados satisfatório para esse teste, isso é devido ao principal mecanismo de ação da curcumina que envolve a doação de um átomo de hidrogênio para radicais hidroperoxila, contribuindo para a atividade antioxidante (MASUDA et al., 2001).

Para os testes de OxHLIA, o melhor solvente foi etanol 80/20 85°C para a extração de cúrcuma por micro-ondas e por ultrassom foi etanol 80/20 70°C. As amostras divergem em relação à temperatura, não obtendo resultados conclusivos.

TABELA 13. Atividade antioxidante: DPPH e OxHLia dos extratos de cúrcuma.

Cúrcuma		
DPPH (EC50; µg.mL^{-1})		
Solvente	**Micro-ondas**	**Ultrassom**
MeOH 55°C	0,25±0,04^{a}	0,12±0,004^{a}
MeOH 70°C	0,23±0,01^{b}	0,10±0,01^{b}
MeOH 85°C	0,26±0,01^{a}	0,09±0,002^{b}
EtOH 55°C	0,30±0,01^{b}	0,13±0,01^{b}
EtOH 70°C	0,34±0,01^{a}	0,16±0,01^{a}
EtOH 85°C	0,24±0,01^{c}	0,15±0,01^{a}
MeOH80 55°C	0,22±0,01^{c}	0,21±0,01^{c}
MeOH80 70°C	0,31±0,04^{a}	0,35±0,015^{a}
MeOH80 85°C	0,32±0,01^{a}	0,29±0,01^{b}
EtOH80 55°C	0,32±0,01^{c}	0,21±0,01^{b}
EtOH80 70°C	0,29±0,004^{b}	0,31±0,003^{a}
EtOH80 85°C	0,36±0,005^{a}	0,14±0,002^{c}
OxHLIA (EC50; µg.mL^{-1}); Δt = 60 min		
MeOH 55°C	50±2^{a}	29±1^{a}
MeOH 70°C	13±2^{b}	21±2^{b}
MeOH 85°C	14±0,7^{b}	24±2^{b}
EtOH 55°C	31±1c	55±3^{a}
EtOH 70°C	37±2^{b}	25±1^{b}
EtOH 85°C	34±4^{a}	25±1^{b}
MeOH80 55°C	13±2^{b}	28±1^{b}
MeOH80 70°C	14±1^{b}	32±2^{a}
MeOH80 85°C	18±0,7^{a}	19,7±1^{c}
EtOH80 55°C	33±2^{a}	60±9^{a}
EtOH80 70°C	28±3^{b}	10,7±0,5^{c}
EtOH80 85°C	11,7±0,5^{c}	12±0,8^{b}

Valores de EC50 correspondem à concentração de extrato responsável por inibir 50% da oxidação. Em cada coluna letras diferentes representam diferenças significativas ($p \leq 0,05$).

5.1.2 Compostos fenólicos dos extratos de hibisco

As respostas cromatográficas (tempo de retenção, comprimentos de onda de absorção máxima e dados espectrais de massa) e tentativa de identificação dos compostos fenólicos presentes nos extratos etanólico e metanólico das amostras de hibisco estão descritas na TAB. 14. A quantificação correspondente está presente na TAB. 15, e um perfil cromatográfico exemplificativo da amostra metanólica está apresentado na FIG. 24.

TABELA 14. Dados espectrais de massa e tentativa de identificação dos compostos fenólicos presentes nos extratos etanólicos e metanólicos de hibisco.

Pico	Rt (min)	λ_{max} ((nm))	Íon Molecular [M-H] (*m/z*)	MS^2 (*m/z*)	Identificação
1	5.208	-	217	127(100)	Éster metílico do ácido de hibisco
2	6.861	-	189	127(100)	Ácido de Hibisco
3	7.801	326	335	179/13),161(100),134(41)	Ácido Cafeoilshiquímico
4	10.309	334	353	191(100),179(34),161(12),135(3)	Ácido 5-*O*-Cafeoiquínico
6	13.375	336	337	191(100),163(10),119(13)	Ácido 5-*O*-*p*-Coumaroilquínico
7	18.065	278/505	579	285(100)	Luecoside (Kaempherol-*O*-sambubosideo)
5	14.330	-	367	-	Metilclorogenato
8	19.991	354	595	301(100)	Quercetina-*O*-sambubosídeo
9	21.136	350	609	301(100)	Quercetina-3-*O*-rutinosídeo

Tempo de retenção (Rt), comprimentos de onda de absorção máxima na região do visível (λmax).

TABELA 15. Quantificação (mg. g^{-1} de extrato) dos compostos fenólicos, ácidos fenólicos totais, flavonóides totais e compostos fenólicos totais presentes nos extratos de hibisco

	EtOH55	EtOH70	EtOH85	EtOH80 55	EtOH80 70	EtOH80 85	MeOH 55	MeOH 70	MeOH 85	MeOH80 55	MeOH80 70	MeOH80 85
1	30.82±0.6	26.6±0.7	26.92±1	31.9±0.73	27.12±1	32.3±1.3	26.9±0.62	19.62±0.9	31±0.34	17.1±0.1	26.09±0.32	15.5±0.33
2	5.8±0.2	6.23±0.01	5.5±0.06	7.1±0.17	4.47±0.1	9.31±0.13	5.7±0.085	5.1±0.1	5.9±0.1	6±0.075	5.88±0.01	3.9±0.01
3	5.8±0.12	6.2±0.2	5.4±0.17	6.9±0.22	5.56±0.01	6.1±0.10	5.5±0.1	5.3±0.14	7.38±0.28	5.7±0.05	6.54±0.04	3.97±0.11
4	2.8±0.06	2.2±0.04	2.0±0.02	2.25±0.02	2.16±0.023	2.93±0.01	2.81±0.02	2±0.02	2.51±0.001	2.62±0.03	2.03±0.01	1.90±0.01
6	1.9±0.01	1.8±0.01	2.3±0.01	1.84±0.01	1.80±0.01	1.86±0.01	1.80±0.01	1.7±0.02	1.83±0.01	1.74±0.03	1.77±0.01	1.62±0.02
7	1.8±0.02	1.9±0.03	3.41±0.10	1.6±0.02	1.70±0.02	1.80±0	1.82±0.02	1.4±0.02	1.66±0.024	3.23±0.01	1.55±0.01	1.40±0.01
5	1.5±0.01	1.47±0.01	1.62±0.04	1.57±0.01	1.56±0.004	1.72±0.02	1.50±0.01	1.5±0.03	1.55±0.002	1.63±0.03	1.51±0	1.38±0.02
8	1.2±0.01	1.05±0.02	1.13±0.01	1.5±0.02	1.42±0.02	1.13±0.006	1.36±0.01	1.17±0.03	1.22±0.006	1.42±0.01	1.34±0.03	1.11±0.01
9	1.2±0.01	1.14±0.05	1.10±0.01	1.37±0.01	1.31±0.02	1.17±0.007	1.26±0.06	1.07±0.07	1.22±0.003	1.22±0.01	1.24±0.08	1.01±0.02
TPA	48.73±0.25	44.55±0.82	43.73±0.85	51.47±0.82	42.7±0.90	54.18±1.52	44.14±0.64	35.13±0.96	50.26±0.15	34.74±0.1	43.82±0.3	28.4±0.4
TF	4.14±0.01	4.01±0.01	5.60±0.10	4.45±0.03	4.43±0.04	4.12±0.001	4.43±0.02	3.64±0.03	4.10±0.01	5.88±0.07	4.15±0.001	3.51±0.01
TPC	52.86±0.26	48.57±0.80	49.32±0.75	55.93±0.84	47.12±0.85	58.3±1.52	48.57±0.65	38.78±0.93	54.37±0.14	40.62±0.17	48±0.3	31.88±0.43

TPA=Total Phenolic Acids (Ácidos Fenólicos Totais), TF= Total Flavonoids (Flavonoides Totais), TPC=Total Phenolic Compounds (Compostos Fenólicos Totais).

O pico 9, quercetina-3-O-rutinosídeo, foi identificado por comparação do tempo de retenção e comprimentos de onda de absorção máxima com o composto padrão disponível. Os picos restantes foram identificados por comparação com dados bibliográficos disponíveis na literatura sobre a composição fenólica do hibisco (BORRÁS-LINARES et al., 2015; HERRANZ-LÓPEZ et al., 2012; PARAÍSO et al., 2019).

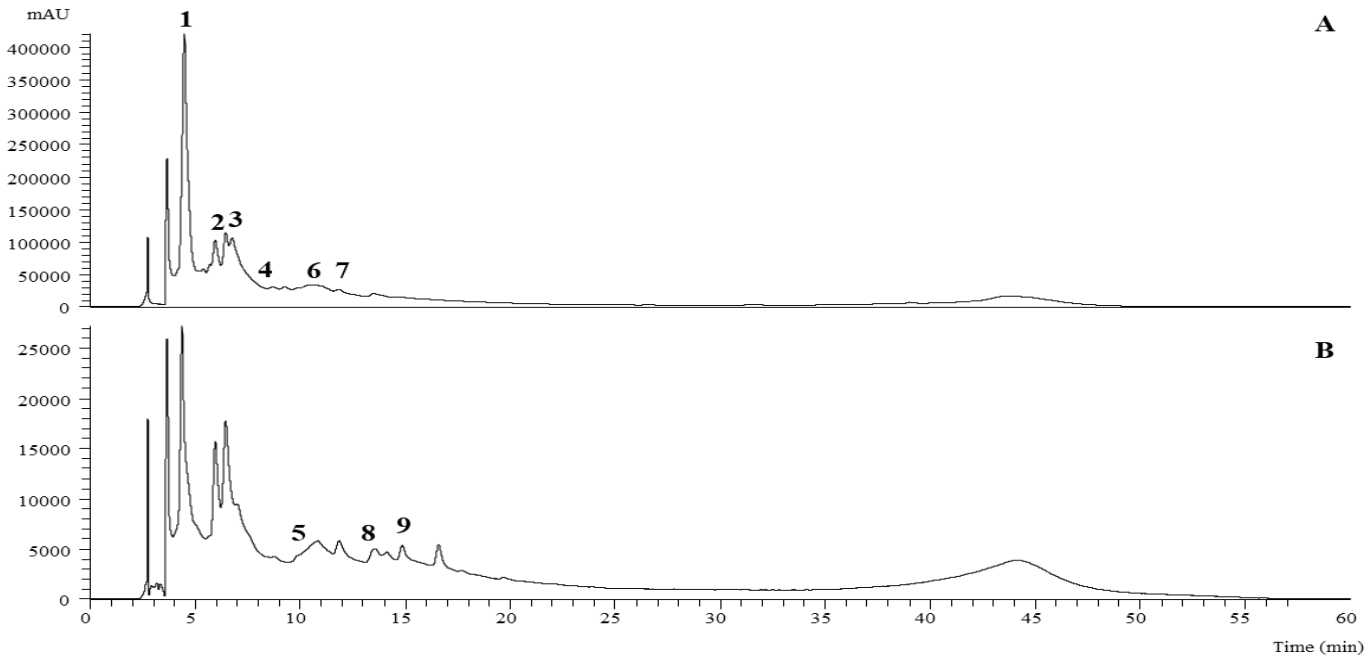


FIGURA 25. Perfil fenólico do extrato metanólico em 280 nm (A) e 370 nm (B).

5.1.3 Atividade anti-inflamatória

Os valores de EC50 das amostras de cúrcuma, obtidos através da avaliação da capacidade de inibição da produção de óxido nítrico (NO) numa linha celular de macrófagos de rato (RAW 264.7) encontram-se na TAB.16 e são expressos em µg.mL^{-1}. As amostras de hibisco extraídas pelo micro-ondas e ultrassom não apresentaram atividade anti-inflamatória, ou seja, foram >400 µg.mL^{-1}. As extrações de cúrcuma realizadas por micro-ondas foram mais efetivas nesse teste por apresentarem atividade anti-inflamatória do que as extrações realizadas por ultrassom.

TABELA 16. Atividade anti-inflamatória dos extratos de cúrcuma.

Atividade anti-inflamatória-Cúrcuma (valores EC50, µg.mL^{-1})		
Solvente	**Micro-ondas**	**Ultrassom**
MeOH 55°C	115.73±1^{a}	>400
MeOH 70°C	94.88±2^{c}	>400
MeOH 85°C	109.53±2^{b}	>400
EtOH 55°C	206.17±3^{a}	>400
EtOH 70°C	92.38±2^{c}	>400
EtOH 85°C	104.61±1^{b}	>400
MeOH80 55°C	98.38±1^{c}	>400
MeOH80 70°C	334.6±1^{b}	>400
MeOH80 85°C	359.78±2^{a}	>400
EtOH80 55°C	>400^{b}	>400
EtOH80 70°C	137.96±2^{a}	>400
EtOH80 85°C	>400^{b}	>400

Valores de EC50 correspondem à concentração de extrato responsável por inibir 50% da produção de NO, atividade determinada em relação ao controle. Dexametasona (controle positivo) valor de EC50= 16 ± 1 µg.mL^{-1} Na coluna letras diferentes representam diferenças significativas ($p \leq 0,05$).

O solvente etanol 70°C foi o que revelou o valor de EC50 mais baixo – 92,38 µg.mL^{-1}, logo é o que apresenta maior atividade anti-inflamatória. Os solventes com EC50 maiores, apresentam menor capacidade de inibição da produção de óxido nítrico. As amostras de cúrcuma extraídas com ultrassom, apresentam valores >400, ou seja, não apresentaram atividade anti-inflamatória nas condições estabelecidas.

5.1.4 Atividade antimicrobiana e antifúngica

Os valores das concentrações mínimas inibitórias (MIC) e das concentrações mínimas bactericidas (MBC) associados aos diferentes solventes de extracão encontram-se nas TAB. 17 a 20 são expressos em $mg.mL^{-1}$. A atividade antibacteriana das diferentes extrações foi avaliada contra bactérias Gram positivas (*S. aureus, B. cereus e L. monocytogenes*) e Gram negativas (*E. coli, E. cloacae e S.typhimurium)*.

A atividade antibacteriana associada a cada um dos extratos é maior quanto menor o valor das concentrações mínimas inibitórias (MIC), ou seja, a menor concentração necessária para inibir o crescimento dos micro-organismos.

Todas as extrações de hibisco revelaram potencial contra as estirpes bacterianas utilizadas neste estudo. O solvente utilizado na extração por ultrassom e micro-ondas de hibisco que revelou maior potencial antibacteriano foi o de etanol 55 °C, uma vez que exibiu valores de MIC e MBC menores para todas as bactérias testadas. O tipo de extração não diferiu nos resultados. Conforme demonstrado nas TAB. 17 e 18, as amostras apresentaram atividade antimicrobiana.

TABELA 17. Atividade antibacteriana dos extratos de hibisco por ultrassom

Atividade antibacteriana (MIC e MBC, mg.mL^{-1})							
Solvente		***S.a.***	***B.c.***	***L.m.***	***E.c.***	***S.t.***	***En.cl.***
EtOH85	**MIC**	1	1	1	1	1	1
	MBC	2	2	2	2	2	2
MeOH 85	**MIC**	2	1	1	1	1	2
	MBC	4	2	2	2	2	4
EtOH70	**MIC**	1	1	1	1	1	1
	MBC	2	2	2	2	2	2
MeOH70	**MIC**	1	0.5	1	1	1	2
	MBC	2	1	2	2	2	4
EtOH55	**MIC**	1	1	1	0.5	1	1
	MBC	2	2	2	1	2	2
MeOH55	**MIC**	1	1	1	1	1	2
	MBC	2	2	2	2	2	4
EtOH80/20 85	**MIC**	1	0.5	1	1	1	2
	MBC	2	1	2	2	2	4
MeOH 80/20 85	**MIC**	1	0.5	1	1	1	2
	MBC	2	1	2	2	2	4
EtOH80/20 70	**MIC**	1	1	1	1	2	2
	MBC	2	2	2	2	4	4
MeOH80/20 70	**MIC**	1	0.5	1	1	1	2
	MBC	2	1	2	2	2	4
EtOH80/20 55	**MIC**	1	1	1	1	1	2
	MBC	2	2	2	2	2	4
MeOH80/20 55	**MIC**	1	1	1	1	2	2
	MBC	2	2	2	2	4	4
E211	**MIC**	4	0.5	1	1	1	2
	MBC	4	0.5	2	2	2	4
E224	**MIC**	1	2	0.5	0.5	1	0.5
	MBC	1	4	1	1	1	0.5

S.a: Staphylococcus. aureus, B. c.: Bacillus cereus, L.m.: Listeria monocytogenes, E. c.: Escherichia coli, En. cl.: Enterobacter cloacae, S.t.: Salmonella Typhimurium. MBC – minimum bactericidal concentration (Concentração bactericida mínima). Controles: E211 e E224.

TABELA 18. Atividade antifúngica dos extratos de hibisco por ultrassom

Atividade antifúngica (MIC e MFC, mg.mL^{-1})							
Solvente		***A.f.***	***A.n.***	***A.v.***	***P.f.***	***P.v.c.***	***T.v.***
EtOH 85	**MIC**	0.25	0.5	0.5	0.5	0.12	0.5
	MFC	0.5	1	1	1	0.25	1
MeOH 85	**MIC**	0.25	0.5	1	0.5	0.12	0.5
	MFC	0.5	1	2	1	0.25	1
EtOH 70	**MIC**	0.25	1	0.5	0.5	0.25	0.5
	MFC	0.5	2	1	1	0.5	1
MeOH 70	**MIC**	0.25	1	0.5	0.2	0.25	0.5
	MFC	0.5	2	1	1	0.5	1
EtOH 55	**MIC**	0.25	0.5	0.5	0.5	0.25	0.5
	MFC	0.5	1	1	1	0.5	1
MeOH 55	**MIC**	0.25	0.5	0.5	0.5	0.25	0.5
	MFC	0.5	1	1	1	0.5	1
EtOH 80/20 85	**MIC**	0.5	1	1	0.5	0.12	0.25
	MFC	1	2	2	1	0.25	0.5
MeOH 80/20 85	**MIC**	0.25	0.5	0.5	0.5	0.12	0.5
	MFC	0.5	1	1	1	0.25	1
EtOH 80/20 70	**MIC**	0.25	1	0.5	0.5	0.12	0.12
	MFC	0.5	2	1	1	0.25	0.25
MeOH 80/20 70	**MIC**	0.25	0.5	0.5	0.5	0.25	0.5
	MFC	0.5	1	1	1	0.5	1
EtOH 80/20 55	**MIC**	0.25	1	0.25	0.5	0.25	0.5
	MFC	0.5	2	0.5	1	0.5	1
MeOH 80/20 55	**MIC**	0.5	0.5	1	0.5	0.12	0.12
	MFC	1	1	2	1	0.25	0.25
E211	**MIC**	1	1	2	1	2	1
	MFC	2	2	2	2	4	2
E224	**MIC**	1	1	1	0.5	1	0.5
	MFC	1	1	1	0.5	1	0.5

A.f.: Aspergillus fumigatus; A.v.: Aspergillus versicolor; A.n.: Aspergillus niger; T.v.: Trichoderma viride; P.f.: Penicillium funiculosum; P.v.c.: Penicillium verrucosum var. cyclopium. MIC–minimum inhibitory concentration (Concentração inibitória mínima); e MFC – minimum fungicidal concentrate (Concentração fungicida mínima). Controles: E211 e E224.

TABELA 19. Atividade antibacteriana da extração do hibisco por micro-ondas

Atividade antibacteriana (MIC e MBC, mg.mL^{-1})							
Solvente		***S.a.***	***B.c.***	***L.m.***	***E.c.***	***S.t.***	***En.cl.***
EtOH85	**MIC**	1	1	1	1	1	1
	MBC	2	2	2	2	2	2
MeOH 85	**MIC**	2	1	1	1	1	2
	MBC	4	2	2	2	2	4
EtOH70	**MIC**	1	1	1	1	1	1
	MBC	2	2	2	2	2	2
MeOH70	**MIC**	1	0.5	1	1	1	2
	MBC	2	1	2	2	2	4
EtOH55	**MIC**	1	1	1	0.5	1	1
	MBC	2	2	2	1	2	2
MeOH55	**MIC**	1	1	1	1	1	2
	MBC	2	2	2	2	2	4
EtOH80/20 85	**MIC**	1	0.5	1	1	1	2
	MBC	2	1	2	2	2	4
MeOH 80/20 85	**MIC**	1	0.5	1	1	1	2
	MBC	2	1	2	2	2	4
EtOH80/20 70	**MIC**	1	1	1	1	2	2
	MBC	2	2	2	2	4	4
MeOH80/20 70	**MIC**	1	0.5	1	1	1	2
	MBC	2	1	2	2	2	4
EtOH80/20 55	**MIC**	1	1	1	1	1	2
	MBC	2	2	2	2	2	4
MeOH80/20 55	**MIC**	1	1	1	1	2	2
	MBC	2	2	2	2	4	4
E211	**MIC**	4	0.5	1	1	1	2
	MBC	4	0.5	2	2	2	4
E224	**MIC**	1	2	0.5	0.5	1	0.5
	MBC	1	4	1	1	1	0.5

S.a: Staphylococcus. aureus, B. c.: Bacillus cereus, L.m.: Listeria monocytogenes, E. c.: Escherichia coli, En. cl.: Enterobacter cloacae, S.t.: Salmonella Typhimurium. MBC – minimum bactericidal concentration (Concentração bactericida mínima). Controles: E211 e E224.

TABELA 20. Atividade antifúngica da extração do hibisco por micro-ondas

Atividade antifúngica (MIC e MFC, mg.mL^{-1})							
Solvente		***A.f.***	***A.n.***	***A.v.***	***P.f.***	***P.v.c.***	***T.v.***
EtOH 85	**MIC**	0.25	0.5	0.5	0.5	0.12	0.5
	MFC	0.5	1	1	1	0.25	1
MeOH 85	**MIC**	0.25	0.5	1	0.5	0.12	0.5
	MFC	0.5	1	2	1	0.25	1
EtOH 70	**MIC**	0.25	1	0.5	0.5	0.25	0.5
	MFC	0.5	2	1	1	0.5	1
MeOH 70	**MIC**	0.25	1	0.5	0.2	0.25	0.5
	MFC	0.5	2	1	1	0.5	1
EtOH 55	**MIC**	0.25	0.5	0.5	0.5	0.25	0.5
	MFC	0.5	1	1	1	0.5	1
MeOH 55	**MIC**	0.25	0.5	0.5	0.5	0.25	0.5
	MFC	0.5	1	1	1	0.5	1
EtOH 80/20 85	**MIC**	0.5	1	1	0.5	0.12	0.25
	MFC	1	2	2	1	0.25	0.5
MeOH 80/20 85	**MIC**	0.25	0.5	0.5	0.5	0.12	0.5
	MFC	0.5	1	1	1	0.25	1
EtOH 80/20 70	**MIC**	0.25	1	0.5	0.5	0.12	0.12
	MFC	0.5	2	1	1	0.25	0.25
MeOH 80/20 70	**MIC**	0.25	0.5	0.5	0.5	0.25	0.5
	MFC	0.5	1	1	1	0.5	1
EtOH 80/20 55	**MIC**	0.25	1	0.25	0.5	0.25	0.5
	MFC	0.5	2	0.5	1	0.5	1
MeOH 80/20 55	**MIC**	0.5	0.5	1	0.5	0.12	0.12
	MFC	1	1	2	1	0.25	0.25
E211	**MIC**	1	1	2	1	2	1
	MFC	2	2	2	2	4	2
E224	**MIC**	1	1	1	0.5	1	0.5
	MFC	1	1	1	0.5	1	0.5

A.f.: Aspergillus fumigatus; A.v.: Aspergillus versicolor; A.n.: Aspergillus niger; T.v.: Trichoderma viride; P.f.: Penicillium funiculosum; P.v.c.: Penicillium verrucosum var. cyclopium. MIC–minimum inhibitory concentration (Concentração inibitória mínima); e MFC – minimum fungicidal concentrate (Concentração fungicida mínima). Controles: E211 e E224.

Em relação à atividade antifúngica (TAB.17 e 18), todas as amostras apresentaram capacidade inibitória fúngica para as amostras de hibisco.

Nas TAB. 19 e 20, são apresentados os resultados da atividade antimicrobiana (MICs) das diferentes extrações da cúrcuma. Pode observar-se que todas as bactérias foram inibidas.

Existem indícios de que os grupamentos metoxila e hidroxila da curcumina sejam os responsáveis por sua atividade antimicrobiana. A literatura relata que a curcumina em sua forma *in natura* apresenta atividade antimicrobiana para *Bacillus cereus*, *Bacillus subtilis, Staphylococcus aureus, Staphylococcus mutans, Staphylococcus epidermis, Escherichia coli, Pseudomonas aeruginosa, Yersinia enterocolitica* e *Shigella dysenteriae* (SILVA, 2016). Moghadamtousi et al. (2014), realizaram estudos de avaliação da atividade

antibacteriana com um extrato aquoso do rizoma de *Curcuma longa* e descreveram concentrações mínimas inibitória (MICs) de 4 a 16 mg.mL^{-1} e concentrações mínimas bactericidas (MBCs) de 16 a 32 mg.mL^{-1} contra *Staphylococcus epidermis, Staphylococcus aureus, Klebsiella pneumoniae e Escherichia coli*, por exemplo.

TABELA 21. Atividade antibacteriana da extração da cúrcuma por ultrassom

Atividade antibacteriana (MIC e MBC, mg.mL^{-1})							
Solvente		***S.a.***	***B.c.***	***L.m.***	***E.c.***	***S.t.***	***En.cl.***
EtOH85	**MIC**	1	0.5	1	0.5	1	1
	MBC	2	1	2	1	2	2
MeOH 85	**MIC**	1	0.25	1	0.5	1	1
	MBC	2	0.5	2	1	2	2
EtOH70	**MIC**	1	0.25	0.5	0.5	1	1
	MBC	2	0.5	1	1	2	2
MeOH70	**MIC**	1	0.5	1	0.5	1	1
	MBC	2	1	2	1	2	2
EtOH55	**MIC**	1	0.25	1	1	1	1
	MBC	2	0.5	2	2	2	2
MeOH55	**MIC**	0.5	0.25	1	0.5	1	1
	MBC	1	0.5	2	1	2	2
EtOH80/20 85	**MIC**	1	0.5	1	0.5	1	1
	MBC	2	1	2	1	2	2
MeOH 80/20 85	**MIC**	0.5	0.5	0.25	0.5	0.25	0.5
	MBC	1	1	0.5	1	0.5	1
EtOH80/20 70	**MIC**	1	0.5	0.5	0.5	0.5	0.25
	MBC	2	1	1	1	1	0.5
MeOH80/20 70	**MIC**	0.5	0.5	1	0.5	1	1
	MBC	1	1	2	1	2	2
EtOH80/20 55	**MIC**	1	0.25	0.5	0.5	0.5	1
	MBC	2	0.5	1	1	1	2
MeOH80/20 55	**MIC**	1	0.25	1	0.5	1	1
	MBC	2	0.5	2	1	2	2
E211	**MIC**	4	0.5	1	1	1	2
	MBC	4	0.5	2	2	2	4
E224	**MIC**	1	2	0.5	0.5	1	0.5
	MBC	1	4	1	1	1	0.5

S.a: Staphylococcus. aureus, B. c.: Bacillus cereus, L.m.: Listeria monocytogenes, E. c.: Escherichia coli, En. cl.: Enterobacter cloacae, S.t.: Salmonella Typhimurium. MBC – minimum bactericidal concentration (Concentração bactericida mínima). Controles: E211 e E224.

TABELA 22. Atividade antifúngica da extração da cúrcuma por ultrassom.

Atividade antifúngica (MIC e MFC, mg.mL^{-1})							
Solvente		***A.f.***	***A.n.***	***A.v.***	***P.f.***	***P.v.c.***	***T.v.***
EtOH 85	**MIC**	1	1	0,5	0,5	0,5	0,5
	MFC	2	2	1	1	1	1
MeOH 85	**MIC**	1	1	1	1	0,5	0,5
	MFC	2	2	2	2	1	1
EtOH 70	**MIC**	1	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5
	MFC	2	1	1	1	1	1
MeOH 70	**MIC**	1	1	0,5	1	1	1
	MFC	2	2	1	2	2	2
EtOH 55	**MIC**	1	1	0,5	1	1	0,5
	MFC	2	2	1	2	2	1
MeOH 55	**MIC**	2	2	1	1	0,5	0,5
	MFC	4	4	2	2	1	1
EtOH 80/20 85	**MIC**	1	1	0,5	1	1	0,5
	MFC	2	2	1	2	2	1
MeOH 80/20 85	**MIC**	1	1	0,5	0,5	0,5	0,25
	MFC	2	2	1	1	1	0,5
EtOH 80/20 70	**MIC**	1	1	1	1	0,5	0,5
	MFC	2	2	2	2	1	1
MeOH 80/20 70	**MIC**	1	1	0,5	1	1	1
	MFC	2	2	1	2	2	2
EtOH 80/20 55	**MIC**	1	1	0,5	1	1	0,5
	MFC	2	2	1	2	2	1
MeOH 80/20 55	**MIC**	1	1	0,5	1	0,5	0,5
	MFC	2	2	1	2	1	1
E211	**MIC**	1	1	2	1	2	1
	MFC	2	2	4	2	4	2
E224	**MIC**	1	1	1	0,5	1	0,5
	MFC	1	1	1	0,5	1	0,5

A.f.: Aspergillus fumigatus; A.v.: Aspergillus versicolor; A.n.: Aspergillus niger; T.v.: Trichoderma viride; P.f.: Penicillium funiculosum; P.v.c.: Penicillium verrucosum var. cyclopium. MIC–minimum inhibitory concentration (Concentração inibitória mínima); e MFC – minimum fungicidal concentrate (Concentração fungicida mínima). Controles: E211 e E224.

TABELA 23. Atividade antibacteriana da extração da cúrcuma por micro-ondas.

Atividade antibacteriana (MIC e MBC, mg.mL^{-1})							
Solvente		***S.a.***	***B.c.***	***L.m.***	***E.c.***	***S.t.***	***En.cl.***
EtOH85	**MIC**	1	0.5	1	0.5	1	1
	MBC	2	1	2	1	2	2
MeOH 85	**MIC**	1	0.25	1	0.5	1	1
	MBC	2	0.5	2	1	2	2
EtOH70	**MIC**	1	0.25	0.5	0.5	1	1
	MBC	2	0.5	1	1	2	2
MeOH70	**MIC**	1	0.5	1	0.5	1	1
	MBC	2	1	2	1	2	2
EtOH55	**MIC**	1	0.25	1	1	1	1
	MBC	2	0.5	2	2	2	2
MeOH55	**MIC**	0.5	0.25	1	0.5	1	1
	MBC	1	0.5	2	1	2	2
EtOH80/20 85	**MIC**	1	0.5	1	0.5	1	1
	MBC	2	1	2	1	2	2
MeOH 80/20 85	**MIC**	0.5	0.5	0.25	0.5	0.25	0.5
	MBC	1	1	0.5	1	0.5	1
EtOH80/20 70	**MIC**	1	0.5	0.5	0.5	0.5	0.25
	MBC	2	1	1	1	1	0.5
MeOH80/20 70	**MIC**	0.5	0.5	1	0.5	1	1
	MBC	1	1	2	1	2	2
EtOH80/20 55	**MIC**	1	0.25	0.5	0.5	0.5	1
	MBC	2	0.5	1	1	1	2
MeOH80/20 55	**MIC**	1	0.25	1	0.5	1	1
	MBC	2	0.5	2	1	2	2
E211	**MIC**	4	0.5	1	1	1	2
	MBC	4	0.5	2	2	2	4
E224	**MIC**	1	2	0.5	0.5	1	0.5
	MBC	1	4	1	1	1	0.5

S.a: Staphylococcus. aureus, B. c.: Bacillus cereus, L.m.: Listeria monocytogenes, E. c.: Escherichia coli, En. cl.: Enterobacter cloacae, S.t.: Salmonella Typhimurium. MBC – minimum bactericidal concentration (Concentração bactericida mínima). Controles: E211 e E224.

TABELA 24. Atividade antifúngica da extração da cúrcuma por micro-ondas

Atividade antifúngica (MIC e MFC, mg.mL^{-1})							
Solvente		***A.f.***	***A.n.***	***A.v.***	***P.f.***	***P.v.c.***	***T.v.***
EtOH 85	**MIC**	1	1	0.5	0.5	0.5	0.5
	MFC	2	2	1	1	1	1
MeOH 85	**MIC**	1	1	1	1	0.5	0.5
	MFC	2	2	2	2	1	1
EtOH 70	**MIC**	1	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5
	MFC	2	1	1	1	1	1
MeOH 70	**MIC**	1	1	0.5	1	1	1
	MFC	2	2	1	2	2	2
EtOH 55	**MIC**	1	1	0.5	1	1	0.5
	MFC	2	2	1	2	2	1
MeOH 55	**MIC**	2	2	1	1	0.5	0.5
	MFC	4	4	2	2	1	1
EtOH 80/20 85	**MIC**	1	1	0.5	1	1	0.5
	MFC	2	2	1	2	2	1
MeOH 80/20 85	**MIC**	1	1	0.5	0.5	0.5	0.25
	MFC	2	2	1	1	1	0.5
EtOH 80/20 70	**MIC**	1	1	1	1	0.5	0.5
	MFC	2	2	2	2	1	1
MeOH 80/20 70	**MIC**	1	1	0.5	1	1	1
	MFC	2	2	1	2	2	2
EtOH 80/20 55	**MIC**	1	1	0.5	1	1	0.5
	MFC	2	2	1	2	2	1
MeOH 80/20 55	**MIC**	1	1	0.5	1	0.5	0.5
	MFC	2	2	1	2	1	1
E211	**MIC**	1	1	2	1	2	1
	MFC	2	2	4	2	4	2
E224	**MIC**	1	1	1	0.5	1	0.5
	MFC	1	1	1	0.5	1	0.5

A.f.: Aspergillus fumigatus; A.v.: Aspergillus versicolor; A.n.: Aspergillus niger; T.v.: Trichoderma viride; P.f.: Penicillium funiculosum; P.v.c.: Penicillium verrucosum var. cyclopium. MIC–minimum inhibitory concentration (Concentração inibitória mínima); e MFC – minimum fungicidal concentrate (Concentração fungicida mínima). Controles: E211 e E224.

A resistência da bactéria *E. coli*, em relação a *S. aureus*, pode ser possivelmente atribuída à diferença na polaridade da membrana celular, uma vez que a membrana da *S. aureus* tem carga negativa menor quando comparada à membrana da *E. coli*. Com diferenças menores de carga é possível maiores fluxos de penetração de radicais livres, tais como radicais hidroxila, superóxido e íons peróxido, para o citoplasma. Este efeito conduz com maior facilidade a morte celular das bactérias *S. aureus* em relação a *E. coli* (GORDON et al., 2011). Estudos mostram que a maior atividade antimicrobiana pode ser atribuída aos terpenos oxigenados, especialmente os compostos fenólicos (SOKOVIC et al., 2005).

5.2 Encapsulação dos compostos bioativos de hibisco e cúrcuma

5.2.1 Análise do Potencial Zeta (PZ), Distribuição do tamanho das partículas (DLS) e Atividade de água (Aa).

A análise do potencial Zeta foi feita para avaliar a estabilidade das partículas, ou seja, é a medida da carga de superfície da partícula em meio específico, sendo usado para analisar e prever interações entre as partículas em suspensão (HUNTER, 1981).

As partículas presentes na suspensão que apresentam um grande potencial Zeta positivo ou negativo, tendem a se repelir. Assim não existe tendência de flocular, ou seja, é considerado um sistema mais estável; sendo que elevados valores de potencial zeta, acima (+/-) 30 mV, conferem maior repulsão eletrostática à partícula, o que diminui a agregação (SCHAFFAZICK et al., 2003; CHO et al., 2013), são consideradas estáveis. Quanto mais negativo o PZ encontrado, menor a tendência de agregação das nanopartículas, o que pressupõe melhor estabilidade coloidal.

As partículas com hibisco com os materiais de parede apresentaram valor de PZ próximo a 1, ou seja, as partículas não são estáveis. As formulações preparadas com cúrcuma apresentaram boa estabilidade: partículas de cúrcuma da P1 com potencial Zeta de -39, P2 e P3 com -21 e -28, respectivamente. Esses valores mostram que as partículas são estáveis em suspensão.

Estudos sobre sistemas de nanopartículas de curcumina descrito por Anitha *et al*. (2011), envolveu nanopartículas obtidas com curcumina e *O*-carboximetol-quitosana que mostram um potencial Zeta de -30 mV para as nanopartículas e para as nanopartículas sem curcumina um potencial de -35,12 mV. Esse potencial negativo foi atribuído à presença de grupos carboxílicos, enquanto a redução na carga de superfície das nanopartículas carregadas com curcumina foi explicada pelas ligações de hidrogênio entre os grupos carboxílicos da *O*-carboximetil-quitosana e grupos carboxílicos da curcumina.

Os valores de PDI (índice de polidispersividade) indicam a polidispersidade da distribuição de tamanho de gotas e quanto menor este valor, menor a amplitude da curva, indicando emulsões mais uniformes (partículas sem grandes diferenças de tamanho) (GOMES, 2015), ou seja, é o índice de distribuição de tamanho que representa a semelhança entre as partículas. Um valor de PDI mais próximo a 1 indica que os tamanhos das partículas são diferentes (TSAI *et al*., 2011). De acordo com Gottlieb e Schwartzbach (2004) sistemas com valor de PDI menor que 2 podem indicar uma distribuição de tamanho estreita e uniforme. Os pós apresentaram um PDI alto, sugerindo a presença de partículas de diferentes tamanhos, isso pode ser observado nas micrografias da FIG. 26.

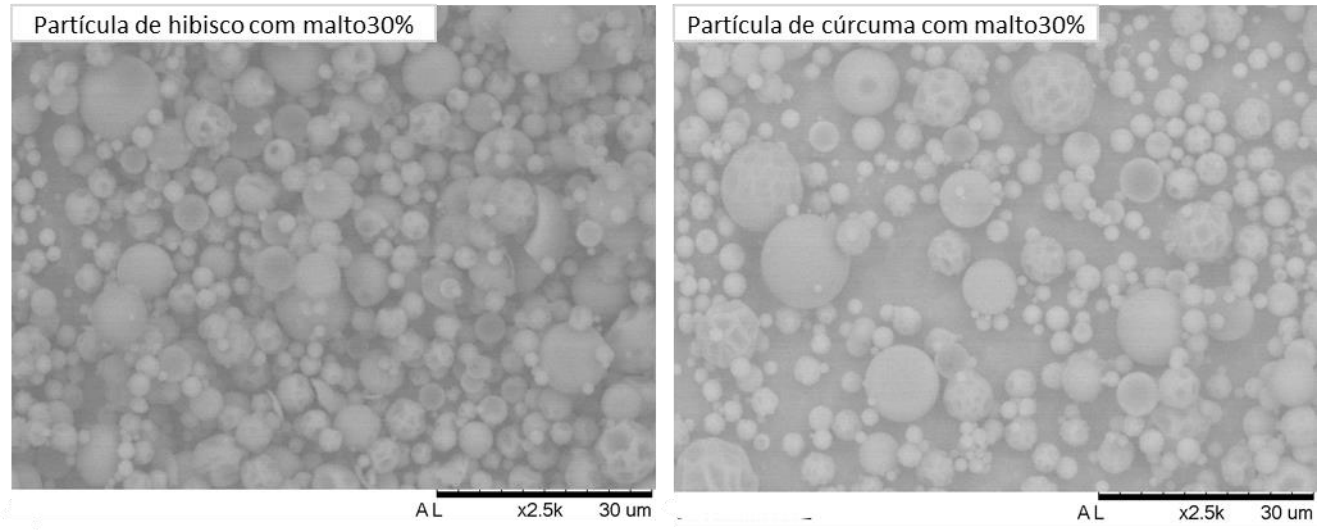


FIGURA 26. Microscopia dos pós da formulação P1 de hibisco e cúrcuma com 30% de maltodextrina.

Ambos os revestimentos, maltodextrina e goma arábica, possuem morfologias semelhantes. As nanopartículas obtidas neste estudo são regulares na forma esférica e exibem uma variação considerável de tamanho. Esta morfologia foi relatada para o processo por pulverização (SANTIAGO-ADAME et al., 2015).

Como mostrado na TAB. 21 o teor de atividade de água dos pós variou entre 0.37 e 0.53 a 25°C. Segundo Franco & Landgraf (2005) o valor da atividade de água considerado como limitante para a multiplicação de microrganismos em um alimento é 0.60, a atividade de água para os pós obtidos no presente trabalho foram menores que o valor limitante, indicando estabilidade microbiológica dos pós obtidos por *spray dryer*.

TABELA 25. Caracterização das partículas encapsuladas com diferentes proporções de material de parede e ativo.

Partícula	P.Z (Mv)	Aa	PDI (%)
Hibisco			
P1	-0.63±0.28[b]	0.53±0.05[a]	24.5[b]
P2	-0.06±0.23[a]	0.37±0.01[c]	32.9[a]
P3	-2±0.35[c]	0.46±0.01[b]	23.3[c]
Cúrcuma			
P1	-39.8±1[a]	0.42±0.02[b]	29.8[b]
P2	-22±1[c]	0.41±0.01[b]	40[a]
P3	-28.2±1.1[b]	0.5±0.01[a]	27.8[c]

Na coluna letras diferentes representam diferenças significativas ($p<0,05$) pelo teste Tukey. Aa=atividade de água, PDI=índice de polidispersividade, PZ=Potencial Zeta. P1= Formulação com 30% de maltodextrina; P2= Formulação com 2.5% de goma e 27.5% de maltodextrina; P3= Formulação com 5% de goma e 25% de maltodextrina.

A análise por DLS foi feita para verificar a distribuição do tamanho das partículas. O espalhamento de luz dinâmico (DLS) é uma técnica utilizada para medir a distribuição de tamanho de partículas na escala nanométrica (HIEMENZ & RAJAGOPALAN, 1997). A distribuição de tamanho das partículas está apresentada na FIG.27. Observou-se que as partículas de cúrcuma com material de parede 5% goma e 25% maltodextrina (C5.25) e as partículas de hibisco com 30% de maltodextrina (H0.30) apresentaram partículas com tamanhos semelhantes e mais homogêneas. Observou-se uma ampla distribuição de tamanho entre as partículas. A distribuição do tamanho de partícula deve ser o mais estreito possível a fim de manter a homogeneidade do produto (SCHAFFAZICK et al., 2013).

A distribuição do tamanho de partículas auxilia no entendimento do comportamento das micropartículas, relacionando com o seu material de parede, além de inferir sobre as características de manuseio e fluidez, bem como a estabilidade e a liberação controlada do conteúdo (AGUIAR et al., 2017).

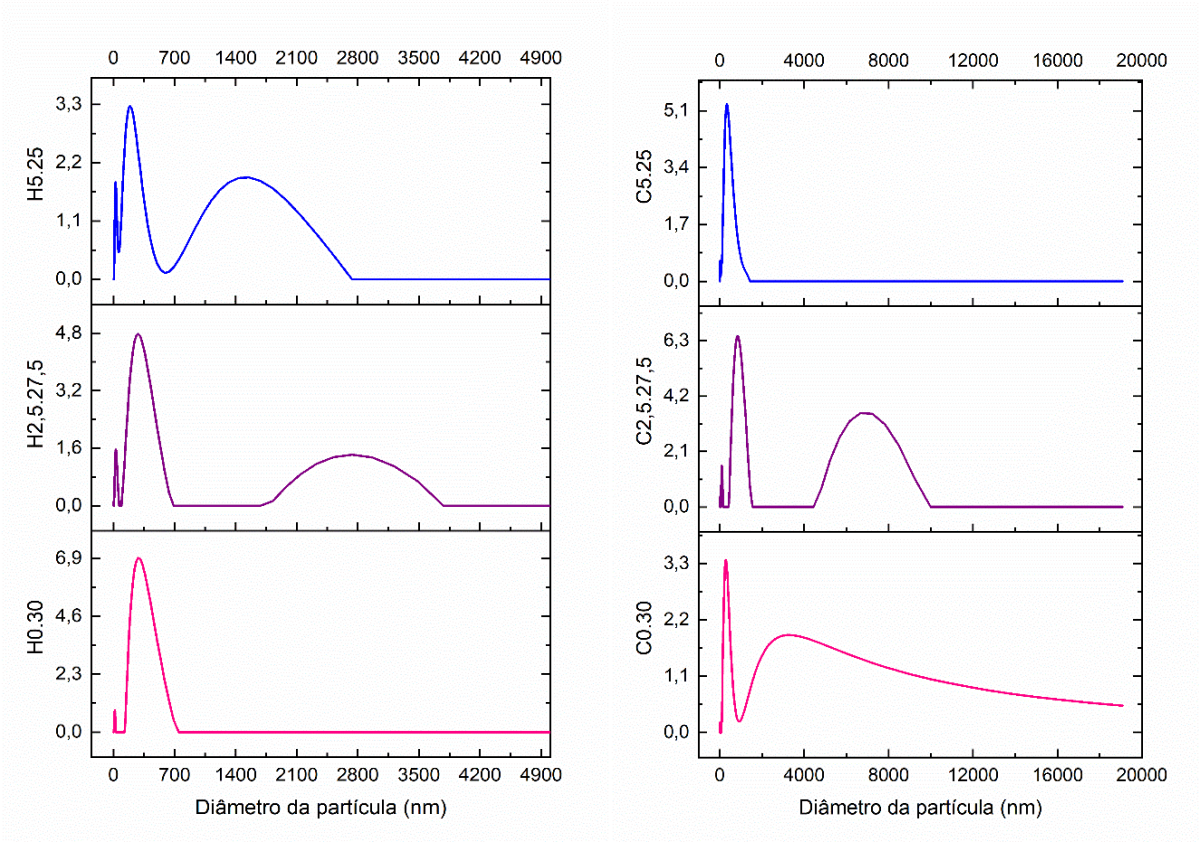


FIGURA 27. Distribuição de tamanho por espalhamento de luz dinâminco (DLS) das partículas resultantes das formulações P1, P2 e P3 de hibisco e cúrcuma.

5.2.2 Análise colorimétrica das partículas

Na TAB.26 estão inseridos os resultados obtidos dos parâmetros de cor das partículas encapsuladas com diferentes materiais de parede. O parâmetro L* referente a luminosidade variou entre 81.3 e 83.7 dos pós encapsulados com hibisco em diferentes proporções de material de parede.

O parâmetro a* indica coordenada vermelho/verde (+a indica vermelho e –a indica verde), esse parâmetro pode ser interpretado como um indicativo de descoloração por degradação de antocianinas (JIMÉNEZ-AGUILAR et al., 2011). Partículas encapsuladas com maltodextrina 30%, apresentaram valores de todos os parâmetros de cor (L, a*, b*, C) mais alto que em relação as outras partículas, sendo o parâmetro a* o mais importante devido a cor das antocianinas presentes nos extratos de hibisco. Algumas pesquisas mostram que a maltodextrina mostrou o maior efeito protetor para a estabilidade das antocianinas (HUI, 2009)

Para as partículas encapsuladas com cúrcuma o parâmetro mais relevante é o b* (+b indica amarelo e –b indica azul) devido a cor dos curcuminóides tendendo ao amarelo. A formulação P3 (5% de goma e 25% de maltodextrina) apresentou maior valor

de b* e menor a* e consequentemente maior croma (38.2). Quanto maior o croma maior a saturação das cores perceptíveis aos humanos. Cores neutras possuem baixa saturação, enquanto cores puras possuem alta saturação e, portanto, mais brilhantes na percepção humana (PATHARE et al., 2013).

Através dos resultados da leitura da cor, nota-se que, houve variação significativa ($p<0.05$) dos parâmetros.

TABELA 26. Parâmetros de cor (parâmetros físicos) obtidos das partículas encapsuladas com diferentes materiais de parede e ativo.

Formulação	PARÂMETROS DE COR				
	L*	a*	b*	C*(D65)	ΔE*
Hibisco					
P1	81.5±0.1[a]	15.2±0.1[a]	3.8±0.1a	15.6±0.1[a]	1.97
P2	81.3±0.4[a]	12.1±0.3[b]	1.8±0.5[b]	12.2±0.3[b]	1.25
P3	83.7±0.7[b]	8.8±0.8[c]	1.1±0.5[b]	8.9±0.6[c]	1.75
Cúrcuma					
P1	86.9±0.3[c]	-6.5±0.1[a]	35.7±0.4[b]	36.3±0.3[b]	4.42
P2	91.3±0.1[a]	-6.3±0.2[a]	31.7±0.1[c]	32.3±0.1[c]	4.47
P3	90.6±0.2[b]	-6.6±0.4[a]	37.7±0.2[a]	38.2±0.2[a]	5.1

Médias na mesma coluna com diferentes letras minúsculas são significativamente diferentes ($p<0.05$) de acordo com o Teste Tukey. P1= Formulação com material encapsulante com 30% de maltodextrina; P2= Formulação com material encapsulante com 2.5% de goma e 27.5% de maltodextrina; P3= Formulação com material encapsulante com 5% de goma e 25% de maltodextrina.

5.2.3 Análise da capacidade antioxidante das partículas pelo método DPPH

As amostras analisadas mostraram atividade antioxidante e os resultados foram expressos em valores de EC50, que representam a concentração que promove 50% de atividade antioxidante ou 0,5 de absorbância no ensaio do poder redutor; assim, valores mais elevados correspondem a um menor potencial antioxidante. A atividade antioxidante das amostras estudadas seguiu a ordem P2>P3>P1 para hibisco e P3>P2>P1 para cúrcuma (TAB. 27). As partículas preparadas com material de parede de 30% de maltodextrina (P1) foram incorporadas aos filmes preparados pelo método de extrusão.

TABELA 27. Avaliação da capacidade antioxidante (DPPH) das partículas

DPPH (EC50; $\mu g.mL^{-1}$) das partículas		
Formulação	**Hibisco**	**Cúrcuma**
P1	3.9 ± 0.1^{A}	3.21 ± 0.4^{B}
P2	4.23 ± 0.2^{A}	3.37 ± 0.2^{B}
P3	4.17 ± 0.1^{A}	3.70 ± 0.1^{A}

Médias na mesma coluna com diferentes letras maiúscula são significativamente diferentes ($p<0.05$) de acordo com o Teste Tukey. P1= Formulação com material encapsulante com 30% de maltodextrina; P2= Formulação com material encapsulante com 2.5% de goma e 27.5% de maltodextrina; P3= Formulação com material encapsulante com 5% de goma e 25% de maltodextrina.

5.3 Hidrogéis de amido

Os perfis dos viscogramas de RVA dos hidrogéis para o preparo dos filmes estão apresentados na FIG. 28. Observou-se que a adição de extratos antioxidantes naturais aumenta a viscosidade dos hidrogéis de amido. Isto sugere que esses agentes interagiram quimicamente com a matriz polimérica do amido. O hidrogel com a adição dos antioxidantes de cúrcuma apresentou o maior valor de viscosidade (703 cP).

As propriedades de pasta dos amidos são influenciadas pelo tamanho, rigidez, razão amilose e amilopectina e poder de inchamento dos grânulos (SINGH et al., 2007). A viscosidade de pico mede a capacidade de absorção de água do amido em termos de resistência dos grânulos intumescidos sob cisalhamento e a performance desses grânulos.

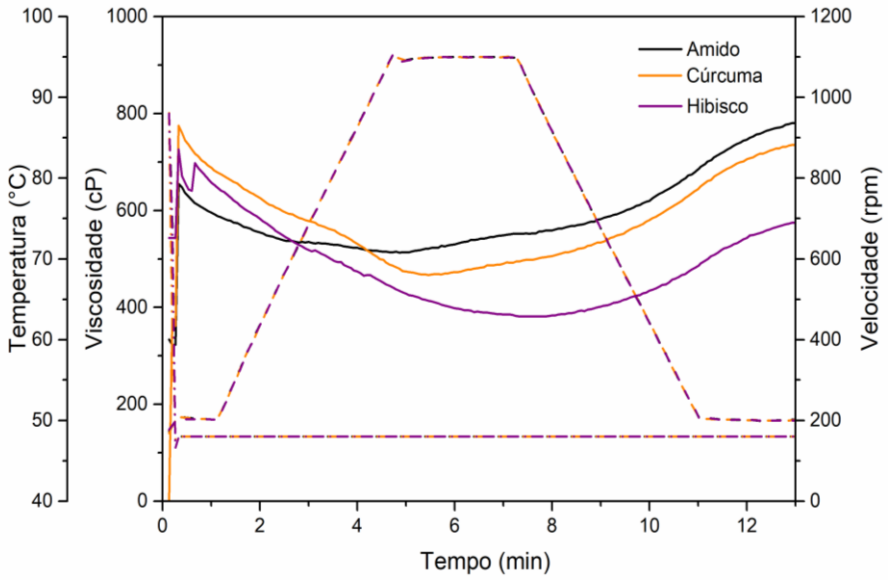


FIGURA 28. Perfil de viscosidade dos hidrogéis preparados para a formação dos filmes por *casting*.

A diferença entre os valores de viscosidade de pico e viscosidade mínima define a viscosidade de quebra (ou Breakdown), índice de estabilidade térmica do amido sob cisalhamento. Breakdown significa a quebra de viscosidade que ocorre em um gel de amido, após passar pelo ciclo de aquecimento. Após gelatinizar, a temperatura do gel é mantida constante por alguns minutos e o próprio cisalhamento da pá do analisador atuando na amostra em teste acaba por desintegrar os grânulos de amido e promover a redução (“quebra”) da viscosidade da amostra.

O valor Setback é mais comumente relacionado à tendência de retrogradação da amilose dos grânulos de amido (HUANG et al., 2010). A temperatura do gel reduz, com isso, a amilose retrograda e os grânulos de amido se reorganizam. O hidrogel com o maior

setback foi o adicionado de cúrcuma com 263 cP e o menor 203cP, para o hidrogel com a adição de hibisco. Com a adição dos extratos os géis tiveram viscosidade de pico maior e breakdown maior em comparação ao controle (TAB. 28).

TABELA 28. Propriedades dos hidrogéis

Hidrogéis	Viscosidade de pico (cP)	Viscosidade Mínima (Trough) (cP)	Breakdown (cP)	Viscosidade Final (cP)	Setback (cP)
A	532	510	22	750	240
B	682	398	284	601	203
C	703	484	219	747	263

A=Amido, B=Amido +Hibisco, C=Amido+Cúrcuma

5.4 Filmes preparados por *casting*

5.4.1 Análise visual, espessura e umidade

Os filmes de fécula de batata com hibisco e cúrcuma apresentaram-se, em geral, maleáveis, com boa aparência, ausência de fraturas e coloridos, como pode ser observado nas FIG. 29 e 30. Os filmes apesar da coloração, apresentaram transparência, indicando que este material não bloqueou totalmente a passagem de luz. Observou-se também que a irradiação modificou a coloração dos filmes, deixando-os mais claros, em função das doses.

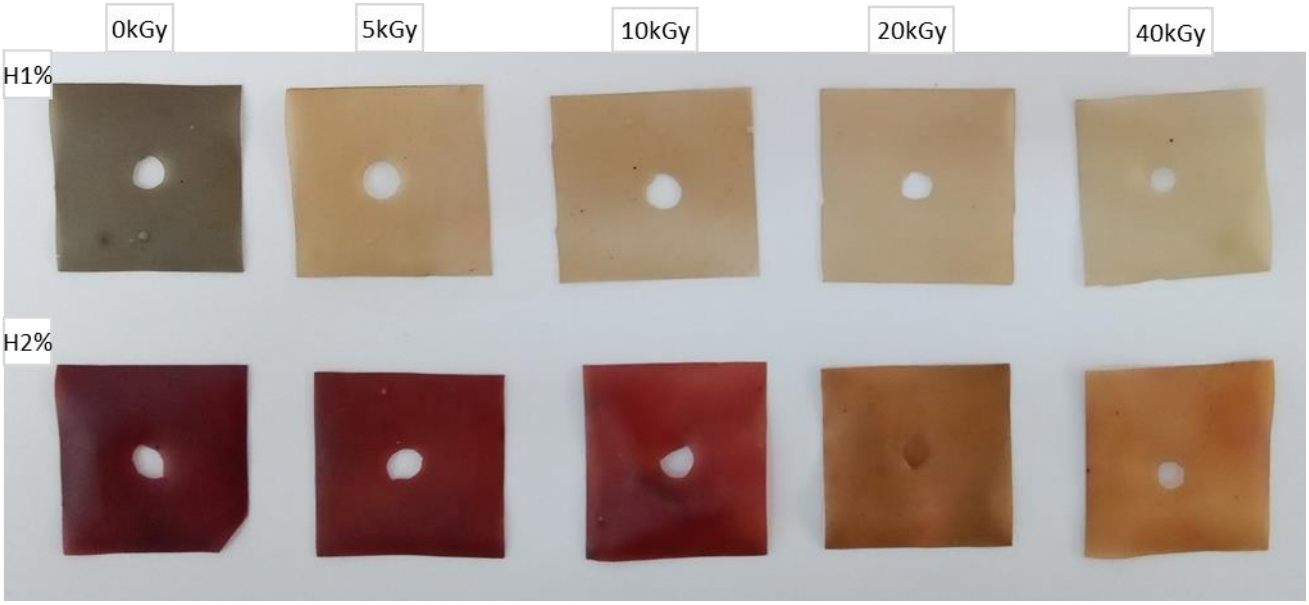


FIGURA 29. Filmes preparados com extrato de hibisco 1 e 2%, respectivamente e irradiados nas doses 0, 5, 10, 20 e 40 kGy.

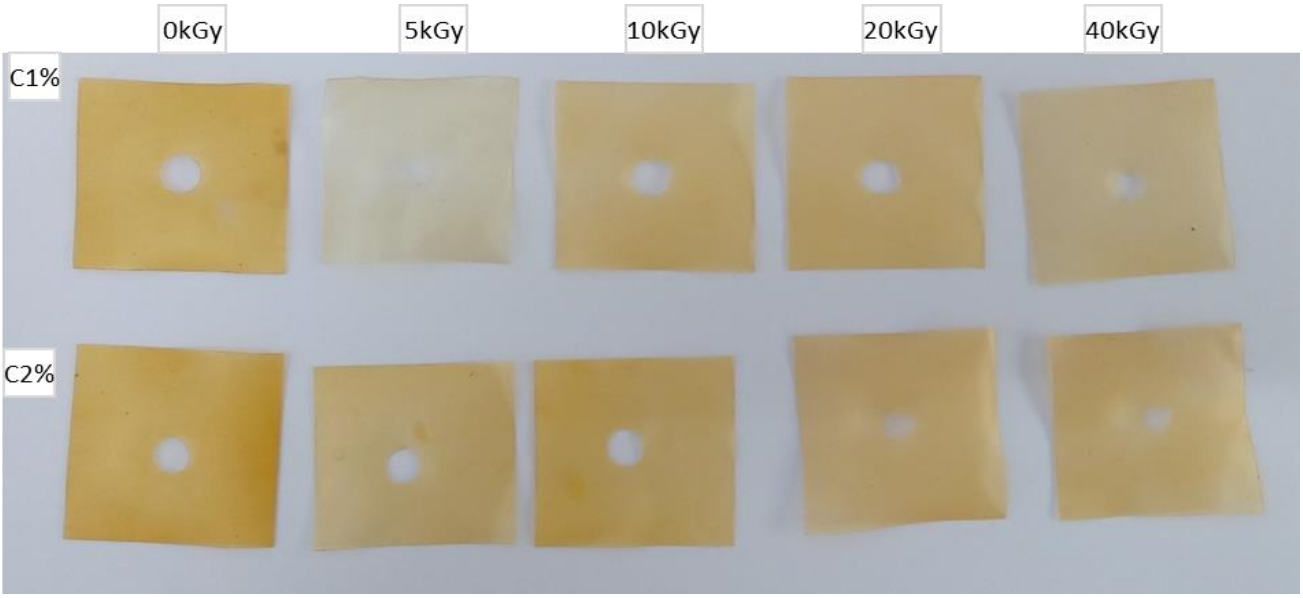


FIGURA 30. Filmes preparados com extrato de cúrcuma 1 e 2%, respectivamente e irradiados nas doses 0, 5, 10, 20 e 40 kGy.

As espessuras dos filmes elaborados por casting nas diferentes formulações variaram de 0,20 a 0,31 mm, não apresentando diferença significativa, segundo o teste de Tukey ($p < 0,05$) (TAB. 29). A incorporação das diferentes concentrações de bioativos não resultou em alteração significativa ($p \leq 0,05$) na espessura dos biofilmes.

O controle da espessura é importante para a uniformidade dos filmes, para a repetitividade das medidas das propriedades e validação das comparações entre as propriedades dos filmes. Variações na espessura de um material podem afetar suas propriedades mecânicas e de barreira, comprometendo o desempenho da embalagem (SARANTÓPOULOS, 2002; OLIVEIRA et al.,1996). É um parâmetro que influência as propriedades dos filmes (CUG et al., 1996a).

Os resultados da análise de umidade para as formulações de filmes elaborados por casting estão apresentados na TAB.29.

TABELA 29. Espessura e Umidade dos filmes de hibisco e cúrcuma preparados por *casting* e irradiados

Filme	0kGy	5kGy	10kGy	20kGy	40kGy
			Espessura (mm)		
FA	0.26±0.01[a]	0.25±0.01[a]	0.25±0.01[a]	0.23±0.01[a]	0.31±0.01[b]
FH1%	0.25±0.01[a]	0.24±0.01[a]	0.23±0.01[a]	0.23±0.01[a]	0.22±0.01[a]
FH2%	0.24±0.02[a]	0.26±0.01[a]	0.23±0.02[a]	0.23±0.01[a]	0.24±0.01[a]
FC1%	0.22±0.02[a]	0.22±0.01[a]	0.24±0.02[a]	0.23±0.01[a]	0.25±0.01[a]
FC2%	0.24±0.02[a]	0.2±0.01[a]	0.2±0.01[a]	0.21±0.01[a]	0.21±0.01[a]
			Umidade (%)		
FA	35.8±0.01[b]	37.7±0.01[a]	29.9±0.01[c]	37.8±0.01[a]	37.7±0.01[a]
FH1%	36.5±0.01[a]	36.9±0.04[a]	35.9±0.01[b]	34.9±0.01[c]	36.6±0.01[a]
FH2%	31.4±0.01[a]	28.7±0.01[b]	30.5±0.07[a]	31.1±0.01[a]	30.7±0.05[a]
FC1%	38.9±0.03[a]	39.7±0.01[a]	39.7±0.01[a]	40.6±0.05[a]	40.3±0.04[a]
FC2%	38±0.01[d]	39.1±0.02[c]	39.4±0.01[c]	40.1±0.01[b]	42.3±0.01[a]

Médias na mesma linha com diferentes letras minúsculas são significativamente diferentes ($p<0.05$) de acordo com o Teste Tukey. FA=Filme de amido; FH1%=Filme de amido preparado com solução de hibisco a 1%; FH2%= Filme de amido preparado com solução de hibisco a 2%; FC1%= Filme de amido preparado com solução de cúrcuma a 1%, FC2%= Filme de amido preparado com solução de cúrcuma a 2%.

Segundo Mali et al. (2004), a interação entre os aditivos incorporados e o tipo de plastificante utilizado pode influenciar no aumento ou redução da umidade dos filmes de amido. A formulação que apresentou maior porcentagem de umidade foi com cúrcuma 2%, variando de 42.3% 40kGy a 38% com 0kGy.

5.4.2 Fração solúvel em água e capacidade de absorção de água (CAA)

A FIG. 31 apresenta a solubilidade dos filmes irradiados. Os filmes de amido de batata tenderam a aumentar a sua solubilidade com o aumento da dose de irradiação, de 24.3% (0kGy) a 32.4% (40kGy). Wang et al. (2007), estudando filmes de amido de batata adicionados de glicerol de 1:2 (glicerol/ amido), encontraram valores semelhantes de solubilidade, ou seja, 31.7% ao utilizar 2% de amido na solução filmogênica e 31.8% ao utilizar 3% de amido.

A adição de plastificante, em particular o glicerol, tem uma grande influência sobre a solubilidade de filmes de amido, devido ao seu caráter hidrofílico. O glicerol interage fortemente com água adicionando-a facilmente à rede do filme através de pontes de hidrogênio. O glicerol interage também com a rede filme aumentando o espaço livre entre as cadeias, aumentando assim a entrada da água no filme e, consequentemente, a solubilidade (MEBYAR & HAN, 2004; GARCIA et al., 2006, ZANG & HAN, 2006).

O hibisco por ser uma molécula hidrofílica apresentando maior afinidade pela água, com isso os filmes compostos por maior quantidade de hibisco tenderam a apresentar maior solubilização. Na dose de 20 kGy na amostra de hibisco 2%, observou-se tendência a diminuição da solubilidade e assim procede com a dose de 40kGy, podendo indicar que a irradiação modificou a solubilidade dos filmes nas doses acima de 20kGy.

A irradiação diminui as ligações de hidrogênio entre as cadeias e aumenta as ligações de hidrogênio com a água, tendendo a aumentar a solubilidade (LIU et al., 2012), isso foi observado até a dose de 20kGy. Com os filmes adicionados de cúrcuma em especial a 1%, as amostras tenderam a aumentar a solubilidade com o aumento da dose.

A fração solúvel em água dos filmes é importante em situações em que estes serão consumidos com um produto aquecido antes do consumo e pode ser um fator determinante da biodegradabilidade dos filmes, quando utilizados como material de embalagem envoltório. A partir dos resultados observou-se que os filmes de amidos com a adição dos antioxidantes possuem uma tendência a aumentar a solubilidade.

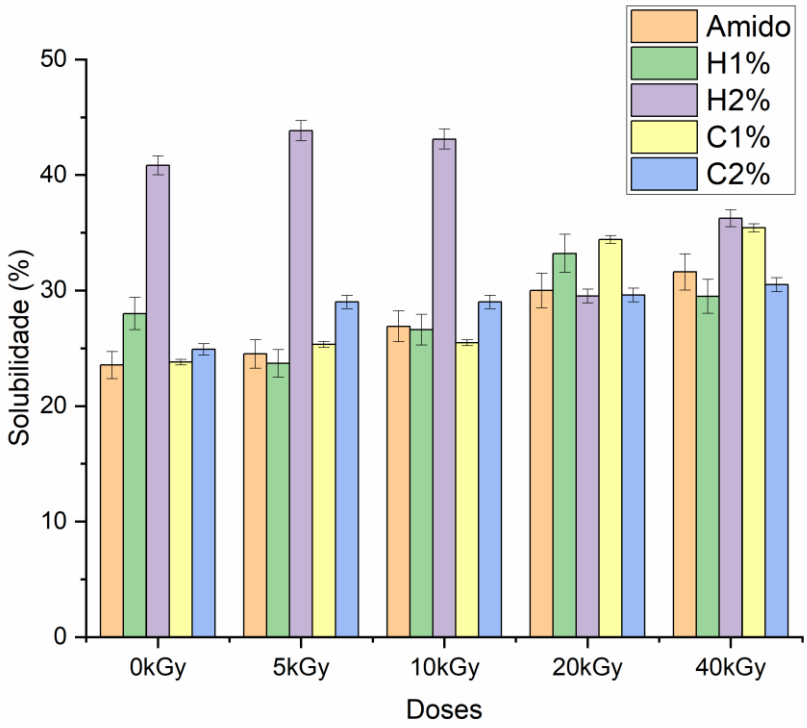


FIGURA 31. Solubilidade em água dos filmes de amido e adicionados de hibisco e cúrcuma (1 e 2%) por *casting.*

A solubilidade desejada para um filme está diretamente ligada ao destino de sua aplicação, portanto os filmes incorporados de cúrcuma poderiam atuar como proteção de alimentos com alta atividade de água, visto que suas solubilidades são mais baixas em relação aos filmes adicionados de hibisco.

O valor de solubilidade desejado no desenvolvimento de filmes irá depender de sua aplicação ou uso previsto. Assim, filmes com alta solubilidade são interessantes para produtos desidratados que devam ser hidratados antes do consumo (MONTERREY-QUINTERO, 1998) e filmes com baixa solubilidade são requeridos quando sua finalidade é fornecer ao produto barreira ao vapor de água (TANADA-PALMU & GROSSO, 2003).

A medida da solubilidade pode estar associada à compatibilidade aditivo-polímero, e pode ajudar a prever a integridade da matriz com um aditivo dentro de um polímero sistema (YOSHIDA et al., 2014).

A FIG.32 apresenta a capacidade de absorção de água dos filmes de amido adicionados de hibisco 1 e 2% irradiados. Para os filmes de amido, observou-se tendência no aumento da absorção de água entre as doses irradiadas. Com a adição de 1% de

solução de hibisco, as doses não diferiram em relação ao filme de amido, mas com o aumento da dose de irradiação a absorção de água diminuiu significativamente.

Já os filmes com 2% de hibisco observam-se uma tendência a aumentar a absorção de água nas doses até 20 kGy em relação aos filmes de amido e adicionados com 1% de hibisco, diminuindo para a dose de 40 kGy.

O aumento também pode estar relacionado a solubilidade do extrato, o extrato por ser solúvel em água (hidrofílico) apresenta absorção maior com o aumento da concentração, ou seja, a sua concentração interferiu nos resultados, assim como interação com a radiação.

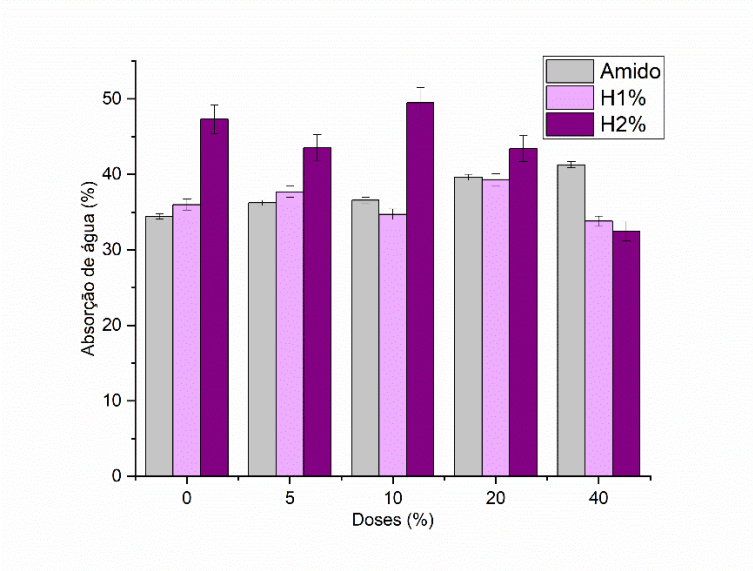


FIGURA 32. Capacidade de absorção de água dos filmes adicionados de hibisco.

A FIG. 33, apresenta os dados da capacidade de absorção de água dos filmes adicionados de cúrcuma a 1 e 2%. Os filmes adicionados de cúrcuma 2% apresentaram capacidade de absorção de água crescente em função das doses de irradiação, sendo maior para a dose de 40kGy.

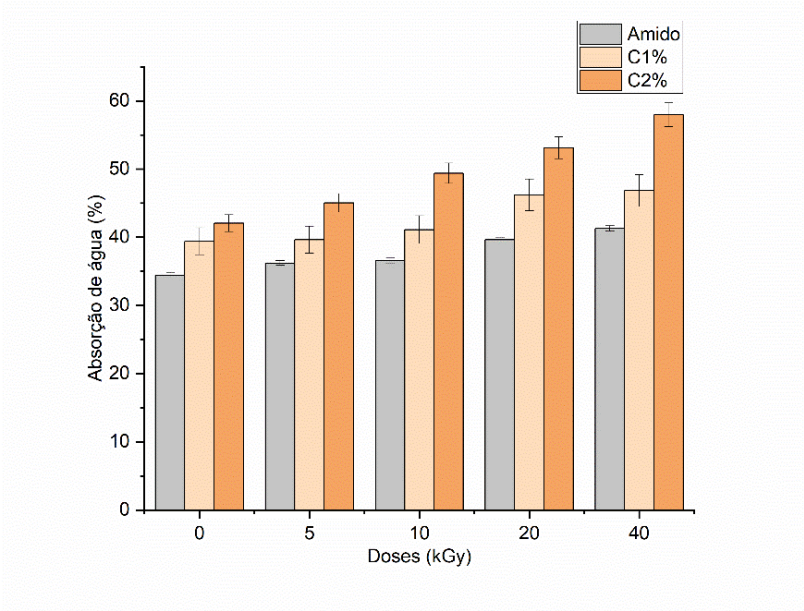


FIGURA 33. Capacidade de absorção de água dos filmes adicionados de cúrcuma (1 e 2%).

5.4.3 Taxa de Permeabilidade ao oxigênio (TP'O_2) para os filmes de amido e adicionados de hibisco (1%) e cúrcuma (1%)

Os resultados da taxa de permeabilidade ao oxigênio (P'O_2) dos filmes com as amostras controle (0kGy) e 40kGy estão mostrados na FIG. 34. A taxa de permeabilidade ao oxigênio tem por definição, um fluxo permeante que passa através de uma área do material, devido à diferença da pressão parcial do permeante entre as superfícies (MOREIRA, 2007). O oxigênio para permear tem que abrir espaço entre a matriz, pois é um vapor mais apolar, necessita de maior volume livre entre as cadeias e menor densidade coesiva.

Para todos os filmes não houve diferença significativo entre as doses de 0 e 40kGy. No entanto, observou-se uma diferença com os filmes adicionados com os extratos. Com a adição de hibisco o coeficiente de permeabilidade ao oxigênio foi menor do que o adicionado de cúrcuma, devido ao extrato ser hidrofílico, já a cúrcuma por ser hidrofóbico apresentou maior coeficiente de permeabilidade ao oxigênio.

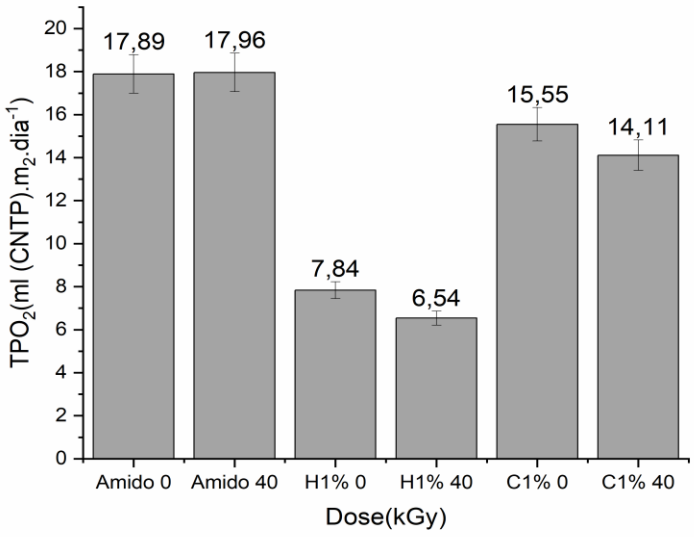


FIGURA 34. Coeficiente de permeabilidade ao oxigênio dos filmes de amido e adicionados de hibisco (1%) e cúrcuma (1%) irradiados com doses de 0 e 40 kGy.

5.4.4 Propriedades mecânicas: resistência à perfuração (força de ruptura)

A resistência à perfuração dos filmes está apresentada na FIG.35. De acordo com os dados contidos no gráfico, verifica-se que há diferença significativa entre os filmes irradiados e não irradiados, apontando que o processo de irradiação interferiu na resistência dos filmes. Os filmes preparados de amido apresentaram-se menos resistentes com o aumento da dose de irradiação 40kGy. Os filmes de amido, 0kGy (controle), apresentaram maior valor de resistência à perfuração, ou seja, apresentando um filme mais rígido.

Com a adição extratos antioxidantes aparentemente levou a diminuição da força de ruptura necessária para romper o filme. Esse resultado pode ser atribuído a predominância de cisão induzida por radiação no lugar de reticulação. Com o aumento da concentração de antioxidante os filmes tendem a apresentar maior sensibilidade ao processo de irradiação, concordando com Stevens (1990), que relata que as ligações cruzadas conferem aos materiais propriedades elastoméricas, sendo que quanto mais as cadeias forem ramificadas, mais rígido é o material.

Com o aumento da proporção da quantidade de antioxidante de hibisco dos filmes notou-se redução gradual da força necessária para romper os filmes. A maior hidrofilicidade dos filmes com hibisco pode ter implicado nas suas propriedades mecânicas, pois exerceu efeito menor na sua resistência mecânica (PELISSARI et al., 2013b; SOBRAL et al., 2001).

Os filmes adicionados de cúrcuma observam-se uma variação entre as doses com a adição de diferentes proporções de aditivos. A adição dos antioxidantes afetou a resistência a perfuração nas condições aplicadas.

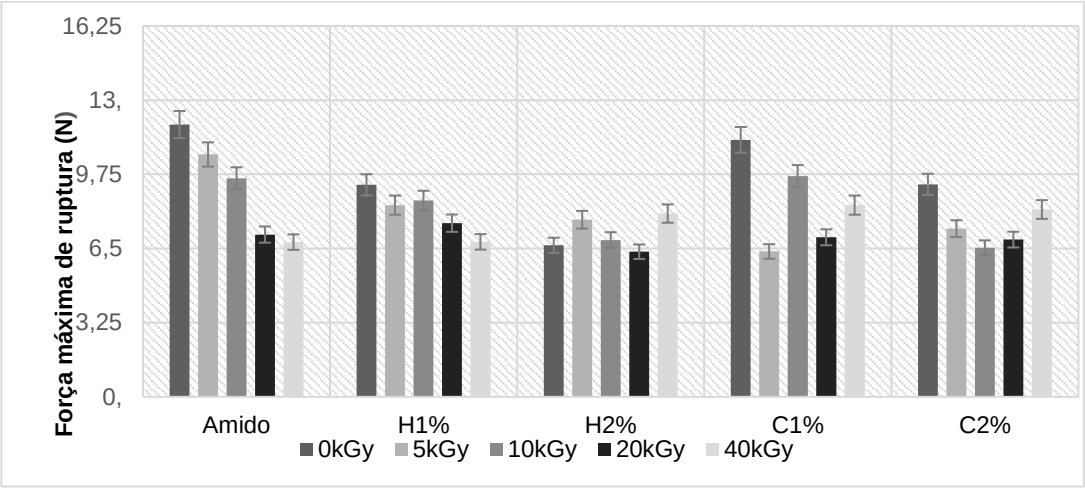


FIGURA 35. Força máxima de ruptura dos filmes de amido e adicionados de hibisco (1 e 2%) e cúrcuma (1 e 2%) irradiados preparados por *casting.*

Embora a incorporação de compostos bioativos possa modificar as propriedades de barreira dos filmes, ela oferece vantagens adicionais, tais como proteção contra a oxidação lipídica (JIMÉNEZ et al., 2013). Além disso, a incorporação de certos tipos de compostos ativos nesses filmes pode aumentar ou diminuir suas propriedades mecânicas dependendo de como eles interagem com a rede de biopolímeros.

Micard et al. (2000) relataram que filmes de glúten irradiados com gama aumentaram resistência à tração e alongamento diminuído a 10 kGy, enquanto doses de irradiação (20 e 40 kGy) reduziram o efeito observado.

5.4.5 Análise termogravimétrica (TG)

A determinação das propriedades térmicas das embalagens permite estudar as alterações estruturais provocadas por variações da temperatura. As análises de TG foram utilizadas para avaliar a estabilidade térmica dos fimes controle e irradiados.

As curvas termogravimétricas dos filmes de amido irradiado estão apresentadas na FIG. 36. Os termogramas apresentam três fases de perda de massa: a primeira é devido à perda de água; a segunda está relacionada à degradação dos biopolímeros, e a terceira etapa é atribuída à degradação de resíduos carbonáceos.

O primeiro estágio de degradação presente nos filmes de amido, está em um intervalo aproximado entre 50 e 150 °C, onde ocorreu a vaporização da água retida nas amostras. Essa perda de massa não foi significativa ($p \leq 0,05$) entre as doses irradiadas de 0 e 40 kGy.

O segundo estágio de degradação dos materiais foi observado no intervalo de temperaturas aproximadas de 150 a 350°C, com perda de massa nesse intervalo de 65% para o filme de amido 0 kGy e aproximadamente 72% para o filme irradiado a 40 kGy. Esse estágio pode representar a despolimerização e degradação das cadeias de carbono dentro da matriz de amido e conversão termoquímica do amido (GAZONATO et al., 2019). Temperaturas próximas de 300°C está relacionado à eliminação dos grupos poli-hidroxila, acompanhada da despolimerização, onde ocorre a degradação térmica da amilose e amilopectina, e a volatilização do glicerol utilizado como plastificante, cujo ponto de ebulição é de cerca de 290°C (AGGARWAL & DOLLIMORE, 2002).

No terceiro estágio de degradação com temperatura de 350 a 500°C foi observado uma perda de massa de 8% para a dose controle e 2% para a irradiada.

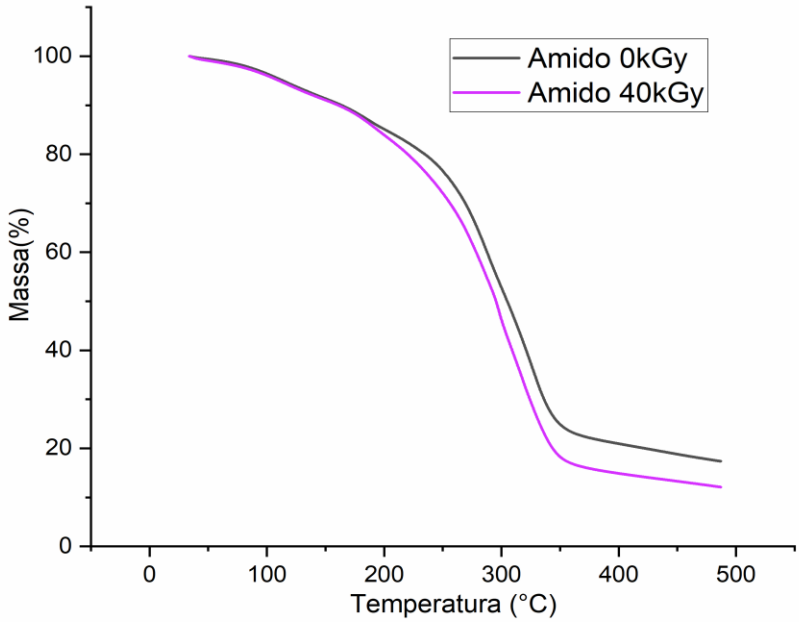


FIGURA 36. Curvas termogravimétricas dos filmes de amido nas doses 0 e 40 kGy.

A degradação térmica dos filmes controle seguiu o padrão descrito na literatura típico de filmes de amido plastificados com glicerol (GARCÍA et al., 2009). Uma pequena perda de peso (cerca de 15%) entre 50 e 200 °C foi atribuído à perda de água. Em

temperaturas superiores a 255 °C ocorre a oxidação do material parcialmente decomposto dos filmes.

Os filmes adicionados com hibisco a 1 e 2%, irradiados nas doses 0 e 40 kGy estão apresentados na FIG. 37. Para as doses controle e 40 kGy, não se observou perda de massa significativa ($p \leq 0,05$), indicando que o processo de irradiação não ocasionou diferença térmica em relação ao filme controle adicionados de hibisco.

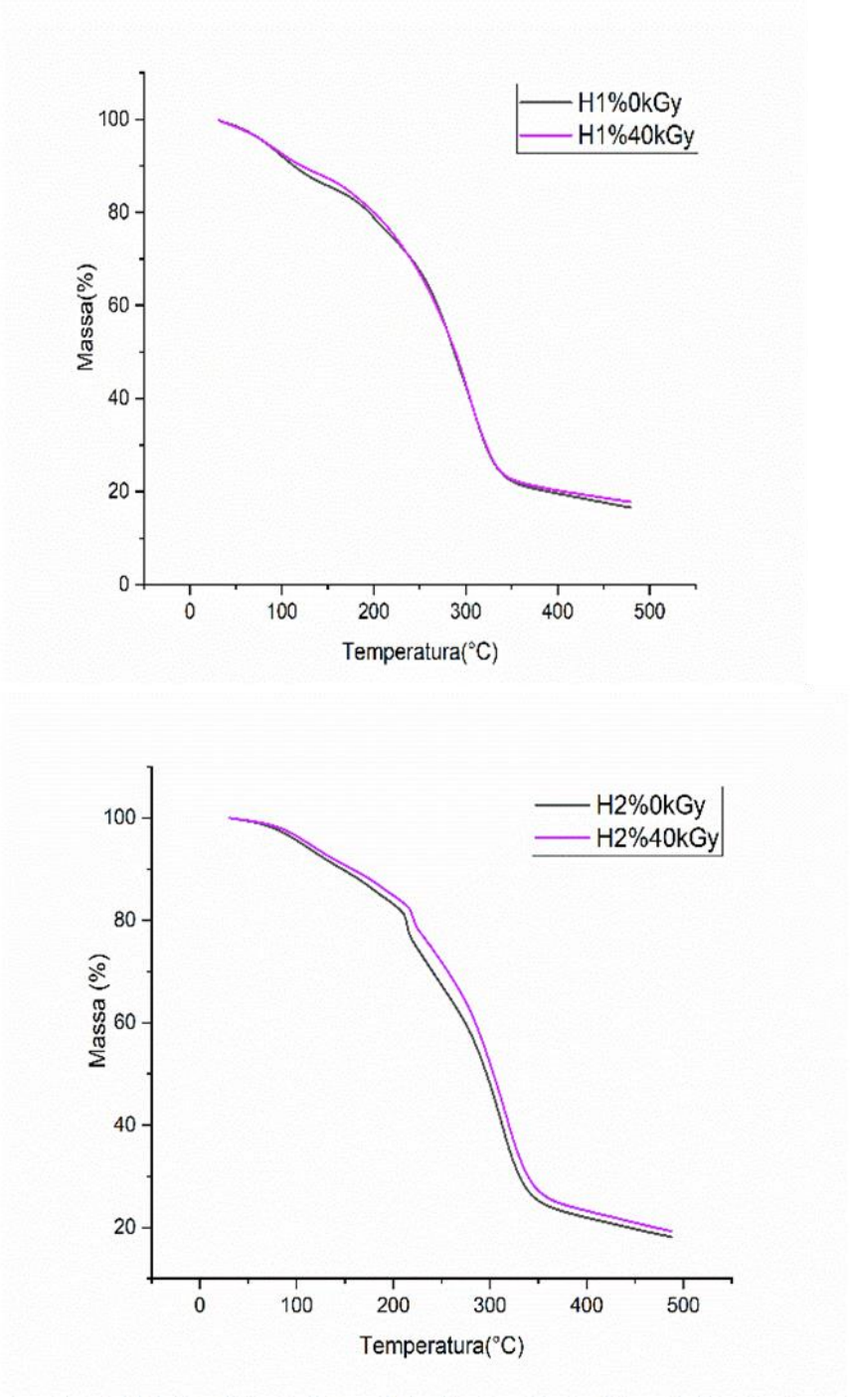


FIGURA 37. Curvas termogravimétricas dos filmes de amido adicionados de hibisco (1 e 2%), respectivamente, irradiados com doses de 0 e 40 kGy.

Os termogramas adicionados de cúrcuma estão mostrados na FIG.38. Os termogramas também apresentaram as 3 fases de degradação e observou-se que com o aumento da concentração de cúrcuma no filme, a perda de massa aparentemente foi mais rápida, ou seja, com uma temperatura menor para degradar o filme.

A degradação térmica da curcumina foi localizada entre 200 e 450°C. Os eventos de perda de massa entre 150 e 300 °C podem ser atribuídos à decomposição de constituintes bioativos (CORDEIRO et al., 2013). Filmes com dose de 40 kGy a 2% apresentaram degradação mais rápida do que o controle.

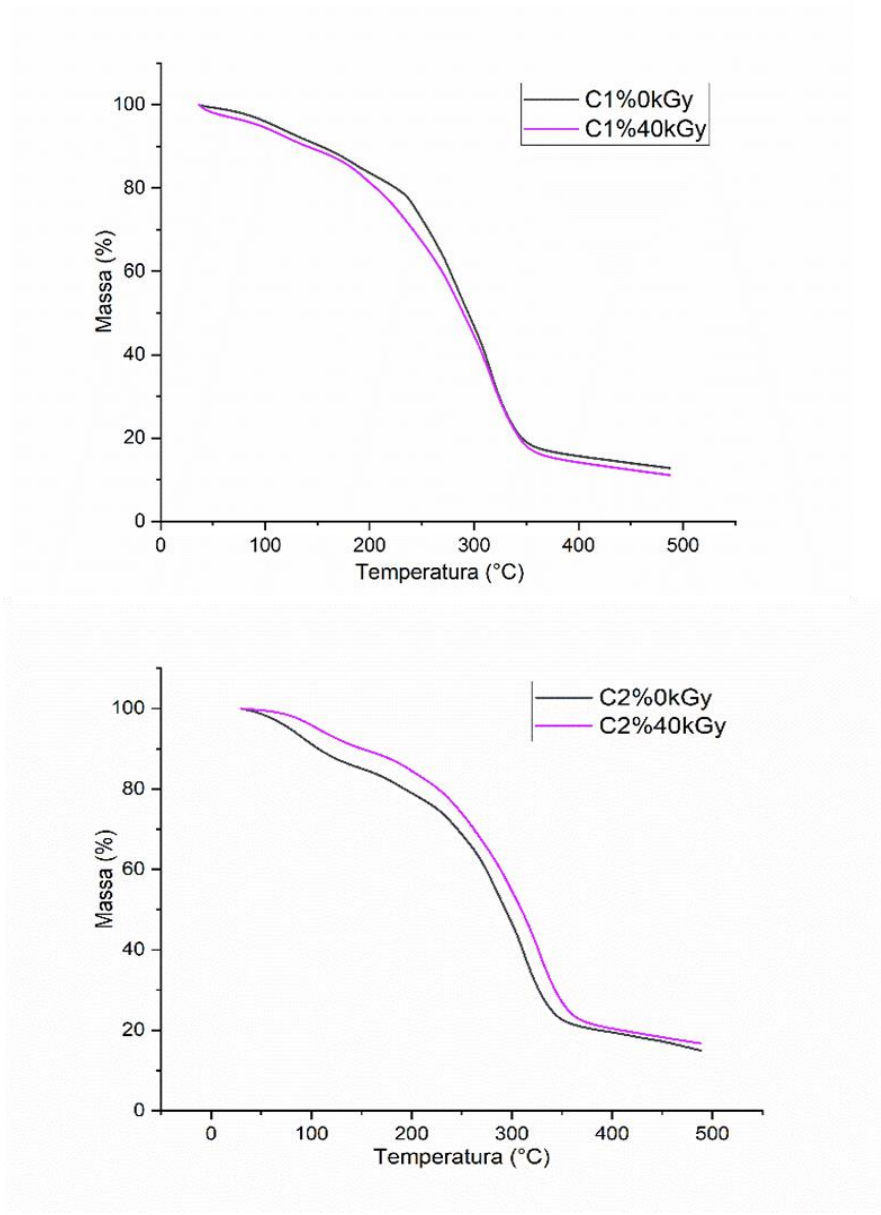


FIGURA 38. Curvas termogravimétricas dos filmes de amido adicionados de cúrcuma (1 e 2%), respectivamente, irradiados com doses de 0 e 40 kGy.

5.4.6 Análise de espectroscopia no infravermelho com transformada Fourier (FTIR)

Análises de espectroscopia no infravermelho foram usadas para estudar as interações entre o filme com o antioxidante e a irradiação. Espectros relativos à análise são mostrados nas FIG. 39 a 41. Os espectros de FTIR dos amidos, apresentaram pequenas variações em suas intensidades, indicando que o processo de irradiação para os filmes de amido não alterou os picos de absorção dos filmes irradiados com dose de 40kGy.

A primeira banda com pico arredondado e base larga em 3300 cm^{-1} pode ser atribuída à presença de grupos hidroxila ou correspondente a deformação axial O–H (OH et al., 2005). A banda em 2900 cm^{-1} pode ser atribuída ao estiramento da ligação C-H (simétricos e assimétricos de CH_2) e estar associada principalmente a presença de celulose, proteínas e lignina (ABIDI et al., 2010).

De acordo com Kizil et al. (2002) a intensidade das bandas entre 2900 e 2800 cm^{-1} pode estar relacionada também às variações na quantidade de amilose e amilopectina presentes nos amidos, pois um menor teor de amilose resulta numa maior intensidade dessas bandas, valores dentro dos encontrados neste trabalho.

O ombro em 1150 cm^{-1} pode ser consequência do alongamento das ligações C-O e C-C presente nas moléculas de amido (KACURAKOVA et al., 2000). A banda muito intensa em 1000 cm^{-1} e pequena em 810 cm^{-1} é típica dos carboidratos e está relacionada às deformações C-OH e CH_2 das moléculas de amidos (KIZIL et al., 2002), conforme observado na FIG.39.

A banda em 1620 cm^{-1} observada nos amidos pode ser atribuída ao estiramento da ligação C = O (FABIAN & SCHULTZ, 2000). Esta banda pode também ser consequência das vibrações das moléculas de água que estão absorvidas na região amorfa do material (KIZIL et al., 2002). O ombro em 1150 cm^{-1} pode ser consequência do alongamento das ligações C-O e C-C presente nas moléculas de amido (KACURAKOVA et al., 2000). A banda muito intensa em 1000 cm^{-1} e pequena em 810 cm^{-1} é típica dos carboidratos e está relacionada às deformações C-OH e CH_2 das moléculas de amidos (KIZIL et al., 2002).

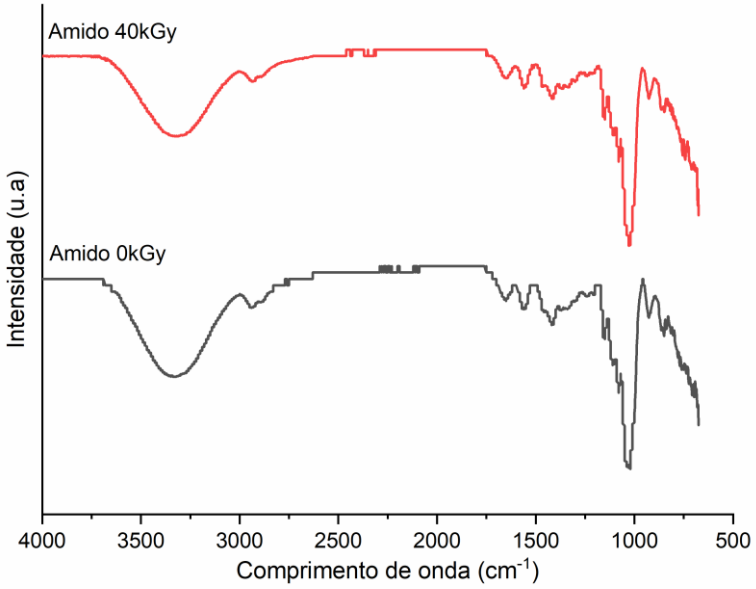


FIGURA 39. Espectros no infravermelho com transformada Fourier de filmes de amido irradiados nas doses 0 e 40 kGy.

Na FIG. 40, está apresentado os espectros dos filmes adicionados de hibisco irradiados com doses de 0 e 40 kGy. Algumas diferenças notáveis foram observadas na intensidade e posição nas bandas entre 1700 e 1300 cm^{-1} (atribuído ao grupo CO e NH). Isso mostra algumas modificações nas interações entre as cadeias poliméricas induzidas pela irradiação e os compostos do hibisco. Essa alteração observou-se tanto na concentração de 1% da solução de hibisco quanto na de 2%.

Os picos relatados nestes intervalos correspondem ao anel aromático presente na estrutura química dos compostos fenólicos, por se tratar de hibisco, pode estar relacionado a presença de antocianinas dentro da matriz polimérica.

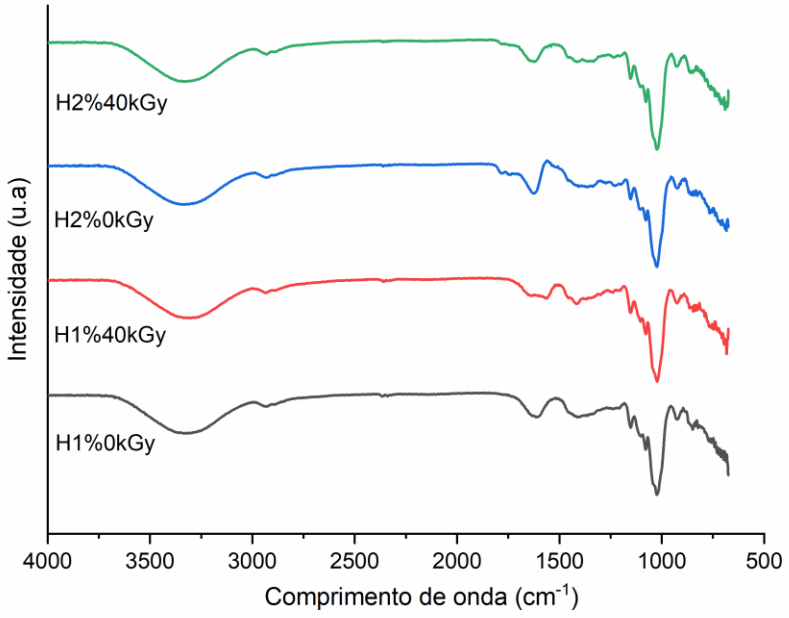


FIGURA 40. Espectros no infravermelho com transformada Fourier dos filmes adicionados de hibisco (1 e 2%), irradiados com doses de 0 e 40 kGy.

Na FIG. 41, estão apresentados os espectros dos filmes adicionados com solução de cúrcuma. Observou-se uma pequena alteração na intensidade da banda 1300 a 1700 cm^{-1} na amostra C2% 40kGy. A banda em 1620 cm^{-1} pode também ser associada à mistura de alongamento das ligações C=C e C=O encontradas em curcuminóides (MOHAN et al., 2012). As amostras com C1% não se observou alteração nas bandas dos filmes irradiados e não irradiados.

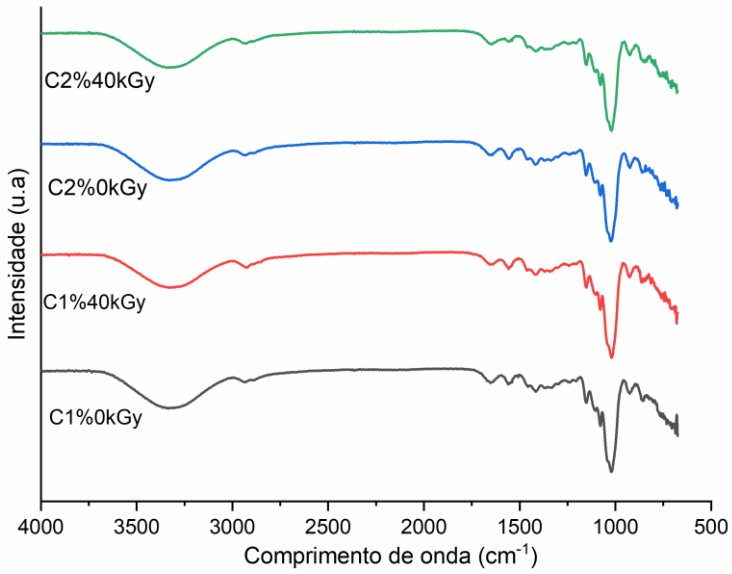


FIGURA 41. Espectros no infravermelho com transformada Fourier dos filmes adicionados de cúrcuma (1 e 2%), irradiados com doses de 0 e 40 kGy.

5.4.7 Espectroscopia RAMAN

Os espectros dos filmes de amido 0 e 40 kGy estão apresentados na FIG.42. Na região de 1200 a 1400 cm^{-1} para os filmes de amido 0 e 40kGy, observou-se pequena diminuição da intensidade dos picos na dose de 40kGy. Podendo indicar que a irradiação pode ter causado deformação nas ligações HCH e CH_2OH.

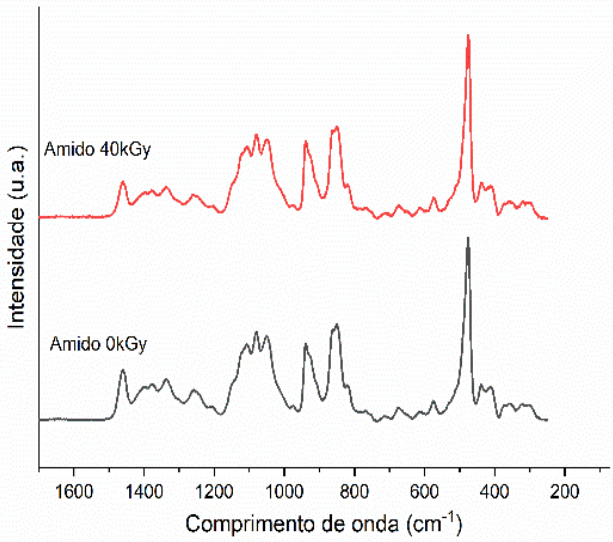


FIGURA 42. Espectro Raman dos filmes de amido 0 e 40 kGy.

Para carboidratos define-se regiões espectrais em função de modos vibracionais específicos (BARRON et al., 2000; MROZEK & WEAVER, 2002; THYGESEN et al., 2003; GELDER et al., 2007). Na TAB.30, está apresentado as principais regiões espectrais encontradas em carboidratos e que também foram encontradas nos filmes de amido.

TABELA 30. Regiões espectrais encontradas em carboidratos

Região espectral (cm^{-1})	**Modo vibracional**
<500	Região da molécula contendo deformações endocíclicas
500-700	Região da molécula contendo deformações exocíclicas
700-950	Deformações de grupos laterais COH, CCH e OCH contendo "impressão digital" e estiramentos de ligações C-C
950-1200	Estiramento de ligações C-O, com contribuições de ligações C-C
1200-1500	Deformações de ligações HCH e CH_2OH

Fonte: GELDER et al., 2007.

Houve a identificação das bandas nos espectros dos filmes amidos em todas as regiões descritas acima. Na região espectral de 700 a 950 cm^{-1} está associado a deformações de grupos laterais COH, CCH e OCH contendo "impressão digital" com possíveis estiramentos de ligações C-C. Essa "impressão digital", segundo Thygesen et al. (2003), está relacionado a ligações do tipo α (1-4).

Na FIG.43 estão apresentados os espectros dos filmes adicionados de cúrcuma (1 e 2%) nas doses controle e 40 kGy. Na banda entre 1200 e 1400 cm^{-1}, observa-se uma alteração no espectro. Para a formulação de C1% de 0 e 40kGy, também se observa alterações nessa região, assim como na formulação de C0,5%, podendo indicar alterações de estiramento de ligações C-O, C-C e deformações de ligações HCH e CH_2OH, isso devido a ao aumento da concentração da cúrcuma. Em relação as doses irradiadas e não irradiadas não se observaram diferença nos espectros.

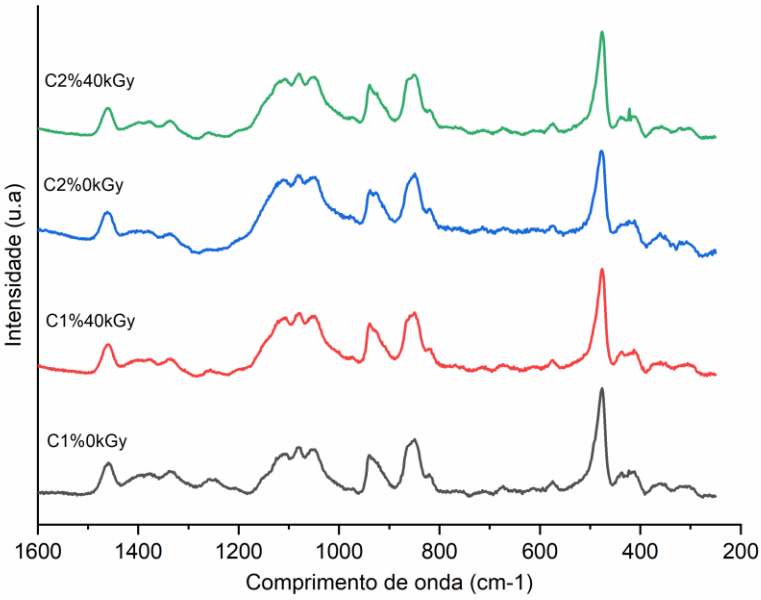


FIGURA 43. Espectro Raman de filmes adicionados de cúrcuma (1 e 2%), irradiados com doses 0 e 40 kGy.

Os espectros dos filmes adicionados de extratos de hibisco não foram possíveis analisar devido a intensidade da cor dos filmes e a interação do laser do equipamento.

5.4.8 Propriedades ópticas dos filmes

Resultados dos testes colorimétricos apresentados na TAB. 31, indicam que as alterações de cor dos filmes estão relacionadas às doses de radiação. As amostras apresentaram pequeno aumento da luminosidade (L*) com a dose aplicada.

O parâmetro -*a**(cor verde-azulado) diminuiu com o aumento da dose em todas as amostras. Para o parâmetro +*b** (cor amarela) houve aumento para os filmes de amido e os adicionados com hibisco, com o aumento da dose. Nos filmes de hibisco houve aumento significativo ($p \leq 0,05$) do parâmetro +b*, isso provavelmente se deve a degradação das antocianinas presentes nos filmes com o aumento da dose de irradiação.

No entanto, os filmes com a adição de cúrcuma houve redução do valor de +*b**, os filmes adicionados de cúrcuma apresentaram intensa coloração laranja-amarelada que pode ser atribuída à presença de curcuminóides que apresentam esta cor característica (BRAGA et al., 2006; KOWSALYA & KRISHNAVENI, 2011; WAKTE et al., 2011). Quanto maior a porcentagem de curcuminóides na formulação maior valor de b* e quanto maior a dose de irradiação observou-se uma ligeira diminuição do valor de b*, podendo indicar que a irradiação promoveu a oxidação dos pigmentos.

O aumento do valor do croma para os filmes de amido e adicionados de hibisco se reflete no aspecto amarelado dos filmes, causando efeito contrário nos filmes adicionados de cúrcuma devido a degradação com a radiação dos compostos presentes nos extratos incorporados nos filmes.

Em relação a diferença de cor (ΔE), que leva em consideração todos os parâmetros de cor (L*, a*, b*), nota-se que o filme de cúrcuma 2% 0kGy apresentou o maior valor de ΔE do que os outros.

TABELA 31. Parâmetros de cor dos filmes de amido por *casting.*

	Parâmetros de Cor				
FILMES	**L***	**a***	**b***	**C***	**ΔE**
FA0kGy	94.4±0.4^{A}	0.1±0.02^{A}	3.6±0.2^{A}	3.6±0.2^{A}	1.21
FA5kGy	95±0.5^{A}	0.1±0.02^{A}	3.3±0.4^{A}	3.2±0.3^{A}	1.27
FA10kGy	94.7±0.2^{A}	0.1±0.02^{A}	3.5±0.2^{A}	3.5±0.15^{A}	1.3
FA20kGy	95.5±0.4^{A}	0.04±0.01^{B}	3.2±0.3^{A}	3.2±0.3^{A}	1.45
FA40kGy	94.8±0.5^{A}	-0.09±0.02^{C}	4.3±0.6^{A}	4.3±0.4^{B}	1.52
FH1%0kGy	69.3±0.6^{A}	6.6±0.4^{A}	8.5±0.2^{A}	10.7±0.2^{A}	6.5
FH1%5kGy	70.8±0.6^{B}	-0.4±0.2^{B}	17.5±0.6^{B}	17.7±0.5^{B}	2.3
FH1%10kGy	71±3^{AB}	-0.5±0.3^{B}	18.3±1.8^{B}	18.3±1.6^{B}	2.82
FH1%20kGy	78±3^{C}	-0.75±0.2^{B}	17.2±2^{B}	17.2±1.4^{B}	1.5
FH1%40kGy	79.3±1^{C}	-1±0.06^{C}	17.5±0.7^{B}	17.5±0.5^{B}	1
FH2%0kGy	29.92±3^{A}	33.2±5^{A}	12.2±2^{A}	35.3±5^{A}	4.6
FH2%5kGy	34.2±2^{A}	32.8±0.4^{A}	16.4±1.3^{B}	36.7±0.7^{A}	3.5
FH2%10kGy	34.9±1^{A}	34.6±1.3^{A}	17.6±1.5^{B}	39±1.35^{A}	3.2
FH2%20kGy	50±3^{B}	18±1.5^{B}	30.5±1.4^{C}	35.5±0.7^{A}	1.37
FH2%40kGy	62.6±0.7^{C}	15.2±0.3^{B}	35.1±0.5^{C}	38.3±0.3^{A}	4.1
FC1%0kGy	84±0.6^{A}	0.25±0.4^{A}	51.8±1.6^{A}	51.8±1.3^{A}	6.27
FC1%5kGy	92.6±1.3^{B}	-3.2±0.4^{B}	19.4±3.5^{B}	19.6±2.4^{B}	3.5
FC1%10kGy	88.6±1.1^{C}	-2.7±0.3^{B}	40.3±2.9^{C}	40.4±2^{C}	5.43
FC1%20kGy	90±0.6^{C}	-3±0,1^{B}	37.7±2.2^{C}	37.8±1.5^{C}	5.3
FC1%40kGy	91±0.4^{B}	-4±0.1^{B}	29.5±1.1^{D}	29.7±0.8^{D}	4.45
FC2%0kGy	81.3±2^{A}	2.95±1.6^{A}	55±1.5^{A}	55±1.3^{A}	6.5
FC2%5kGy	87±0.9^{B}	-2.2±0.3^{B}	42.8±3.8^{B}	42.8±3.4^{B}	5.5
FC2%10kGy	87.5±0.8^{B}	-3.2±0.2^{C}	46.3±5^{B}	46.4±3.6^{B}	5.8
FC2%20kGy	87.8±0.6^{B}	-1.4±0.3^{B}	41.2±1.2^{B}	41.2±0.7^{B}	5.5
FC2%40kGy	87.6±1^{B}	-1.7±0.5^{B}	38.7±1.2^{C}	39±0.8^{B}	5.3

Médias na mesma coluna com diferentes letras maiúscula são significativamente diferentes ($p<0.05$) de acordo com o Teste Tukey. FA=Filme de amido, FH1%= Filme de amido com hibisco 1%; FH2%= Filme de amido com hibisco 2%; FC1%= Filme de amido com cúrcuma 1%; FC2%= Filme de amido com cúrcuma 2%.

5.4.9 Análise antioxidante dos filmes pelo método DPPH

Os filmes de amidos ativos incorporados com hibisco e cúrcuma tenderam a diminuir a sua atividade com o aumento da dose de radiação (TAB. 32). De maneira similar ao presente estudo, Bitencourt (2013) encontrou em filmes de gelatina com extrato etanólico de cúrcuma, que a capacidade antioxidante dos filmes aumentou significativamente em função do aumento da concentração do extrato incorporado nos filmes, encontrando o valor de 80% de atividade antioxidante, relacionada ao sequestro do radical DPPH, para o filme de maior concentração desse extrato (200g de extrato/ 100g de gelatina).

Maniglia et al. (2015) avaliaram a atividade antioxidante do filme otimizado de cúrcuma e encontrou a porcentagem de atividade antioxidante referente ao sequestro do radical DPPH em torno de 46%, valor este que difere dos valores encontrados neste trabalho devido ao mesmo motivo explicado acima para o teor de curcuminóides totais.

TABELA 32. Atividade antioxidante dos filmes de amido pelo método DPPH

	DPPH (EC50; µg/mL)				
Filme	**0kGy**	**5kGy**	**10kGy**	**20kGy**	**40kGy**
FH1%	6.63±0.62^{e}	8.63±0.31^{d}	10.9±0.24^{c}	14±0.22^{b}	17.2±0.81^{a}
FH2%	0.41±0.12^{d}	0.64±0.33^{b}	0.67±0.14^{b}	0.79±0.25^{c}	3±0.32^{a}
FC1%	16.62±0.36^{e}	17.17±0.22^{d}	18.02±0.17^{b}	17.93±0.36^{c}	19.95±0.21^{a}
FC2%	7.88±0.13^{d}	9.45±0.35^{c}	11.72±0.24^{b}	14.8±0.37^{a}	15±0.38^{a}

Médias na mesma linha com diferentes letras minúsculas são significativamente diferentes ($p<0.05$) de acordo com o Teste Tukey. FH1%= Filme de amido com hibisco 1%; FH2%= Filme de amido com hibisco 2%; FC1%= Filme de amido com cúrcuma 1%; FC2%= Filme de amido com cúrcuma 2%.

5.4.10 Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)

Nas FIG. 44 e 45 estão apresentadas imagens de MEV da superfície dos filmes de amido e incorporados com os extratos bioativos, irradiados com 0 e 40kGy, com aumento de 500x. É possível observar uma superfície lisa, porém com a presença de partículas ou grânulos, o que pode estar indicando que a gelatinização do amido não ocorreu homogeneamente. Aparentemente não há diferenças nas micrografias dos filmes irradiados e não irradiados.

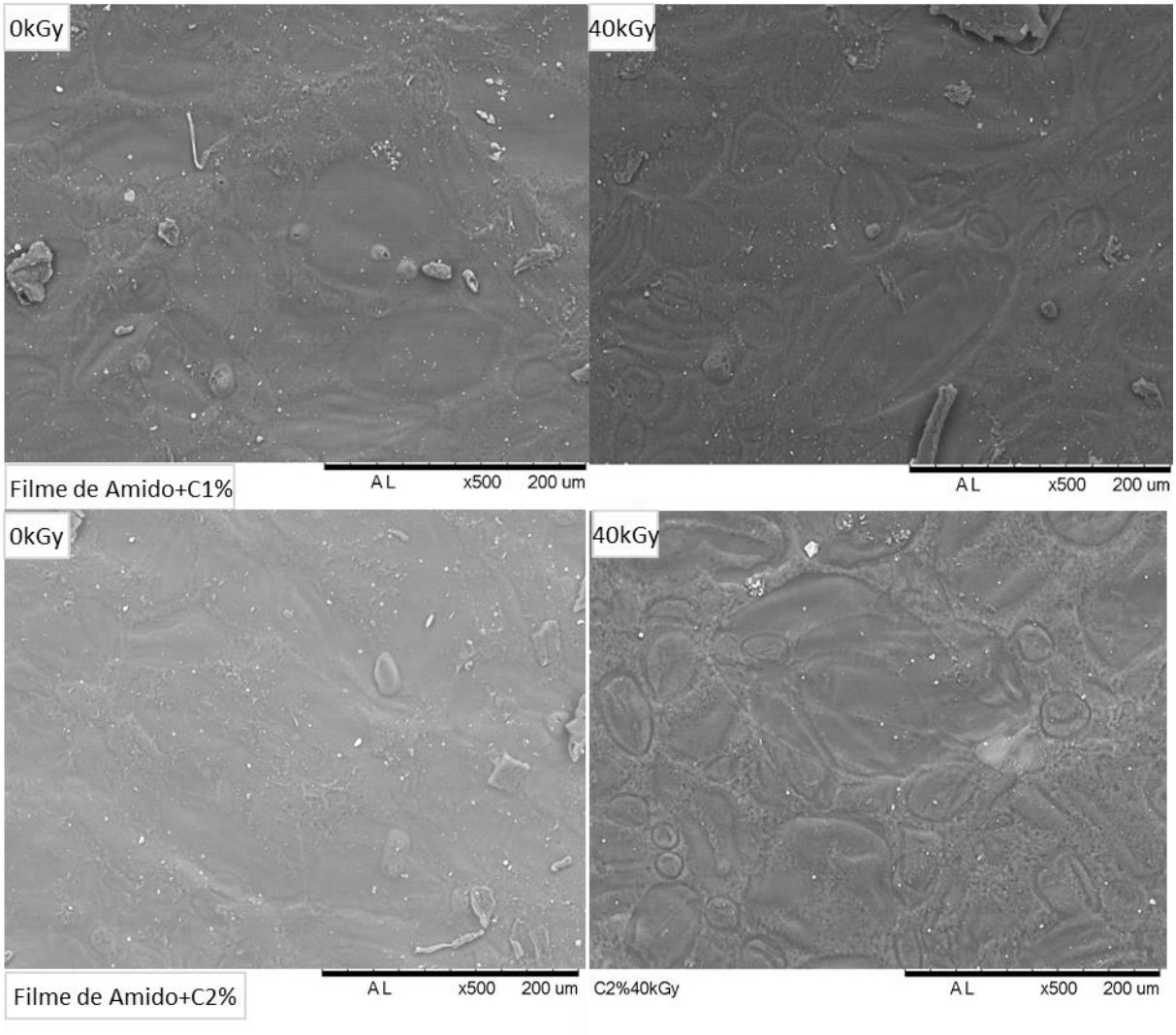


FIGURA 44. Micrografias obtidas por microscopia eletrônica de varredura dos filmes de amido adiconados de extratos de cúrcuma (1 e 2%) nas doses irradiadas de 0 e 40 kGy.

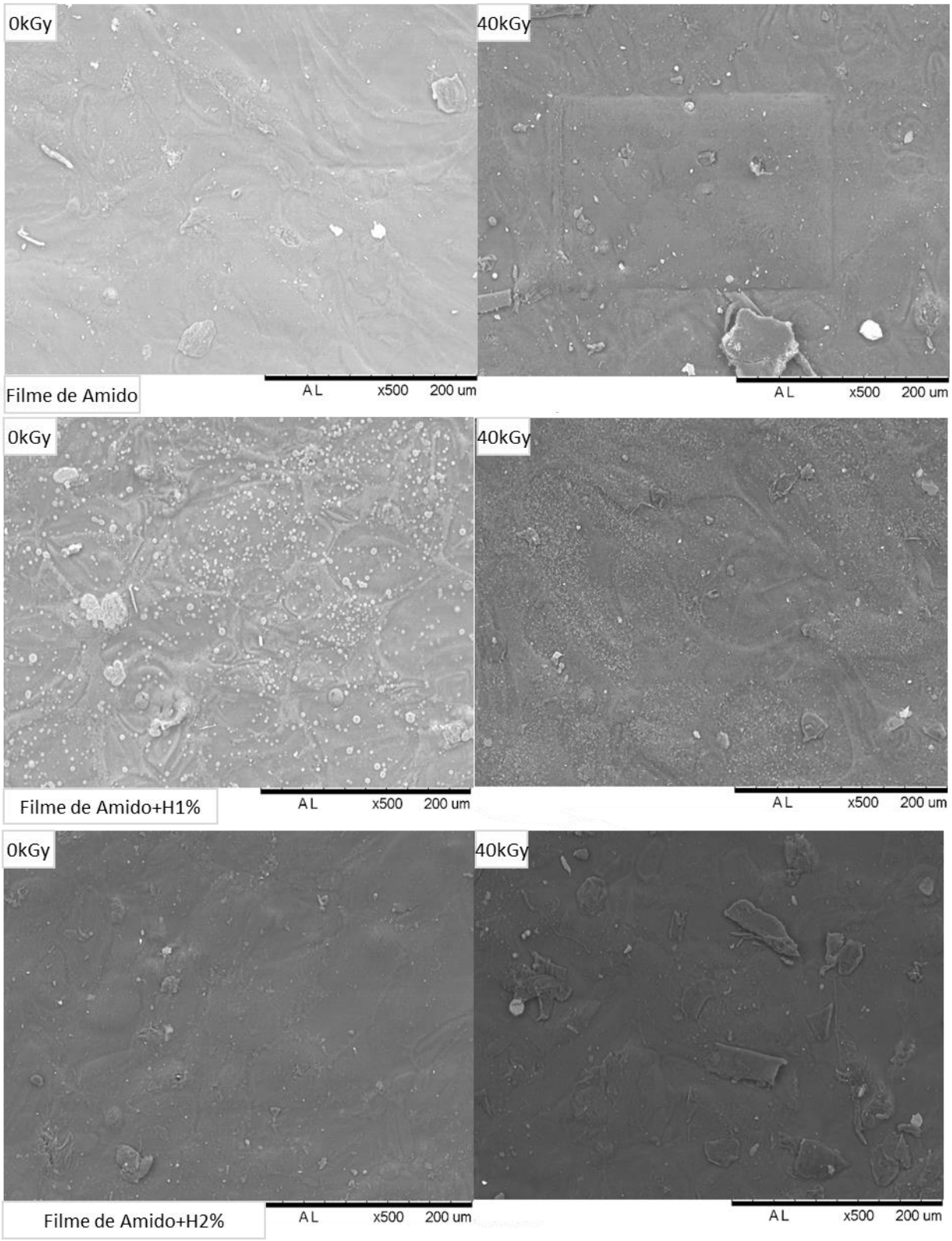


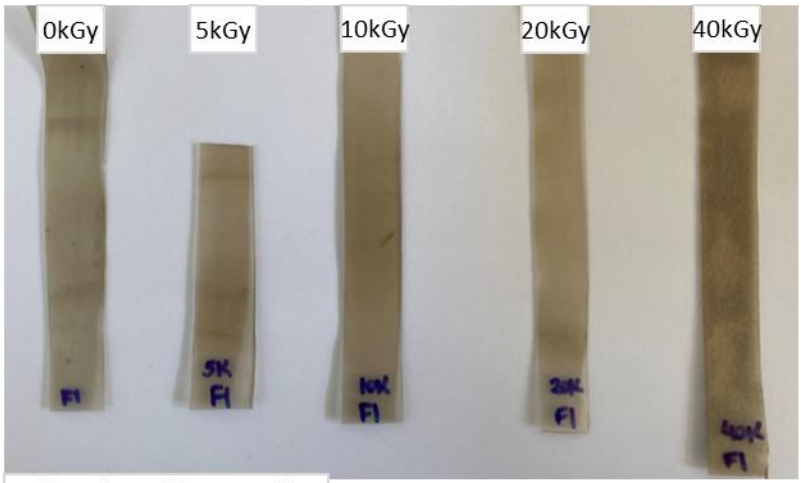
FIGURA 45. Micrografias obtidas por microscopia eletrônica de varredura dos filmes de amido adicionados de extrato de hibisco (1 e 2%) irradiados nas doses 0 e 40 kGy.

5.5 Filmes de amido, e adicionados com partículas de hibisco (1 e 2%) e partículas de cúrcuma (1 e 2%) preparados por extrusão

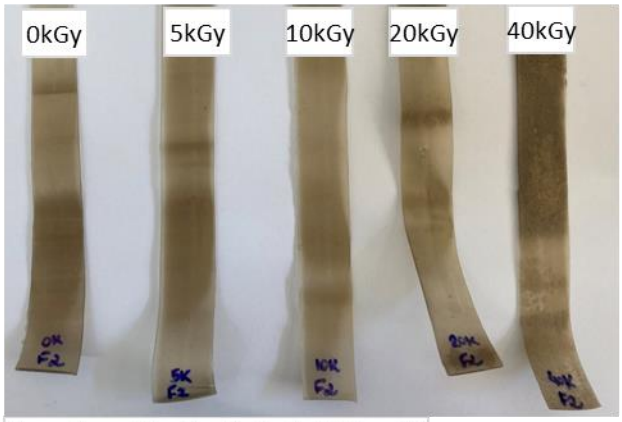
Os filmes preparados por extrusão foram processados a uma maior temperatura que os obtidos por casting ou modelagem, o que pode ter provocado maior degradação do amido e dos compostos bioativos presentes nas formulações (FIG. 45). Os filmes apresentaram grande diferença visual dos filmes preparados por *casting*. Os materiais obtidos diferem em suas propriedades físicas daquelas obtidas por *casting* (OCHOA-YEPES et al., 2019), isso se deve por meio de um processo contínuo que emprega baixa quantidade de água, alta temperatura e forças de cisalhamento para gelatinizar o grânulo pelo método de extrusão (JI et al., 2017). A extrusão implica na energia térmica e mecânica (ALAM et al., 2016, GHANBARZADEH & ALMASI, 2013). No decorrer desse processo, o amido foi submetido a pressões relativamente altas, calor e forças de cisalhamemto mecânico que produziram múltiplas reações químicas e reações físicas e estrutura cristalina dos grânulos de amido é destruído. Na presença de um plastificante, a estrutura granular do amido é rompida e convertida em um amido termoplástico (GRAAF et al., 2003, KRUISKAMP et al., 2001), como verificado neste trabalho.

O processo tecnológico utilizado para a fabricação de filmes biodegradáveis pode interferir na estabilidade dos compostos bioativos, uma vez que os filmes foram produzidos pela técnica de extrusão, no qual as amostras atingem altas temperaturas (CARPES et al., 2021). Assim, espera-se a degradação de compostos bioativos e provavelmente há uma redução das propriedades antioxidantes. No entanto, o processo de extrusão é uma tecnologia industrial, sendo a mesma utilizada pela indústria para produzir plásticos com polímeros de baixa densidade (CORRE PACHECO et al., 2020).

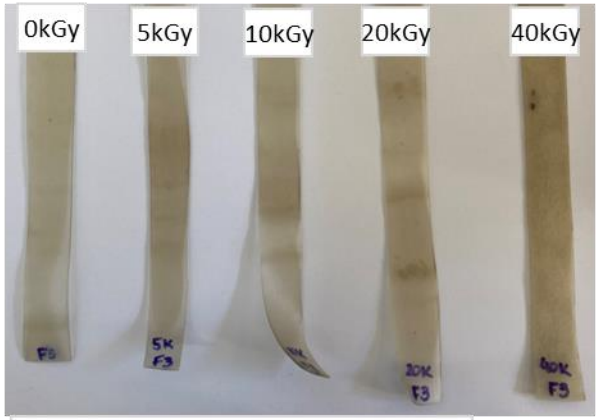
A espessura dos materiais de embalagem influencia as propriedades de cor, mecânica e barreira. Vários fatores afetam a espessura do filme, incluindo seu método de preparo, matéria prima e suas propriedades, como densidade, viscosidade, superfície de tensão e a presença de nanopartículas. Normalmente, os filmes devem ter espessura de 0.25-0.35 mm dependendo da sua aplicação. A espessura dos filmes preparados por extrusão está apresentada na TAB.33, variando de 0.27 a 0.4 mm. Estudos mostraram que a incorporação de agentes ativos geralmente aumenta a espessura do filme, o que tem sido atribuído ao aumento do teor de sólidos totais no sistema (LEE et al., 2019, MA et al., 2016).



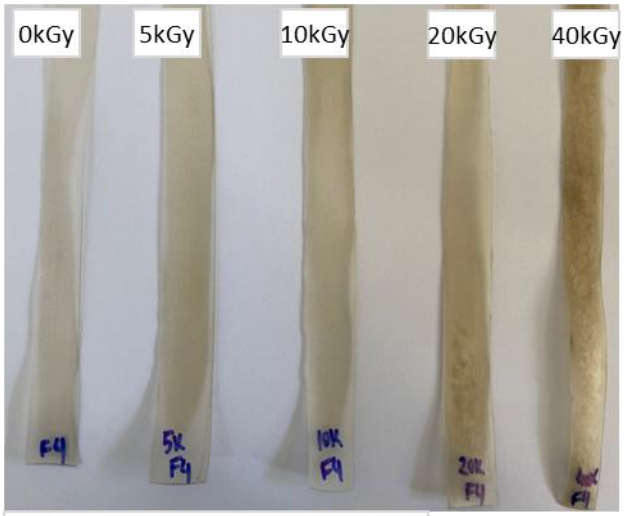
Filme de Amido -Extrusão



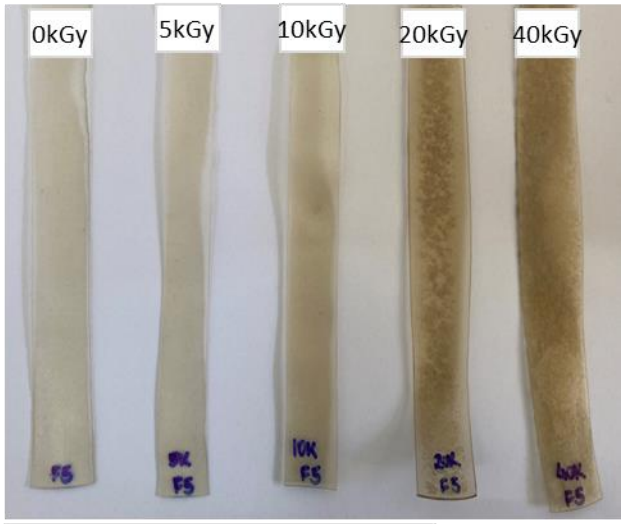
Filme de amido+Partícula de hibisco 1%



Filme de amido+Partícula de cúrcuma 1%



Filme de amido+Partícula de hibisco 2%



Filme de amido+Partícula de cúrcuma 2%

FIGURA 46. Filmes de amido, e adicionados de partículas de hibisco (1 e 2%) e partículas de cúrcuma (1 e 2%) preparados pelo método de extrusão e irradiados.

Na TAB. 33 está apresentada as propriedades físico-químicas dos filmes extrusados com a incorporação das partículas.

TABELA 33. Propriedades fisico-químicas dos filmes de amido, e adicionados de partículas de hibisco (1 e 2%) e partículas de cúrcuma (1 e 2%) extrusados e irradiados com diferentes doses

Amostra	0kGy	5kGy	10kGy	20kGy	40kGy
Espessura (mm)					
F1	0.27±0.01^{b}	0.27±0.01^{b}	0.28±0.01^{b}	0.3±0.01^{a}	0.32±0.01^{a}
F2	0.36±0.02^{b}	0.34±0.01^{c}	0.32±0.01^{d}	0.39±0.02^{a}	0.4±0.02^{a}
F3	0.33±0.04^{b}	0.37±0.02^{a}	0.33±0.02^{b}	0.35±0.02^{b}	0.38±0.01^{a}
F4	0.36±0.03^{a}	0.38±0.02^{a}	0.36±0.01^{b}	0.35±0.02^{b}	0.36±0.02^{b}
F5	0.33±0.04^{b}	0.35±0.01^{b}	0.39±0.01^{a}	0.38±0.01^{a}	0.37±0.05^{a}
Umidade (%)					
F1	19.5±0.1^{a}	8.3±0.2^{d}	11.8±0.1^{c}	25±0.1^{e}	17.3±0.1^{b}
F2	15.8±0.1^{c}	7.2±0.1^{d}	18.2±0.4^{b}	19.5±0.5^{a}	18.5±0.1^{b}
F3	14±0.4^{d}	16.6±0.1^{c}	16.3±0.2^{c}	22.7±0.1^{a}	18.7±0.3^{b}
F4	16±0.1^{c}	17.2±0.3^{b}	14.7±0.1^{d}	20±0.1^{a}	20±0.1^{a}
F5	17±0.2^{d}	18.2±0.1^{c}	19.2±0.1^{b}	16±0.1^{e}	20±0.2^{a}
Absorção de água (%)					
F1	54.4±0.1^{a}	55.1±0.1^{a}	60.6±0.2^{b}	50±0.3^{c}	43.7±0.5^{d}
F2	65.2±0.1^{a}	63.2±0.4^{b}	53.5±0.1^{c}	55±0.3^{d}	54.5±0.1^{d}
F3	54.4±0.1^{a}	55.2±0.6^{a}	57.4±0.2^{b}	58.2±0.5^{b}	40±0.1^{c}
F4	46±0.5^{a}	58.7±0.1^{b}	48.5±0.3^{c}	50±0.1^{d}	37.7±1^{e}
F5	44.2±0.1^{a}	52.1±0.8^{b}	47.2±0.1^{c}	40.5±0.1^{d}	36.7±1^{e}
DPPH (EC 50mg.mL^{-1})					
F2	-	-	-	-	-
F3	-	-	-	-	-
F4	-	-	-	-	-
F5	1.51±0.6^{a}	1.69±0.4^{a}	2±0.2^{a}	4.32±0.3^{b}	4.30±0.2^{b}

Média±desvio padrão na mesma linha com diferentes letras minúsculas são significativamente diferentes ($p<0.05$) de acordo com o Teste Tukey. F1=Filme de amido; F2=Filme de amido com adição de 1% de partícula encapsulada de hibisco; F3=Filme de amido com adição de 1% de partícula encapsulada de cúrcuma; F4= Filme de amido com adição de 2% de partícula encapsulada de hibisco; F5= Filme de amido com adição de 2% das partículas de cúrcuma.

As formulações F2, F3 e F4 não apresentaram diferença significativa de antioxidantes analisados pelo método DPPH nas formulações, apenas a formulação com a adição de 2% das partículas encapsuladas com cúrcuma, sendo a dose controle (0kGy) apresentou maior atividade antioxidante. A quantidade de antioxidante diminuiu com o aumento da dose de irradiação. No entanto, há exemplos na literatura de alta correlação positiva entre a aplicação de radiação gama e a atividade antioxidante medida pelo teste de DPPH em produtos com base de amido (MOHAMED et al., 2022).

A TAB. 34 apresenta o parâmetro de cor dos filmes obtidos por extrusão. Os valores de L tenderam a diminuir com o aumento da dose de irradiação. Os valores de a* tenderam a aumentaram gradualmente com o aumento das doses e o valor de b* diminuiu indicando que os tenderam a ficar mais amarelos. Além disso, o valor de ΔE também tendeu a aumentar, sugerindo que os filmes ficaram mais coloridos.

TABELA 34. Parâmetros de cor dos filmes extrusados

	Parâmetros de Cor				
FILMES	**L**	**a***	**b***	**C***	**ΔE**
F1 0kGy	73.6±2.8[a]	0.5±0.24[a]	17.20±1.1[a]	17.20	28.30
F1 5kGy	75.4±0.7[a]	1.5±0.2[b]	19.20±0.97[a]	19.25	28.25
F1 10kGy	77±1.4[b]	1.2±0.3[b]	18.41±1.25[a]	18.45	26.52
F1 20kGy	79±1.5[b]	0.5±0.2[a]	14.75±0.88[b]	14.75	21.86
F1 40kGy	66.5±0.6[c]	1.94±0.1[c]	15.32±0.32[b]	15.44	33.41
F2 0kGy	66.5±1.6[a]	3.3±0.3[a]	24.4±0.65[a]	24.62	38.5
F2 5kGy	69.20±3.6[a]	2.5±0.85[b]	22.3±1.8[a]	22.44	35
F2 10kGy	70.26±1.6[a]	2.75±0.35[b]	21.6±1.22[a]	21.80	33.8
F2 20kGy	71.44±3[a]	2.3±0.2[b]	19.4±0.74[b]	19.54	31.46
F2 40kGy	60±2.3[b]	3.4±0.3[a]	16.4±1.1[c]	16.75	39.88
F3 0kGy	81.2±2.2[a]	-1.20±0.1[a]	15±2.5[a]	15	21.2
F3 5kGy	79.5±2.4[a]	-0.13±0.2[b]	15.85±2.09[a]	15.85	22.95
F3 10kGy	81.42±0.6[a]	-0.42±0.1[c]	13.53±0.9[b]	13.54	19.95
F3 20kGy	78.1±4[a]	0.10±0.36[d]	14.36±2[b]	14.36	23
F3 40kGy	73±0.6[b]	0.01±0.06[e]	12.84±0.14[b]	12.85	26.5
F4 0kGy	77±1[a]	-1.20±0.24[a]	17±0.95[a]	17	25.6
F4 5kGy	84.88±1[b]	-0.27±0.05[b]	14.66±0.72[b]	14.66	18.4
F4 10kGy	87±1.35[c]	-0.25±0.1[b]	12.81±1.77[b]	12.80	15.6
F4 20kGy	85.5±3.75[b]	-0.34±0.2[c]	12.22±1.6[b]	12.23	16.2
F4 40kGy	70±2.2[c]	0.12±0.2[d]	14.32±0.5[b]	14.32	29.8
F5 0kGy	84.5±0.5[a]	-0.94±0.1[a]	18.5±0.26[a]	18.5	21.75
F5 5kGy	87±1[b]	-0.28±0.05[b]	13.22±1.15[b]	13.22	16
F5 10kGy	85.2±1[b]	-0.15±0.15[c]	15.88±1.7[b]	15.88	19.2
F5 20kGy	71.4±2[c]	0.52±0.13[d]	18±0.41[a]	18	30.6
F5 40kGy	68±0.6[c]	0.95±0.1[a]	15.82±0.52[b]	15.85	32.32

Médias na mesma coluna com diferentes letras minúsculas são significativamente diferentes ($p<0.05$) de acordo com o Teste Tukey. F1=Filme de amido; F2=Filme de amido com adição de 1% de partícula encapsulada de hibisco; F3=Filme de amido com adição de 1% de partícula encapsulada de cúrcuma; F4= Filme de amido com adição de 2% de partícula encapsulada de hibisco; F5= Filme de amido com adição de 2% das partículas de cúrcuma.

5.6 Sugestões das aplicações de filmes com base de amido contendo antioxidantes

De acordo com Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), a embalagem alimentícia é “o invólucro, recipiente ou qualquer forma de acondicionamento, removível ou não, destinada a cobrir, empacotar, envasar, proteger ou manter, especificamente ou não, matérias-primas, produtos semielaborados ou produtos acabados. Incluído dentro do conceito de embalagem se encontram as embalagens primárias, secundárias e terciárias. Assim, o principal requisito na escolha de uma formulação de embalagem é saber qual será seu uso final. Se o filme for utilizado em coberturas superficiais para manusear o produto, as propriedades principais são as mecânicas e a aparência.

Porém, se o objetivo for embalar produtos crocantes, é necessário um filme com a mais baixa permeabilidade ao vapor de água possível para evitar que o produto murche. Para alimentos suscetíveis à oxidação lipídica, à transparência deve ser evitada. Cada tipo de alimento tem necessidades específicas no que diz respeito à sua armazenagem, conservação e transporte.

Alta permeabilidade ao oxigênio é desejava para filmes utilizados no acondicionamento de carnes vermelhas frescas, pois o oxigênio é responsável pela formação da oximioglobina, pigmento que dá a cor característica do produto. Por outro lado, para alimentos ricos em lipídios, deseja-se uma embalagem com baixa permeabilidade ao oxigênio, pois ele leva à formação de radicais livres e ao desenvolvimento de ranço.

Já foi descrita a preparação de filmes sensíveis ao pH incorporando nanocápsulas de curcumina em filmes de celulose-proteína de soja e mostraram resultados promissores para o monitoramento das mudanças das propriedades no armazenamento refrigerado do camarão por exemplo, observando mudança na coloração dos filmes de amarelo brilhante para marrom avermelhado, o que foi atribuído a deterioração do camarão (XIU et al, 2021). E filmes com a incorporação de antocianinas também como indicador de pH (ROY & RHIM, 2020).

Estes filmes poderiam ser indicados para aplicação em frutos amarelos e/ou vermelhos na preservação dos bioativos presentes, além do efeito adicional como o retardo do amaducerimento e da senescência destes frutos, favorecendo a melhoria das características nutricionais e o aumento da vida útil destes alimentos. Portanto, diversas formulações podem ser elaboradas para atender usos específicos.

6 CONCLUSÃO

Com base nos resultados obtidos das extrações pôde-se concluir que:

- As propriedades bioativas dos extratos de hibisco e cúrcuma são influenciadas pela natureza do solvente de extração utilizado.
- O solvente que apresentou melhor atividade antioxidante para a extração do hibisco por micro-ondas foi o etanol 80/20 a 85°C e quando utilizado ultrassom o metanol 80/20 a 55°C. Para o teste OxHLIA, utilizando micro-ondas foi etanol 80/20 a 55°C e com ultrassom foi metanol 80/20 a 55°C.

- Para a extração da cúrcuma por micro-ondas o solvente que apresentou maior atividade antioxidante foi metanol 80/20 55°C (Teste DPPH) e para extração por ultrassom foi metanol 85°C. Para o teste de OxHLIA, extração por micro-ondas, foi etanol 80/20 a 85°C e na extração por ultrassom foi o etanol 80/ a 70°C.

- Para a atividade anti-inflamatória, o micro-ondas foi o processo de extração mais adequado e o extrato que revelou maior capacidade de inibição da produção de óxido nítrico foi o etanol 70°C. As extrações de hibisco não apresentaram atividade anti-inflamatória.
- Na atividade antibacteriana e antifúngica, todas as extrações revelaram ação contra os microrganismos patogenicos.

Com base nos resultados obtidos nas encapsulações pôde-se concluir que:

- As partículas encapsuladas com cúrcuma apresentaram maior estabilidade, com o material de parede de maltodextrina 30%. As partículas secas de hibisco não apresentaram estabilidade.

- O tamanho das partículas foi significativamente afetado na encapsulação com diferentes proporções do material de parede.

- O parâmetro relevante na colorimetria para as partículas de hibisco foi o a* e para a cúrcuma o b*, devido a coloração de seus compostos fenólicos, antocianinas e curcuminóides, respectivamente.

Com base nos resultados apresentados dos filmes de amido adicionados de hibisco e cúrcuma irradiados pôde-se concluir que:

- Com o aumento da dose de irradiação a resistência à perfuração tendeu a diminuição.
- Após o processo de irradiação os filmes ativos de hibisco apresentaram tendência a ficar mais claros.
- Os filmes de amido adicionados de hibisco e cúrcuma, nas doses controle e 40kGy não sofreram degradação térmica.
- Para a absorção de água os filmes de hibisco e cúrcuma não apresentaram comportamento uniforme em relação as doses aplicadas.
- A umidade e solubilidade dos filmes sofreram discreta variação ($p \leq 0,05$) entre as amostras não irradiadas e irradiadas.
- Nas micrografias obtidas por microscopia eletrônica de varredura dos filmes não foi observado diferença nas imagens dos filmes irradiados e controle.

A tecnologia nuclear na sua aplicação em polímeros, particularmente em polímeros naturais, continua a ser destaque dentre as aplicações benéficas da energia nuclear para o desenvolvimento de embalagens biodegradáveis. As propriedades dos filmes foram afetadas dependendo da composição das soluções filmogênicas.

Tendo em conta que os antioxidantes naturais apresentam propriedades relevantes, podemos considerar a cúrcuma e o hibisco como bons agentes bioativos que podem ser úteis na indústria de alimentos como constituintes de formulações de embalagens primárias conservadoras de alimentos.

Apesar dos filmes ativos à base de biopolímeros serem biodegradáveis e suporte de aditivos adequados, ainda são necessários estudos visando à melhora das propriedades de barreira e mecânicas da matriz polimérica.

Os resultados apresentados neste trabalho evidenciam que o desenvolvimento de filmes formulados com matriz de amido de batata e incorporados com extratos naturais antioxidantes, não só é viável como também vantajoso, podendo ser aplicados num amplo espectro de embalagens, tanto na indústria de alimentos quanto farmacêutica e cosmética, com ajustes de acordo com a especificidade do produto a ser considerado.

7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABD EL-REHIM, H.A. Characterization and possible agricultural application of polyacrylamide/sodium alginate crosslinked hydrogels prepared by ionizing radiation. ***J. Appl. Polym. Sci.***, v. 101, n. 6, p. 3572-3580, 2006.

ABIDI, N.; CABRALES, L.; HEQUET, E. Fourier transform infrared spectroscopic approach to the study of the secondary cell wall development in cotton fiber. ***Cellulose,*** v.17, n.2, p. 309-320, 2010.

ADEGOKE, G.O. Antioxidants and lipid oxidation in food - a critical appraisal. ***Journal of Food Science & Technology***, v.35, n.4, p. 283-98, 1998.

AGGARWAL, P.; DOLLIMORE, D. A thermal analysis investigation of partially hydrolyzed starch. ***Thermochimica Acta***, v. 319, n. 1–2, p. 17–25, 2002.

AGHBASHLO, M.; MOBLI, H.; MADADLOU, A.; RAFIEE, S. The correlation of wall material composition with flow characteristics and encapsulation behavior of fish oil emulsion. ***Food Research International***, v. 49, n. 1, p. 379-388, 2012.

AGUIAR, J. et al. Design of microparticles containing natural antioxidants: preparation, characterization, and controlled release studies. ***Powder Technology***, Lausanne, v. 313, p. 287–292, 2017.

AKHTAR, M. J. Antioxidant capacity and light-aging study of HPMC films functionalized with natural plant extract. ***Carbohydrate Polymers***, v. 89, p.1150– 1158, 2012.

AKHTAR, M.-J. et al. Fabrication and physicochemical characterization of HPMC films with commercial plant extract: Influence of light and film composition. ***Food Hydrocolloids***, v.31, p.420-427, 2013.

ALAM, M. S., PATHANIA, S., SHARMA. Optimization of the extrusion process for development of high fibre soybean-rice ready-to-eat snacks using carrot pomace and cauliflower trimmings. ***LWT-Food Science and Technology***, v.74, p.135-144, 2016.

ALLIANCE PROTEIN LABORATORIES, Laser Light Scattering, 2016.

ALLONAS, X.; CROUTXE'-BARGHORN, C.; BO"GL, K. W.; HELLE, N.; SCHREIBER, G.A. Ullmann's Encyclopedia Industrial of Chemistry. ***Radiation Chemistry***, v.31, p.1-31, 2012.

ALVES, V. D., MALI, S., BELÉIA, A., GROSSMANN, M. V. E. Effect of glycerol and amylose enrichment on cassava starch film properties. ***Journal of Food Engineering***, v. 78, p. 941-946, 2007.

ALVIM, I. Produção e Caracterização de Micropartículas Obtidas por Spray Drying e Coacervação Complexa e seu Uso para Alimentação de Larvas de Peixe. Tese (Doutorado) - Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2005.

ANAND, P.; THOMAS, S. G.; KUNNUMAKKARA, A. B.; SUNDARAM, C.; HARIKUMAR, K. B.; SUNG, B.; THARAKAN, S. T.; MISRA, K.; PRIYADARSINI, I. K.; RAJASEKHARAN, K. N.;

AGGARWAL, B. B. Biological activities of curcumin and its analogues (Congeners) made by man and Mother Nature. ***Biochemical Pharmacology***, v. 76, n. 11, p. 1590–1611, 2008.

ANGELO, P.M.; JORGE, N. Compostos fenólicos em alimentos-uma breve revisão. Revista do Instituto Adolfo Lutz, v. 66, n. 1, p. 01-09, 2007.

ANGERAMI, L.A.T.; VIEIRA, T.C.; STREFEZZI, R.D. Exposição de educadores físicos aos efeitos dos trihalometanos presentes em piscina de recreação clorada e o controle dos radicais livres através dos antioxidantes. ***Revista Brasileira de Nutrição Esportiva***, v. 1, n. 3, 2012.

ANITHA, A. et al. Efficient water-soluble O-carboxymethyl chitosan nanocarrier for the delivery of curcumin to cancer cells. ***Carbohydrate Polymers***, v.83, p.452-61, 2011.

ARAÚJO, J.M.A. Química de Alimentos – Teoria e Prática, v.6, p.668, 2015.

ARNDT, K.-F.; LECHNER, M.D.(Ed.) ***Numerical Data and Functional Relationships in Science and Technology: Polymers***, v.1, 2013.

ASTM Standard D644-04, 2004. Standard test methods for moisture content of paper and paperboard by oven drying. In: Annual Book of ASTM Standards. American Society of Testing and Materials, Philadelphia.

ATTARIAN A. C.; VEIGA-SANTOS, P.; DITCHFIELD, C.; PARRA, F.D.; LUGÃO, A. B.; TADINI, C. C. Investigation of natural Additives as pH indicators for Cassava Starch Biobased Materials. In: *2nd CIGR Section VI International Symposium on Future of Food Engineering*, Warsaw. Processing of CIGR International Symposium Warsaw, 2006.

AVÈROUS, L.; BOQUILLON, N. Biocomposites based on plasticized starch: thermal and mechanical behaviours. ***Carbohydrate Polymers***, v. 56, n. 2, p. 111-122, 2004.

BALASUNDRAM, N.; SUNDRAM, K.; SAMMAN, S. Phenolics compounds in plants and agri-industrial by products:antioxidant activity, occurrence, and potentialuses. ***Food Chemistry***, v. 99, p. 191-203, 2006.

BARBOSA, K.B.F.; COSTA, N.M.B.; ALFENAS, R.D.C.G.; DE PAULA, S.O.; MINIM, V.P.R.; BRESSAN, J. Estresse oxidativo: conceito, implicações e fatores modulatórios. ***Revista de Nutrição***, Campinas, v. 23, n. 4. p. 629-643, 2010.

BERTOFT, E.; ANNOR, G. A.; SHEN, X.; RUMPAGAPORN, P.; SEETHARAMAN, K.; HAMAKER, B. R. Small differences in amylopectin fine structure may explain large functional differences of starch. ***Carbohydrate Polymers***, v. 140, p. 113 – 121, 2016.

BERTUZZI, M.A.; VIDAURRE, C.; ARMADA, M.; GOTTIFREDI, J. C. Water vapor permeability of edible starch-based films. ***Journal of Food Engineering***, v. 80, p. 972-978. 2007.

BESSADA, S. M. F.; BARREIRA, J. C. M.; BARROS, L.; FERREIRA, I. C. F. R.; OLIVEIRA, M. B. P. P. Phenolic profile and antioxidant activity of Coleostephus myconis (L.) Rchb.f.: An underexploited and highly disseminated species. ***Industrial Crops and Products***, v. *89*, p.45–51, 2016.

BIANCHI, M.L.P.; ANTUNES, L.M.G. Radicais livres e os principais antioxidantes da dieta. ***Revista Nutrição***, v. 12, n. 2, p. 123-30, 1999.

BITENCOURT, C.M. et al. Gelatin-based films additivities with curcuma ethanol extract: Antioxidant activity and physical properties of films***. Food Hydrocolloids***, v 40, p. 145-152, 2014.

BOBBIO, F. O.; BOBBIO, P. A. Introdução à Química de Alimento. 2a ed. São Paulo, Livraria Varela. 1992a.

BONILLA A.; FERNÁNDEZ M. Polymeric materials with antimicrobial activity. ***Progress in Polymer Science*****,** v..37, n.2, p.281-339, 2012.

BORRÁS-LINARES, I.; FERNÁNDEZ-ARROYO, S.; ARRÁEZ-ROMAN, D.; PALMEROS-SUÁREZ, P. A.; DEL VAL-DÍAZ, R.; ANDRADE-GONZÁLES, I.; SEGURA-CARRETERO, A. Characterization of phenolic compounds, anthocyanidin, antioxidant and antimicrobial activity of 25 varieties of Mexican Roselle *(Hibiscus sabdariffa*). ***Industrial Crops and Products***,v. *69*, p.385-394, 2015.

BRAGA, A. L.; KOLODZIEJCZYK, E.; SOUSSAN, E.; SCHMITT, C. J. E. Food-grade blue encapsulate and process for production thereof. European Patent Office, 2013.

BRAGA, M. E. M.; MORESCHI, S. R. M.; MEIRELES, M. A. A. Effects of supercritical fluid extraction on *Curcuma longa* and *Zingiber officinale* R. Starches. ***Carbohydrate Polymers***, v.6, p. 340-346, 2006.

BRAND-WILLIAMS, W.; CUVELIER, M. E.; BERSET, C. Use of a free radicals method to evaluate antioxidante activity. Lebensmittel-Wissenschaft und Technologie-***Food Science and Technology,*** n.30, p.25-30, 1995.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução – RDC no 263, de 22 de setembro de 2006. Aprova o regulamento técnico para produtos de cereais, amidos, farinhas e farelos. Diário Oficial da República Federativa do Brasil, Brasília, 2005.

BRAVO, L. Polyphenosl: chemistry, dietary sources, metabolism and nutricional significance. ***Nutritional Review***, v. 56, n.11, p. 317-33, 1998.

BRUBACH, J. B.; MERMET, A.; FILABOZZI, A.; GERSCHEL, A.; ROY, R. Signatures of the hydrogen bonding in the infrared bands of water***. Journal of Chemical Physics***, v. 122, n.18, p. 184509.1 -184509.7, 2005.

CABRITA, M. J.; RICARDO-DA-SILVA, J.; LAUREANO, O. Os compostos polifenólicos das uvas e dos vinhos. In: I SEMINÁRIO INTERNACIONAL DE VITIVINICULTURA. Anais...Ensenada, México, 2003.

CANEVAROLO, S. V. ***Técnicas de Caracterização de polímeros.*** 1 ed. São Paulo: Ed. Artliber, 2004.

CARDOSO, F. S. N. Produção de microencapsulados de amido com recobrimento em leito fluidizado. Dissertação. Universidade Estadual de Campinas. Campinas, p.65, 2000.

CARPES, S. T.; BERTOTTO, C.; BILCK, A. O.; YAMASHITA, F.; ANJOS, O.; SIDDIQUE, M. A. B. Bio-based films prepared with apple pomace: Volatiles compound composition and mechanical, antioxidant and antibacterial properties, ***LWT-Food Science and Technology***, 144, 2021.

CARRATU, E.; SANZINI, E. Sostanze biologicamente attive presenti negli alimenti di origine vegetable. Ann. Ist. Super Sanità, v. 41, n.1, p.7-16, 2005.

CARVALHO, A. J. F. Starch: major sources, properties and applications as thermoplastic materials. In: BELGACEM, M. N.; GANDINI, A. (Eds.). Monomers, polymers, and composites from renewable resources. ***Elsevier***, p. 321–342, 2008.

CHIONO, V.; PULIERI, E.; VOZZI, G.; CIARDELLI, G.; AHLUWALIA, A.; GIUSTI, P. Genipin-crosslinked chitosan gelatin blends for biomedical applications. ***J. Mater. Sci.; Mater. Med.***, v.19, p.889-898, 2008.

CISSE, M.; DORNIER, M.; SAKHO, M.; NDIAYE, A.; REYNES, M.; SOCK, O. The bissap (*Hibiscus sabdariffa L.*): composition et principales utilisations***. Fruits***, v. 64, n. 3, p. 179-193, 2009a.

CISSE, M.; VAILLANT, F.; PALLET, D.; DORNIER, M. Selecting ultrafiltration and nanofiltration membranes to concentrate anthocyanins from roselle extract (*Hibiscus sabdariffa L.*). ***Food Research International***, v. 44, n. 9, p. 2607-2614, 2011.

COLLINO, L. Curcumina: de Especiaria à Nutracêutico. Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao Curso de Graduação em Farmácia-Bioquímica da Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Araraquara, da Universidade Estadual Paulista para obtenção do grau de Farmacêutica Bioquímica., p. 88, 2014.

CORDEIRO, A.; MEDEIROS, M.; SANTOS, N.; SOLEDADE, L.; PONTES, L.; SOUZA, A. Rosemary (*Rosmarinus officinalis* L.) extract. Thermal study and evaluation of the antioxidant effect on vegetable oils. ***Journal of Thermal Analysis and Calorimetry***, v. 113, n.2, p. 889-895, 2013.

CORRADI DA SILVA, M. L.; MARTINEZ, P. F.; IZELI, N. L.; SILVA, I. R.; VASCONCELOS, A. F. D.; CARDOSO, M. S.; STELUTTI, R. M.; GIESE, E. C.; BARBOSA, A. M. Caracterização química de glucanas fúngicas e suas aplicações biotecnológicas. ***Química Nova***, v. 29, p.85-92, 2006.

CORREA-PACHECO, Z. N.; BLACK-SOLIS, J. D.; ORTEGA GUDIÑO, P.; SABINO-GUITIÉRREZ, M. A.; BENÍTEZ-JIMÉNEZ, J. J.; BARAJAS-CERVANTES, A., Preparation, and characterization of bio-based PLA/PBAT and cinnamon essential oil polymer fibers and life-cycle assessment from hydrolytic degradation. ***Polymers,*** 12, 38, 2020.

DA-COSTA-ROCHA, I.; BONNLAENDER, B.; SIEVERS, H.; PISCHEL, I.; HEINRICH, M. *Hibiscus sabdariffa* L. – A phytochemical and pharmacological review. ***Food Chemistry***, v.165, p.424-443, 2014.

DALLA NORA, C. Caracterização, atividade antioxidante “in vivo” e efeito do processamento na estabilidade de compostos bioativos do araçá-vermelho e guabiju. Dissertação de Mestrado (Ciência e Tecnologia de Alimentos) – UFRGS, Porto Alegre. 2012.

DANIELS, D. R.; DONALD, A. M. An improved model for analyzing the small angle x-ray scattering of starch granules. ***Biopolymers***, v. 69, n. 2, p. 165–175, 2003.

DE PAOLI, M. A. ***Degradação e estabilização de polímeros***, 2 versão on-line., 2008.

DEBET, M. R.; GIDLEY, M. J. Why do gelatinized starch granules not dissolve completely? Roles for amylose, protein, and lipid in granule “ghost” integrity. ***Journal of Agricultural and Food Chemistry***, v.5, n.12, p.4752-4760, 2007.

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

DOMINGUINI, L.; BORGES, J.M.; DOS SANTOS, M.D.; LEANDRO, F.P.; DE SOUSA TOLEDO, A.L.; FIGUEIREDO, A.P. Estudo da estabilidade de antocianinas em diferentes alcoóis alifáticos para uso como indicador de pH. ***Revista Ciências Exatas e Naturais***, v. 16, n. 1, p. 129-142, 2014.

DONALD, A.M. Understanding starch structure and functionality. In: ELIASSION, A.C (Ed.) ***Starch in food: structure, function, and applications***, p.156-184, 2004.

EVANS, B. C.; NELSON, C. E.; YU, S. S.; BEAVERS, K. R.; KIM, A. J., Li, H.; DUVALL, C. L. Ex vivo red blood cell hemolysis assay for the evaluation of pH responsive endosomolytic agents for cytosolic delivery of bio macromolecular drugs. ***Journal of Visualized Experiments***, v. 73, p. 50166, 2013.

FABIAN, H.; SCHULTZ, C. P. Fourier Transform Infrared Spectroscopy in Peptide and Protein Analysis. In: ***Encyclopedia of Analytical Chemistry***. Chichester, UK: John Wiley & Sons, Ltd, 2000.

FAMÁ, L.; ROJAS, A. M.; GOYANES, S.; GERSCHENSON, L. Mechanical properties of tapioca-starch edible films containing sorbates. ***Food Science and Technology***, v. 38, p. 631-639, 2007.

FAVARO-TRINDADE C. S.; PINHO, ROCHA G. A. Revisão: Microencapsulação de ingredientes alimentícios. ***Brazilian Journal of Food Technology***, v.11, p.103-112, 2008.

FERRO, W. P. Utilização da cinza da casca de arroz como carga em matriz de poliamida 6 submetida à radiação ionizante.Dissertação (Mestrado em Tecnologia Nuclear)-Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares, São Paulo, 2009.

FORINI, S. H. Estudo da dispersão e incorporação de argilas esmectitas em plastisol. Tese (Doutorado em Engenharia Metalúrgica e de Materiais)- Escola Politécnica, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2008.

FRANCO, B. D. G. M.; LANDGRAF, M. Microbiologia dos alimentos. São Paulo: Editora Atheneu, 2005.

GARCIA, M.A.; PINOTTI, A.; ZARITZKY, N.E. Physicochemical, water vapor barrier and mechanical properties of corn starch and chitosan composite films. ***Starch/Stärke***, v. 58, p. 453–463, 2006.

GAZONATO, E. C. et al. Thermomechanical Properties of Corn Starch Based Film Reinforced with Coffee Ground Waste as Renewable Resource. **Materials Research**, v. 22, n. 2, 2019.

GHANBARZADEH, B.; ALMASI, H. Biodegradable polymers. In R. Chamy, & F. Rosenkranz (Eds***.), Biodegradation e life of science***, p. 141-186, 2013.

GHARSALLAOUI A.; ROUDAUT G.; CHAMBIN O.; VOILLEY A.; SAUREL R. Applications of spray-drying in microencapsulation of food ingredients: an overview***. Food Research International***, v.40, p.1107-1121, 2007.

GIBBS, B. F.; KERMASHA, S.; ALLI, I.; MULLIGAN, C. N. Encapsulation in the food industry: a review, ***International Journal of Food Sciences and Nutrition***, v. 50, p. 213- 224, 1999.

GIUSTI, M. M.; JING, P. Analysis of anthocyanins. ***In Food Colorants - Chemical and Functional Properties,*** p. 479-506, 2008.

GODET, M. C.; BOUCHET, B.; COLONNA, P.; GALLANT, D. J.; BULÉON, A. Crystalline amylose – fatty acid complexes: morphology and crystal thickness***. Journal of Food Science***, v. 61, n. 6, p. 1196-1201, 1996.

GOEL, A.; AGGARWAL, B. B. Curcumin, the golden spice from Indian saffron, is a chemosensitizer and radiosensitizer for tumors and chemo protector and radioprotector for normal organs. ***Nutrition and Cancer***, v. 62, n. 7, p. 919–930, 2010.

GOMES, A. Encapsulação de ácido gálico em sistemas emulsionados: efeito da composição das fases. Dissertação (Mestrado em Engenharia de Alimentos) Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2015.

GÓMEZ-GUILLÉN, M.C.; GIMÉNEZ, B.; LÓPEZ-CABALLERO, M.E.; MONTERO, M.P. Functional and bioactive properties of collagen and gelatin from alternative sources: A review***. Food Hydrocol***., 2011.

GONTARD, N.; GUILBERT, S.; CUQ, J. L. ***J. Food Sci***., v.57, p.190, 1992.

GORDON, T.; PERLSTEIN, B.; HOUBARA, O.; FELNER, I.; BANIN, E.; MARGEL, S.; ***Colloids Surf***., v.1, p.*374*, 2011.

GOTTILEB N.; SCHWARTZBACH C. Development of an internal mixing two-fluid nozzle by systematic variation of internal parts", ILASS conference, Nottingham, 2004.

GRAAF, R. A.; KARMAN, A. P.; JANSSEN, L. P. Material properties and glass transition temperatures of different thermoplastic starches after extrusion processing. ***Starch-Starke***, v. 55, p. 80-86, 2003.

GUIMARÃES, M. R. et al. Potent anti-inflammatory effects of systemically administered curcumin modulate periodontal disease in vivo. ***Journal of periodontal research***, v. 46, n. 2, p. 269–279, 2011.

GUTIÉRREZ, A.; PIETRO, A.; MARTÍNEZ, A. T. Structural characterization of extracellular polysaccharides produced by fungi from the genus Pleurotus. ***Carbohydrate Research***, v. 281, p.143-154, 1996.

HERRANZ-LÓPEZ, M.; FERNÁNDEZ-ARROYO, S.; PÉREZ-SANCHEZ, A.; BARRAJÓN-CATALÁN, E.; BELTRÁN-DEBÓN, R.; MENÉNDEZ, J. A.; MICOL, V. Synergism of plant-derived polyphenols in adipogenesis: Perspectives and implications. ***Phytomedicine*****,** v.*19*, p.253–261, 2012.

HIEMENZ, P. C.; RAJAGOPALAN, R. **Principles of colloids and surface chemistry**. 3ed. New York: CRC Press, 1997.

HIZUKURI, S. Relationship between the distribution of the chain length of amylopectin and the crystalline structure of starch granules. ***Carbohydrate Research***, v. 141, n. 2, p. 295 – 306, 1985.

HIZUKURI, S.; KANEKO, T.; TAKEDA, Y. Measurement of the chain length of amylopectin and its relevance to the origin of crystalline polymorphism of starch granules. ***Biochimia et Biophysica***, v. 760, n.1, p. 188 -191, 1983.

HOLDER, B. H. Characterization of Starch by Vibrational Spectroscopy. Dissertação (Mestrado) – Faculdade de Pós-graduação, Universidade de Nebraska, Nebraska, p.64, 2012.

HOQUE, M. S.; BENJAKUL, S.; PRODPRAN, T. Properties of film from cuttlefish (*Sepia pharaonis*) skin gelatin incorporated with cinnamon, clove, and star anise extracts. ***Food Hydrocolloids***, v. 25, p. 1085-1097, 2011.

HORST, B. L. Microencapsulação do corante natural antocianina em matriz polimérica de quitosana e quitosana/alginato através das técnicas de impregnação, coacervação e spray drying. Dissertação (Mestrado em Química). Universidade Federal de Santa Catarina. Florianópolis, 2009.

HUANG, Q. et al. The effect of enzymatic pretreatments on subsequent octenyl succinic anhydride modifications of corn starch. ***Food Hydrocolloids***, v.24, n.1, p.60-65, 2010.

HUNTER, R. J. Zeta potential in colloid science: principles and applications. New York: Academic Press, 1981.

IAEA. International Atomic Energy Agency. Directory of Gamma Processing Facilities in Member States, IAEA-DGPF/CD, IAEA, 2004a. Disponível em: <http://www-pub.iaea.org/MTCD/publications/PDF/dgpf-cd/PDF/Contents.pdf> Acesso em: 28 jan 2021.

IAEA. Report of the 2nd RCM on “Development of radiation-processed products of natural polymers for application in agriculture, healthcare, industry and environment”, 2010.

JAFARI, S. M.; ASSADPOOR, E.; HE, Y.; BHANDARI, B. Encapsulation efficiency of food flavors and oils during spray-drying. ***Drying Technology***, v. 26, p. 816-835, 2008.

JAFARI. S. M. ***Trends in Food Science & Technology***, v. 109, p.632–646, 2021.

JARVIS, P.; LÓPEZ-JUEZ, E. Biogenesis and homeostasis of chloroplasts and other plastids. ***Nature Reviews Molecular Cell Biology***, v.14, n.2, p. 787 – 802, 2013.

JI, Z.; YU, L.; LIU, H.; BAO, X.; WANG, Y.; CHEN, L. Effect of pressure with shear stress on gelatinization of starches with different amylose/amylopectin ratios. ***Food Hydrocolloids***, v.72, p.331–337, 2017.

JIANG, S.; HAN, J.; LI, T.; XIN, Z.; MA, Z.; DI, W. Curcumin as a potential protective compound against cardiac diseases. ***Pharmacological Research***, v.119, p. 373–383, 2017.

JIMÉNENZ-AGUILAR, D. M.; ORTEGA-REGULES, A. E.; LOZADA-RAMÍREZ, J. D.; PÉREZ-PÉREZ, M. C. I.; VERNON-CARTER, E. J.; WELTI-CHANES, J. Color and chemical stability of spray-dried blueberry extract using mesquite gum as wall material. ***Journal of Food Composition and Analysis***, v. 24, n. 6, p.889–894, 2011.

JIMÉNEZ, A. Physical properties, and antioxidant capacity of starch–sodium caseinate films containing lipids. ***Journal of Food Engineering***, v.116, n.3, p.695-702, 2013.

KACURAKOVA, M. Et al. FT-IR study of plant cell wall model compounds: pectic polysaccharides and hemicecelluloses. ***Carbohydrate polymers***, v.43, n.2, p.195-203, 2000.

KAJIYAMA, T.; PARK, K. J. Influence of feed parameters on Spray Drying energy consumption. ***Journal of Food Process Engineering***, v. 34, n. 2, p. 414–426, 2011.

KIZIL, R.; IRUDAYARAJ, J.; SEETHARAMAN, K. Characterization of irradiated starches by using FT-Raman and FTIR Spectroscopy. ***Journal Agricultural and Food Chemistry***, v.50, p.3912-3918, 2002.

KNILL, C. J.; KENNEDY, J. F. Starch: Commercial sources and derived products. In: S. DUMITRIU. Polysaccharides: Strutural diversity and functional versatility, p. 605-624, 2004.

KOLYBARA, M. A.; TABIL, L. G.; PANIGRAHI, S. A. Recent developments in the Biopolymer Industry. Anais da North Central ASAE/CSAE Conference, Manitoba, Canadá. 2004.

KONCZAK, I.; ZHANG, W. Anthocyanins – more than nature's colours. ***Journal of Biomedicine and Biotechnology***, v. 5, p. 239–240, 2004.

KRUISSKAMP, P.; SMITS, A.; VAN SOEST, J.; VLIEGENTHART, J. The influence of plasticiser on molecular organisation in dry amylopectin measured by differential scanning calorimetry and solid state nuclear magnetic resonance spectroscopy. ***Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology***, v.26, p.90-93, 2001.

LAOHAKUNJIT, N.; NOOMHORM, A. Effect of plasticizer on mechanical and barrier properties of rice starch film. ***Starch/Stärke***, Weinheim, v. 56, p. 348-356, 2004.

LEE, J.Y.; GARCIA, C.V.; SHIN, G.H.; KIM, J.T. Antibacterial and antioxidant properties of hydroxypropyl methylcellulose-based active composite films incorporating oregano essential oil nanoemulsions, v.106, p.164–171, 2019.

LIU, Z.; HAN, J.H. Film-forming characteristics of starch. ***Journal of Food Science***, Chicago, v. 70, n. 1, p. 31-36, 2005.

LU, Z. H.; DONNER, E.; YADA, R. Y.; LIU, Q. The synergistic effects of amylose and phosphorus on rheological, thermal, and nutritional properties of potato starch and gel. ***Food Chemistry***, v. 133, n. 4, p. 1214-1221, 2012.

MA, C.H.; YANG, L.; ZU, Y.G.; LIU, T.T. Optimization of conditions of solvent-free microwave extraction and study on antioxidant capacity of essential oil from Schisandra chinensis (Turcz.) Baill***. Food Chem.***, v.4, n. 4, p. 2532–2539, 2012.

MA, Q.; ZHANG, Y.; ZHONG, Q. Physical and antimicrobial properties of chitosan films incorporated with lauric arginate, cinnamon oil, and ethylenediaminetetraacetate. ***LWT-Food Sci. Technol.***, v.65, p.173–179, 2016.

MADENE, A.; JACQUOT, M.; SCHER, J.; DESOBRY, S. Flavour encapsulation and controlled release - a review***. International Journal of Food Science & Technology***, v. 41, n. 1, p. 1-21, 2006.

MALI, S. Barrier, mechanical and optical properties of plasticized yam starch films. ***Carbohydrate Polymers***, v.56, p.129-135, 2004.

MALI, S.; GROSSMAN, M.V.E. Effects of yam starch films on storability and quality of fresh strawberries. ***Journal of Agricultural and Food Chemistry***, v. 24, p. 7055-7011, 2003.

MALVERN, Dynamic Light Scattering (DLS), Dynamic Light Scattering DLS for Particle Size Characterization of Proteins, Polymers and Colloidal Dispersions, 2016.

MASUDA, T. Chemical Studies on Antioxidant Mechanism of Curcumin: Analysis of Oxidative Coupling Products from Curcumin and Linoleate. ***Journal of Agricultural and Food Chemistry***, v. 49, n. 5, p. 2539-2547, 2001.

MCHUGH, T. H.; KROCHTA, J.M. Sorbitol vs glycerol-plasticized whey protein edible films: integrated oxygen permeability and tensile property evaluation. ***Journal of Agricultural and Food Chemistry***, v. 42, n. 4, p. 841-845, 1994a.

MEHYAR, G. F.; HAN, J. H. Physical, and mechanical properties of high-amylose rice and pea starch films as affected by relative humidity and plasticizer***. Journal of Food Science***, v. 69, p. 449-454, 2004.

MELO, P.B.C.; GROSSMANNV E. M.; YAMASHITA F.; YOUSSEFY. E.; DALL` ANTÔNIA H. E.; MALI, S. Effect of manufacturing process and xanthan gum addition on properties of cassava starch films. ***Journal of Polymers and Environment***, v.19, p. 739-749, 2011.

MERCADANTE, A. Z.; BOBBIO, F. O. Anthocyanins in foods: Occurrence and physicochemical properties. ***Food colorants: Chemical and functional properties***, p.195-299, 2008.

MICARD, V.; BELAMRI R.; GUILBERT S.; Properties of chemically and physically treated wheat gluten films. ***J Agric Food Chem,*** v.48, p.2948-53, 2000.

MOHAMED, L. K.; SULIEMAN, M. A.; YAGOUB, A. E. A.; MOHAMMED, M. A.; ALHUTHAYLI, H. F.; MOHAMED AHMED, I. A.; ALMAIMAN, S. A.; ALFAWAZ, M. A.; OSMAN, M. A.; HASSAN, A. B. Changes in Phytochemical Compounds and Antioxidant Activity of Two Irradiated Sorghum (*Sorghum bicolor (L.) Monech*) Cultivars during the Fermentation and Cooking of Traditional Sudanese Aside. Fermentation, v.8, p.60, 2022.

MONTERREY-QUINTERO, E. S. Caracterização físico-quimica de proteínas miofibrilares e elaboração de biofilmes. Dissertação de Mestrado. Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos da USP, Pirassununga, 1998.

MOREIRA, G. E. G. Obtenção e caracterização de extrato microencapsulado de resíduo agroindustrial de acerola. Dissertação (Mestrado em Engenharia Química). Departamento de Engenharia Química, Universidade Federal do Rio Grande do Norte, Natal, 2007.

MUNIN, A.; EDWARDS-LÉVY F. Encapsulation of natural polyphenolic compounds: a Review. ***Pharmaceutics***, v. 3, p. 793-829, 2011.

NAGPAL, M.; SOOD, S. Role of curcumin in systemic and oral health: An overview. ***Journal of Natural Science,*** Biology and Medicine, v. 4, n. 1, p. 3, 2013.

OCHOA-YEPES, O.; DI GIOGIO L.; GOYANES S.; MAURI A.; FAMÁ, L. Influence of process (extrusion/thermo-compression, casting) and lentil protein content on physicochemical properties of starch films. ***Carbohydrate Polymers***, v.208, p.221–231, 2009.

OLIVEIRA, L. M.; ALVES, R. M. V.; SARANTÓPOULIS, C. I. G. L.; PADULA, M.; GARCIA, E. E. C.; COLTRO, L. Ensaios para avaliação de embalagens plásticas flexíveis. Campinas: Centro de Tecnologia de Embalagem/ITAL, p. 216, 1996.

OOSTERGETEL, G. T.; VAN BRUGGEN, E. F. J. The crystalline domains in potato starch granules are arranged in a helical fashion. ***Carbohydrate Polymers***, v. 21, n. 1, p. 7 -12, 1993.

PARAÍSO, C. M.; DOS SANTOS, S. S.; CORREA, V. G.; MAGNON, T.; PERALTA, R. M.; VISENTAINER, J. V.; MADRONA, G. S. Ultrasound assisted extraction of hibiscus (Hibiscus sabdariffa L.) bioactive compounds for application as potential functional ingredient. ***Journal of Food Science and Technology***, v. *56*, p.4667–4677, 2019.

PARRA, D. F.; TADINI, C. C.; PONCE, P.; LUGÃO, A. B. Mechanical properties and water vapor transmission in some blends of cassava starch edible films. ***Carbohydrate Polymers***, v. 58, p.475-481, 2004.

PASTOR, C.; GONZÁLEZ, L.S.; MARCILLA, A.; CHIRALT, A.; CHÁFER, M. MARTÍNEZ, C.G. Quality and safety of table grapes coated with hydroxypropylmethycellulose edible coatings containing propolis extract. ***Postharvest Biology and* Technology,** v. 60, p. 64-70, 2011.

PATHARE, P. B.; OPARA, U. L.; AL-SAID, F. A. Colour Measurement and Analysis in Fresh and Processed Foods: A Review. ***Food Bioprocess Technol***. v. 6, p. 36–60, 2013.

PELISSARI, F. M.; ANDRADE-MAHECHA, M. M.; SOBRAL, O. J. A.; MENEGALLI, F. C. Comparative study on the properties of flour and starch films of plantain banana (*Musa paradisiaca).* ***Food Hydrocolloids***, v.30, p. 681-690, 2013.

PÉREZ, S.; BALDWIN, P. M.; GALLANT, D. J. Structural features of starch granules I In: BEMILLER, J.; WHISTLER, R. (Ed.). ***Starch: Chemistry and Technology***, p. 149 -192, 2009.

PRADELLA, J. G. C. Biopolímeros e Intermediários Químicos, São Paulo, 2006.

PRASAD, S.; GUPTA, S. C.; TYAGIY, A. K.; AGGARWAL, B. B. Curcumin, a component of golden spice: Frombedside to bench and back. ***Biotechnology Advances***, v. 32, p. 1053-1064, 2014.

PRENESTI, E.; BERTO, S.; DANIELE, P. G.; TOSO, S. Antioxidant power quantification of decoction and cold infusions of *Hibiscus sabdariffa* flowers. ***Food Chemistry***, v. 100, n. 2, p. 433-438, 2007.

QIU, Z.B.; FUJINAMI, S.; KOMURA, M.; NAKAJIMA, K.; IKEHARA, T.; NISHI, T. Structure, and properties of biodegradable polymer-based blends. ***Macromol. Symp***., v. 216, p. 255-263, 2004.

RAGUIN, A.; EBENHOH, O. Design starch: stochastic modeling of starch granule biogenesis***. Biochemical Society Transactions***, v. 45, n. 4, p. 885 – 893, 2017.

RATTAYA, S.; BENJAKUL, S.; PRODPRAN, T. Properties of fish skin gelatin film incorporated with seaweed extract. ***Journal of Food Engineering***, v. 95, p. 151–157, 2009.

RÉ, M. I. Microencapsulation by spray-drying. ***Drying Technology***. v. 16, n. 3, p. 1195-1236, 1998.

RETO, M.; FIGUEIRA, M.E.; FILIPE, H.M.; ALMEIDA, C.M.M. Teor de fluoreto em infusos de chá verde (Camellia sinensis). ***Química Nova***, v.31, n.2, 2008.

ROGINSKY, V.; LISSI, E. A. Review of methods to determine chain-breaking antioxidante activity in food. ***Food Chem***., v.92, p. 235-254, 2005.

ROY S.; RHIM, J. W. Anthocyanin food colorant and its application in pH-responsive color change indicator films. ***Food Science and Nutrition***, 2020.

SANCHEZ-MENDOZA, J.; DOMINGUEZ-LOPEZ, A.; NAVARRO-GALINDO, S.; LOPEZ-SANDOVAL, J. A. Some physical properties of Roselle (*Hibiscus sabdariffia* L.) seeds as a function of moisture content. ***Journal of Food Engineering***, v. 87, n. 3, p. 391-397, 2008.

SANTIAGO-ADAME, R.; MEDINA-TORRES, L.; GALLEGOS-INFANTE, J. A.; CALDERAS, F.; GONZÁLEZ LAREDO, R. F.; ROCHA-GUZMÁN, N. E.; BERNAD-BERNAD, M. J.

Spray dryingmicroencapsulation of cinnamon infusions (Cinnamomum zeylanicum) with maltodextrin. ***LWT – Food Science and Technology***, v. 64, p.571–577, 2015.

SARANTÓPOULOS, C. I. G. L.; OLIVEIRA, L. M.; PADULA, M.; COLTRO, L., ALVES, R. M. V.; GARCIA, E. E. C. Embalagens Plásticas Flexíveis. Principais Polímeros e Avaliação de Propriedades, v. 267, p. 102-108, 2002.

SASAKI, T.; YASUI, T.; MATSUKI. J. Effect of amylose content on gelatinization, retrogradation, and pasting properties of starches from waxy and nonwaxy wheat and their F1 seeds. ***Cereal Chemistry***, v. 77, n. 1, p. 58-63, 2000.

SASIKUMAR, B. Genetic resources of Curcuma: diversity, characterization, and utilization. Plant Genetic Resources: characterization and utilization, v. 3, n. 2, p. 230–251, 2005.

SCHAFFAZICK, S. R.; POHLMANN, A. R; DALLA-COSTA, T.C.; GUTERRES, S.S. Freeze-drying polymeric colloidal suspensions: nanocapsules, nanospheres and nanodispersion. A comparative study. ***European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics***, v. 56, n. 3, p. 501-505, 2003b.

SHARMA, R. A.; GESCHER, A. J.; STEWARD, W. P. Curcumin: The story so far. European ***Journal of Cancer***, v.41, p. 1955-1968, 2005.

SHISHIR, M. R. I.; CHEN, E. Trends of spray drying: A critical review on drying of fruit and vegetable juices. ***Food Science & Techonolgy***, v.65, p.49-67, 2017.

SHISHIR, M. R. I.; CHEN, W. Trends of Spray Drying: a critical review on drying of fruit and vegetable juices. ***Food Science & Technology***, v. 65, p. 49–67, 2017.

SILVA, A. C. Avaliação da atividade antimicrobiana de nanopartículas de curcumina e aplicação de microcristais de curcumina em cenoura minimamente processada. UNIVERSIDADE TECNOLÓGICA FEDERAL DO PARANÁ PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM TECNOLOGIA DE ALIMENTOS, Campo Mourão,2016

SILVA, M.L.C.; COSTA, R.S.; DOS SANTOS SANTANA, A.; KOBLITZ, M.G.B. Compostos fenólicos, carotenóides e atividade antioxidante em produtos vegetais. Semina: Ciências Agrárias, v. 31, n. 3, p. 669-682, 2010.

SILVA, P. T.; FRIES, L. L. M.; MENEZES, C. R.; HOLKEM, A. T.; SCHWAN, C. L.; WIGMANN, E. F.; BASTOS, J. O.; SILVA, C. B. Microencapsulation: concepts, mechanisms, methods, and some applications in food technology. Ciência Rural, v. 44, n. 7, p. 1304-1311, 2014.

SILVA, V. M.; VIEIRA, G. S.; HUBINGER, M. D. Influence of different combinations of wall materials and homogenization pressure on the microencapsulation of green coffee oil by spray drying. ***Food Research International***, v. 61, p. 132–143, 2014.

SINGH, J.; KAUR, D.; MCCARTHY, O. J. Factors influencing the phsico-chemical, morphological, thermal, and rheological properties of some chemically modified starches for food applications – a review. ***Food Hydrocolloids***, v. 21, n.1, p. 1-22, 2007.

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

SOKOVIC, M.; GLAMOCLIJA J.; MARIN P. D.; BRKIC D.; VAN GRIENSVEN, L J.L.D. Antibacterial Effects of the Essential Oils of Commonly Consumed Medicinal Herbs Using an *In Vitro* Model. ***Molecules***, v.*15*, p.7532-7546, 2010.

SOKOVIC, M.; VAN GRIENSVEN, L J.L.D. Antimicrobial activity of essential oils and their components against the three major pathogens of the cultivated button mushroom, *Agaricus bisporus.* ***European Journal of Plant Pathology***, v.116, p.211–224, 2006.

SOKOVIC M.; GRUBIS D.; RISTIC M. Chemical composition and antifungal activity of the essential oils from leaves, calyx, and corolla of *Salvia brachydont* Vandas. ***Journal of Essential Oil Research***, v.178, p.115227–117229, 2005.

SOUZA, V. B.; THOMAZINI, M.; BALIEIRO, J. C. D. C.; FÁVARO-TRINDADE, C. S. Effect of spray drying on the physicochemical properties and color stability of the powdered pigment obtained from vinification byproducts of the Bordo grape (*Vitis labrusca*). ***Food and Bioproducts Processing***, v. 93, p. 39-50, 2015.

STEINBÜCHEL, A. General Aspects and Special Applications, edited by A. Steinbüchel., Weinheim***. Biopolymers***, v. 10, p.516, 2003.

STEVENS, M.P. Polymer Chemistiy: An Introduction, led., Oxford University Press, New York, 1990.

SUAVE, J. Microencapsulação: inovação em diferentes áreas. Revista Saúde e Ambiente, v. 7, n. 2, p. 12-20, 2006.

SUN, M.; SU, X.; DING, B.; HE, X.; LIU, X.; YU, A.; LOU, H.; ZHAI, G. Advances in nanotechnology-based delivery systems for curcumin. ***Nanomedicine***, v.7, p. 1085-1100, 2012.

SUTHERLAND, I. W. Novel, and established applications of microbial polysaccharides. ***Biotechnology***, v. 16, p. 41-46, 1998.

SYOBODOVA, B.; BARROS, L.; CALHELHA, R. C.; HELENO, S. A.; ALVES, M.; WALCOTT, S. Bioactive properties, and phenolic profile of *Momordica charantia* L. medicinal plant growing wild in Trinidad and Tobago. ***Industrial Crops and Products***, v. 95, p. 365-373, 2017.

TABATA, T. Review of the work at the radiation center of Osaka prefecture on the passage of electrons through matter, ***Acta Radiologica-Supplementum***, v.364, p.4-21, 1983.

TAKEBAYASHI, J.; IWAHASHI, N.; ISHIMI, Y.; TAI, A. Development of a simple 96-well plate method for evaluation of antioxidant activity based on the oxidative hemolysis inhibition assay (OxHLIA). ***Food Chemistry***, v. 134, n. 1, p. 606-610, 2012.

TALJA, R. A.; HELÉN, H.; ROOS, Y. H.; JOUPPILA, K. Effect of various polyols and polyol contents on physical and mechanical properties of potato starch-based films***. Carbohydrate Polymer,*** v. 67, n. 3, p.288-295, 2007.

TANADA-PALMU, P. S.; GROSSO, C. R. F. Development and characterization of edible films based on glúten from semi-hard and soft brazilian wheat flours (Development of films based on gluten from wheat flours). Ciência e Tecnologia de Alimentos, v.23, n.2, p.264-269, 2003.

TIMUS, D. M.; CINCU, C.; BRANDLEY, D.A.; CRACIUN, G.; MATEESCU, E. Modification of some properties of polyamide 6 by electron beam induced grafting. ***Applied Radiation and Isotopes***, v.53, p.937-944, 2000.

TSAI, P. J.; MCLNTOSH, J.; PEARCE, P.; CAMDEN, B.; JORDAN, B. R. Anthocyanin, and antioxidant capacity in Roselle (*Hibiscus sabdariffa L.*) extract. ***Food Research International***, v. 35, p. 351-356, 2002.

VAIDYA, S.; BHOSALE, R.; SINGHAL, R.S. Microencapsulation of cinnamon oleoresin by spray-drying using different wall materials. ***Drying Technology***, v. 24, p. 983-992, 2006.

VEIGA-SANTOS, P.; OLIVEIRA, L.M.; CEREDA, M.P.; ALVES, A.J.; SCAMPARINI, A.R.P. Mechanical properties, hydrophilicity, and water activity of starch-gum films: effect of additives and deacetylated xanthan gum. ***Food Hydrocolloids***, v. 19, p. 341–349, 2005.

VERMEYLEN, R.; DERYCKE, V.; DELCOUR, J. A.; GODERIS, B.; REYNAERS, H.; KOCH, M. H. J. Gelatinization of starch in excess water: beyond the melting of lamellar crystallites. A combined wide and small-angle X-ray scattering study. ***Biomacromolecules***, v. 7, n. 9, p. 2624-2630, 2006.

VILLANUEVA-CARVAJAL, A.; DOMINGUEZ-LOPEZ, A.; BERNAL-MARTINEZ, L. R.; DIAZ-BANDERA, D. *Hibiscus sabdariffa* L. confectionery gels, in vitro digestion, antioxidant activity and phenolic compounds quantification: a nutraceutical application. International ***Journal of Food Science and Technology***, v. 48, p. 2659-2667, 2013.

VIZZOTTO, M.; CASTILHO, P. M.; PEREIRA, M. C. Compostos Bioativos e Atividade antioxidante em Cálices de Hibisco (*Hibiscus sabdariffa* L.) Comunicado Técnico 2013. EMBRAPA ISSN 1806-9185, 2009.

WAIGH, T. A. Side-chain liquid-crystalline model for starch. ***Starch-Starke***, v. 52, n. 12, p. 450–460, 2000.

WANG, L.; LIU, LI.; HOLMES, J.; KERRY, J. F.; KERRY, J. P. Assessment of film-forming potential and properties of protein and polysaccharide-based biopolymer films. International ***Journal of Food Science and Technology***, v. 42, p. 1128- 1138, 2007.

WARREN, F. J.; PERSTON, B. P.; ROYALL, P. G.; BUTTERWORTH, P. J.; ELLIS, P. R. Infrared spectroscopy with heated attenuated total internal reflectance enabling precise measurement of thermally induced transitions in complex biological polymers. ***Analytical Chemistry***, v. 85, n. 8, p. 3999 – 4006, 2013.

XIE, M. Nano curcumin prepared via supercritical: Improved anti-bacterial, antioxidant and anti-cancer efficacy***. International journal of pharmaceutics***, v. 496, n. 2, p. 732– 740, 2015.

YOSHIDA, C.M.P.; MACIEL, V. B. V.; MENDONÇA, M. E. D.; FRANCO, T. T. Chitosan biobased and intelligent films: monitoring pH variations. ***LWT - Food Sci. Technol***., v.55, p.83–89, 2014.

YOSHIMURA, E. M. Física das Radiações: interação da radiação com a matéria. Revista Brasileira de Física Médica; v.3, p.57-67, 2009.

YU, L.; CHEN, L. Polymeric material from renewable resources. In: YU, L. (Ed.). Biodegradable polymer blends and composites from renewable resources, p. 1-14, 2009.

ZETASIZER. Nano Series User Manual, MAN0317, vol. 1.1, 2004.

ZHANG, Y.; HAN, J. H. Mechanical and thermal characteristics of pea starch films plasticized with monosaccharides and polyols. ***Journal of Food Science***, v. 71, n. 2, p. 109-118, 2006a.

ZLOTOGORSKI, A.; DAYAN, A.; DAYANA, D.; CHAUSHU, G.; SALO, T.; VERED, M. Nutraceuticals as new treatment approaches for oral cancer – I: Curcumin. Oral Oncology, v. 49, p. 187-191, 2013.

ZOBEL, H. F. Starch crystal transformations and their industrial importance. ***Starch/Stärke***, v. 40, n. 1, p. 1 - 7, 1988.

INSTITUTO DE PESQUISAS ENERGÉTICAS E NUCLEARES
Diretoria de Pesquisa, Desenvolvimento e Ensino
Av. Prof. Lineu Prestes, 2242 – Cidade Universitária CEP: 05508-000
Fone/Fax(0XX11) 3133-8908
SÃO PAULO – São Paulo – Brasil
http://www.ipen.br

O IPEN é uma Autarquia vinculada à Secretaria de Desenvolvimento, associada
à Universidade de São Paulo e gerida técnica e administrativamente pela
Comissão Nacional de Energia Nuclear, órgão do
Ministério da Ciência, Tecnologia, Inovações e Comunicações.