



Universidade Federal da Bahia
Faculdade de Farmácia
Programa de Pós-Graduação em Ciência de Alimentos
Mestrado em Ciência de Alimentos

**EFICÁCIA DA ATIVIDADE ANTIOXIDANTE E
CARACTERIZAÇÃO DE EMBALAGENS ATIVAS
BIODEGRADÁVEIS FORMULADAS COM AMIDO DE
MANDIOCA E DERIVADOS DE CACAU E CAFÉ**

LUCIANA TOSTA SILVA

Salvador
2009

LUCIANA TOSTA SILVA

**EFICÁCIA DA ATIVIDADE ANTIOXIDANTE E
CARACTERIZAÇÃO DE EMBALAGENS ATIVAS
BIODEGRADÁVEIS FORMULADAS COM AMIDO DE
MANDIOCA E DERIVADOS DE CACAU E CAFÉ**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Ciência de Alimentos, Faculdade de Farmácia, Universidade Federal da Bahia, como requisito para a obtenção do grau de Mestre em Ciência de Alimentos.

Orientadora: Professora Dra. Janice Izabel Druzian
Co – orientadora: Professora Dra. Pricila Veiga dos Santos

**Salvador
2009**

Sistema de Bibliotecas - UFBA

S381 Silva, Luciana Tosta.

Eficácia da atividade antioxidante e caracterização de embalagens ativas biodegradáveis formuladas com amido de mandioca e derivados de cacau e café/ Luciana Tosta Silva. - 2009.

148 f. : il.

Inclui anexos.

Orientador: Prof.^a Dr.^a Janice Izabel Druzian.

Co-orientadora: Prof.^a Dr.^a Pricila Veiga dos Santos.

Trabalho de conclusão de curso de especialização (Ciência de Alimentos) - Universidade Federal da Bahia, Faculdade de Farmácia, Salvador, 2009.

1. Embalagens. 2. Biofilme. 3. Antioxidantes. I. Druzian, Janice Izabel. II. Santos, Pricila Veiga dos. III. Universidade Federal da Bahia. Faculdade de Farmácia. IV. Título.

CDD - 688.8

CDU658.788.4

TERMO DE APROVAÇÃO

LUCIANA TOSTA SILVA

EFICÁCIA DA ATIVIDADE ANTIOXIDANTE E CARACTERIZAÇÃO DE EMBALAGENS ATIVAS BIODEGRADÁVEIS FORMULADAS COM AMIDO DE MANDIOCA E DERIVADOS DE CACAU E CAFÉ

DISSERTAÇÃO APROVADA COMO REQUISITO PARCIAL PARA
OBTENÇÃO DO GRAU DE MESTRE EM CIÊNCIA DE ALIMENTOS,
UNIVERSIDADE FEDERAL DA BAHIA, PELA SEGUINTE BANCA
EXAMINADORA:

Profa. Dra. Elaine C. de M. Cabral Albuquerque _____
Doutora em Engenharia Química (UNICAMP)
Universidade Federal da Bahia (UFBA)

Profa. Dra. Francine Ferreira Padilha _____
Doutora em Ciência de Alimentos (UNICAMP)
Universidade Tiradentes (UNIT)

Profa. Dra. Janice Izabel Druzian – Orientadora _____
Doutora em Ciências de Alimentos (UNICAMP)
Universidade Federal da Bahia (UFBA)

Salvador, 27 de Fevereiro de 2009.

**Dedico e agradeço à minha família,
em especial à minha mãe, Yasmin
que sempre me guiou, e esteve ao meu lado,
sem você eu não teria chegado até aqui.**

AGRADECIMENTOS

A Deus por todo alento e força dados nos momentos de dificuldades.

À minha orientadora, prof^a.dra. Janice I. Druzian, por ter me mostrado o caminho da pesquisa, por todos os ensinamentos, pelo conhecimento e incentivo que impulsionaram minha vida profissional.

À Jaff Ribeiro pela amizade e apoio nos momentos de dificuldade, sempre me incentivando e me mantendo no caminho que escolhi.

À Carolina Oliveira por todo apoio durante o desenvolvimento do projeto e também pela amizade.

Aos estagiários, Anderson, Lívia e Emily, pelas incontáveis horas que vocês passaram lavando plaquinhas, preparando e selando os filmes.

A toda a equipe LAPESCA, que de forma direta ou indireta contribuiu para o desenvolvimento do trabalho.

Aos professores do Departamento de Análises Bromatológicas da Faculdade de Farmácia da UFBA pela fundamentação, pela ajuda profissional e por todo incentivo que foram essenciais para esta conquista.

Aos funcionários da Faculdade de Farmácia da UFBA por todo suporte.

À FAPESB pela concessão da bolsa de mestrado.

Aos colegas de mestrado pelo compartilhamento de dificuldades e alegrias durante toda essa jornada, em especial Cassiane Oliveira e Leonardo Maciel.

A todos aqueles que de algum modo colaboraram para a realização deste trabalho.

Obrigado!

**“A mente que se abre a uma nova
idéia jamais voltará ao tamanho original”**

Albert Einstein

LISTA DE FIGURAS

CAPÍTULO I

Figura 1. Formação de dienos conjugados.....	34
Figura 2. Formação do hexanal e do pentano.....	34
Figura 3. Estrutura química dos principais antioxidantes sintéticos.....	37
Figura 4. Estrutura química dos flavonóides.....	39
Figura 5. Estrutura química dos ácidos hidroxibenzóicos (a) e hidroxicinâmicos (b).....	40
Figura 6. Estrutura química de Flavan-3-ol e Flavan-3,4-diol.....	41
Figura 7. Principais países produtores de cacau - 2006/2007.....	42
Figura 8. Alguns compostos fenólicos presentes no cacau.....	44
Figura 9. Produção de café beneficiado – safra 2007/2008	46
Figura 10. Estrutura molecular dos principais ácidos clorogênicos presentes no café.	48

CAPÍTULO II

Figura 1. Teores de polifenóis totais e de flavonóides totais nos biofilmes, após a formação do biomaterial (dia 0)($p < 0,05$). As análises foram realizadas em duplicata, e os resultados expressos em mg/g, indicando também o desvio padrão.	70
Figura 2. Reduções nos teores de polifenóis totais dos biofilmes, após 45 dias de estocagem ($p < 0,05$). As análises foram realizadas em duplicata, e os resultados expressos em mg/g, indicando também o desvio padrão.....	71
Figura 3. Reduções nos teores de flavonóides totais dos biofilmes, após 45 dias de estocagem ($p < 0,05$). As análises foram realizadas em duplicata, e os resultados expressos em mg/g, indicando também o desvio padrão (A); Comportamento das reduções de polifenóis totais (PT) e de flavonóides totais (FT) (B).....	73
Figura 4. Gráficos de Pareto das reduções nos teores de flavonóides totais (A) e de polifenóis totais (B), após 45 dias de estocagem.	75
Figura 5. Superfícies de resposta da perda no teor de flavonóides totais, FT (A) e polifenóis totais, PT (B), ambos em mg/g, após 45 dias de estocagem.	76
Figura 6. Comparação do aumento no teor de índice de peróxidos dos três controles com as 11 formulações, após 45 dias de estocagem. As análises foram realizadas em duplicata, e os resultados expressos em meq/Kg, indicando também o desvio padrão.....	77
Figura 7. Gráfico de Pareto do aumento no índice de peróxidos, após 45 dias de estocagem.....	79

Figura 8. Superfície de resposta do aumento no índice de peróxido (meq/Kg) do azeite de dendê embalado nos biofilmes, após 45 dias de estocagem..... 80

Figura 9. Comparação da perda no teor de carotenóides totais ($\mu\text{g/g}$) dos três controles (C1 – biofilme de amido sem antioxidantes, C2 - filmes de PEBD e C3 – sem embalagem) e das diferentes formulações de biofilmes, após 45 dias de estocagem ($p < 0,05$). Análises realizadas em duplicada, apresentando também o desvio padrão..... 81

Figura 10. Aumento nos teores de hexanal ($\mu\text{g/mL}$) e de dienos conjugados ($\text{mg}/100\text{g}$) dos controles (C1 – biofilme de amido sem antioxidantes, C2 - filmes de PEBD e C3 – sem embalagem) e das formulações F1, F5, F7 e F8 após 45 dias de estocagem do azeite de dendê..... 82

CAPÍTULO III

Figura 1. Espectro FTIR (cm^{-1}) dos biofilmes: (A) Controle (C), formulação sem cacau e café; (B) FA, formulação com 0,30% de pó de cacau e 0,07% de extrato de café; (C) FB, formulação com 1,00% de pó de cacau e 0,23% de extrato de café; (D) FC, formulação com 1,70% de pó de cacau e 0,39% de extrato de café. 97

Figura 2. Termogramas DSC do controle C (—) e das formulações FA (—), FB (—) e FC (—) nas varreduras: A) -40°C a 40°C ; B) 40°C a -40°C ; C) -40°C a 200°C e D) Varredura completa (A, B e C juntos). 100

Figura 3. Gráficos de porcentagem de alongação (%) e de resistência à tração (mPA) do controle (C) e das formulações FA (0,30% de pó de cacau e 0,07% de extrato de café), FB (1,00% de pó de cacau e 0,23% de extrato de café) e FC (1,70% de pó de cacau e 0,39% de extrato de café), valores mínimos (1) e máximos (2) dentre 7 medidas. 103

LISTA DE TABELAS

CAPÍTULO I

Tabela 1. Classe de compostos fenólicos em plantas.. 38

Tabela 2. Composição química do grão de café cru de diferentes variedades.47

CAPÍTULO II

Tabela 1. Valores codificados e reais (%) das variáveis independentes do delineamento estatístico..... 65

Tabela 2. Teores de polifenóis totais e de flavonóides totais nos biofilmes durante a estocagem (0, 7, 15, 30 e 45 dias)..... 70

Tabela 3. Matriz CCD envolvendo as variáveis independentes X_1 (Pó de Cacau) e X_2 (Extrato de Café) com valores codificados (e real (%)). Aumento do índice peróxidos (IP, meq/kg (%)), perda do teor de carotenóides totais (CT, $\mu\text{g/g}$ (%)), perda nos teores de polifenóis totais (PT, mg/g (%)) e flavonóides totais (FT, mg/g (%)) presentes do produto embalado nas 11 amostras de biofilmes e nos controles: C1 (biofilme sem adição dos antioxidantes), C2 (filme de PEBD) e C3 (produto sem embalagem), após 7, 15, 30 e 45 dias de armazenamento. 72

Tabela 4. ANOVA para o modelo quadrático da perda nos teores de polifenóis totais e flavonóides totais dos biofilmes após 45 dias de estocagem..... 75

Tabela 5. ANOVA para o modelo quadrático do aumento no índice de peróxidos do produto embalado (azeite de dendê) após 45 dias de estocagem. 79

Tabela 6. Aumentos nos teores de hexanal ($\mu\text{g/mL}$) e de dienos conjugados (mg/100g) dos controles C1 (Biofilme sem antioxidantes), C2 (PEBD), C3 (produto sem embalagem) e das amostras F1 (concentração mínima de antioxidante), F5 (contendo somente pó de café), F7 (contendo somente pó de cacau) e F8 (concentração máxima de antioxidante) após 45 dias de estocagem..... 82

CAPÍTULO III

Tabela 1. Concentrações de pó de cacau e de extrato de café (%) adicionados aos biofilmes. 92

Tabela 2. Principais bandas obtidas dos espectros de infravermelho dos biofilmes. 96

Tabela 3. Resultados das propriedades mecânicas do controle C e das amostras F1 (0,30% de pó de cacau e 0,07% de extrato de café), F2 (1,00% de pó de cacau e 0,23% de extrato de café) e F3 (1,70% de pó de cacau e 0,39% de extrato de café): PA, porcentagem de alongamento (%); RT, resistência à

tração (mPA); PVD, permeabilidade ao vapor de água ($\text{gH}_2\text{O} \cdot \mu\text{m}/\text{m}^2 \cdot \text{h} \cdot \text{mmHg}$);
Tgs, temperatura de transição vítrea ($^{\circ}\text{C}$); e ΔH_s , entalpia (J/g). 101

Sumário

INTRODUÇÃO GERAL	16
OBJETIVOS.....	19
Objetivos gerais	19
Objetivos específicos	19
CAPÍTULO 1	20
REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	20
1. EMBALAGENS	21
1.1. EMBALAGENS ATIVAS.....	22
1.2. EMBALAGENS BIODEGRADÁVEIS.....	24
1.3. CARACTERIZAÇÃO DOS BIOFILMES.....	27
1.3.1. Espessura	27
1.3.2. Propriedades mecânicas	28
1.3.3. Propriedades de barreira.....	29
1.3.4. Análises térmicas	30
2. OXIDAÇÃO LIPÍDICA.....	31
3. ANTIOXIDANTES.....	35
3.1. COMPOSTOS FENÓLICOS	37
3.2. CACAU.....	41
3.3. CAFÉ.....	45
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	48
CAPÍTULO 2	59
AVALIAÇÃO DA EFICÁCIA DOS COMPOSTOS FENÓLICOS DERIVADOS DE CACAU E CAFÉ COMO ADITIVOS ANTIOXIDANTES EM BIOFILMES DE AMIDO DE MANDIOCA	60
RESUMO.....	60
ABSTRACT.....	61
1. INTRODUÇÃO	61
2. MATERIAIS E MÉTODOS.....	64
2.1. MATERIAIS.....	64
2.2. PLANEJAMENTO ESTATÍSTICO	64
2.3. PREPARAÇÃO DOS BIOFILMES.....	65
2.4. MOLDAGEM DOS BIOFILMES.....	65
2.5. CARACTERIZAÇÃO DO AZEITE DE DENDÊ EMBALADO NOS BIOFILMES	66
2.5.1. Índice de peróxidos	66
2.5.2. Teor de dienos conjugados	66
2.5.3. Teor de carotenóides totais	66
2.5.4. Teor de hexanal.....	67
2.6. CARACTERIZAÇÃO DOS BIOFILMES.....	67
2.6.1. Teor de polifenóis totais	67
2.6.2. Teor de flavonóides totais	68
3.0. RESULTADOS E DISCUSSÃO	68
4.0. CONCLUSÕES.....	83
AGRADECIMENTOS.....	83
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	83

CAPÍTULO 3	87
INCORPORAÇÃO DE CAFÉ E CACAU EM BIOFILMES DE AMIDO DE MANDIOCA: PROPRIEDADES FÍSICO-QUÍMICAS, MECÂNICAS E TÉRMICAS	88
RESUMO	88
ABSTRACT.....	89
3.0. INTRODUÇÃO.....	90
3.0. MATERIAIS E MÉTODOS	92
3.1. MATERIAIS	92
3.2. PREPARAÇÃO DOS BIOFILMES.....	92
3.3. CARACTERIZAÇÃO TÉRMICA E MECÂNICA DOS BIOFILMES .	93
3.3.1. Espessura	93
3.3.2. Caracterização por infravermelho (FTIR)	93
3.3.3. Propriedades mecânicas	93
3.3.4. Permeabilidade ao vapor de água.....	94
3.3.5. Teor de sólidos totais	94
3.3.6. Temperatura de transição vítrea.....	94
4.0. RESULTADOS E DISCUSSÃO	95
5.0. CONCLUSÕES	104
AGRADECIMENTOS	105
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	105
CONCLUSÕES GERAIS	109
ANEXO I.....	111
ANEXO II.....	135
ANEXO IV	140

RESUMO

Na busca por fontes naturais derivados de plantas como alternativa aos antioxidantes sintéticos, foi avaliado o uso de fontes de compostos fenólicos derivados de cacau e café como aditivos em embalagens biodegradáveis ativas de amido de mandioca e plastificantes, e estas embalagens foram caracterizadas quanto às propriedades térmicas e mecânicas. A vida de prateleira de azeite de dendê (AD) embalado nos biofilmes contendo aditivos ricos em compostos fenólicos (0-2% m/m de pó de cacau e/ou 0-0,46% m/m de café) foi monitorada por 45 dias sob condições de oxidação acelerada (63%UR/30°C). AD embalado com biofilme sem os aditivos antioxidantes (C1), polietileno de baixa densidade - PEBD (C2) e sem embalagem (C3) foram usados como controles. Após 45 dias de armazenamento o AD embalado com os biofilmes que continham as maiores concentrações dos aditivos antioxidantes, apresentaram os menores índices de oxidação. Para avaliação das propriedades térmicas (DSC) e mecânicas (elongação) dos biofilmes, um biofilme de amido de mandioca sem os aditivos foi utilizado como controle (C). Os biofilmes contendo os aditivos apresentaram mudanças significativas nas análises de Infravermelho, permeabilidade ao vapor de água, e nas propriedades mecânicas e térmicas ($p < 0,05$). A permeabilidade ao vapor de água diminuiu quando incorporadas as maiores concentrações de aditivos (FB – 1,00% m/m de pó de cacau e 0,23% m/m de extrato de café e FC – 1,70% m/m de pó de cacau e 0,39% m/m de extrato de café). A elongação e a resistência à tração dos biofilmes variaram de -17,86 até 312% e 42,33 a 54,67%, respectivamente, em relação ao controle, dependendo das quantidades de café e cacau adicionadas. Nas formulações com as quantidades máximas de aditivos (FC) surgiram novas temperaturas de transição vítrea (T_g s), mas a concentração mínima dos aditivos (FA - 0,30% de pó de cacau e 0,07% de extrato de café) diminuiu as T_g s. Portanto, a incorporação de cacau e café nos biofilmes de amido de mandioca conferiu um pronunciado efeito protetor contra a oxidação lipídica, alterando as propriedades mecânicas e térmicas.

Palavras-chaves: Café e cacau, aditivos, antioxidantes, compostos fenólicos, embalagem ativa, biofilmes de amido de mandioca.

ABSTRACT

At the search for antioxidants naturally occurring in plants as alternative to synthetic antioxidants, the main objectives of this study were evaluated the use of coffee and cocoa phenolic compounds as antioxidant additive for bio-based cassava starch-plasticizers packaging, also characterize the thermo and mechanical properties of the bio-based films. Shelf life over accelerated oxidation (63%RH/30°C) of Palm oil (PO) packed with the bio-based materials with phenolic compounds additives (coffee powder and cocoa powder) were monitored for 45 days. PO packed with cassava starch films (without antioxidants) (C1), LDPE (C2) and without packaging (C3), served as controls. Results have indicated that after 45 days of storage products packed with bio-based films containing the highest phenolic compounds concentration presented the lowest oxidation. To evaluate the thermo and mechanical properties a bio-based film without additives (C) served as control. Results have indicated that bio-based films containing the additives affected the materials IR spectrums, water vapor permeability, thermal and mechanical properties ($p < 0,05$). The water vapor permeability had a decrease when the additives were increased at high concentration (FB – 1.0% of cocoa powder and 0.23% of coffee extract, FC – 1.7% of cocoa powder and 0.39% os coffee extract), the elongation and the tensile strength of the films demonstrated its values at - 17.86 until 312% and 42.33 until 54.67%, comparing with control (C), depending its concentration. The glass transition temperature (Tgs) were significantly ($p < 0.05$) altered, with maximum additives concentration there was an increase in the Tgs number; however at minimum additives concentrations (FA – 0.30% of cocoa powder and 0.07% of coffee extract) was a decrease in Tgs number. Thus, the combination of coffee and cocoa phenolic compounds in the bio-based cassava starch-plasticizers packaging conferred the highest antioxidative properties. Also the physical properties of edible films can be affected by the cocoa and coffee additives, altering biofilm performance.

Key-words: coffee and cocoa, additives, antioxidant, phenolic compounds, active packaging, cassava bio-based film, thermal and mechanical properties.

INTRODUÇÃO GERAL

A oxidação lipídica é a principal causa do aparecimento de sabores e odores estranhos em alimentos. Além de promover a redução dos níveis de ácidos graxos essenciais e nutrientes, reduzindo a qualidade do produto e conseqüentemente a sua vida de prateleira. A oxidação lipídica é uma das reações de degradação mais importantes visto que esta pode ocorrer em alimentos que contenham apenas 1% de gordura.

Nos últimos anos, a preocupação constante de oferecer aos consumidores produtos de alta qualidade levou à adoção de medidas que permitam limitar o fenômeno de oxidação durante as fases de processamento e armazenagem dos produtos, como a escolha de processos que limitem o contato com o oxigênio e o tratamento térmico; utilização de matérias-primas refinadas, com baixos teores de água e isentas de pró-oxidantes; armazenamento a baixas temperaturas e em atmosfera inerte; adição de compostos antioxidantes; utilização de embalagens estanques e opacas à radiação UV, e mais recentemente embalagens ativas.

A fim de reduzir ou retardar a oxidação lipídica, frequentemente são adicionados, no produto ou na embalagem, substâncias antioxidantes, que são capazes de remover o oxigênio do meio ou impedir a reação em cadeia produzida pelos radicais livres formados durante o processo de oxidação. Comumente são utilizados antioxidantes sintéticos dentre os quais, os mais utilizados são o BHA (Butil-hidroxianisol) e BHT (Butil-hidroxitolueno). Atualmente a utilização dos antioxidantes sintéticos tem sido bastante questionada, devido ao aparecimento de diversos estudos que alegam que estes antioxidantes podem promover efeitos tóxicos e carcinogênicos no organismo. Devido a esta grande preocupação com a segurança alimentar da população, tem crescido a busca de produtos naturais que possam servir como fontes de antioxidantes, para substituir aos antioxidantes sintéticos.

Uma das técnicas utilizadas para prevenção da oxidação lipídica em alimentos, é a utilização das embalagens ativas com ação antioxidante. Estas embalagens, além de proteger fisicamente o produto, interagem com o mesmo prolongando a sua vida de prateleira. As embalagens ativas podem ter função

antimicrobiana, absorvedora de umidade, absorvedora de luz UV, dentre outras.

Entre os diversos tipos de embalagens ativas conhecidas, as antioxidantes, que liberam compostos antioxidantes para o produto embalado são de grande importância para as indústrias, principalmente as do ramo alimentício e farmacêutico e vem despertando grande interesse na comunidade científica.

Em geral estas embalagens têm sido produzidas com material polimérico convencional derivado de petróleo, gerando problemas ambientais acarretados pelo seu descarte indiscriminado.

Existe, portanto, um crescente interesse do setor industrial no desenvolvimento de embalagens biodegradáveis e obtidas a partir de fontes renováveis, como é o caso de filmes processados a partir de materiais biológicos como o amido.

Embora muitos materiais ativos já tenham sido estudados, poucos abordam a utilização de compostos naturais e comestíveis e também de matrizes biodegradáveis. Dentre as poucas patentes relacionadas à utilização de agentes naturais antioxidantes, a maioria não está diretamente relacionada à aplicação em embalagens e raros são os trabalhos envolvendo embalagens biodegradáveis.

Portanto, a utilização de matrizes produzidas a partir de matérias-primas produzidas no país como a mandioca e a sacarose, é uma forma de valorizar os produtos da agroindústria brasileira, além de possibilitar um aumento na produção destes produtos e evitar gastos com importação de matéria-prima.

Considerando alguns compostos naturais e comestíveis com ação antioxidante comprovada, destacam-se os compostos fenólicos (MAJO *et al.*, 2005; LECUMBERRI, *et al.*, 2007). Entre os diversos produtos naturais contendo compostos fenólicos de possível aplicação em biomateriais, destacam-se o cacau e o café por possuírem aromas agradáveis e compatíveis e principalmente por serem importantes para a agricultura Baiana e Brasileira. O Brasil produziu em 2007, 221 mil toneladas de cacau e 2 milhões de toneladas de café (FAOSTAT, 2009).

A ação antioxidante do cacau (AZIZAH *et al.*, 1999) e do café (PARRAS, *et al.*, 2007) é comprovada, embora seus derivados ainda não tenham sido utilizados como aditivos para embalagens.

A utilização desses aditivos na confecção de um filme que além de biodegradável pode também ter ação antioxidante, poderia viabilizar a utilização industrial de embalagens que, além de serem biodegradáveis e advindas de fontes renováveis, também são de baixo custo. Para o Brasil, a viabilização de tais embalagens representaria, além da detenção da tecnologia de produção de um material de grande interesse industrial e ecológico, também uma forma de agregar valor a importantes matérias-primas produzidas no país. Também têm como vantagem o fato de serem considerados GRASS (reconhecidos como seguros para a alimentação) e, portanto não oferecem riscos ao consumidor de alimentos ou fármacos, caso sejam acidentalmente ingeridos.

A utilização dos derivados de cacau e café como agentes antioxidantes, pode ser estendida para outros tipos de embalagens biodegradáveis que já sejam economicamente viáveis e utilizadas industrialmente, como as embalagens à base de PHA (Polihidroxialcanoatos), PHB (polihidroxibutirato), PLA (ácido polilactídeo) ou filmes e cápsulas feitos à base de gelatina.

OBJETIVOS

Objetivos gerais

Avaliar a viabilidade da utilização de derivados de cacau e café como ingredientes com ação antioxidante em embalagens biodegradáveis ativas à base de amido de mandioca e plastificantes buscando agregar valor a matérias-primas importantes para a agricultura Baiana e Brasileira.

Objetivos específicos

1. Definir metodologia para elaboração dos filmes flexíveis com os aditivos a serem investigados, garantindo a produção de um material homogêneo;
2. Avaliar a ação antioxidante do material através de análises de vida de prateleira de um produto (azeite de dendê) embalado nos biomateriais através das análises de: índice de peróxidos, teor de carotenóides totais, teor de dienos conjugados e teor de hexanal durante 45 dias de estocagem;
3. Avaliar a degradação dos compostos antioxidantes após a formação do biomaterial e durante a estocagem através do monitoramento do teor de flavonóides e fenóis totais nos biofilmes;
4. Avaliar o efeito da adição dos derivados de cacau e café na matriz biodegradável, através das análises de espessura, teor de sólidos totais, porcentagem de alongamento, resistência à tração, permeabilidade ao vapor de água, temperatura de transição vítrea e caracterização por infravermelho.

Capítulo 1

Revisão Bibliográfica

Capítulo 1

Revisão Bibliográfica

1. EMBALAGENS

As primeiras "embalagens" surgiram há mais de 10.000 anos e serviam como simples recipientes para beber ou estocar. Esses primeiros recipientes, como cascas de coco ou conchas do mar, usados em estado natural, sem qualquer beneficiamento, passaram com o tempo a ser obtidos a partir da habilidade manual do homem. Tigelas de madeira, cestas de fibras naturais, bolsas de peles de animais e potes de barro, entre outros ancestrais dos modernos invólucros e vasilhames, fizeram parte de uma segunda geração de formas e técnicas de embalagem (ABRE, 2009).

Ao longo do tempo, à medida que novas necessidades iam surgindo, novas tecnologias e novos produtos passaram a ser utilizados no desenvolvimento de embalagens (COLES, 2003). Atualmente, a crescente preocupação com a segurança alimentar, a extensão da vida de prateleira, a relação custo-eficiência, a conveniência para o consumidor e problemas ambientais, têm impulsionado o desenvolvimento de novas embalagens bem como de novas matérias-primas para a sua elaboração (AHVENAINEN, 2003; COLES, 2003).

As embalagens apresentam diversos benefícios, como a proteção contra as condições ambientais tais como luz, oxigênio, umidade, microrganismos, stress mecânico e poeira, asseguram a correta informação sobre a utilização do produto, previnem ou reduzem os danos ao produto, apresentam conveniência de uso para o consumidor (embalagens de fácil abertura, mecanismos de dosagem, etc.), reduzem ou eliminam os riscos de adulteração, aumentam a vida de prateleira e reduzem os custos de produção, (AHVENAINEN, 2003; COLES, 2003). Alguns dos requerimentos básicos de uma embalagem são: boas propriedades de mercado, preços razoáveis, viabilidade técnica, adequada para contato com alimentos, possibilidade de reciclagem ou reutilização e, baixo impacto ambiental (AHVENAINEN, 2003).

Tradicionalmente, os materiais de embalagens têm sido selecionados no sentido de ter mínima interação com o alimento que acondicionam, constituindo assim barreiras inertes. Nas últimas décadas, diversos sistemas de embalagem têm sido desenvolvidos com o objetivo de interagir de forma desejável com o alimento (AZEREDO *et al.*, 2000). Estas embalagens podem agir monitorando as condições do produto embalado, oferecendo informações sobre o mesmo durante seu transporte ou estocagem, sendo denominadas de embalagens inteligentes (AHVENAINEN, 2003). Estes sistemas podem ser utilizados dentro ou fora da embalagem, podem ser indicadores de oxigênio, agindo através de reações redox; indicadores de dióxido de carbono, agindo através da mudança de coloração à medida que o teor de CO₂ vai reduzindo; indicadores de crescimento bacteriano e indicadores de patógenos, que reagem com metabólitos produzidos durante o crescimento de microrganismos no produto; e indicadores de tempo-temperatura, que fornecem uma história do produto através de integradores tempo-temperatura ao qual o alimento foi exposto, fornecendo uma indicação visual da vida de prateleira remanescente ou apenas uma indicação se o tempo-temperatura total excedeu um valor pré-determinado (AZEREDO *et al.*, 2000; AHVENAINEN, 2003).

Outro tipo de embalagem que interage de forma desejável com o alimento, são as embalagens ativas. Estas embalagens agem interagindo com o produto embalado de forma a aumentar a vida de prateleira, aumentar a segurança ou melhorar as propriedades sensoriais, mantendo a qualidade do produto (VERMEIREN *et al.*, 1999; AHVENAINEN, 2003; AZEREDO *et al.*, 2000; DAY, 2003).

1.1. EMBALAGENS ATIVAS

As embalagens ativas surgem na tentativa de satisfazer consumidores cada vez mais exigentes (ROONEY, 1995). Estas embalagens, além de proteger, também interagem com o produto (ROONEY, 1995; VERMEIREN *et al.*, 1999), trazendo benefícios extras em relação às embalagens convencionais. O sistema ativo pode ser parte integral da embalagem ou ser um componente separado, posicionado no interior da embalagem (HONG & PARK, 2000). Estes sistemas agem, principalmente absorvendo ou liberando compostos dentro da embalagem (AHVENAINEN, 2003).

As embalagens que tem como função principal a absorção de compostos que favorecem a deterioração, estes compostos são geralmente incorporados ao sistema sob a forma de sachês, mas, em alguns casos, podem ser incorporados diretamente à interface das embalagens, ou ainda na forma de discos acoplados à tampa de garrafas. Os absorvedores incorporados na forma de sachês não são adequados para utilização em produtos líquidos; além disso, podem não conferir proteção uniforme ao produto; já os absorvedores adicionados diretamente à embalagem protegem todo o produto da entrada de gases por permeação. Em relação ao uso de sachês, devem ser considerados dois riscos potenciais: risco de ingestão (especialmente por parte de crianças), mesmo se o conteúdo do sachê não for tóxico, e mesmo que exista um rótulo com instruções claras para que o sachê não seja ingerido, e "vazamento" do conteúdo para o alimento, com conseqüente adulteração do produto (ROONEY, 1995).

Dentre os principais sistemas absorvedores, encontram-se os absorvedores de oxigênio, que agem reduzindo o crescimento bacteriano e prevenindo a oxidação de lipídios, vitaminas e pigmentos; absorvedores de dióxido de carbono, que removem o CO₂ liberado durante a estocagem, evitando o rompimento da embalagem; absorvedores de etileno, que previnem o amadurecimento rápido de frutas e verduras; absorvedores de umidade, que reduzem o excesso de umidade no produto, e previnem o crescimento bacteriano (AZEREDO *et al.*, 2000; AHVENAINEN, 2003; DAY, 2003); absorvedores de odores e sabores indesejáveis, que reduzem a liberação de compostos com odor ou sabor desagradáveis (*off-flavors*), reduzindo a rejeição do produto pelo consumidor (AZEREDO *et al.*, 2000; DAY, 2003) e os absorvedores de radiação ultravioleta, que retardam os processos oxidativos (AZEREDO *et al.*, 2000; AHVENAINEN, 2003; DAY, 2003).

Dentre os principais sistemas liberadores temos os liberadores de CO₂, que inibem o crescimento de bactérias gram negativas (AHVENAINEN, 2003); liberadores de etanol, que inibem o crescimento bacteriano (AZEREDO *et al.*, 2000; AHVENAINEN, 2003, DAY, 2003); liberadores de antimicrobianos, que inibem o crescimento de bactérias patogênicas (AHVENAINEN, 2003) e os que contêm antioxidantes, que inibem a oxidação de lipídios, aumentando a vida de

prateleira e reduzindo a perda de nutrientes (AZEREDO *et al.*, 2000; AHVENAINEN, 2003, DAY, 2003).

A principal preocupação da indústria de alimentos sobre a introdução destes sistemas ativos é o possível receio dos consumidores. Por este motivo ainda são necessários estudos sobre a reação do consumidor quanto a estes produtos, bem como sobre os seus impactos. Atualmente ainda é pequeno o mercado para estes sistemas, mas a tendência é que a sua utilização tenha um aumento gradual, à medida que mais estudos forem desenvolvidos, ganhando a confiança do consumidor (AHVENAINEN, 2003).

1.2. EMBALAGENS BIODEGRADÁVEIS

No desenvolvimento de embalagens, era importante descobrir materiais cada vez mais duráveis para utilização diária no mercado e dentre estes estavam os plásticos, com grande variedade de aplicações, devido a suas propriedades, versatilidade de uso e baixo custo. Como o uso dos plásticos vem aumentando muito no mundo todo (mais de 100 milhões de t/ano de plásticos produzidos), conseqüentemente é grande a quantidade de resíduos plásticos descartados no meio ambiente, isto é, 20% do volume total. Os plásticos sintéticos, materiais formados de macromoléculas, denominados polímeros (do grego: poli=muitos, meros=partes, unidades), são muito resistentes à degradação natural, quando descartados no meio ambiente, isto é, em aterros ou lixões municipais, daí seu acúmulo cada vez mais crescente. O consumo de plásticos *per capita* no mundo é de 19 kg, sendo que nos EUA é de 80 kg, na Europa 60 kg e na Índia 2 kg (FRANCHETTI & MARCONATO, 2006). Os plásticos mais utilizados na vida diária, desde 1940, têm sido polietileno (PE), polipropileno (PP), poliestireno (PS), poli(tereftalato de etileno) (PET) e poli(cloreto de vinila) (PVC) (FRANCHETTI & MARCONATO, 2006; ABRE, 2009) que, apesar do avanço no processamento e fabricação, geram dois grandes problemas: o uso de fonte não-renovável (como o petróleo) para obtenção de sua matéria-prima, e a grande quantidade de resíduos gerada para descarte. Além disso, é sabido que muitos plásticos exigem mais de 100 anos para degradação total, devido a sua alta massa molar média e hidrofobicidade que dificultam a ação dos microrganismos e de suas enzimas na superfície do polímero (FRANCHETTI & MARCONATO, 2006).

O crescente interesse em melhorar a qualidade do meio ambiente, aliado ao acúmulo de lixo não biodegradável, tem incentivado pesquisas em todo o mundo no sentido de incrementar e desenvolver embalagens biodegradáveis provindas de fontes renováveis (THARANATHAN, 2003; OLIVATO *et al.*, 2006; PORTES *et al.*, 2008).

As macromoléculas biológicas mais estudadas para este fim são as proteínas e os polissacarídeos, polímeros capazes de formar matrizes contínuas e, que através de diversas técnicas de produção, podem ser transformados em filmes e revestimentos comestíveis e/ou biodegradáveis (GUILBERT *et al.*, 1996; KROCHTA & MULDER-JOHNSTON, 1997; OLIVATO *et al.*, 2006).

A utilização de filmes e revestimentos comestíveis para a proteção de alimentos já era empregada em tempos passados de forma empírica. Entre os primeiros filmes biodegradáveis e comestíveis estão os elaborados a partir do amido, por serem uma alternativa mais viável economicamente às resinas tradicionais (GUILBERT *et al.*, 1996; KIM *et al.*, 2000) e por advirem de fontes renováveis. Tais filmes possuem moderada permeabilidade ao oxigênio, baixa barreira à umidade e baixa resistência mecânica. Adquirem propriedades termoplásticas quando plastificantes, como a água, são adicionados (MAIA *et al.*, 2000).

Embora a utilização de amidos na produção de biofilmes tenha sido bastante estudada (ARVANITOYANNIS & BILIADERIS, 1998; FISHMAN *et al.*, 2000; GARCIA *et al.*, 2000), poucos artigos enfocam amidos de fontes tropicais como a mandioca, que é uma cultura mais adaptada às condições sul-americanas. Alguns estudos têm mostrado o amido de mandioca como um material viável na formação de revestimentos, também chamados de *coatings* (HENRIQUE & CEREDA, 1999; FAMÁ *et al.*, 2006) e de filmes flexíveis (PARRA *et al.*, 2004; VEIGA-SANTOS *et al.*, 2007; GRISI *et al.*, 2008).

A obtenção de biofilmes a partir de amido de mandioca é baseada na sua gelificação, que ocorre com aquecimento acima de 70°C, seguido de resfriamento. Ocorre então a retrogradação, com conseqüente formação de um filme transparente, com alto brilho, atóxico e de baixo custo (HENRIQUE & CEREDA, 1999). Os filmes de amido são insolúveis e impermeáveis a lipídios,

ou seja, podem ser empregados na embalagem de alimentos com altos teores de lipídios sem qualquer alteração de sua estrutura (RYU *et al.*, 2002).

A utilização de aditivos, ou alterações de processamento, que melhorem características mecânicas ou de barreira de filmes biodegradáveis elaborados à base de amido de mandioca, poderia viabilizar a utilização industrial de embalagens que, além de serem biodegradáveis e advindas de fontes renováveis, também são de baixo custo. Para o Brasil, a viabilização de tais biofilmes representaria, além da detenção da tecnologia de produção de um material de grande interesse industrial e ecológico, também uma forma de agregar valor a importantes matérias-primas produzidas no país, como a mandioca e a sacarose (VEIGA-SANTOS & SCAMPARINI, 2004).

A mandioca, *Manihot esculenta* Crantz, é uma planta perene, arbustiva, pertencente à família das Euforbiáceas. A parte mais importante da planta é a raiz. As raízes de mandioca apresentam em média 62,0 % de umidade, 1,3 % de fibras, 34,0 % de carboidratos e 1,1 % de cinzas (FRAIFE & BAHIA, 2009).

O cultivo da mandioca é de grande relevância econômica como principal fonte de carboidratos para milhões de pessoas, essencialmente nos países em desenvolvimento. O Brasil possui aproximadamente dois milhões de hectares, é um dos maiores produtores mundiais, com produção de 23 milhões de toneladas de raízes frescas de mandioca (FRAIFE & BAHIA, 2009). É um dos principais produtos, em área plantada, da Região Norte, seja para fins comerciais seja para subsistência (PARENTE *et al.*, 2003).

A mandioca é uma raiz eminentemente calórica, sendo o amido o principal carboidrato (FRAIFE & BAHIA *et al.*, 2009). Por ser a mandioca rica em amido, este é o principal produto obtido a partir dela, pois dele obtém-se o maior número de aplicações e subprodutos (PARENTE *et al.*, 2003).

O amido de mandioca, também conhecido como fécula, polvilho doce ou goma, é um pó fino, branco, inodoro, insípido e produz ligeira crepitação quando comprimido entre os dedos. É um polissacarídeo natural, constituído de cadeias lineares (amilose), com cerca de 18%, e cadeias ramificadas (amilopectina) com cerca de 82% e, obtido através de raízes de mandioca devidamente limpas, descascadas, trituradas, desintegradas, purificadas, peneiradas, centrifugadas, concentradas, desidratadas e secas. É extremamente versátil e alcança uma eficiência incomparável em todas as suas

aplicações (PARENTE *et al.*, 2003). É utilizado como ingrediente gerador de uma série de produtos em diversas áreas de atividade industrial, como as de alimentos embutidos, de embalagens, de colas, de mineração, têxtil e farmacêutica (ARIENTE *et al.*, 2005).

1.3. CARACTERIZAÇÃO DOS BIOFILMES

Bofilmes produzidos a base de amido são largamente estudados por não apresentar sabor, odor ou cor e por apresentar baixa permeabilidade ao oxigênio, em baixas condições de umidade relativa. Porém estes biofilmes apresentam uma alta permeabilidade ao vapor de água, quando comparados com filmes de polietileno de baixa densidade (PEBD). Além disso, apresentam uma moderada resistência à tração e porcentagem de alongamento, tornando-se quebradiços em condições de baixa umidade (PHAN THE, 2009).

Com o objetivo de melhorar as características dos biofilmes de amido, usualmente são adicionados agentes plastificantes, dentre os quais os mais utilizados são os polióis (glicerol, sorbitol, etc.), sacarose, açúcar invertido dentre outros (VEIGA-SANTOS *et al.*, 2007; ZULLO & IANNACE, 2009). A adição destes produtos melhora a resistência ao vapor de água, diminuem a resistência a tração, aumentam o alongamento e alteram a temperatura de transição vítrea do material (HENRIQUE & CEREDA, 1999; VEIGA-SANTOS, 2004; HAYASHI *et al.*, 2006).

A utilização de aditivos com atividades antimicrobianas, antifúngicas, antioxidantes, dentre outros, alteram as características dos biofilmes de amido sendo recomendada a caracterização físico-química, térmica e mecânica, sempre que algum tipo de aditivo seja incorporado.

Dentre as análises de caracterização mais comumente realizadas encontram-se: espessura, sólidos totais, porcentagem de alongamento, resistência à tração, permeabilidade ao vapor de água, dentre outras.

1.3.1. Espessura

Para a formação de filmes, pode ser utilizado o método de secagem por moldagem, onde a suspensão formadora de filme é depositada sobre um molde ou superfície e, posteriormente, seca, geralmente em estufas ou

secadores de bandeja. Devido ao processo de fabricação utilizado, defeitos podem ocorrer nos filmes, podendo afetar o desempenho da embalagem confeccionada com este material. Um dos mais graves defeitos de fabricação dos filmes biodegradáveis por moldagem é a heterogeneidade de espessura. Variações na espessura de um material podem afetar suas propriedades mecânicas e de barreira da embalagem (SARANTÓPOULOS *et al.*, 2002).

O controle da espessura dos filmes é importante para se avaliar a uniformidade desses materiais, a repetibilidade da medida de suas propriedades e a validade das comparações entre filmes (HENRIQUE *et al.*, 2008).

Para a análise de espessura, recomenda-se que as medidas sejam realizadas em corpos de prova sem irregularidade, a pelo menos 6 mm da borda. As amostras devem ser previamente acondicionadas em ambiente com umidade e temperatura controladas. Além disso, as superfícies de medição do micrômetro devem ser limpas com óleo anticorrosivo, como éter de petróleo e anteriormente à análise, o micrômetro deve ser sempre zerado. A espessura é mais comumente expressa em μm (SARANTÓPOULOS *et al.*, 2002).

1.3.2. Propriedades mecânicas

As propriedades mecânicas dos materiais determinam a resposta destes às influências mecânicas externas, estando associadas à capacidade de desenvolver deformações reversíveis e irreversíveis e de apresentar resistência à fratura (RIGO, 2006).

Os filmes devem ser resistentes à ruptura quando submetidos à tração, rasgamento, impacto e abrasão, para que possam proteger o produto embalado e facilitar sua manipulação. Devem também ser flexível para que possam se adaptar às possíveis deformações sem sofrer uma ruptura (GUILBERT *et al.*, 1996).

O teste mais utilizado para medir a força mecânica, é o teste de tração, onde podem ser derivadas as propriedades de resistência à tração, alongação, força resultante e módulo de elasticidade. O ensaio de determinação das propriedades de tração de um filme flexível envolve a separação, em uma velocidade constante, de duas garras que prendem as extremidades de um

corpo-de-prova, registrando-se ao longo do ensaio a força ou a resistência que o material oferece à deformação. A deformação é o alongamento relativo do corpo-de-prova em relação a seu comprimento original. A tensão de ruptura (MPa) é a resistência oferecida pelo material no ponto da ruptura. O alongamento (%) é a relação percentual entre o alongamento do corpo-de-prova no teste e seu comprimento inicial (SARANTÓPOULOS *et al.*, 2002). De acordo com as especificações do método padrão D882-00 da ASTM (ASTM, 2001), devem ser utilizadas tiras de 7 x 2,5 cm dos filmes, sob as condições de pré-acondicionamento em 50% UR, 23°C e montadas entre as garras do equipamento. A espessura de cada amostra deve ser medida em quatro pontos, em posições aleatórias. A posição inicial e a velocidade de separação das garras devem ser fixadas a 50 mm e 12,5 mm/min, respectivamente e devem ser realizadas pelo menos cinco medidas para cada amostra.

1.3.3. Propriedades de barreira

A capacidade de uma embalagem em limitar as transferências entre o meio onde se encontra o alimento e o meio externo é definida como propriedade de barreira. A escolha de uma embalagem adequada depende das propriedades de barreira que esta pode oferecer (VICENTINI, 2003).

As propriedades de barreira dos polímeros dependem de fatores, tais como: densidade, coeficiente de solubilidade do polímero com a água, morfologia e concentração das macromoléculas, área e espessura do filme, tempo de permeação e temperatura. A presença de plastificantes e resíduos de solventes aumenta a taxa de difusão em polímeros. Na permeabilidade de sólidos a gases ou vapor de água, as moléculas da substância permeante podem ou não interagir com o sólido (MÜLLER *et al.*, 2008).

A permeabilidade ao vapor de água tem importantes implicações em filmes para embalagens do produto embalado, especialmente alimentos. A permeação de vapor de água é a maior preocupação no desenvolvimento de barreiras nas embalagens a fim de obter a vida de prateleira desejada. Vários alimentos e outros produtos embalados são susceptíveis à deterioração devido ao aumento do teor de umidade. Crescimento de microorganismos, alterações de cor e sabor, mudança de textura são alguns efeitos indesejáveis causados

pelo aumento da umidade (FELDMAN, 2001). Nos alimentos de alta atividade de água a perda de umidade para o ambiente representa perda de peso e acarreta alterações físicas, químicas e organolépticas. Assim, a utilização de embalagens com boa barreira ao vapor de água para os produtos sensíveis a umidade permite que a sua qualidade intrínseca seja mantida por mais tempo (SARANTÓPOULOS *et al.*, 2002).

1.3.4. Análises térmicas

Análises térmicas é um conjunto de técnicas que permitem medir as mudanças de uma propriedade física em função da temperatura.

A calorimetria diferencial de varredura (DSC) é a técnica na qual se mede a diferença de energia fornecida à amostra em relação a um material de referência, enquanto ambos são submetidos a uma programação controlada de temperatura. A medida de temperatura é feita por meio de termopares fixados à base do suporte da amostra e da referência. Alterações de temperatura da amostra são devidas a variações de entalpia endotérmicas ou exotérmicas, decorrentes de transições físicas ou de reações químicas. A área contida sob o pico é representativa da variação de entalpia (ΔH) sofrida pela amostra. As variações de entalpia são chamadas transições de primeira ordem (fusão, cristalização, vaporização, solidificação e adsorção). As transições térmicas ditas de segunda ordem são acompanhadas de variação da capacidade calorífica da amostra, juntamente com variações dimensionais e viscoelásticas (como, por exemplo, a transição vítrea T_g), mas não apresentam variações de entalpia, não gerando picos nas curvas de DSC e sim, alterações na linha de base (MACHADO, 1990; LUCAS *et al.*, 2001).

Embora sejam comuns duas varreduras para a análise de DSC, para filmes biodegradáveis obtidos de amido, ao final da primeira varredura, o amido presente no material se expande, impossibilitando uma segunda varredura. Também quando se utilizam plastificantes como a sacarose ou outro açúcar, após o final da primeira varredura já ocorreu uma acentuada deterioração deste componente, inviabilizando uma segunda varredura (VEIGA-SANTOS & SCAMPARINI, 2004).

2. OXIDAÇÃO LIPÍDICA

O desenvolvimento de embalagens ativas antioxidantes é de grande importância para indústria de alimentos, principalmente por evitar a oxidação lipídica. Os lipídios desempenham um importante papel no que diz respeito à qualidade de certos produtos alimentares, particularmente em relação às propriedades organolépticas que os tornam desejáveis (SILVA *et al.*, 1999; SOARES, 2002). Além disso, conferem valor nutritivo aos alimentos, constituindo uma fonte de energia metabólica, de ácidos graxos essenciais (ácidos linoleico, linolênico e araquidônico) e de vitaminas lipossolúveis (A, D, E e K) (SILVA *et al.*, 1999; ORDÓÑEZ, 2005). Entretanto, são suscetíveis ao ataque por radicais livres e a sua oxidação é prejudicial devido à sua continuidade, como uma reação em cadeia (GOMEZ, 2003 *apud* GENEMA, 2005).

A oxidação lipídica é um fenômeno espontâneo e inevitável (SILVA *et al.* 1999), sendo considerada a principal responsável pela formação de sabores estranhos que reduzem a qualidade e a vida de prateleira dos mesmos, além de produzir outros compostos com implicações nutricionais indesejáveis (ANTONIASSI, 2001; KAUR & KAPOOR, 2001; RAMALHO & JORGE, 2006). Entre os fatores que afetam ou catalisam a oxidação dos lipídios, os mais importantes são: presença de insaturações nos ácidos graxos, luz, temperatura, presença de antioxidantes e de pró-oxidantes (como metais e clorofila), enzimas, metaloproteínas, microrganismos e condições de armazenamento (ANTONIASSI, 2001; ALBU *et al.*, 2004).

A rancificação limita o tempo de conservação de muitos alimentos, já que pode ocorrer em produtos que contenham apenas 1% de gordura (ORDÓÑEZ, 2005).

As alterações nos óleos e gorduras (animais e vegetais) e dos produtos que os contêm devem-se, principalmente, a processos químicos e/ou enzimáticos, podendo ser detectadas ou percebidas sensorialmente, ainda em estágios iniciais (ANTONIASSI, 2001).

A oxidação pode ocorrer através de reações enzimáticas, pela ação das enzimas lipoxigenases que atuam sobre os ácidos graxos poliinsaturados, catalisando a adição de oxigênio à cadeia hidrocarbonada poliinsaturada. O resultado é a formação de peróxidos e hidroperóxidos com duplas ligações

conjugadas que podem envolver-se em diferentes reações degradativas; através do mecanismo de fotoxidação, que é promovido essencialmente pela radiação UV em presença de fotossensibilizadores (clorofila, mioglobina, riboflavina e outros) que absorvem a energia luminosa de comprimento de onda na faixa do visível e a transferem para o oxigênio tripleto ($^3\text{O}_2$), gerando o estado singleto ($^1\text{O}_2$). O oxigênio singleto reage diretamente com as ligações duplas por adição formando hidroperóxidos diferentes dos que se observam na ausência de luz e de sensibilizadores, e que por degradação posterior originam aldeídos, álcoois e hidrocarbonetos (SILVA, *et al.*, 1999; RAMALHO & JORGE, 2006).

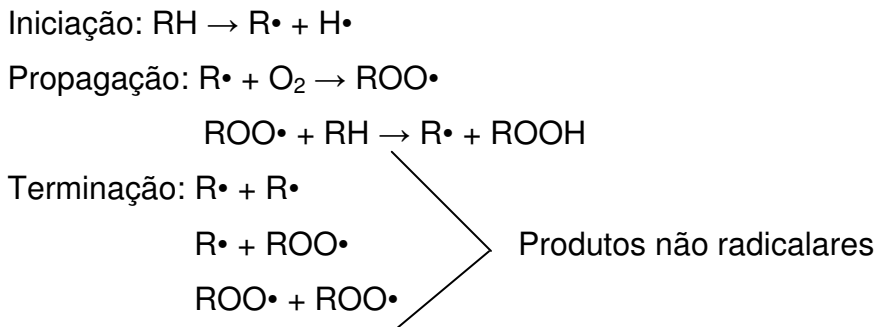
Porém o principal mecanismo de oxidação dos óleos e gorduras é o processo de autoxidação, que está associada à reação do oxigênio com ácidos graxos insaturados e ocorre em três etapas:

- Iniciação – ocorre a formação dos radicais livres do ácido graxo devido à retirada de um hidrogênio do carbono alílico na molécula do ácido graxo, em condições favorecidas por luz e calor (SILVA *et al.*, 1999; SOARES, 2002; RAMALHO & JORGE, 2006).

- Propagação – os radicais livres que são prontamente susceptíveis ao ataque do oxigênio atmosférico, são convertidos em outros radicais, aparecendo os produtos primários de oxidação (peróxidos e hidroperóxidos) cuja estrutura depende da natureza dos ácidos graxos presentes. Os radicais livres formados atuam como propagadores da reação, resultando em um processo autocatalítico (SILVA *et al.*, 1999; SOARES, 2002; RAMALHO & JORGE, 2006).

- Terminação – dois radicais combinam-se, com a formação de produtos estáveis (produtos secundários de oxidação) obtidos por cisão e rearranjo dos peróxidos (epóxidos, compostos voláteis e não voláteis) formando produtos que são potentes modificadores do gosto e do *flavor* (SILVA *et al.*, 1999; SOARES, 2002; RAMALHO & JORGE, 2006).

Um esquema destas reações é mostrado no esquema 1 (GÓMEZ, 2003 *apud* GENEMA, 2005).



Esquema 1. Processo de autoxidação de óleos e gorduras.

Para se avaliar a o estado de oxidação de óleos e gorduras, alguns métodos monitoram as alterações ocorridas na amostra mediante análises como: índice de peróxidos, análise sensorial, determinação de dienos conjugados, valor de carbonila, análise de voláteis, entre outras (ANTONIASSI, 2001).

Dentre estes, o índice de peróxidos é um dos métodos mais utilizados para medir o estado de oxidação de óleos e gorduras. Como os peróxidos são os primeiros compostos formados quando ocorre a deterioração de óleos e gorduras, toda gordura oxidada dá resultado positivo nos testes de peróxido.

A oxidação dos ácidos graxos poli-insaturados ocorre com formação de hidroperóxidos e deslocamento das duplas ligações, com conseqüente formação de dienos conjugados (Figura 1). Os dienos conjugados absorvem a 233 nm. Os produtos secundários da sua oxidação, em particular as adicetonas ou as cetonas insaturadas, apresentam um máximo de absorção a 272 nm. Esta diferença é particularmente interessante permitindo diferenciar estados de evolução oxidativa com base na relação $A_{272 \text{ nm}}/A_{233 \text{ nm}}$: quanto maior o valor da absorbância a 233 nm, mais elevado será o conteúdo em peróxidos, correspondendo, portanto, ao início do processo de oxidação; pelo contrário, quanto maior for o valor de absorbância a 272 nm, maior será o teor de produtos secundários presentes (AOCS, 1993; SILVA *et al.*, 1999).

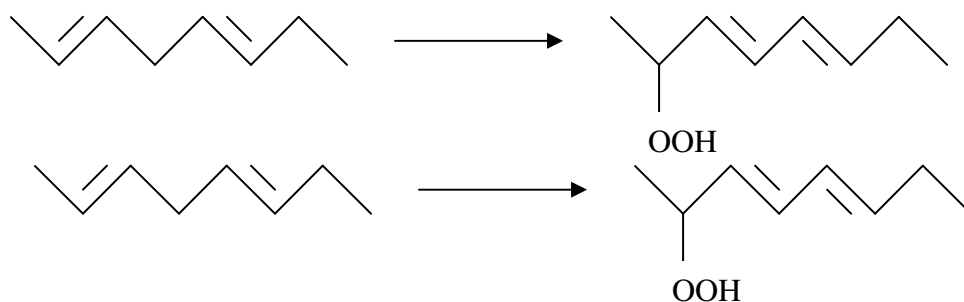


Figura 1. Formação de dienos conjugados.

Os compostos voláteis, hidrocarbonetos (pentano, n-hexano, etano), aldeídos (pentanal, hexanal, hexenal, 2-octenal, 2-nonenal), cetonas (1,5-octadien-3-ona, 1-octen-3-ona) ou ácidos (ácido fórmico), resultam da decomposição dos produtos primários do processo oxidativo (peróxidos). Aparecem numa fase bastante precoce do ciclo evolutivo e estão na origem do ranço. O pentano e o hexanal são os compostos usualmente determinados, já que, provêm da degradação do ácido linoléico e araquidónico, os quais fazem parte integrante de uma grande variedade de produtos (SILVA, et al., 1999; MARINI *et al.*, 2005) (Figura 2). O hexanal é comumente analisado por cromatografia gasosa (CG) por headspace (GUTKOSKI & EL-DASH, 1999; MIRANDA & EL-DASH, 2002; GOODRIDGE *et al.*, 2003; MARINI *et al.*, 2005).

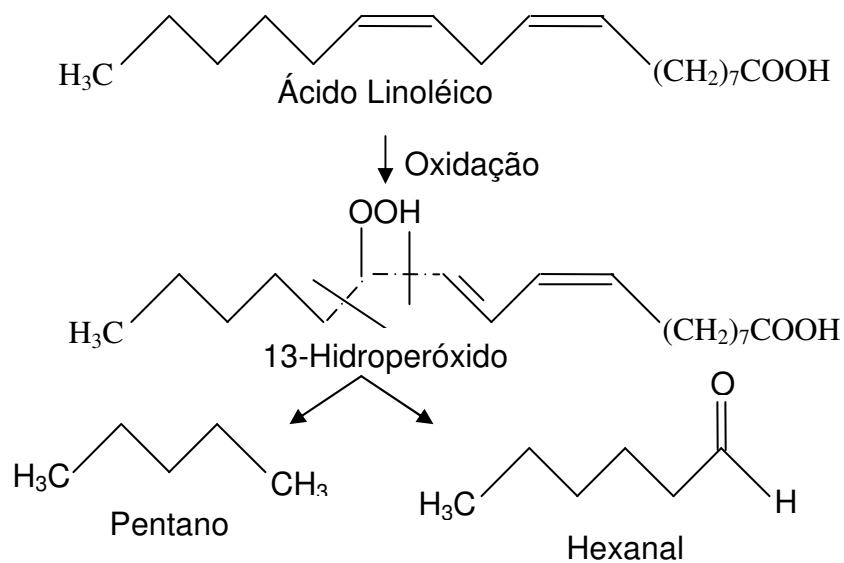


Figura 2. Formação do hexanal e do pentano.

Para evitar a autoxidação de óleos e gorduras há a necessidade de diminuir a incidência de todos os fatores que a favorecem, mantendo ao mínimo os níveis de energia (temperatura e luz) que são responsáveis pelo desencadeamento do processo de formação de radicais livres, a presença de traços de metais, o contato com oxigênio e bloqueando a formação de radicais livres por meio de antioxidantes, os quais, em pequenas quantidades, atuam interferindo nos processos de oxidação de lipídios (RAMALHO & JORGE, 2006).

Assim, a proteção de alimentos contra essa deterioração é de grande importância econômica e nutricional para a indústria de alimentos (GENEMA, 2005). Os óleos, gorduras e alimentos gordurosos, normalmente são acrescidos de substâncias capazes de retardar ou inibir a oxidação do substrato quando submetidos a altas temperaturas e, eventualmente, prolongar a sua vida de prateleira (GENEMA, 2005; RAMALHO & JORGE, 2006).

A estabilidade oxidativa, parâmetro global para avaliação de qualidade de óleos e gorduras e produtos que os contém, não depende apenas da composição química, mas também da qualidade da matéria-prima, das condições de processamento e de estocagem (SILVA *et al.*, 1999; ANTONIASSI, 2001).

3. ANTIOXIDANTES

Os antioxidantes podem ser definidos como substâncias que quando presentes em baixas concentrações quando comparado com o substrato oxidável, é capaz de reduzir, inibir ou retardar significativamente o processo oxidativo (FUKUMOTO & MAZZA, 2000; ZHENG & WANG, 2001; ALBU *et al.*, 2004; LOULI *et al.*, 2004; ATOUI *et al.*, 2005; RAMALHO & JORGE, 2006; SOUZA *et al.*, 2007). Quando adicionados a alimentos, os antioxidantes são capazes de minimizar a rancidez, retardando a formação de produtos de oxidação tóxicos, mantendo assim a qualidade nutricional e aumentando a vida de prateleira desses produtos (FUKUMOTO & MAZZA, 2000; KAUR & KAPOOR, 2001).

Centenas de compostos têm sido propostos para inibir a deterioração oxidativa das substâncias oxidáveis, porém somente alguns podem ser usados

em produtos para consumo humano. Na seleção de antioxidantes, são desejáveis algumas propriedades: ser seguro sob o ponto de vista alimentar (BERNARDO-GIL *et al.*, 2002); apresentar eficácia em baixas concentrações (0,001 a 0,01%); não promover efeitos indesejáveis na cor, no odor, no sabor e em outras características do alimento; ser compatível com o alimento, ser de fácil aplicação; apresentar estabilidade nas condições de processo e armazenamento e o composto e seus produtos de oxidação não podem ser tóxicos, mesmo em doses muito maiores das que normalmente seriam ingeridas no alimento (BERNARDO-GIL *et al.*, 2002; RAMALHO & JORGE, 2006), e ainda ser facilmente incorporável, de fácil obtenção e baixo custo (BERNARDO-GIL *et al.*, 2002; ORDÓÑEZ, 2005).

Os antioxidantes podem agir através de diferentes mecanismos de ação: capturando o oxigênio do meio; removendo radicais livres formados durante as etapas de iniciação e propagação (KAUR & KAPOOR, 2001; RIBEIRO *et al.*, 2001; DORMAN *et al.*, 2003; ALBU *et al.*, 2004; RAMALHO & JORGE, 2006); complexando com íons metálicos que catalisam a oxidação lipídica (RIBEIRO *et al.*, 2001; DORMAN *et al.*, 2003; RAMALHO & JORGE, 2006); e decompondo os hidroperóxidos formados (RIBEIRO *et al.*, 2001; DORMAN *et al.*, 2003).

A oxidação lipídica pode ser evitada através da utilização de antioxidantes sintéticos ou naturais. Comumente são utilizados antioxidantes sintéticos como o BHA (Butil-hidroxianisol), ter butilhidroquinona (TBHQ) e BHT (Butil-hidroxitolueno) de (Figura 3) entre outros (KAUR & KAPOOR, 2001; RIBEIRO *et al.*, 2001; ZHENG & WANG, 2001; LOULI *et al.* 2004; SOUZA *et al.*, 2007). Porém, atualmente o uso de antioxidantes sintéticos têm se tornado questionável devido aos seus possíveis efeitos tóxicos e carcinogênicos (KAUR & KAPOOR, 2001; RIBEIRO *et al.*, 2001; ZHENG & WANG, 2001; LOULI *et al.*, 2004). Estudos recentes têm demonstrado os efeitos do BHA na conversão do material ingerido em substâncias tóxicas ou carcinogênicas, capazes de alterar a liberação de enzimas hepáticas e extra-hepáticas, assim como do pulmão e do trato gastro-intestinal (RIBEIRO *et al.*, 2001). Por estes motivos, o uso destes antioxidantes em alimentos é limitado. No Brasil, o uso destes antioxidantes é controlado pelo Ministério da Saúde que limita a 200 mg/kg

para BHA e 100 mg/g para BHT, como concentrações máximas permitidas (RAMALHO & JORGE, 2006).



Figura 3. Estrutura química dos principais antioxidantes sintéticos.

Tendo em vista os indícios de problemas que podem ser provocados pelo consumo de antioxidantes sintéticos, em associação com a crescente preocupação dos consumidores quanto à segurança alimentar relacionada aos aditivos (PESCHEL *et al.*, 2006), pesquisas têm sido dirigidas no sentido de encontrar produtos naturais com ação antioxidante, no intuito de substituir os sintéticos ou fazer associações entre eles, para diminuir sua quantidade nos alimentos (FUKUMOTO & MAZZA, 2000; KAUR & KAPOOR, 2001; RIBEIRO, *et al.*, 2001; ZHENG & WANG, 2001; ALBU *et al.*, 2004; RAMALHO & JORGE, 2006).

Entre os antioxidantes naturais mais utilizados podem ser citados tocoferóis, ácidos fenólicos e extratos, que podem ser extraídos de vegetais e plantas (RIBEIRO *et al.*, 2001; RAMALHO & JORGE, 2006; SOUZA *et al.*, 2007). Muitas ervas e especiarias, utilizadas como condimentos em alguns pratos, são excelentes fontes de compostos fenólicos. Tais substâncias têm demonstrado alto potencial antioxidante, podendo ser usadas como conservantes naturais para alimentos (ZHENG & WANG, 2001).

3.1. COMPOSTOS FENÓLICOS

Polifenóis são metabólitos secundários das plantas e conferem tanto às frutas como aos vegetais qualidades desejáveis e indesejáveis, sendo comumente encontrados em plantas (KAUR & KAPOOR, 2001; SOARES *et al.*, 2002). Os compostos fenólicos, em plantas (Tabela 1), são essenciais no crescimento e reprodução dos vegetais, além de atuarem como agente

antipatogênico e contribuir na pigmentação. Em alimentos, são responsáveis pela cor, aroma e estabilidade oxidativa (BOBBIO & BOBBIO, 1989; SOARES *et al.*, 2002; DEGÁSPARI & WASZCZYNSKYJ, 2004; ÂNGELO & JORGE, 2007). Além disso, exibem grande quantidade de propriedades fisiológicas (como antialérgica, antiarteriogênica, antiinflamatória, antimicrobiana, antitrombótica, cardioprotetiva e vasodilatadora), mas o principal efeito dos compostos fenólicos tem sido atribuído à sua ação antioxidante em alimentos (MAJO *et al.*, 2005; BALASUNDRAM *et al.*, 2006; WORARATPHOKA *et al.*, 2007).

Tabela 1. Classe de compostos fenólicos em plantas (Angelo & Jorge, 2007).

Classe	Estrutura
Fenólicos simples, benzoquinonas	C_6
Ácidos hidroxibenzoicos	$C_6 - C_1$
Acetofenol, ácidos fenilacéticos	$C_6 - C_2$
Ácidos hidroxicinâmicos, fenilpropanóides	$C_6 - C_3$
Nafitoquinonas	$C_6 - C_4$
Xantonas	$C_6 - C_1 - C_6$
Estilbenos, antoquinonas	$C_6 - C_2 - C_6$
Flavonóides, isoflavonóides	$C_6 - C_3 - C_6$
Lignananas, neolignananas	$(C_6 - C_3)_2$
Biflavonóides	$(C_6 - C_3 - C_6)_2$
Ligninas	$(C_6 - C_3)_n$
Taninos condensados	$(C_6 - C_3 - C_6)_n$

Os antioxidantes fenólicos atuam como seqüestradores de radicais e, algumas vezes, como quelantes de metais, agindo tanto na etapa de iniciação como na propagação do processo oxidativo (ZHENG & WANG, 2001; SOARES *et al.*, 2002; RAMALHO & JORGE, 2006; SOUZA *et al.*, 2007). Diversos estudos foram desenvolvidos para verificar o potencial antioxidante dos ácidos fenólicos, visando substituir os antioxidantes sintéticos, largamente utilizados na conservação de alimentos lipídicos por aumentarem a vida útil de muitos produtos (ZHENG & WANG, 2001; RAMALHO & JORGE, 2006).

Quimicamente os compostos fenólicos são definidos como substâncias que possuem anel aromático com um ou mais substituintes hidroxílicos, incluindo seus grupos funcionais. Possuem estrutura variada e com isso, são multifuncionais. Existem cerca de 5000 fenóis, dentre eles, destacam-se os flavonóides, fenóis simples, ácidos fenólicos (derivados dos ácidos: benzóico e cinâmico), cumarinas, taninos condensados e hidrolisáveis, ligninas e tocoferóis (SOARES *et al.*, 2002; ANGELO & JORGE, 2007; SOUZA *et al.*, 2007).

Diversos autores seguem a classificação de Ribéreau-Gayon, que divide os fenólicos em três categorias: pouco distribuídos na natureza, polímeros e largamente distribuídos na natureza. Dentre os pouco distribuídos na natureza, encontram-se os fenóis simples, o pirocatecol, a hidroquinona, o resorcinol, além dos aldeídos derivados dos ácidos benzóicos. Os polímeros são fenólicos que não se apresentam na forma livre nos tecidos vegetais, e esta família engloba os taninos e as ligninas. Na família dos compostos largamente distribuídos estão os flavonóides (antocianinas, flavonóis e seus derivados), ácidos fenólicos (ácidos benzóico, cinâmico e seus derivados) e cumarinas (SOARES *et al.*, 2002; ANGELO & JORGE, 2007; LECUMBERRI *et al.*, 2007).

Os flavonóides são compostos largamente distribuídos em frutas, folhas, sementes e em outras partes da planta na forma de glicosídeos ou agliconas. São compostos de baixo peso molecular formados por dois anéis aromáticos (A e B) unidos por três carbonos que formam um anel heterocíclico (anel C) (Figura 4). Variações em substituição do anel C resultam em importantes classes de flavonóides, como flavonóis, flavonas, flavanonas, flavanóis (ou catequinas), isoflavonas e antocianidinas. Estas substituições podem incluir oxigenação, alquilação, glicosilação, acilação e sulfação (DEGÁSPARI & WASZCZYNSKYJ, 2004; AGUIAR *et al.*, 2007; ANGELO & JORGE, 2007).

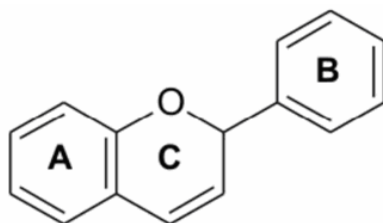


Figura 4. Estrutura química dos flavonóides.

Os ácidos fenólicos se caracterizam por terem um anel benzênico, um grupamento carboxílico e um ou mais grupamentos de hidroxila e/ou metoxila na molécula. Estão divididos em dois grupos, derivados do ácido hidroxibenzóico e derivados do ácido hidroxicinâmico (Figura 5). Os ácidos hidroxibenzóicos incluem os ácidos galico, p-hidroxibenzóico, protocatecuico, vanílico e siríngico, enquanto os ácidos hidroxicinâmicos, incluem os ácidos caféico, ferrúlico, p-cumárico e sináptico, como os mais comuns (DEGÁSPARI & WASZCZYNSKYJ, 2004; ANGELO & JORGE, 2007).

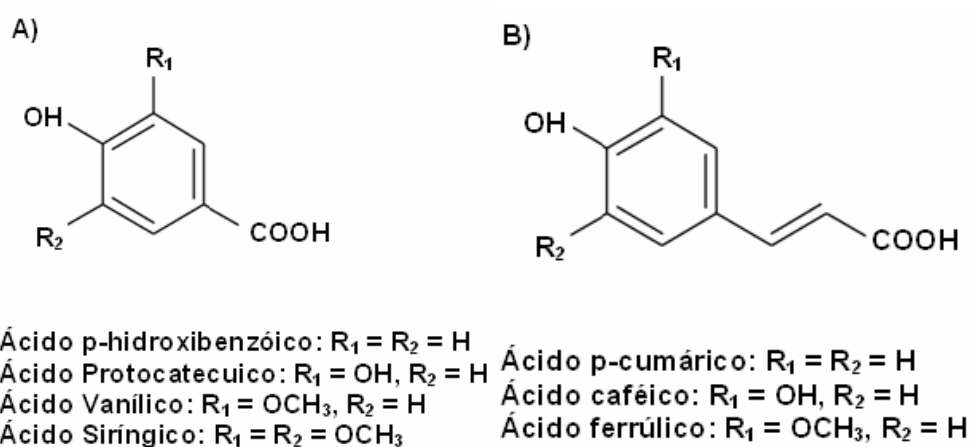


Figura 5. Estrutura química dos ácidos hidroxibenzóicos (a) e hidroxicinâmicos (b).

Os taninos são compostos de alto peso molecular, que conferem ao alimento a sensação de adstringência, e classificam-se em dois grupos, baseados em seu tipo estrutural: taninos hidrolisáveis e taninos condensados (BOBBIO & BOBBIO, 1989; WOLLGAST & ANKLAN, 2000; SOARES *et al.*, 2002; DEGÁSPARI & WASZCZYNSKYJ, 2004). Os primeiros contêm um núcleo central de glicose ou um álcool poliídrico, esterificado com ácido gálico ou elágico, e são prontamente hidrolisáveis com ácidos, bases ou enzimas. Os taninos condensados são polímeros de catequina (flavan-3-ol) e/ou leucoantocianidina (flavan-3,4-diol) (Figura 6), não prontamente hidrolisáveis por tratamento ácido. As ligninas são polímeros complexos de grande rigidez e resistência mecânica, e a hidrólise alcalina libera uma grande variedade de derivados dos ácidos benzóicos e cinâmico (WOLLGAST & ANKLAN, 2000; SOARES *et al.*, 2002).

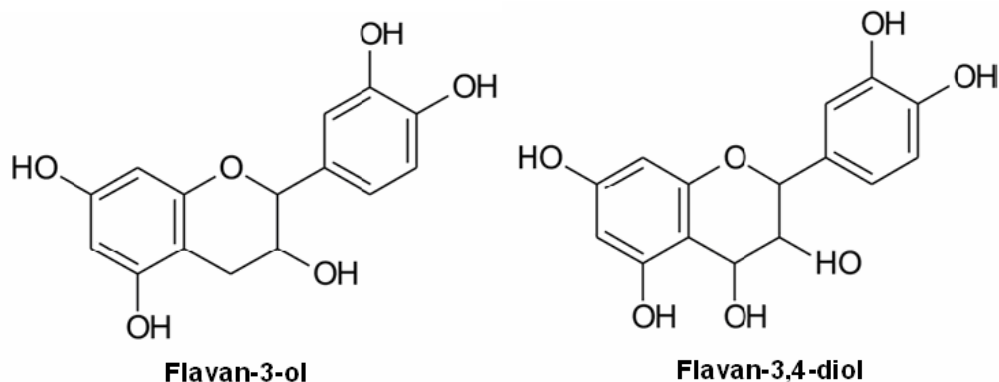


Figura 6. Estrutura química de Flavan-3-ol e Flavan-3,4-diol.

Na avaliação do potencial antioxidante dos ácidos caféico, protocatequínico, *p*-hidroxibenzóico, ferrúlico e *p*-cumárico adicionados em banha na concentração de 200 mg/kg, usando o método Rancimat à temperatura de 90 °C, os ácidos caféico e protocatequínico apresentaram ação antioxidante maior que o α -tocoferol e o BHT na mesma concentração (DZIEDZIC & HUDSON, 1984 *apud* SOARES *et al.*, 2002).

Com extratos de casca de batata, através do método de Shall, observou-se que os ácidos clorogênico, gálico, protocatequínico e caféico apresentaram ação antioxidante similar ao BHA (RODRIGUEZ DE SOTILLO *et al.*, 1994).

Entre os diversos produtos naturais alternativos ricos em compostos fenólicos e que poderiam ser utilizados como fontes destes antioxidantes, destacam-se o cacau e o café, por serem importantes para a agricultura brasileira. A ação antioxidante do cacau e do café vem sendo amplamente divulgada na literatura atual (AZIZAH *et al.*, 1999; AZIZAH, *et al.*, 2007; COOPER, *et al.*, 2007; NAIDU *et al.*, 2007; PARRAS, *et al.*, 2007; MILLER *et al.*, 2008; ORTEGA *et al.*, 2008; PERRONE *et al.*, 2008).

3.2. CACAU

O cacau (*Theobroma cacao* L.) é uma espécie nativa da floresta tropical úmida americana, sendo seu centro de origem, provavelmente, as nascentes dos rios Amazonas e Orinoco. A partir do seu centro natural, o cacau ultrapassou os Andes, sendo cultivado na Venezuela, Colômbia, Equador, países da América Central e México, como também se dispersou ao

longo do rio Amazonas originando as populações encontradas no Brasil e nas Guianas (MAPA, 2008).

O cacau e seus derivados são produzidos e consumidos em grandes quantidades em todo o mundo (JONFIA-ESSIEN *et al.*, 2008). Os maiores produtores são: a Costa do Marfim, Gana (AZIZAH *et al.*, 2007) e a Indonésia (MAPA, 2008) (Figura 7). O Brasil produziu, em 2007, 221 mil toneladas de cacau (FAOSTAT, 2009).

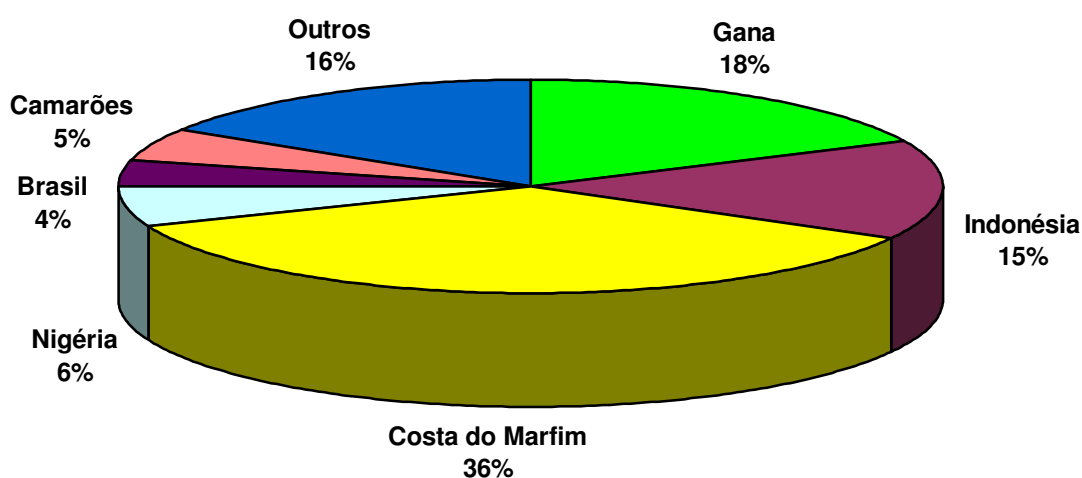


Figura 7. Principais países produtores de cacau - 2006/2007 (MAPA, 2008).

Atualmente a Bahia produz 67% da produção nacional de cacau, seguida pelo Pará (18%), Rondônia (9%), Espírito Santo (5%) e Amazonas (1%) (MAPA, 2008).

A produção mundial do cacau está em torno de 3,4 milhões de toneladas/ano. Os Estados Unidos são o maior consumidor, com 689 mil/t, seguidos da Alemanha, que consome 280 mil/t. e a França, com 218 mil/t. Atualmente o Brasil consome 98 mil toneladas/ano, estando na quinta colocação mundial tanto na produção quanto no consumo (MAPA, 2008).

O cacau é considerado uma das mais ricas fontes naturais de antioxidantes (JONFIA-ESSIEN *et al.*, 2008). O cacau e seus derivados são conhecidos como fontes ricas em polifenóis (COOPER *et al.*, 2007) e pelas propriedades antioxidantes e antiradical *in vitro* de alguns constituintes

fenólicos (ácidos fenólicos, procianidinas, flavonóides, dentre outros) (WOLLGAST & ANKLAN, 2000).

As concentrações de polifenóis no cacau e em seus derivados podem variar muito dependendo da variedade utilizada, condições de cultivo, tipo de processamento empregado, condições de processo, etc. (COOPER *et al.*, 2007). O processamento do cacau tem várias etapas em que o cacau é transformado em nibs, liquor e pó de cacau, que são utilizados como ingredientes em formulações de alimentos contendo cacau. A primeira etapa é a fermentação da semente, que é crucial para a formação de sabor e aroma desejáveis nos derivados de cacau. A etapa seguinte envolve a torra para a formação do nibs. As condições de tempo e temperatura do processo de torragem afetam a estabilidade dos polifenóis e o sabor dos derivados de cacau. Em seguida ocorre o processo de trituração do nibs, resultando em uma pasta líquida conhecida como liquor. A última etapa envolve a compressão do liquor para remover uma alta porcentagem de manteiga de cacau, formando uma massa sólida, a qual é moída em um pó fino de cacau (SUMMA *et al.*, 2006). Ortega *et al.* (2008) avaliaram o teor de polifenóis em diferentes etapas de processamento das sementes de cacau. Os teores de polifenóis encontrados foram: 259,9 mg/g para a semente de cacau não fermentada, 302,5 mg/g para o nibs, 257,7 mg/g para o liquor e 123,9 mg/g para o pó de cacau. Neste estudo os autores concluem que o processo de torragem e de trituração promovem alterações nas estruturas das células das sementes de cacau, levando a uma maior solubilidade e difusão dos polifenóis, explicando o aumento no teor de polifenóis no nibs. Já a perda de polifenóis no liquor e no pó foram justificadas pelas reações de oxidação e condensação que estão presentes, levando a uma perda no teor de polifenóis.

No cacau estão presentes diversas classes de compostos fenólicos: catequinas, epicatequinas, antocianinas, procianidinas, ácidos fenólicos, taninos condensados, dentre outros (WOLLGAST & ANKLAN, 2007). Alguns destes compostos estão representados na figura 8.

Dreosti (2000) relata que 60% do teor de polifenóis totais de sementes de cacau são formadas por monômeros de flavanol (epicatequina e catequina) e oligômeros de procianidina (variando de dímeros até decâmeros).

Niemenak *et al.* (2006), para diferentes clones de sementes de cacau encontraram um teor de polifenóis totais variando entre 67-149,2 mg/g, enquanto Oliveira (2005) encontrou teores variando de 124,5-416,4 mg/g. Jonfia-Essien *et al.* (2008), estudando diferentes variedades de sementes de cacau provenientes de Gana, relataram valores de polifenóis totais variando de 70 a 80 mg/g.

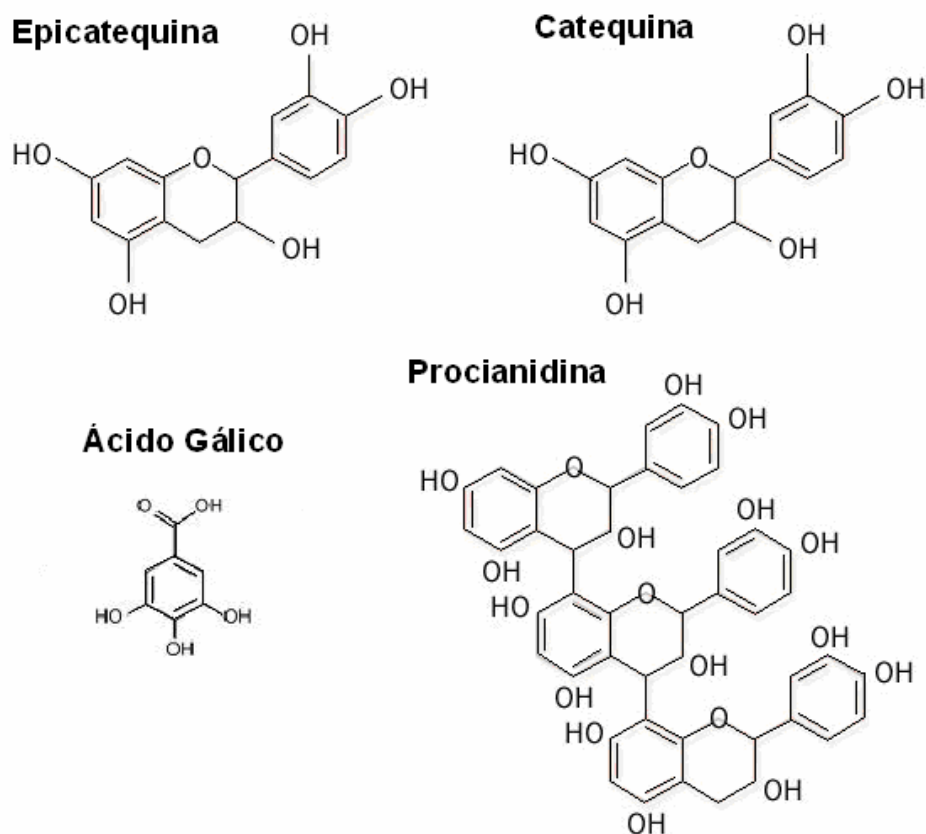


Figura 8. Alguns compostos fenólicos presentes no cacau.

Muitos estudos consideram as frutas, vegetais e os chás como as maiores fontes de compostos fenólicos da dieta humana, porém Lee *et al.* (2003), demonstraram que o cacau contém uma maior capacidade antioxidante e um maior conteúdo de polifenóis (611mg de equivalentes de ácido gálico – EAG) do que o chá preto (124mg EAG), chá verde (165mg EAG) e o vinho tinto (340mg EAG), mostrando assim, o potencial do cacau e seus derivados como antioxidantes.

3.3. CAFÉ

O café é um produto nobre do agronegócio e da pauta de exportações no Brasil, ocupando lugar de destaque na história do desenvolvimento do país (ABRAHÃO, 2007).

No Brasil as primeiras plantas foram cultivadas em 1727, provenientes da Guiana Francesa. Nesta época, a maior parte do capital e da mão de obra disponíveis era atraída pela mineração, o que não permitiu um rápido avanço da cultura cafeeira. Só no começo do século XIX o café surgiu como produto economicamente importante para o país, pois o esgotamento do ouro fez renascer as atividades agrícolas (DOMINGUES & FIUSA, 1996, *apud* ABRAHÃO, 2007). A partir de então, a cultura cafeeira evoluiu e ocupou relevante espaço na economia nacional (ENCARNAÇÃO & LIMA, 2003, *apud* ABRAHÃO, 2007).

A cafeicultura é uma das principais atividades agroindustriais do país. A produção de café envolve cerca de 1.700 municípios, abrangendo aproximadamente 300 mil unidades produtivas. A atividade gera 7 milhões de empregos diretos e indiretos, promovendo a fixação do homem no campo (MENDONÇA *et al.*, 2005).

O cafeeiro é uma árvore que pertence ao gênero *Coffea*, membro da família *Rubiaceae*. Dentre as várias espécies conhecidas, as mais comercializadas são *Coffea arabica* e *Coffea canephora* (PARRAS *et al.*, 2006). A produção do café arábica representa 76,19% da produção do país, tendo como maior produtor o estado de Minas Gerais com 65,89% da produção (Figura 9). O café robusta participa da produção nacional com 23,81%, sendo que o Espírito Santo se destaca como maior produtor desta variedade com 72,39% (ABIC, 2009). A Bahia participa com 5% da produção nacional (Figura 10).

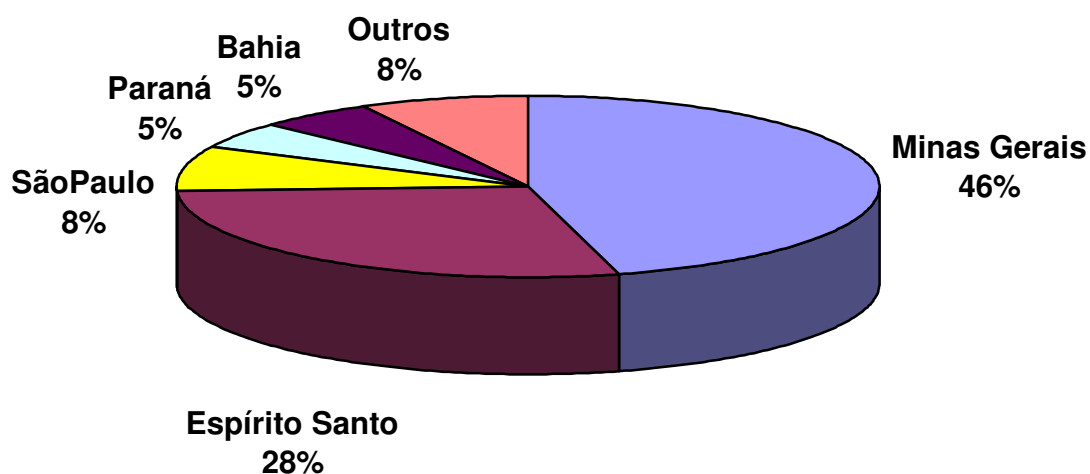


Figura 9. Produção de café beneficiado – safra 2007/2008 (Fonte: ABIC, 2009).

A composição química do café (Tabela 2) varia de acordo com a espécie e essa diferença contribui para que os grãos crus quando submetidos aos tratamentos térmicos, forneçam bebidas com características sensoriais bastante diferenciadas (MONTEIRO & TRUGO, 2005). A ação antioxidante da bebida de café pode ser determinada pela contribuição de substâncias antioxidantes de ocorrência natural e induzidas pela torrefação e processamento do café. A torrefação pode levar à perda de polifenóis, devido à degradação térmica progressiva (SANTOS *et al.*, 2007). Durante o processo de torrefação, esses compostos fenólicos são intensamente degradados, originando pigmentos e componentes voláteis do aroma, como fenol e vinilguaiacol (MONTEIRO & TRUGO, 2005). Abrahão (2007), avaliando café cru e café torrado, encontrou teores de polifenóis totais de 49,00 mg/g para o café cru e 45,20 mg/g para o café torrado, mostrando uma redução no teor de polifenóis totais após o processo de torrefação.

O café é uma dos produtos mais amplamente consumidas no mundo (MOREIRA *et al.*, 2000; ABRAHÃO, 2007; PERRONE *et al.*, 2008), não só pelo sabor, mas por suas propriedades fisiológicas (NICOLI *et al.*, 1997). O café é conhecido por ser rico em cafeína e por sua ação antioxidante (MONTEIRO & TRUGO, 2005). Essas propriedades antioxidantes têm um papel importante na prevenção de diabetes, arteriosclerose, doenças neurodigestivas e câncer (SÁNCHEZ-GONZÁLEZ *et al.*, 2005).

Tabela 2. Composição química do grão de café cru de diferentes variedades.

Componentes		Café Arábica*	Café Robusta*
Ácidos:	Clorogênico total	6,5	10,0
	Alifáticos	1,0	1,0
	Quínico	0,4	0,4
Açúcares:	Sacarose	8,0	4,0
	Redutores	0,1	0,4
	Polissacarídeos	44,0	48,0
Outros:	Cafeína	1,2	2,2
	Trigonelina	1,0	0,7
	Cinzas	4,2	4,4
	Pectina	2,0	2,0
	Proteína	11,0	11,0
	Aminoácidos Livres	0,5	0,8
	Lipídeos	16,0	10,0

*Valores expressos em $\text{g}\cdot 100\text{g}^{-1}$ em base seca (CLARKE, 2003 *apud* MONTEIRO & TRUGO, 2005).

A ação antioxidante do café é devida aos compostos fenólicos presentes, especialmente os ácidos clorogênicos, cuja concentração varia de 6 a 10% em base seca (SÁNCHEZ-GONZÁLEZ *et al.*, 2004), sendo o café considerado a maior fonte de ácidos clorogênicos da dieta humana (DEL CASTILLO *et al.*, 2002). Dentre os ácidos clorogênicos o componente majoritário é o ácido cafeoilquínico (5-ACQ), presente em grande quantidade na bebida do café (ABRAHÃO, 2007). O principal efeito fisiológico do 5-ACQ é a sua ação antioxidante, principalmente do seu produto de hidrólise, o ácido caféico.

Além do 5-ACQ estão presentes o ácido 3-*O*-cafeoilquínico, ácido 4-*O*-cafeoilquínico, ácido 3-*O*-ferruloilquínico, ácido 4-*O*-ferruloilquínico, 3,4-*O*-dicafeoilquínico dentre outros. Os principais ácidos clorogênicos estão representados na figura 10.

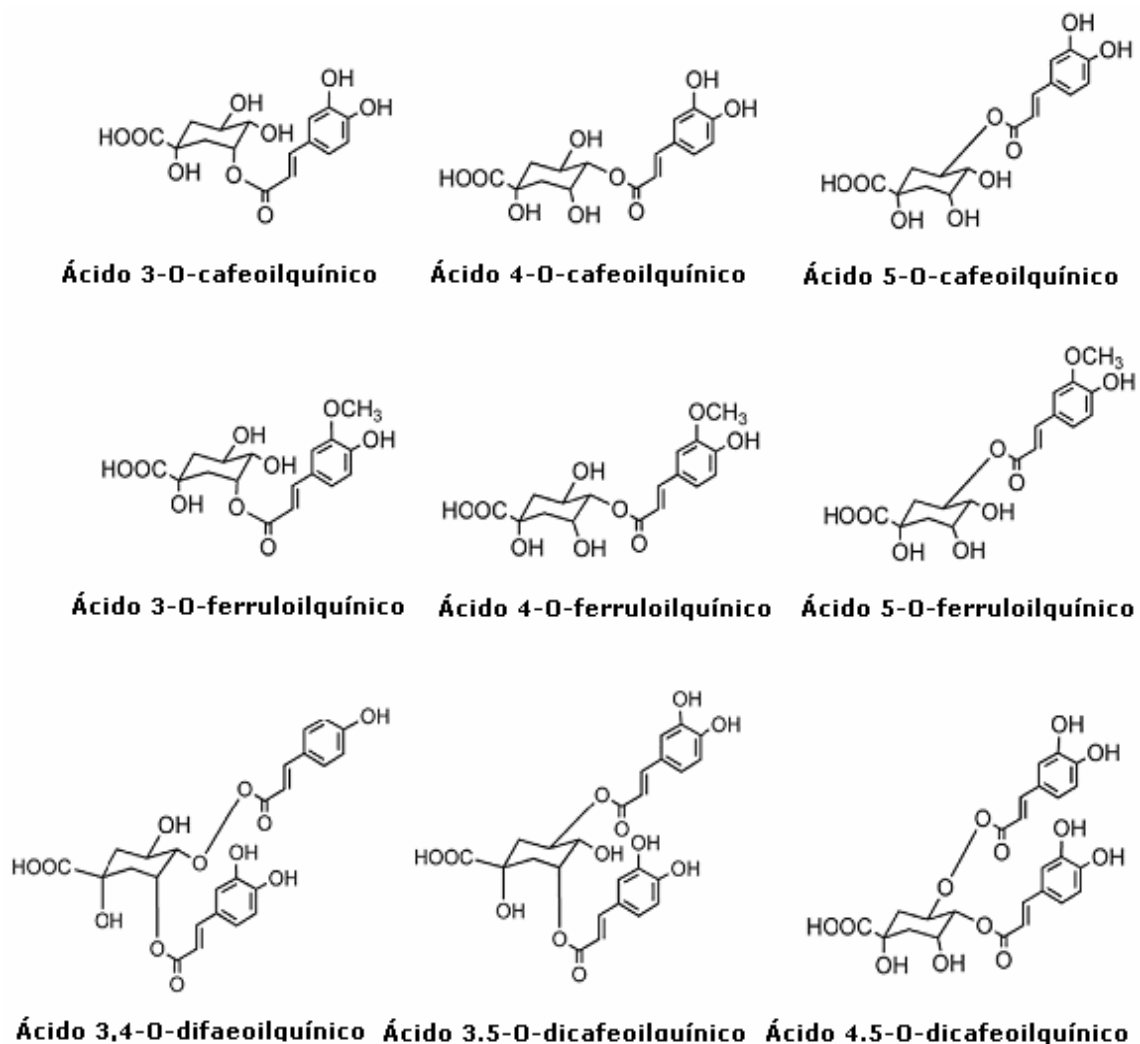


Figura 10. Estrutura molecular dos principais ácidos clorogênicos presentes no café (Stalmach et al., 2006).

Fernandes *et al.* (2001) avaliando o teor de polifenóis totais em café torrado, encontrou teores variando de 54-65,5 mg/g, enquanto Abrahão (2007) encontrou de 45-48 mg/g para o café torrado e 47-54 mg/g para café cru.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABIC – Associação Brasileira da indústria de café. **A História do café.** Disponível em: Disponível em: http://www.abic.com.br/safe_historia.html. Acessado em: 10 jan. 2009.

ABRAHÃO, S. A. **Qualidade da Bebida e Atividade Antioxidante do Café *in vivo* e *in vitro*.** Lavras, 2007. 92f. Dissertação para obtenção de grau de mestrado. Universidade Federal de Lavras. Minas Gerais. 2007.

ABRE – Associação brasileira de embalagem. **Apresentação do setor**, Disponível em: <http://www.abre.org.br/index.php>. Acessado em: 11 jan. 2009.

AHVENAINEN, R. In: **Novel Food Packaging Techniques**, p. 20-36. Published by Woodhead Publishing Limited. Abington Hall, Abington. Cambridge. England, 2003.

AGUIAR, C. L.; ALENCAR, S. M. DE; TSAI, S. M.; PARK Y. K. Transformações Enzimáticas de Flavonóides. **Boletim do Centro de Pesquisa de Processamento de Alimentos – B. CEPPA**, v. 25, n. 1, p. 61-76. 2007.

ALBU, S.; JOYCE, E.; PANIWNIAK, L.; LORIMER, J. P.; MASON, T. J. Potential for the use of ultrasound in the extraction of antioxidants from *Rosmarinus officinalis* for the food and pharmaceutical industry. **Ultrasonics Sonochemistry**, v. 11, p. 261–265, 2004.

ANGELO, P. M.; JORGE, N. Compostos fenólicos em alimentos – Uma breve revisão. **Revista Instituto Adolfo Lutz**, v. 66, n. 1, p. 232-240, 2007.

ANTONIASSI, R. Métodos de Avaliação da Estabilidade Oxidativa de Óleos e Gorduras. **Boletim do Centro de Pesquisa de Processamento de Alimentos – B. CEPPA**, v. 19, n. 2, p. 353-380, 2001.

AOCS - American Oil Chemists Society. **Official method of analysis Ti 1a-64**. Spectrophotometric determination of conjugated dienoic acid. 1993.

ARIENTE, M.; GIULIANI, A. C.; FARAH, O. E.; PIZZINATTO, N. K.; SPERS, E. E. Competitividade na indústria de fécula de mandioca: estudo exploratório. **Revista FAE**, v. 8, n. 2, p. 53-60, 2005.

ARVANITTOYANNIS, I.; BILIADERIS, C. G. Physical properties of polyol-plasticized edible films made from sodium caseinate and soluble starch blends. **Food Chemistry**, v. 62, n. 3, p. 333-342, 1998.

ASTM. American Society for Testing and Materials. **Standard Test Method for tensile properties of thin plastic sheeting ASTM D882-00, 1**, 2001. ATOUI, A. K.; MANSOURI, A.; BOSKOU, G.; KEFALAS, P. Tea and herbal infusions: Their antioxidant activity and phenolic profile. **Food Chemistry**, v. 89, p. 27–36, 2005.

AZEREDO, H. M. C.; FARIA, J. A. F.; AZEREDO, A. M. C. Embalagens Ativas para alimentos. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 20, p. 337-341, 2000.

AZIZAH, A. H.; NIK RUSLAWATI, N. M.; SWEE TEE, T. Extraction and characterization of antioxidant from cocoa by-products. **Food Chemistry**, v. 64, n. 2, p. 199-202, 1999.

AZIZAH, O.; ISMAIL, A.; GHANI, N. A.; ADENAN, I. Antioxidant capacity and phenolic content of cocoa beans. **Food Chemistry**, v. 100, n. 4, p. 1523-1530, 2007.

BALASUNDRAM, N.; SUNDRAM, K.; SAMMAN, S. Phenolic compounds in plants and agri-industrial by-products: antioxidant activity, occurrence, and potential uses. **Food Chemistry**, v. 99, n. 1, p. 191-203, 2006.

BERNARDO-GIL, M. G.; RIBEIRO, M. A.; ESQUÍVEL, M. M. Produção de extractos para a indústria alimentar: uso de fluidos supercríticos. **Boletim de Biotecnologia**, p. 14-21, 2002.

BOBBIO, F. O.; BOBBIO, P. A. **Introdução à química dos alimentos**. 2^o edição. Livraria Varela. São Paulo. p. 204–210, 1989.

CECCHI, H. M. **Fundamentos teóricos e práticos em análise de alimentos**. 2^o edição. Ed. Unicamp. Campinas. p. 86–96, 2003.

CLARKE, R. J. In: **Encyclopedia of Food Sciences and Nutrition**. Caballero, B.; Trugo, L. C.; Finglas, P., eds. Academic Press: London, England, v. 3, p. 1486, 2003.

COLES, R. In: **Food packaging technology**. Blackwell publishing LTD. Oxford. p.1-29, 2003.

COOPER, K. A.; CAMPOS-GIMÉNEZ, E.; ALVAREZ, D. J.; NAGY, K.; DONOVAN, J. L.; WILLIAMSON, G. Rapid Reversed Phase Ultra-Liquid Chromatography Analysis of the Major Cocoa Polyphenols and Inter-relationships of Their Concentrations in Chocolate. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 55, n. 8, p. 2841-2847, 2007.

DAY, B. P. F. **Active packaging**. In: Food packaging technology. Blackwell publishing LTD. Oxford. p. 282-300, 2003.

DEGÁSPARI, C. H.; WASZCZYNSYJ, K. N. Propriedades Antioxidantes de compostos fenólicos. **Visão Acadêmica**, v. 5, n. 1, p. 33-40, 2004.

DEL CASTILLO, M. D.; AMES, J. M.; GORDON, M. H. Effect of Roasting on the Antioxidant Activity of Coffee Brews. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 50, p. 3698-3703, 2002.

DOMINGUES, J. E.; FIUSA, L. P. L. História: **O Brasil em foco**. São Paulo. Ed. FTD. p. 136-146, 1996.

DORMAN, H. J. D.; PELTOKETO, A.; HILTUNEN, R.; TIKKANEN, N. J. Characterisation of the antioxidant properties of de-odourised aqueous extracts from selected Lamiaceae herbs. **Food Chemistry**, v. 83, p. 255–262, 2003.

DREOSTI, I. E. Antioxidant polyphenols in tea, cocoa and wine. **Nutrition**, v. 16, p. 7–8, 2000.

DZIEDZIC, S. Z.; HUDSON, B. J. F. Phenolic acids and related compounds as antioxidants for edible oils. **Food Chemistry**, v. 14, p. 45-51, 1984.

ENCARNAÇÃO, F. O.; LIMA, D. R. O café e a saúde humana. **Embrapa café**, p. 64, 2003.

FAMÁ, L.; FLORES, S. K.; GERSCHENSON, L.; GOYANES, S. Physical characterization of cassava starch biofilms with special reference to dynamic mechanical properties at low temperatures. **Carbohydrate Polymers**, v. 66, p. 8–15, 2006.

FAOSTAT. Food and Agriculture Organization of the United Nations Statistical Databases. **Agricultural Data**. 2009. Disponível em: <<http://faostat.fao.org/faostat>>. Acesso em: 05 jan. 2009.

FELDMAN, D. Polymer Barrier Films. **Journal of Polymers and the Environment**, v. 9, p. 49-55, 2001.

FERNANDES, S. M.; PINTO, N. A. V. D.; THÉ, P. M. P.; PEREIRA, R. G. F. A.; CARVALHO, V. D. *et al.* Teores de Polifenóis, Ácido Clorogênico, Cafeína e Proteína em Café Torrado. **Revista Brasileira de Agrociência**, v. 7, n. 3, p. 197-199, 2001.

FISHMAN, M. L.; COFFIN, D. R.; KONSTANCE, R. P.; ONWULATA, C. I. Extrusion of pectin/starch blends plasticized with glycerol. **Carbohydrate Polymers**, v. 41, p. 317-325. 2000.

FRAIFE FILHO, G. A.; BAHIA, J. J. S. **Mandioca**. CEPLAC, - Comissão executiva do plano da lavoura cacaujeira. Disponível em: <http://www.ceplac.gov.br/radar/mandioca.htm>. Acessado em: 10 jan. 2009.

FRANCHETTI, S. M. M.; MARCONATO, J. C. Polímeros Biodegradáveis – Uma Solução Parcial para Diminuir a Quantidade dos Resíduos Plásticos. **Química Nova**, v. 29, n. 4, p. 811-816, 2006.

FUKUMOTO, L. R.; MAZZA, G. Assessing Antioxidant and Prooxidant Activities of Phenolic Compounds. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 48, p. 3597-3604, 2000.

GARCIA, M. A.; MARTINO, M. N.; ZARITZKI, N. E. Lipid addition to improve barrier properties of starch-based films and coatings. **Food Chemistry and Toxicology**, v. 65 n. 6, p. 941-947, 2000.

GENENA, A. K. **Extração e caracterização do extrato de alecrim (*Rosmarinus officinalis* L.): Estudo se sua ação antioxidante**. 2005. 179f. Dissertação para obtenção de título de mestre. Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2005.

GUILBERT, S.; GONTARD, N.; GORRIS, L. G. M. Prolongation of the shelf-life of perishable food products using biodegradable films and coatings. **Food Science & Technology**, v. 29, n.1,2, p.10-17, 1996.

GOODRIDGE, C. F.; BEAUDRY, R. M.; PESTKA, J. J.; SMITH, D. M. Solid phase microextraction-gas chromatography for quantifying headspace hexanal above freeze-dried chicken myofibrils. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 51, n.15, p. 4185-4190, 2003.

GÓMEZ, M. E. D. B. **Modulação da composição de ácidos graxos poliinsaturados ômega 3 de ovos e tecidos de galinhas poedeiras, através da dieta**. São Paulo, 2003. 149 p. (Tese para obtenção de grau de Doutor) - Programa de Pós-Graduação em Ciência dos Alimentos - Área de Bromatologia. Universidade de São Paulo. 2003.

GUTKOSKI, L. C.; EL-DASH, A. A. Efeito do Cozimento por Extrusão na Estabilidade Oxidativa de Produtos de Moagem de Aveia. **Pesquisa agropecuária brasileira**, v, 34, n. 1, p. 119-127, 1999.

HAYASHI, A.; VEIGA-SANTOS, P.; DITCHFIELD, C.; TADINI, C. C. Investigation of Antioxidant Activity of Cassava Starch Biobased Materials. **VI International Symposium on Future of Food Engineering**, Warsaw, Poland, in CD. 2006.

HENRIQUE, C. M.; CEREDA, M. P. Utilização de biofilmes na conservação pós colheita de morango (*Fragaria ananassa* Duch cv IAC Campinas. **Revista Ciência e Tecnologia de Alimentos (SBCTA)**, v. 19, n. 2, p. 231-240, 1999.

HENRIQUE, C. M.; CEREDA, M. P.; SARMENTO, S. B. S. Características Físicas de Filmes Biodegradáveis Produzidos a partir de Amidos Modificados de Mandioca. **Revista Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 28, n.1, p. 23-240. 2008.

HONG, S. -I.; PARK, W-S. Use of color indicators as an active packaging system for evaluating kimchi fermentation. **Journal of Food Engineering**, v. 46, p. 67-72, 2000.

JONFIA-ESSIEN, W. A.; WEST, G.; ALDERSON, P. G.; TUCKER, G. Phenolic content and antioxidant capacity of hybrid variety cocoa beans. **Food Chemistry**, v. 108, p. 1155-1159, 2008.

KAUR, C.; KAPOOR, H. C. Antioxidants in fruits and vegetables - The millennium's health. **International Journal of Food Science and Technology**, v. 36, p. 703-725, 2001.

KIM, B. S.; HRKACH, J. S.; LANGER, R. Biodegradable photo-crosslinked poly (ether-ester) networks for lubricious coatings. **Biomaterials**, v. 21, p. 259-265, 2000.

KROCHTA, J. M.; MULDER-JOHNSTON, C. de. Edible and biodegradable polymer films: Challenges and opportunities. **Food Technology**, v. 51, n. 2, p. 61-73, 1997.

LECUMBERRI, E.; MATEOS, R.; IZQUIERDO-POLIDO, M.; RUPÉREZ, P.; GOYA, L.; BRAVO, L. Dietary fibre composition, antioxidant capacity and physico-chemical properties of a fibre product from cocoa (*Theobroma cacao* L.). **Food Chemistry**, v. 104, n. 3, p. 948-954, 2007.

LEE, K. W.; KIM Y. J.; LEE, H. J.; LEE, C. Y. Cocoa Has More Phenolic Phytochemicals and a Higher Antioxidant Capacity than Teas and Red Wine. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 51, p. 7292-7295, 2003.

LOULI, V.; RAGOUSSIS, N.; MAGOULAS, K. Recovery of phenolic antioxidants from wine industry by-products. **Bioresource Technology**, v. 92, p. 201–208, 2004.

- LUCAS, E. F.; SOARES, B. G.; MONTERIO, E. E. C. **Caracterização de Polímeros. Determinação de Peso Molecular e Análises Térmicas**. E-papers, Rio de Janeiro. 2001.
- MACHADO, L. D. B. **Calorimetria Exploratória Diferencial (DSC) aplicada ao estudo de polímeros**. Associação Brasileira de Polímeros – ABPol. Curso realizado em 8 e 9 de junho. 1999.
- MAIA, L. H.; PORTE, A.; SOUZA, V. F. Filmes comestíveis: Aspectos gerais, propriedades de barreira a umidade e oxigênio. **Boletim do Centro de Pesquisa de Processamento de Alimentos – B. CEPPA**, v. 18, n. 1, p. 105-128, 2000.
- MAJO, D.; GIAMMANCO, M.; LA GUARDIÀ, M.; TRÍPOLI, E.; GIAMMANCO, S.; FINOTTI, E. Flavanones in Citrus fruit: Structure antioxidant activity relationships. **Food Research International**, v. 38, p. 1161-1166, 2005.
- MAPA - Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento, Governo do Estado do Espírito Santo, Agriannual (FNP), Comissão Executiva do Plano da Lavoura Cacaueira - Ceplac. **O setor produtivo do cacau e sistemas florestais renováveis**. Disponível em: <http://www.agricultura.gov.br/>, Acessado em: 29/12/2008.
- MARINI, L. J.; GUTKOSKI, L. C.; ELIAS, M. C.; MEZZOMO, N. Efeito da Secagem Intermitente na Estabilidade de Grãos de Aveia. **Brazilian Journal of Food Technology**, v. 8, n. 3, p. 260-267, 2005.
- MENDONÇA, L. M. V. L.; PEREIRA, R. G. F. A.; MENDES, A. N. G. Parâmetros Bromatológicos de Grãos Crus e Torrados de Cultivares de café (*Coffea arabica* L.). **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 25, n. 2, p. 239-243, 2005.
- MILLER, K. B.; HURST, W. J.; PAYNE, M. J.; STUART, D. A.; APGAR, J.; SWEIGART, D. S.; OU, B. Impacto of Alcalinization on the Antioxidant and Flavonol content of Commercial Cocoa Powders. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 56, p. 8527-8533, 2008.
- MIRANDA, M. Z.; EL-DASH. A. Farinha Integral de Trigo Geminado. 3. Características Nutricionais e Estabilidade ao Armazenamento. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 22, n. 3, p. 216-223, 2002.
- MONTEIRO, M. C.; TRUGO, L. C. Determinação Compostos Bioativos em Amostras Comerciais de Café. **Química Nova**, v. 28, n. 4, p. 637-641, 2005.

MOREIRA, R. F. A.; TRUGO, L. C.; DE MARIA, C. A. B. Componentes Voláteis do Café Torrado. Parte II. Compostos Alifáticos, Alicíclicos e Aromáticos. **Química Nova**, v. 23, n. 2, p. 195-203, 2000.

MÜLLER, C.; YAMASHITA, F.; LAURINDO, J. B. Evaluation of effects of glycerol and sorbitol concentration and water activity on the water barrier properties of cassava starch films through a solubility approach. **Carbohydrate Polymers**, v. 72, p. 82-87, 2008.

NAIDU, M. M.; SULOCHANAMMAN, G. SAMPATHU, S. R.; SRINIVAS, P. Studies on Extraction and Antioxidant Potential of Green Coffee. **Food Chemistry**, v.107, n.1, p. 377-384, 2007.

NICOLI, M. C.; MANZOCCO, L.; LERICI, C. L.; ANESE, M. Antioxidant Properties of Coffee Brews in Relation to the Roasting Degree. **Food Science & Technology**, v. 30, p. 292–297, 1997.

NIEMENAK, N.; ROHSIUS, C.; ELWERS, S.; NDOUMOU, D. O.; LIEBEREI, R. Comparative study of different cocoa (*Theobroma cacao* L.) clones in terms of their phenolics and anthocyanins contents. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 19, p. 6-7, 2006.

OLIVATO, J. B.; MALI, S.; GROSSMANN, M. V. E. Efeito de embalagem biodegradável de amido no armazenamento de queijo processado. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 27, n. 1, p. 81-88, 2006.

OLIVEIRA, M. A. **Extração de polifenóis da semente de cacau (*Theobroma cacao*)**. 2005. 72f. Dissertação para obtenção de título de mestre. Universidade Federal de Santa Catarina. Florianópolis, Santa Catarina, 2005.

ORDONEZ, J. A. **Tecnologia de alimentos**: componentes dos alimentos e processos. Porto Alegre: Artmed, p. 33-49, 2005.

ORTEGA, N.; ROMERO, M.; MACIA, A.; REGUANTI, J.; ANGLE'S, N.; MORELLO, J. R.; MOTILVA M. Obtention and Characterization of Phenolic Extracts from Different Cocoa Sources. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 56, n. 20, p. 962-9627, 2008.

PARENTE, V. M.; OLIVEIRA, A. R. J.; COSTA, A. M. Potencialidades regionais. Estudo de viabilidade econômica. **Amido de mandioca**. Sumário executivo. SUFRAMA. 2003.

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.

PARRAS, P.; MARTÍNEZ-TOMÉ, M.; JIMÉNEZ, A. M.; MURCIA, M. A. Antioxidant capacity of coffees of several origins brewed following three different procedures. **Food Chemistry**, v. 102, p.582–592, 2007.

PERRONE, P.; FARAH, A.; DONANGELO, C. M.; DE PAULIS, TOMAS; MARTIN, P. R. Comprehensive analysis of major and minor chlorogenic acids and lactones in economically relevant Brazilian coffee cultivars. **Food Chemistry**, v. 106, n. 2, p. 859-867, 2008.

PESCHEL, W.; SANCHEZ-RABANEDA, F.; DIEKMANN, W.; PLESCHER, A.; GARTZIA, I.; JIMÉNEZ, D. An industrial approach in the search of natural antioxidants from vegetable and fruit wastes. **Food Chemistry**, v. 97, n.1, p. 137–150, 2006.

PHAN THE, D.; DEBEAUFORT, F.; VOILLEY, A.; LUU, D. Biopolymer Interactions Affect the Functional Properties of Edible Films Based on Ágar, Cassava Starch and Arabinoxylan Blends. **Journal of Food Engineering**, v. 90, p. 548-558, 2009.

PORTES, E.; GARDRAT, C.; CASTELLAN, A.; COMA, V. Enviromentally frindly films based on chitosan and tetrahydrocurcuminoid derivatives exhibiting antibacterial and antioxidative properties. **Carbohydrate Polymers**, v. 76, n. 4, p. 578-584, 2009.

RAMALHO, V. C.; JORGE, N. Antioxidantes utilizados em óleos, gorduras e alimentos gordurosos. **Química Nova**, v. 29, n. 4, p. 755-760, 2006.

RIBEIRO, M. A.; BERNARDO-GIL, M. G.; ESQUÍVEL, M. M. *Melissa officinalis*, L.: study of antioxidant activity in supercritical residues. **Journal of Supercritical Fluids**, v. 21, p. 51–60, 2001.

RIGO, L. N. **Desenvolvimento e Caracterização de Filmes comestíveis**. 2006. 39-44 f. Dissertação para obtenção de título de mestre. Universidade regional integrada do alto Uruguai e das missões, Erechin, Rio Grande do Sul, 2006.

RODRIGUEZ DE SOTILLO, D.; HADLEY, M.; HOLM, E. T. Potato peel waste: stability and antioxidant activity of a freeze-dried extract. **Journal Food Science**, v. 59, n. 5, p. 1031-1033, 1994.

ROONEY, M. L. Overview of active food packaging. **Active Food Packaging**. London: Blackie Academic & Professional. London, UK. p. 1-37, 1995.

RYU, S. Y.; RHIM, J. W.; ROH, H. J.; KIM, S. S. Preparation and Physical Properties of Zein-Coated High-Amylose Corn Starch Film. **Food Science & Technology**, v.35, n.8, p.680 – 686, 2002.

SANCHEZ-GONZALEZ, I.; JIMENEZ-ESCRIG, A.; SAURA-CALIXTO, F. In vitro antioxidant activity of coffees brewed using different procedures (Italian, espresso and filter). **Food Chemistry**, v. 90, p. 133–139, 2005.

SANTOS, M. H.; BATISTA, B. L.; DUARTE, S. M. S.; ABREU, C. M. P.; GOUVÊA, C. M. C. P. Influência do processamento e da torrefação sobre a atividade antioxidante do café (*Coffea arabica*). **Química Nova**, v. 30, n. 3, p. 604-610, 2007.

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**. 1. ed. Campinas: CETEA/ITAL, p. 267 2002.

SHAHIDI, F. Natural Antioxidants: An Overview “in” Natural Antioxidants Chemistry, Health Effects, and Applications. **AOCS**, Champaign, Illinois, p. 1-11, 1996.

SILVA, F. A. M.; BORGES, M. F. M.; FERREIRA, M. A. Métodos para Avaliação do Grau de Oxidação e da Capacidade Antioxidante. **Química Nova**, v. 22, n. 1, p. 94-103, 1999.

SOARES, S. E. Ácidos fenólicos como antioxidantes. **Revista de Nutrição**, v. 15, n. 1, p. 71-81, 2002.

SOUZA, C. M. M.; SILVA, H. R.; VIEIRA-JR, G. M.; AYRES, M. C. C.; COSTA, C. L. S.; ARAÚJO, D. S.; CAVALCANTE, L. C. D.; BARROS, E. D. S.; ARAUJO, P. B. M.; BRANDÃO, M. S.; CHAVES, M. H. Fenóis Totais e Atividade Antioxidante de Cinco Plantas Medicinais. **Química Nova**, v. 30, p. 351-355, 2007.

STALMACH, A.; MULLEN, W.; NAGAI, C.; CROZIER, A. On-line HPLC analysis of the antioxidant activity of phenolic compounds in brewed, paper-filtered coffee. **Brazilian Journal of plant physiology**, v.18, n. 1, p. 253-262, 2006.

SUMMA, C.; RAPOSO, F. C.; MCCOURT, J.; SCALZO, R. L.; WAGNER, K.; ELNADFA, I.; ANKLAN, E. Effect of roasting on the radical scavenging activity of cocoa beans. **European Food Research Technology**, v. 222, p. 368–375, 2006.

THARANATHAN, R. N. Biodegradable films and composite coatings: past, present and future. In: **Food Science and Technology**, v. 14, n. 3, p. 71–78, 2003.

VEIGA-SANTOS, P.; SCAMPARINI, A. R. P. **Indicador** irreversível de temperatura utilizando carboidratos. Patente protocolizada n. 4.315. (INPI). 23/08/2004.

VEIGA-SANTOS, P.; OLIVEIRA, L. M. CEREDA, M. P.; SCAMPARINI, A. R. P. Sucrose and inverted sugar as plasticizer. Effect on cassava starch–gelatin film mechanical properties, hydrophilicity and water activity. **Food Chemistry**, v. 103, p. 255–262, 2007.

VERMEIREN, L., DEVLIEGHIERE, F., VAN BEEST, M., KRUIJF, N., DEBEVERE, J. Development in the active packaging of food. **Trends in Food Science & Technology**, v. 10, n. 3, p. 77-86, 1999.

VICENTINI, N. M. **Elaboração e caracterização de filmes comestíveis à base de fécula de mandioca para uso em pós-colheita**. 2003. 198 f. Tese (Doutorado em Agronomia) – Faculdade de Ciências Agrônômicas, Universidade Estadual Paulista, Botucatu, 2003.

WOLLGAST, J.; ANKLAM, E. Review on polyphenols in Theobroma cacao: changes in composition during the manufacture of chocolate and methodology for identification and quantification. **Food Research International**, v. 33, p. 423-447, 2000.

WORARATPHOKA, J; INTARAPICHET, K.; INDRAPICHET, K. Phenolic compounds and antioxidative properties of selected wines from the northeast of Thailand. **Food Chemistry**, v. 104, n. 4, p. 1485-1490, 2007.

ZHENG, W.; WANG, S. Y. Antioxidant Activity and Phenolic Compounds in Selected Herbs. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 49, p. 5165-5170, 2001.

ZULLO, R.; IANNACE, S. The effects of different starch sources and plasticizers on film blowing of thermoplastic Starch. Correlation among process, elongational properties and macromolecular structure. **Carbohydrate Polymers**, DOI: 10.1016/j.carbpol.2009.01.007, 2009.

CAPÍTULO 2

**Avaliação da eficácia dos compostos fenólicos derivados de
cacau e café como aditivos antioxidantes em biofilmes de
amido de mandioca**

Capítulo 2

Avaliação da eficácia dos compostos fenólicos derivados de cacau e café como aditivos antioxidantes em biofilmes de amido de mandioca

Resumo

A busca por antioxidantes naturais derivados de plantas como alternativa para os antioxidantes sintéticos tem se tornado um interessante campo de pesquisa. Por este motivo, o objetivo principal deste trabalho foi avaliar o uso de derivados de cacau e café como fonte de compostos fenólicos, quando incorporados como aditivos em embalagens biodegradáveis de amido de mandioca e plastificantes. Para elaboração dos biofilmes foi utilizado um planejamento de superfície de resposta 2^2 x estrela, totalizando 11 formulações contendo diferentes concentrações de aditivos fontes de compostos fenólicos (pó de cacau e extrato de café). A vida de prateleira de azeite de dendê embalado com os biofilmes contendo os aditivos foi monitorada por 45 dias sob condições de oxidação acelerada (63%UR/30°C). Azeite de dendê embalado com biofilme de amido de mandioca sem os aditivos antioxidantes (C1), em polietileno de baixa densidade - PEBD (C2) e sem embalagem (C3) serviram como controles. Os resultados indicaram que após 45 dias de armazenamento os produtos embalados com os biofilmes que continham as maiores concentrações dos aditivos antioxidantes, apresentaram os menores valores de oxidação. Portanto, a combinação dos compostos fenólicos dos derivados do cacau e do café nos biofilmes de amido de mandioca conferiu um maior efeito protetor contra a oxidação lipídica. Um efeito antioxidante sinérgico entre os aditivos foi também constatado.

Palavras-chaves: Antioxidante, embalagem ativa, biofilme, compostos fenólicos, café e cacau.

ABSTRACT

Efficacy of coffee and cocoa phenolic compounds as antioxidant additives on cassava starch biofilms. The search for antioxidants naturally occurring in plants as alternative to synthetic antioxidants is an interest field to researchers. Therefore, the main objectives of this study were evaluated the use of coffee and cocoa phenolic compounds as antioxidant additive for bio-based cassava starch-plasticizers packaging. For biofilm preparation, a central composite experimental design was used, totalizing 11 samples containing different additives concentration with phenolic compounds (cocoa powder and coffee extract). Shelf life over accelerated oxidation (63%RH/30°C) of Palm oil (PO) packed and sealed with the bio-based materials with phenolic compounds additives (coffee powder and cocoa powder) were monitored for 45 days. PO packed with cassava starch films (without antioxidants) (C1), LDPE (C2) and without packaging (C3), served as controls. Results have indicated that after 45 days of storage products packed with bio-based films containing the highest phenolic compounds concentration presented the lowest oxidation. Thus, the combination of coffee and cocoa phenolic compounds in the bio-based cassava starch-plasticizers packaging conferred the highest antioxidative properties, also providing a synergistic antioxidant effect.

Key-words: antioxidant, active packaging, biofilm, phenolic compounds, coffee, cocoa.

1. INTRODUÇÃO

Nos últimos anos tem aumentado o interesse e os esforços em desenvolver novos conceitos de embalagens para alimentos, os quais podem ter um papel pró-ativo visando à preservação do produto e um aumento da vida de prateleira. Muitas estratégias têm sido utilizadas para obter uma proteção positiva das embalagens de alimentos, entre elas a retenção de moléculas indesejáveis com aldeídos e o oxigênio, bem como a liberação de substâncias desejáveis como aromas e dióxido de carbono etc. Alguns destes novos

conceitos de embalagem têm sido chamados de embalagens ativas (NERÍN *et al.*, 2008).

A oxidação é uma das reações de degradação mais importantes que ocorrem nos alimentos, limitando a conservação dos mesmos. Alimentos contendo apenas cerca de 1% de lipídios são afetados pelas reações de degradação, principalmente as reações de oxidação química (ALBU *et al.*, 2004; NERÍN *et al.*, 2008). A oxidação lipídica em alimentos pode causar perda da qualidade, levando à formação de odores e sabores estranhos (*off-flavors*) e de compostos químicos indesejáveis (FUKUMOTO & MAZZA, 2000; LOULI *et al.*, 2004).

A oxidação pode ser evitada ou retardada através do uso de antioxidantes sintéticos ou naturais. Os antioxidantes são compostos capazes de diminuir, retardar ou prevenir a auto-oxidação. Eles podem reagir com radicais livres ou podem interromper a cadeia de propagação da oxidação (ALBU *et al.*, 2004; LOULI *et al.*, 2004; ATOUI *et al.*, 2005).

Atualmente o uso de antioxidantes sintéticos em alimentos se encontra em consideração devido ao potencial toxicológico relacionado aos efeitos de seu uso prolongado (ZHENG & WANG, 2001; ALBU *et al.*, 2004; LOULI *et al.*, 2004; NERÍN *et al.*, 2008). Este fato tem elevado o interesse na identificação e isolamento de antioxidantes naturais (FUKUMOTO & MAZZA, 2000; ZHENG & WANG, 2001; ALBU *et al.*, 2004). O crescente interesse na substituição dos antioxidantes sintéticos por naturais para uso em alimentos tem estimulado a busca de vegetais e outros materiais que possam agir como fonte de novos antioxidantes (ZHENG & WANG, 2001).

Os antioxidantes podem ser incorporados ao produto ou podem ser incorporados à embalagem, produzindo uma embalagem ativa, que além de proteger o produto promovendo uma barreira inerte às condições externas, interagem com o produto podendo inclusive responder a mudanças que possam ocorrer ao mesmo (AZEREDO *et al.*, 2000).

A maioria das embalagens ativas é produzida utilizando material plástico, derivado do petróleo, gerando uma série de problemas ambientais (ARVANITOYANNIS & BILIADERIS, 1998). Como alternativa a estes problemas, surgiram as embalagens biodegradáveis obtidas a partir de fontes

renováveis (LOURDIN *et al.*, 1997) como, por exemplo, os filmes produzidos a partir do amido.

Filmes flexíveis obtidos a partir de amido de mandioca foram desenvolvidos com sucesso (VEIGA-SANTOS *et al.*, 2007) e também já foram utilizados como matriz biodegradável na identificação de novos antioxidantes naturais (GRISI *et al.*, 2008).

Os polifenóis são um dos principais compostos com ação antioxidante presente nas plantas, embora não sejam os únicos (SOUZA *et al.*, 2007). Dentre as diversas fontes naturais de polifenóis citadas, o café (*Coffea arabica* L.) e o cacau (*Theobroma cacao* L.) são considerados as fontes mais ricas. A concentração de compostos fenólicos no cacau e no café varia de 67-410 mg/g e 57-94 mg/g, respectivamente (FERNANDES *et al.*, 2001; FARAH & DONANGELO, 2006; NIEMENAK *et al.*, 2006; JONFIA-ESSIEN *et al.*, 2008). Em adição, outras propriedades biológicas como efeito anticarcinogênico, antimutagênico e antialérgico, tem sido reportadas para os antioxidantes naturais e sintéticos (WOLLGAST & ANKLAN, 2000; AZIZAH, *et al.*, 2007).

O cacau, o café e seus derivados são produzidos em grandes quantidades e consumidos no mundo todo (JONFIA-ESSIEN *et al.*, 2008). Além da grande concentração de polifenóis, a possibilidade de adição de derivados de cacau e café em embalagens produzidas com amido de mandioca tem uma grande importância econômica para o Brasil e para outros países produtores. O Brasil produziu, em 2007, 27 milhões de toneladas de mandioca, 2 milhões de toneladas de café e 221 mil toneladas de cacau (FAOSTAT, 2009).

No presente estudo foi utilizada uma metodologia de superfície de resposta para formular biofilmes contendo derivados de cacau e café, buscando avaliar a eficácia antioxidante destes aditivos quando incorporados a uma matriz de amido de mandioca e plastificantes. Os biofilmes foram utilizados para embalar azeite de dendê, simulando sua ação antioxidante durante sua vida de prateleira sob condições de oxidação acelerada (63%UR, 30°C) por 45 dias. O azeite de dendê embalado em biofilme de amido de mandioca sem conter os aditivos antioxidantes (C1), em sacos plásticos de polietileno de baixa densidade (PEBD) (C2) e azeite de dendê sem embalagem, serviram como controles do estudo.

2. MATERIAIS E MÉTODOS

2.1. MATERIAIS

Amido da mandioca e pó de cacau (doados pela Cargill Agrícola S/A), sacarose e açúcar invertido (doados pelo Açúcar Guarani S/A), azeite de dendê (doado por ODELSA S/A) e café Melita® adquirido nos supermercados.

2.2. PLANEJAMENTO ESTATÍSTICO

Os filmes foram desenvolvidos por um delineamento estatístico de superfície de resposta, com um modelo de ordem (2^2) contendo 4 pontos axiais (1,41), 4 pontos ortogonais e 3 pontos centrais, totalizando 11 amostras. O Pó de cacau (% m/m; X_1) e extrato de café (% m/m; X_2) foram selecionados como variáveis independentes e seus valores codificados encontram-se na tabela 1. O índice de peróxidos e o teor de carotenóides totais do produto embalado (azeite de dendê) bem como o teor de polifenóis e de flavonóides totais dos biofilmes foram utilizados como variáveis dependentes (Y). Além disso, para os biofilmes que apresentaram concentração máxima (F8) e mínima (F1) de antioxidantes, e para as amostras que continham somente cacau (F7) ou somente café (F5), foi investigado também o teor de hexanal e teor de dienos conjugados.

Utilizando um delineamento de superfície de resposta, o polinômio de segundo grau (Equação 1) foi calculado pelo programa Statistic 7.0 (Stat Inc, Minneapolis, MN, USA), para estimar o comportamento da variável dependente segundo o modelo gerado. Os resultados foram avaliados através da ANOVA, considerando o erro puro e 95% de confiança.

$$Y = b_0 + b_1 X_1 + b_2 X_2 + b_{11} X_1^2 + b_{22} X_2^2 + b_{12} X_1 X_2 \quad (\text{Equação 1})$$

Onde:

Y = Variável dependente;

X_1 e X_2 = Variáveis independentes;

b_0 = Termo de compensação;

b_1 e b_2 = Termos lineares;

b_{11} e b_{22} = Termos quadráticos;

b_{12} = Termo de interação entre as variáveis independentes.

Tabela 1. Valores codificados e reais (%) das variáveis independentes do delineamento estatístico.

Formulações	Valores codificados		Valores reais (% m/m)	
	Cacau (X ₁)	Café (X ₂)	Cacau	Café**
1	-1,00	-1,00	0,30	0,07
2	-1,00	1,00	0,30	0,39
3	1,00	-1,00	1,70	0,07
4	1,00	1,00	1,70	0,39
5	-1,41	0,00	0,00	0,23
6	1,41	0,00	2,00	0,23
7	0,00	-1,41	1,00	0,00
8	0,00	1,41	1,00	0,46
9 *	0,00	0,00	1,00	0,23
10 *	0,00	0,00	1,00	0,23
11 *	0,00	0,00	1,00	0,23

* Pontos centrais; ** Concentração do extrato seco de café.

2.3. PREPARAÇÃO DOS BIOFILMES

Para preparação da solução filmogênica, inicialmente foi utilizado um extrato de café obtido através da percolação de 2 litros de água destilada a 90°C (FAMÁ *et al.*, 2006) sobre as massas de café de forma a se obter extratos de concentração variando de 0,07% a 0,46% (g/100g, Tabela 1). A este extrato foram adicionados: pó do cacau (0-2,0%, g/100g, Tabela 1), amido de mandioca (4%, g/100g) além de sacarose (0,7%, g/100g) e açúcar invertido (1,4%, g/100g), que agem como agentes plastificantes. Em seguida esta solução foi aquecida até a temperatura de retrogradação do amido, 70°C, com agitação constante. Os filmes de amido foram preparados através da técnica de “casting”, foram desidratados em estufa com circulação de ar (35±2°C) em placas de Petri de poliestireno. Os filmes foram armazenados durante 3 dias, para acondicionamento (75%UR, 23°C), quando então foram utilizados para embalar o azeite de dendê, para o início da avaliação da vida de prateleira, conforme metodologia proposta por Veiga-Santos & Scamparini (2004).

2.4. MOLDAGEM DOS BIOFILMES

Os biofilmes foram usados para embalar o azeite de dendê, na forma de sacos retangulares de dimensões 5 x 2 cm (10cm²), para investigar o comportamento do antioxidante contido na embalagem, durante sua vida de prateleira (0, 7, 15, 30 e 45 dias), sob condições de oxidação acelerada

(63%UR, 30°C). Os biofilmes foram produzidos, estocados e analisados, sob o abrigo de luz, para que não houvesse interferência nos resultados.

2.5. CARACTERIZAÇÃO DO AZEITE DE DENDÊ EMBALADO NOS BIOFILMES

O efeito da ação antioxidante do biofilme foi avaliado através do índice de peróxido, teor de dienos conjugados, teor de hexanal e teor de carotenóides totais.

2.5.1. Índice de peróxidos

O índice de peróxido do produto embalado foi determinado por titulometria de acordo com a metodologia da AOAC Cd 8b-90 (2000) nos dias 0, 7, 15, 30 e 45 dias.

2.5.2. Teor de dienos conjugados

O teor de dienos conjugados do produto embalado foi determinado por espectrofotometria de acordo com a metodologia descrita pela AOCS (1993). Para tal, 200mg de azeite de dendê foram pesados em um balão volumétrico de 10mL. Aproximadamente 5 mL de isooctano P.A foram adicionados ao balão, que foi agitado até a dissolução completa da amostra. Em seguida o volume do balão foi aferido com isooctano, repetindo o processo de agitação. A absorbância foi medida a 233nm em um espectrofotômetro Perkin Elmer. Os resultados foram expressos em percentual (%) e foram calculados pela equação 2, onde K_0 representa a absortividade para ácidos graxos e é igual a 0,03; A, a absorbância da leitura a 233nm; b, o tamanho da cubeta em centímetros e c, a concentração da amostra em gramas/litro.

$$\text{Teor de dienos conjugados, \%} = 0,84 (A/bc) - K_0 \quad (\text{Equação 2})$$

2.5.3. Teor de carotenóides totais

O teor de carotenóides totais do produto embalado foi determinado por espectrofotometria. Foram pesados 300mg de azeite de dendê em um balão volumétrico de 10 mL. Aproximadamente 5 mL de éter de petróleo foram adicionados ao balão, que foi agitado até que toda a amostra estivesse

dissolvida. O balão foi aferido com éter de petróleo e agitado novamente. A Absorbância foi medida a 435nm em espectrofotômetro Perkin Elmer (PASSOTTO *et al.*, 1998).

2.5.4. Teor de hexanal

A determinação do teor de hexanal do produto embalado foi realizada por cromatografia gasosa (CG) com headspace e detecção por espectrometria de massas, através de uma adaptação da metodologia proposta por Amstalden *et al.* (2001). 200 miligramas de azeite de dendê foram pesados em um vial de headspace de 15 mL e em seguida foram selados utilizando tampa de alumínio e septo de teflon. A amostra foi aquecida em headspace Turbomatrix da Perkin Elmer, a 140 °C por 30 minutos. A separação dos compostos foi realizada por cromatografia gasosa (CG) usando um cromatógrafo CLARUS 500, Perkin Elmer com detecção por espectrometria de massas (EM), acoplado a uma coluna Wax-FFAP (50m x 0,20mm x 0,30µm) com fluxo de hélio de 1mL/minuto. O injetor operou a 180 °C, e a coluna em uma programação de temperatura que teve início a 35 °C, permanecendo por 1 minuto, subindo 3 °C por minuto, até 80 °C aumentando, 7 °C por minuto até 160 °C, totalizando 50 minutos de corrida. O espectrômetro de massas operou com ionização de impacto de elétrons e energia de ionização de 70eV. O Espectro de massas foi coletado em um intervalo de 50 a 300 *m/z*. O hexanal foi identificado por comparação do tempo de retenção dos picos da amostra e do padrão, e através do espectro de massas obtido em comparação com espectros da biblioteca NIST. A quantificação foi feita através de uma curva de calibração obtida por padrão externo, onde o padrão de hexanal da marca Vetec, foi dissolvido em óleo de soja e injetado nas mesmas condições das amostras.

2.6. CARACTERIZAÇÃO DOS BIOFILMES

2.6.1. Teor de polifenóis totais

O teor de polifenóis totais do pó de cacau, do extrato de café e dos biofilmes formulados, foi determinado por espectrofotometria, utilizando reagente Folin-Ciocateu, conforme descrito por Swain & Hillis (1959) e citado

por Roesler *et al.* (2007). Para tal, 100mg de amostra previamente desengordurada com éter de petróleo foram extraídos com 10mL de água destilada, através de agitação por 5 minutos em vortex. As amostras foram então centrifugadas por 3 minutos em uma centrífuga Eppendorf, a 5 °C e 4400rpm. O sobrenadante foi utilizado como amostra final. 0,5 mL deste sobrenadante foi pipetado para um tubo de 10 mL. Em seguida foi adicionado 2,5 mL de reagente Folin-Ciocalteu (10%). Após 3 minutos, foram adicionados 2 mL de solução 7,5% de carbonato de sódio. A mistura foi colocada em banho-maria a 50°C por 5 minutos, e então foi imediatamente resfriada em banho de gelo, a fim de interromper a reação. A absorbância foi medida a 760nm em espectrofotômetro Perkin Elmer e a quantificação feita através de uma curva de padrão externo, obtida através de diluições de uma solução padrão de ácido gálico.

2.6.2 Teor de flavonóides totais

Para a determinação do teor de flavonóides totais dos biofilmes, foi utilizado o mesmo sobrenadante obtido no método de polifenóis totais. Na qual, 1 mL da amostra final foi transferida para um balão volumétrico de 10 mL contendo previamente 4 mL de água destilada. Foram adicionados 0,3 mL de nitrito de sódio 5 %, após exatos 5 minutos, foram adicionados 0,3 mL de cloreto de alumínio 10% e após 1 minuto foi adicionado 2 mL de hidróxido de sódio 1M. O volume do balão foi completado com água destilada e agitado manualmente. A absorbância foi medida a 510nm e espectrofotômetro em Perkin Elmer, a quantificação feita através de uma curva de calibração construída pela diluição de uma solução padrão de epicatequina (LEE *et al.*, 2003).

3.0. RESULTADOS E DISCUSSÃO

No presente estudo foi investigada a estabilidade de derivados de cacau e café como aditivos antioxidantes quando adicionados a biofilmes de amido de mandioca, através dos teores de polifenóis totais e de flavonóides totais. Também foi investigada a ação antioxidante destes aditivos. A ação antioxidante foi avaliada utilizando os biofilmes contendo pó de cacau e/ou

extrato de café para embalar azeite de dendê, a fim de simular a vida de prateleira do produto em condições de oxidação acelerada (63%UR, 30°C) durante 0, 7, 15, 30 e 45 dias de armazenamento. A estabilidade antioxidante foi avaliada através das análises de índice de peróxido e de carotenóides totais do produto embalado para todas as amostras. Os teores de hexanal e de dienos conjugados foram avaliados para as amostras com as concentrações: mínima (F1) e máxima (F8) de antioxidantes, e as amostras contendo somente extrato de café (F5) ou pó de cacau (F7). O azeite de dendê embalado no biofilme de amido sem os aditivos antioxidantes (C1), em filmes de PEBD (C2) e sem embalagem (C3) foram utilizados como controles do estudo.

Inicialmente foram avaliados os teores de polifenóis totais e de flavonóides totais do pó de cacau e extrato de café, utilizados na formulação dos biofilmes. O extrato de café apresentou teores mais elevados de ambos compostos, com 195,32 mg/g de polifenóis e 187,26 mg/g de flavonóides, enquanto o pó de cacau apresentou 155,82 mg/g e 150,61 mg/g, respectivamente ($p < 0,05$).

Em seguida foram avaliados os teores de polifenóis e flavonóides totais nas 11 formulações dos biofilmes, antes de serem utilizados para embalar o azeite de dendê (dia 0). Estes resultados demonstram que a formulação F1 apresentou os menores teores de polifenóis (35,05 mg/g) e de flavonóides totais (23,24 mg/g), o que já era esperado visto que a formulação F1 contém as menores concentrações de aditivos (0,3% de pó de cacau e 0,07% de extrato de café, Tabela 1) ($p < 0,05$) (Figura 1, Tabela 2). Era de se esperar que a formulação F4 apresentasse os maiores teores de polifenóis e de flavonóides totais, visto que possui as maiores concentrações de aditivos (1,7% de pó de cacau e 0,39% de extrato de café, Tabela 1), porém a formulação que apresentou maiores teores de polifenóis e de flavonóides totais foi a formulação F8, com 118,66 mg/g e 102,54 mg/g, respectivamente; seguida pela formulação F4 com 112,38 mg/g e 99,92 mg/g, respectivamente ($p < 0,05$) (Figura 1, Tabela 2). Este resultado é justificado devido ao fato de que F8 possui 1% de pó de cacau e 0,46% de extrato de café, enquanto F4 possui 1,7% de pó de cacau e 0,39% de extrato de café (Tabela 1). Como o extrato de café possui uma maior concentração de polifenóis e de flavonóides totais do que o pó de cacau, ele contribui de maneira mais significativa para o teor de

antioxidantes dos biofilmes. Este dado justifica também o fato da formulação F5, que contém somente extrato de café (0,23%, Tabela 1) apresentar maiores teores de polifenóis e de flavonóides totais (57,10 mg/g e 47,91 mg/g, respectivamente) quando comparada a formulação F7, que contém somente pó de cacau (1%, Tabela 1), com 39,17 mg/g e 30,38 mg/g, respectivamente ($p < 0,05$) (Figura 1, Tabela 2).

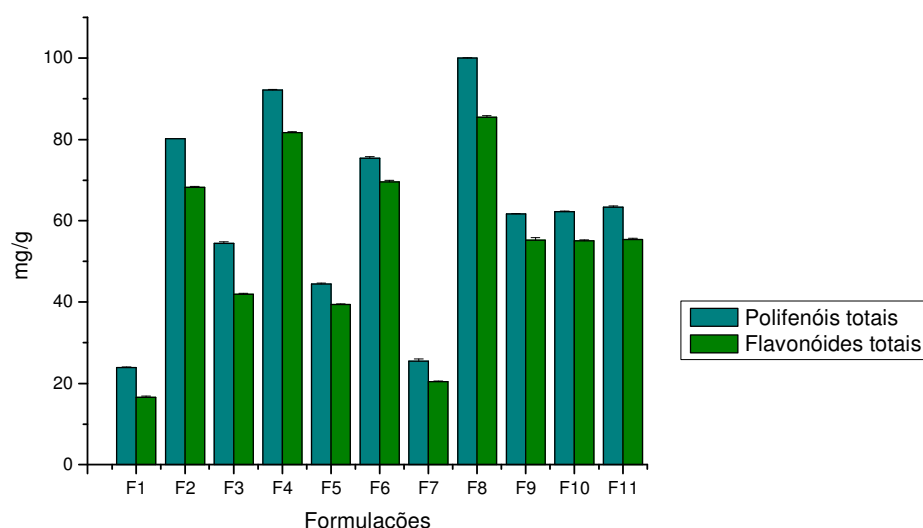


Figura 1. Teores de polifenóis totais e de flavonóides totais nos biofilmes, após a formação do biomaterial (dia 0) ($p < 0,05$). As análises foram realizadas em duplicata, e os resultados expressos em mg/g, indicando também o desvio padrão.

Tabela 2. Teores de polifenóis totais e de flavonóides totais nos biofilmes durante a estocagem (0, 7, 15, 30 e 45 dias).

A*	Polifenóis totais (mg/g)					Flavonóides totais (mg/g)				
	0	7	15	30	45	0	7	15	30	45
F1	35,05	30,64	27,44	25,58	23,87	23,24	21,45	20,18	18,08	16,62
F2	97,70	86,95	84,18	82,39	80,15	84,95	75,38	72,45	70,73	68,20
F3	71,24	61,98	58,77	56,41	54,48	55,35	48,70	46,96	42,12	41,96
F4	112,38	99,45	97,06	93,86	92,10	99,92	88,23	85,68	83,73	81,67
F5	57,10	52,82	49,19	46,99	44,49	47,91	46,47	44,64	42,18	39,39
F6	94,91	82,88	80,88	77,96	75,36	85,59	75,67	72,96	71,07	69,56
F7	39,17	33,47	30,69	27,41	24,47	30,38	26,54	23,78	22,20	20,43
F8	118,66	106,52	104,06	102,59	100,03	102,54	92,47	89,23	87,53	85,43
F9**	75,92	68,88	65,89	63,76	61,64	66,41	61,68	58,27	57,16	55,22
F10**	76,87	69,14	65,08	64,30	62,20	67,16	61,52	59,11	56,95	55,09
F11**	76,76	69,42	64,56	64,56	63,37	66,28	61,49	58,12	57,24	55,34

* Amostras; ** Pontos centrais

Ao longo da vida de prateleira (7, 15, 30 e 45 dias) foi-se constatando uma redução nos teores de polifenóis e de flavonóides totais das 11 formulações. As reduções de polifenóis e flavonóides apresentaram comportamentos semelhantes ao longo da estocagem. Avaliando-se a redução

no teor de polifenóis totais após 45 dias de estocagem (Figura 2, Tabela 3), constata-se que na formulação F7 (somente cacau, Tabela 1) foi maior (redução de 13,70 mg/g) quando comparada a da formulação F5 (somente café, Tabela 1), de 12,62 mg/g ($p < 0,05$). Este resultado demonstra que os polifenóis presentes no cacau são mais suscetíveis à oxidação do que os polifenóis presentes no café. A formulação F1 (menor concentração de aditivos) foi a que apresentou menor redução no teor de polifenóis totais (10,18 mg/g, após 45 dias de estocagem) ($p < 0,05$) (Figura 2, Tabela 3). Com o aumento da concentração de aditivos incorporados ao biofilme foi possível observar um aumento na perda de polifenóis totais, indicando que os biofilmes com maiores percentuais de aditivos podem proteger mais o produto embalado. Era de se esperar que a formulação F8 (maior concentração de antioxidantes, Tabela 1) apresentasse a maior perda no teor de polifenóis totais, porém a formulação que apresentou maior perda foi a formulação F4 (20,27 mg/g) enquanto F8 teve uma perda de 18,63 mg/g ($p < 0,05$) (Figura 2, Tabela 3). Este resultado é justificado devido ao fato de que F4 possui maior concentração de pó de cacau (1,7%, Tabela 1) do que F8 (1%, Tabela 1). Como os polifenóis do cacau são mais suscetíveis à oxidação, a perda no teor de polifenóis totais que ocorreu em F4 foi maior do que a que ocorreu em F8.

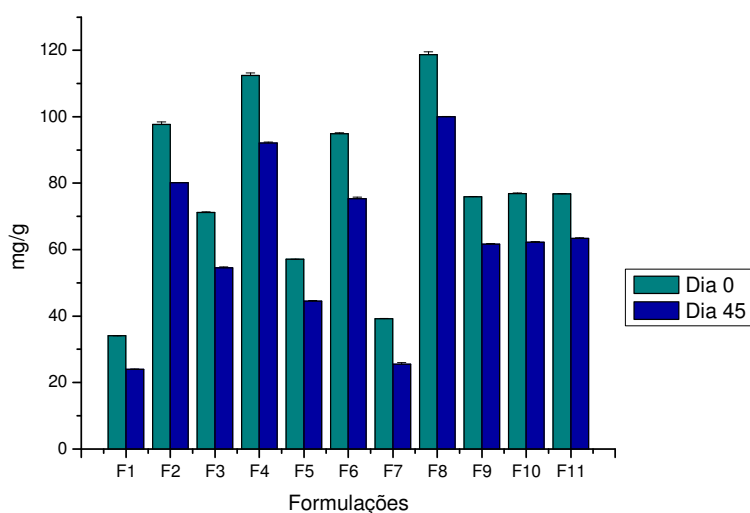


Figura 2. Reduções nos teores de polifenóis totais dos biofilmes, após 45 dias de estocagem ($p < 0,05$). As análises foram realizadas em duplicata, e os resultados expressos em mg/g, indicando também o desvio padrão.

Tabela 3. Matriz CCD envolvendo as variáveis independentes X_1 (Pó de Cacau) e X_2 (Extrato de Café) com valores codificados (e real (%)). Aumento do índice peróxidos (IP, meq/kg (%)), perda do teor de carotenóides totais (CT, $\mu\text{g/g}$ (%)), perda nos teores de polifenóis totais (PT, mg/g (%)) e flavonóides totais (FT, mg/g (%)) presentes do produto embalado nas 11 amostras de biofilmes e nos controles: C1 (biofilme sem adição dos antioxidantes), C2 (filme de PEBD) e C3 (produto sem embalagem), após 7, 15, 30 e 45 dias de armazenamento.

A*	Adição		Produto Embalado								Biofilmes							
	Antioxidante		Aumento do IP em meq/kg (%)				Perda do CT em $\mu\text{g/g}$ (%)				Perda do PT em mg/g (%)				Perda do FT em mg/g (%)			
	X_1 (%)	X_2 (%)	7	15	30	45	7	15	30	45	7	15	30	45	7	15	30	45
C1	—	—	7,66 ^{a,b} (32,72)	10,81 ^a (46,18)	15,31 ^a (65,37)	21,53 ^a (91,93)	21,52 ^{a,b} (4,17)	56,41 ^a (10,93)	85,89 ^a (16,64)	117,64 ^a (22,79)	—	—	—	—	—	—	—	—
C2	—	—	9,14 ^b (39,05)	18,14 ^b (77,48)	62,11 ^b (265,23)	85,10 ^b (363,41)	33,68 ^c (6,52)	60,48 ^a (11,72)	102,57 ^b (19,87)	149,91 ^b (29,04)	—	—	—	—	—	—	—	—
C3	—	—	28,89 ^c (123,39)	38,28 ^c (163,47)	102,69 ^c (438,54)	150,07 ^c (640,87)	55,99 ^d (10,84)	79,10 ^b (15,32)	153,90 ^c (29,81)	218,91 ^c (42,41)	—	—	—	—	—	—	—	—
F1	-1,00 (0,30)	-1,00 (0,07)	5,96 ^{a,e} (25,22)	9,13 ^{a,d} (38,67)	11,85 ^a (50,18)	18,11 ^{a,e} (76,70)	21,72 ^{a,f} (4,19)	50,92 ^{a,c} (9,82)	84,97 ^{a,d} (16,38)	110,57 ^d (21,32)	3,41 ^a (10,02)	6,61 ^a (19,40)	8,47 ^f (24,88)	10,18 ^a (29,88)	1,79 ^a (7,70)	3,05 ^a (13,14)	5,16 ^a (22,20)	6,62 ^a (28,48)
F2	-1,00 (0,30)	1,00 (0,39)	3,89 ^d (16,65)	7,14 ^d (30,52)	7,70 ^a (32,93)	14,35 ^d (61,36)	15,47 ^{b,e,g} (3,01)	41,30 ^{d,e} (8,04)	73,13 ^{e,f} (14,24)	96,91 ^{g,h} (18,87)	10,75 ^b (11,00)	13,52 ^{b,c} (13,84)	15,31 ^{b,c} (15,67)	17,55 ^b (17,96)	9,56 ^b (11,26)	12,50 ^b (14,71)	14,22 ^b (16,74)	16,75 ^b (19,72)
F3	1,00 (1,70)	-1,00 (0,07)	5,21 ^{d,e} (22,20)	8,10 ^{a,d} (34,51)	10,39 ^a (44,26)	16,15 ^{d,e} (68,79)	18,51 ^{a,e,f,g} (3,26)	48,71 ^c (8,59)	77,76 ^{e,h,i} (13,71)	105,32 ^{d,i} (18,57)	9,26 ^c (13,00)	12,47 ^b (17,50)	14,83 ^b (20,81)	16,76 ^b (23,53)	6,64 ^c (12,00)	8,39 ^c (15,15)	11,23 ^c (20,29)	13,39 ^c (24,20)
F4	1,00 (1,70)	1,00 (0,39)	4,00 ^{d,e} (17,07)	7,33 ^{a,d} (31,26)	8,00 ^a (34,11)	14,50 ^d (61,81)	14,43 ^{e,g} (2,86)	39,25 ^e (7,77)	68,06 ^{f,g} (13,48)	87,60 ^f (17,35)	12,92 ^d (11,50)	15,32 ^d (13,63)	18,52 ^d (16,48)	20,27 ^c (18,04)	11,69 ^d (11,70)	14,24 ^d (14,25)	16,19 ^d (16,20)	18,26 ^d (18,27)
F5	-1,41 (0,00)	0,00 (0,23)	5,32 ^{a,d,e} (22,68)	8,20 ^{a,d} (34,99)	10,60 ^a (45,22)	16,37 ^{d,e} (69,85)	17,99 ^{a,e,f,g} (3,40)	46,92 ^{c,d} (9,83)	77,12 ^{e,h,i} (16,15)	101,14 ^{e,h,i} (21,19)	4,28 ^a (7,50)	7,91 ^e (13,85)	10,11 ^{a,e} (17,71)	12,62 ^d (22,10)	1,44 ^a (3,01)	3,26 ^a (6,81)	5,72 ^a (11,94)	8,51 ^e (17,77)
F6	1,41 (2,00)	0,00 (0,23)	4,00 ^{d,e} (16,99)	7,24 ^{a,d} (30,73)	7,87 ^a (33,43)	14,40 ^d (61,14)	14,32 ^g (2,88)	38,05 ^e (7,67)	64,85 ^g (13,07)	86,63 ^f (17,46)	12,02 ^{b,d} (12,66)	14,03 ^c (14,78)	16,95 ^{c,d} (17,86)	19,55 ^{c,e} (20,60)	9,92 ^b (11,59)	12,64 ^b (14,76)	14,52 ^b (16,96)	16,03 ^b (18,73)
F7	0,00 (1,00)	-1,41 (0,00)	5,69 ^{a,d,e} (24,06)	8,54 ^{a,d} (36,16)	11,35 ^a (47,96)	17,01 ^{d,e} (71,88)	18,92 ^{a,e,f,g} (3,96)	48,38 ^c (9,15)	78,83 ^{d,h,i} (14,92)	107,49 ^{d,e,i} (20,34)	5,70 ^e (14,56)	8,48 ^e (21,65)	11,76 ^{e,f} (30,03)	13,70 ^f (34,98)	3,84 ^e (12,64)	6,60 ^e (21,72)	8,18 ^e (26,93)	9,95 ^f (32,76)
F8	0,00 (1,00)	1,41 (0,46)	3,76 ^d (16,02)	7,01 ^d (29,88)	7,53 ^a (32,13)	14,00 ^d (59,70)	14,11 ^g (2,79)	38,78 ^e (7,68)	67,31 ^{f,g,i} (13,33)	87,25 ^f (17,28)	12,44 ^d (10,23)	14,60 ^{c,d} (12,30)	16,08 ^{b,c} (13,55)	18,63 ^e (15,70)	10,07 ^{b,d} (9,82)	13,31 ^{b,d} (12,98)	15,01 ^{b,d} (14,64)	17,11 ^{b,d} (16,68)
F9**	0,00 (1,00)	0,00 (0,23)	4,14 ^{d,e} (17,52)	7,16 ^a (30,34)	8,30 ^a (35,15)	14,24 ^d (60,28)	14,57 ^{e,g} (3,05)	39,00 ^e (8,17)	63,48 ^g (13,30)	87,91 ^f (18,41)	7,04 ^{e,f} (9,28)	10,03 ^f (13,22)	12,15 ^f (16,00)	14,29 ^f (18,82)	4,73 ^{e,f} (7,13)	8,14 ^c (12,26)	9,25 ^{e,f} (13,93)	11,19 ^{f,g} (16,85)
F10**	0,00 (1,00)	0,00 (0,23)	4,10 ^d (17,53)	7,22 ^a (30,85)	8,23 ^a (35,18)	14,34 ^d (61,31)	15,53 ^{a,e,f,g} (3,02)	39,20 ^e (7,63)	69,80 ^{f,g,j} (13,59)	91,76 ^{f,g} (17,87)	7,73 ^f (10,06)	10,79 ^f (14,04)	12,57 ^f (16,35)	14,68 ^f (19,09)	5,63 ^{c,f} (8,39)	8,04 ^c (11,98)	10,21 ^{c,f} (15,20)	12,06 ^g (17,96)
F11**	0,00 (1,00)	0,00 (0,23)	4,12 ^{d,e} (17,56)	7,20 ^a (30,68)	8,27 ^a (35,24)	14,38 ^d (61,26)	20,66 ^{a,e,f} (3,64)	47,47 ^c (8,37)	75,67 ^{e,h,j} (13,34)	91,57 ^{f,g} (16,14)	7,34 ^f (9,57)	10,14 ^f (13,21)	12,20 ^f (15,90)	13,39 ^{d,f} (17,44)	4,79 ^{e,f} (7,23)	8,17 ^c (12,32)	9,04 ^{e,f} (13,65)	10,94 ^f (16,50)

* Amostras; ** Pontos centrais; *** Valores que apresentam a mesma letra, numa mesma coluna, não apresentam diferenças significativas.

Na figura 3-A estão apresentadas as reduções dos teores de flavonóides totais das 11 formulações, após 45 dias de estocagem.

O comportamento das reduções dos teores de polifenóis totais e de flavonóides totais das difrentes formulações de bifilmes (Tabela 3) ao longo da estocagem do produto embalado foi semelhante (Figura 3-B).

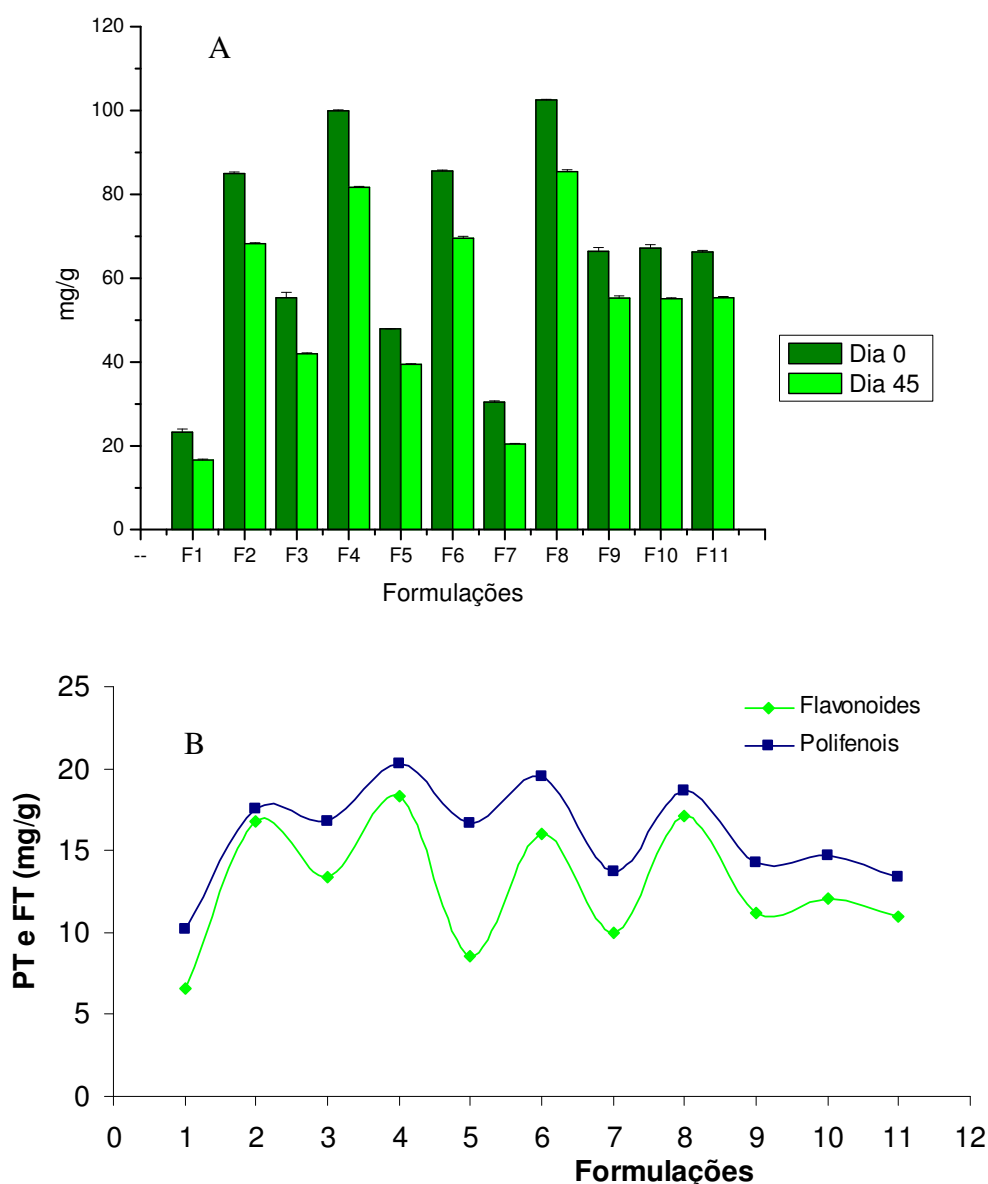


Figura 3. Reduções nos teores de flavonóides totais dos biofilmes, após 45 dias de estocagem ($p < 0,05$). As análises foram realizadas em duplicata, e os resultados expressos em mg/g, indicando também o desvio padrão (A); Comportamento das reduções de polifenóis totais (PT) e de flavonóides totais (FT) (B).

Após 45 dias de armazenamento, todas as amostras apresentaram perdas nos teores de polifenóis e flavonóides totais variando de 15,70-34,98% e 16,50-32,76%, respectivamente. Isto indica que, mesmo após 45 de estocagem, parte dos compostos antioxidantes permanece estável nos biofilmes.

Resultados semelhantes foram encontrados por Grisi *et al.*, (2008), ao embalar óleo de soja com biofilmes, contendo o fruto do dendê e azeite de dendê como aditivos antioxidantes, que após 90 dias de armazenamento resultou em uma perda no teor de carotenóides dos biofilmes variando de 79,90-99,60%, sendo que a formulação que continha menor concentração de antioxidantes apresentou a menor perda após 90 dias e a formulação com maior concentração de antioxidantes apresentou a maior redução no teor de carotenóides totais dos biofilmes. Estes resultados estão de acordo com resultados encontrados no presente trabalho.

Wessling *et al.* (2000), ao incorporar BHT e α -tocoferol em filmes de polietileno de baixa densidade (PEBD), relataram que na estabilidade dos aditivos durante a estocagem dos filmes, o BHT foi degradado em poucos dias enquanto o α -tocoferol permaneceu presente por um período de 6 semanas.

A correspondente análise de variância (ANOVA) para ambas as análises (polifenóis totais e flavonóides totais) está apresentada na Tabela 4. O valor F calculado através da relação entre regressão e resíduo mostra um menor desvio desde que $F_{\text{calc}} > F_{\text{tab}}$, indicando um ajuste do modelo. O gráfico de Pareto indica que as variáveis: pó de cacau, extrato de café e a interação entre eles, apresentaram efeito significativo ($p < 0,05$), na redução dos teores de flavonóides totais dos biofilmes após 45 dias de estocagem (Figura 4-A) e que somente as variáveis pó de cacau e extrato de café apresentaram efeito significativo ($p < 0,05$) na redução dos teores de polifenóis totais no mesmo período (Figura 4-B).

Tabela 4. ANOVA para o modelo quadrático da perda nos teores de polifenóis totais e flavonóides totais dos biofilmes após 45 dias de estocagem.

Análise	Coeficientes de Variação	Soma Quadrática (SS)	Grau de Liberdade (DF)	Média Quadrática (MS)	F-valor F_{calc}
Polifenóis totais	Regressão	98,31	5	19,66	35,11
	Resíduo	2,82	5	0,56	
	Total (SS)	101,14	10		
Flavonóides totais	Regressão	140,18	5	28,04	24,17
	Resíduo	5,81	5	1,16	
	Total (SS)	145,99	10		

$F_{tab}(5,5; 0,95) = 5,05$

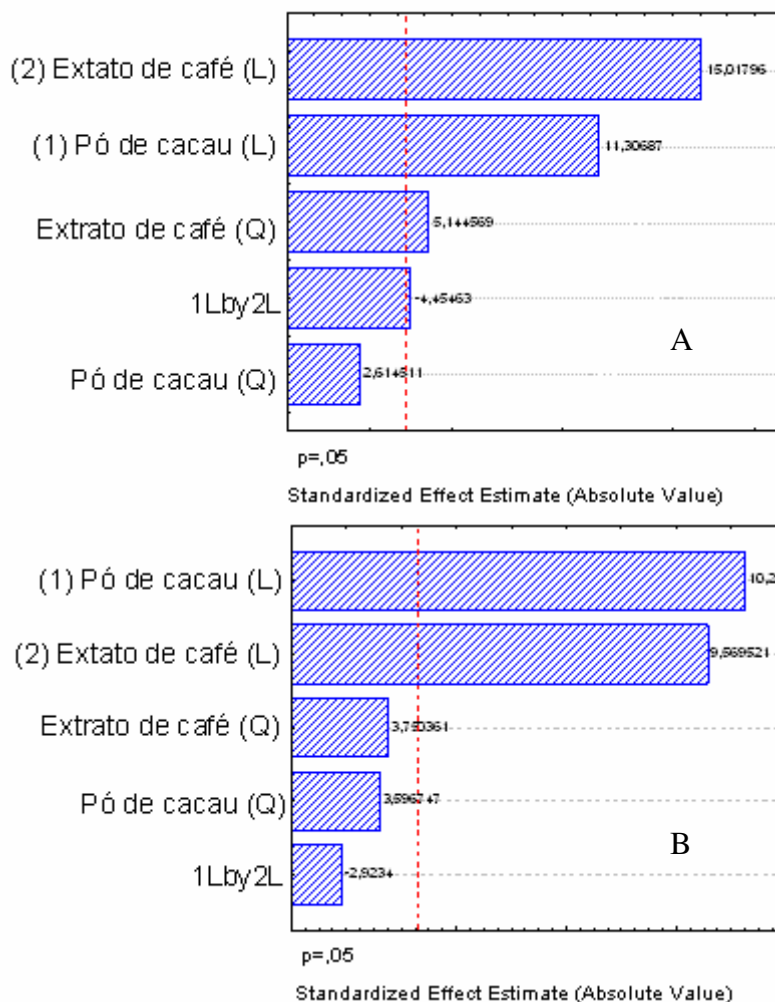


Figura 4. Gráficos de Pareto das reduções nos teores de flavonóides totais (A) e de polifenóis totais (B), após 45 dias de estocagem.

Usando os resultados experimentais, pode-se chegar a uma equação polinomial de segunda ordem, que representa a equação do modelo para os

resultados obtidos de polifenóis totais (PT) (equação 3) e de flavonóides totais (FT) (equação 4) dos biofilmes (mg/g), após 45 dias de estocagem, em função das variáveis pó de cacau (% , X_1) e extrato de café (% , X_2) para os polifenóis totais e, em função das variáveis pó de cacau (% , X_1), extrato de café (% , X_2 , X_2^2) e a interação entre eles ($X_1 X_2$) para os flavonóides totais.

$$PT (\text{Dia } 45) = 9,71 + 1,30 X_1 + 9,07 X_2 \quad (\text{Equação } 3)$$

$$FT (\text{Dia } 45) = 4,79 + 3,41 X_1 + 1,95 X_2 + 2,61 X_2^2 X_2^2 - 2,69 X_1 X_2 \quad (\text{Equação } 4)$$

O coeficiente de determinação (R^2) foi de 0,97 para o teor de polifenóis totais e 0,96 para o teor de flavonóides totais. A figura 5 representa as superfícies de resposta, da redução nos teores de flavonóides totais (A) e de polifenóis totais (B) dos biofilmes após 45 dias de armazenamento.

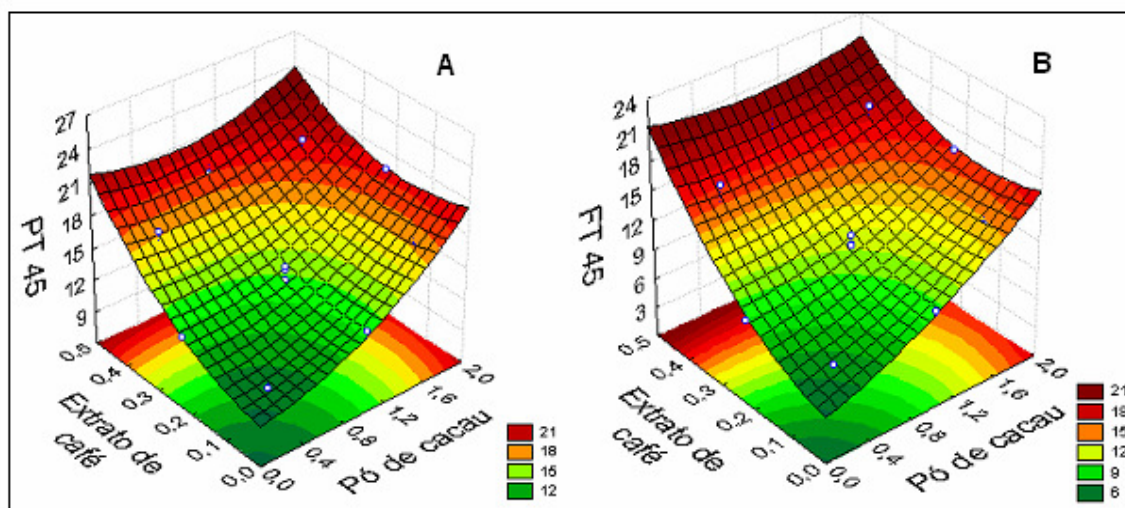


Figura 5. Superfícies de resposta da perda no teor de flavonóides totais, FT (A) e polifenóis totais, PT (B), ambos em mg/g, após 45 dias de estocagem.

O azeite de dendê embalado com as 11 formulações e os três controles apresentaram um aumento no índice de peróxido ao longo da vida de prateleira, e o comportamento apresentado foi semelhante para todos os dias de análise (7, 15, 30 e 45 dias). Após 45 dias de estocagem do azeite de dendê embalado nos biofilmes, todas as amostras apresentaram aumentos no índice de peróxido inferiores aos encontrados para os três controles ($p < 0,05$), demonstrando a eficácia dos derivados de cacau e café com aditivos antioxidantes (Figura 6, Tabela 3).

Os produtos embalados com os biofilmes contendo os aditivos antioxidantes não apresentaram diferenças significativas nos teores de índice de peróxidos ($p>0,05$), mesmo após 45 dias de estocagem (Tabela 3).

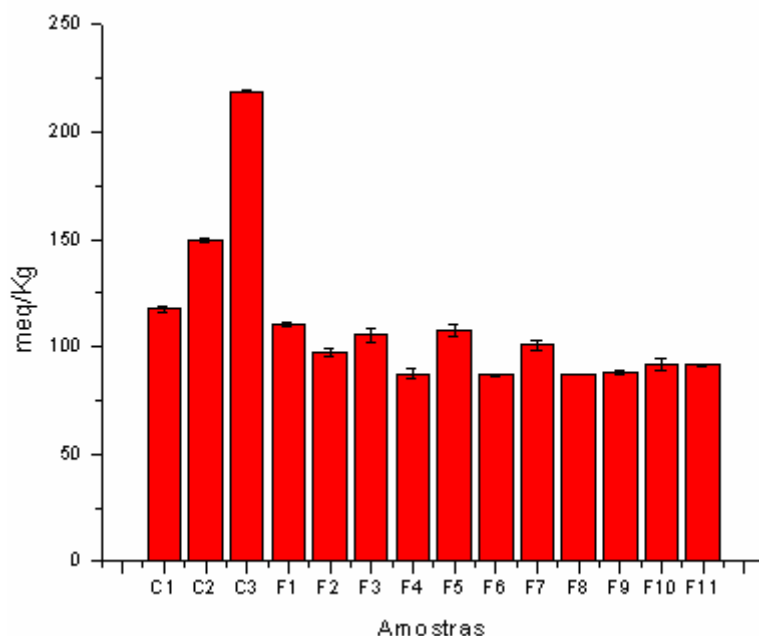


Figura 6. Comparação do aumento no teor de índice de peróxidos dos três controles com as 11 formulações, após 45 dias de estocagem. As análises foram realizadas em duplicata, e os resultados expressos em meq/Kg, indicando também o desvio padrão.

Quando comparadas as 11 formulações entre si, observou-se que a formulação F1 (menor concentração de aditivos) apresenta o maior aumento no índice de peróxidos (76,70%) e a formulação F8 (maior concentração de antioxidantes) apresenta o menor aumento no índice de peróxidos do produto embalado (59,70%) (Figura 6, Tabela 3), demonstrando que à medida que se aumenta a concentração de antioxidantes, aumenta a proteção contra a oxidação. É possível observar também que a formulação F5 (somente café) apresenta um aumento no índice de peróxidos do produto embalado (69,85%) menor do que o apresentado por F7 (somente cacau) que teve um aumento de 71,88% (Figura 6, Tabela 3), o que mostra que o café tem um efeito protetor contra a oxidação lipídica, mais pronunciado do que o apresentado pelo cacau. Este resultado já era esperado uma vez que o pó de café apresenta teores mais elevados de antioxidantes do que o pó de cacau (FERNANDES *et al.*, 2001; FARAH & DONANGELO, 2006; NIEMENAK *et al.*, 2006; JONFIA-ESSIEN *et al.*, 2008).

Os resultados de índice de peróxidos mostram uma maior proteção do azeite de dendê embalado nos biofilmes que contém aditivos antioxidantes. As formulações F4 e F8 mostraram uma oxidação 32,65% e 34,97% menores do que o apresentado pelo produto embalado no controle de amido (C1), respectivamente, após 45 dias de estocagem. Os resultados também indicaram que mesmo sem a adição dos antioxidantes o biofilmes de amido de mandioca é efetivo na proteção contra a oxidação do azeite de dendê embalado, quando comparado ao filme de PEBD (Figura 6, Tabela 3).

Grisi *et al.* (2008) encontrou resultados semelhantes, com um aumento de 61,03% menor no índice de peróxidos do óleo de soja embalado pela formulação que apresentou maior concentração de antioxidantes (carotenóides), quando comparado com o controle de amido. Biofilmes de amido de mandioca contendo extratos de uva e de espinafre apresentaram maior proteção contra a oxidação de óleo de soja embalado, semelhante a apresentada por filmes de PEBD (Hayashi *et al.* (2006). Jongjareonrak *et al.* (2008), incorporaram BHT e α -tocoferol em biofilmes de gelatina proveniente de pele de peixes, e não encontraram diferenças significativas entre os biofilmes contendo antioxidantes e o controle de gelatina sem adição de antioxidantes ao embalar banha. Os autores observaram que o biofilme de gelatina apresentou pronunciado efeito protetor contra a oxidação do produto embalado, quando comparado com o produto (banha) sem embalagem.

Mathew & Abraham (2008), ao incorporar ácido ferrúlico em biofilmes formulados com amido e quitosana, constataram que a adição do agente antioxidante levou a uma redução no índice de peróxidos de cerca de 59,65%, após 20 dias de estocagem de um óleo, quando comparado com o biofilme controle (sem conter ácido ferrúlico).

A correspondente análise de variância (ANOVA) para a análise de índice de peróxidos após 45 dias está apresentada da Tabela 5. O valor F mostra um menor desvio desde que $F_{\text{calc}} > F_{\text{tab}}$, indicando um ajuste do modelo. Porém, para esta análise o F_{cal} para a falta de ajuste do modelo (51,06) foi maior do que o F_{tab} (3,2; 0,95 = 9,55) indicando uma falta de ajuste muito grande do modelo, não sendo válida, portanto a equação. O gráfico de Pareto (Figura 7), após 45 dias de estocagem, indica que as variáveis, pó de cacau, pó de café,

bem como a interação entre eles afetaram de forma significativa os aumentos nos teores de índice de peróxido.

Tabela 5. ANOVA para o modelo quadrático do aumento no índice de peróxidos do produto embalado (azeite de dendê) após 45 dias de estocagem.

Coeficientes de Variação	Soma Quadrática (SS)	Grau de Liberdade (DF)	Média Quadrática (MS)	F _{calc}
Regressão	18,70	5	3,74	20,35
Resíduo	0,92	5	0,18	
Total (SS)	19,62	10		

$$F_{\text{tab}}(5,5; 0,95) = 5,05$$

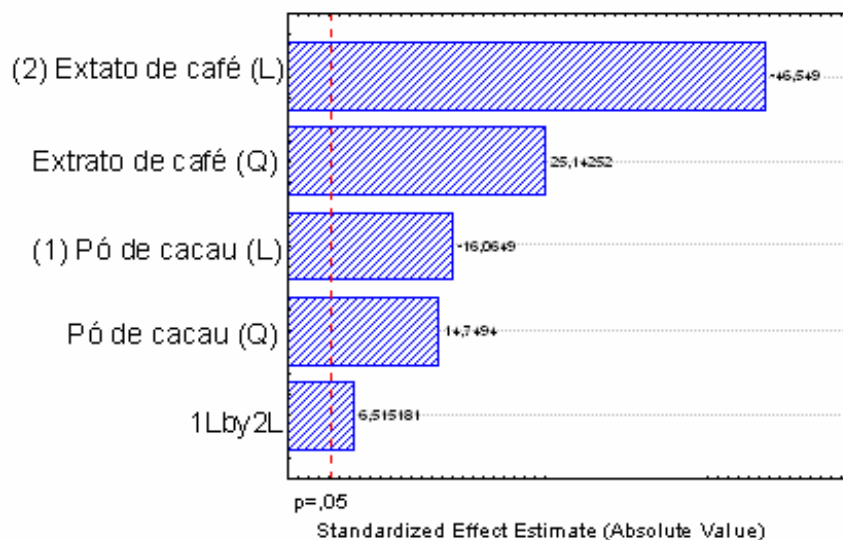


Figura 7. Gráfico de Pareto do aumento no índice de peróxidos, após 45 dias de estocagem.

A figura 8 apresenta o gráfico de superfície de resposta obtida a partir dos valores de índices de peróxidos do azeite de dendê embalado nas 11 formulações de biofilmes contendo diferentes concentrações de pó de cacau e de pó de café, após 45 dias de estocagem.

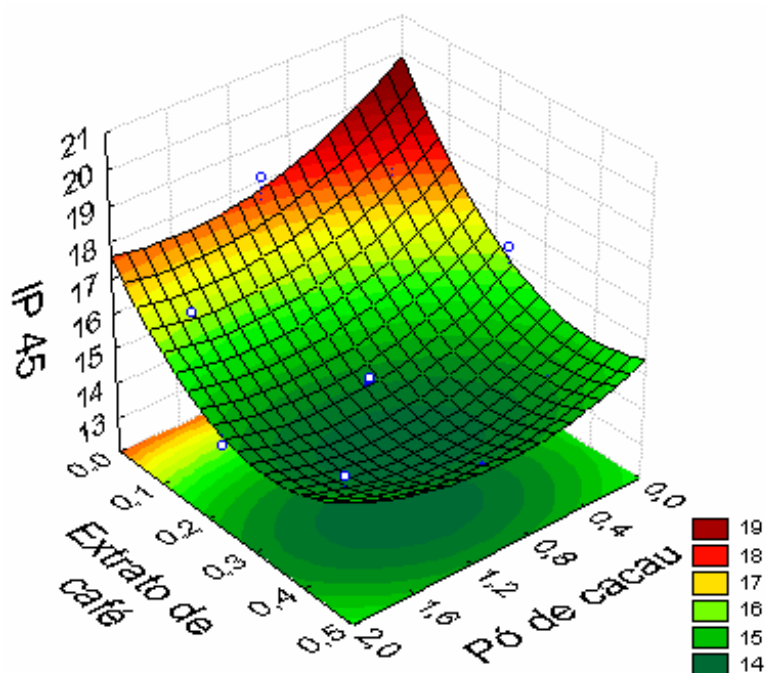


Figura 8. Superfície de resposta do aumento no índice de peróxido (meq/Kg) do azeite de dendê embalado nos biofilmes, após 45 dias de estocagem.

Os resultados de perda de carotenóides totais do azeite de dendê mostram que após 45 dias de estocagem, todas as amostras apresentaram perdas menores do que os três controles ($p < 0,05$) (Figura 9, Tabela 3). Após 45 dias de estocagem, a amostra F1 (menor concentração de antioxidantes) apresentou a maior perda no teor de carotenóides totais entre todas as amostras (21,32%) ($p < 0,05$), enquanto as amostras F4, F6 e F8 apresentaram as menores perdas entre todas as amostras ($p < 0,05$) (17,35%, 17,46% e 17,28%, respectivamente) (Figura 9, Tabela 3). Quando comparadas com o controle 1, as formulações F4 e F8 resultam em perdas 25,54% e 25,83% menores de carotenóides totais, respectivamente.

Observando as amostras F5 (somente pó de café) e F7 (somente pó de cacau) é possível concluir que o pó de café possui um maior efeito protetor contra a oxidação quando comparado com o pó de cacau ($p < 0,05$) (Figura 9, Tabela 3).

Os resultados obtidos confirmam a eficácia protetora dos biofilmes contendo derivados de cacau e café, provavelmente devido ao fato de que os compostos antioxidantes reduzem o nível de oxigênio dentro da embalagem diminuindo assim a degradação dos carotenóides. Resultados semelhantes foram relatados por Grisi et al., (2008), ao embalar óleo de soja com biofilmes

contendo teores máximos (0,85%) de azeite de dendê e fruto do dendê, onde menores perdas no teor de carotenos do produto embalado foram obtidas, indicando que os biofilmes contendo maiores teores de antioxidantes apresentam também maior estabilidade do produto embalado contra a oxidação.

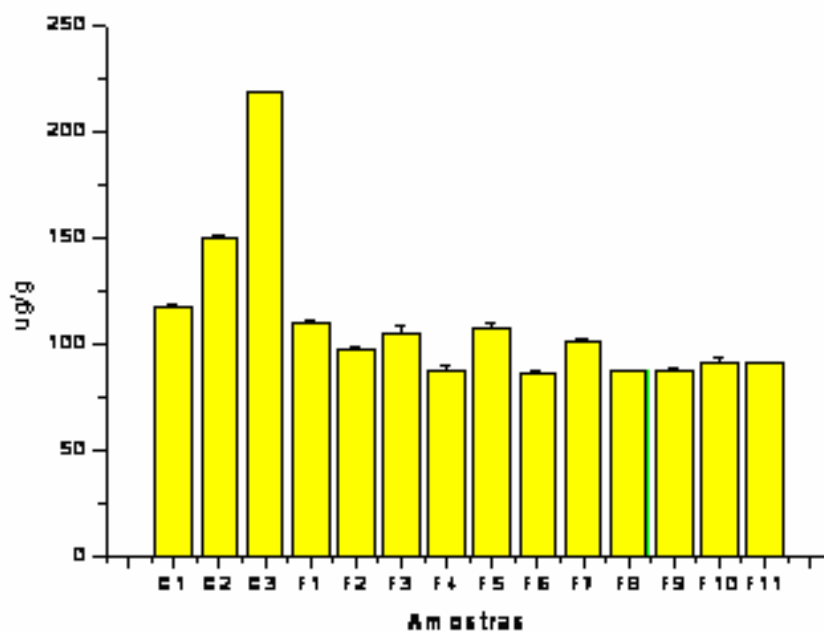


Figura 9. Comparação da perda no teor de carotenóides totais ($\mu\text{g/g}$) dos três controles (C1 – biofilme de amido sem antioxidantes, C2 - filmes de PEBD e C3 – sem embalagem) e das diferentes formulações de biofilmes, após 45 dias de estocagem ($p < 0,05$). Análises realizadas em duplicada, apresentando também o desvio padrão.

A ANOVA e o gráfico de Pareto não indicaram nenhum efeito significativo das variáveis: pó de cacau e pó de café sobre os teores de carotenóides totais do produto embalado ($p < 0,05$) durante a vida de prateleira (0, 7, 15, 30 e 45 dias). As respectivas tabelas de ANOVA e os gráficos de Pareto desta análise encontram-se no Anexo 1.

Os teores de hexanal e de dienos conjugados do produto embalado, após 45 dias de estocagem em algumas das formulações dos biofilmes estão expressos na Figura 10, Tabela 6. O aumento nos teores de hexanal e de dienos conjugados do azeite de dendê embalado nas amostras F1 (concentração mínima de antioxidantes), F5 (somente pó de café), F7 (somente pó de cacau) e F8 (concentração máxima de cacau) foram menores do que o apresentado pelos três controles ($p < 0,05$) (Figura 10, Tabela 6).

Para o teor de hexanal, o azeite embalado na formulação F8 apresentou o menor aumento seguido pelas amostras F5, F7 e finalmente F1, embora não tenha havido diferenças significativas entre elas ($p>0,05$). O azeite embalado na formulação F8 apresentou um aumento no teor de hexanal, 92,47% menor do que o controle 1 (Figura 10, Tabela 6).

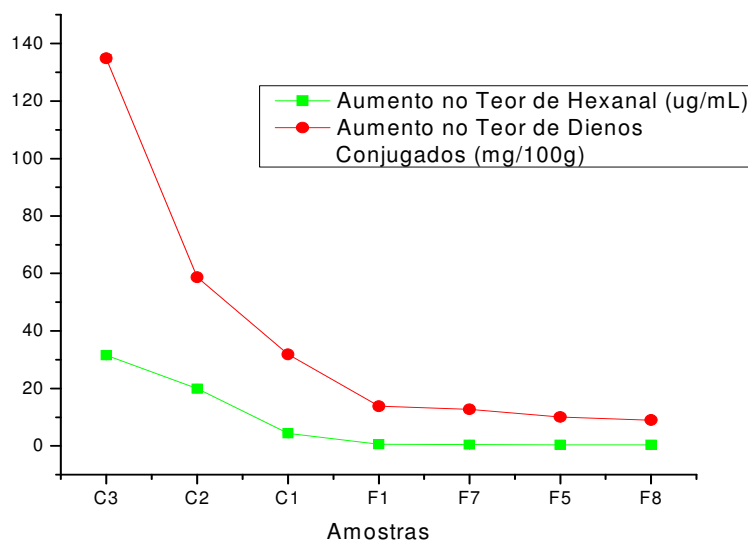


Figura 10. Aumento nos teores de hexanal ($\mu\text{g/mL}$) e de dienos conjugados ($\text{mg}/100\text{g}$) dos controles (C1 – biofilme de amido sem antioxidantes, C2 - filmes de PEBD e C3 – sem embalagem) e das formulações F1, F5, F7 e F8 após 45 dias de estocagem do azeite de dendê.

Tabela 6. Aumentos nos teores de hexanal ($\mu\text{g/mL}$) e de dienos conjugados ($\text{mg}/100\text{g}$) dos controles C1 (Biofilme sem antioxidantes), C2 (PEBD), C3 (produto sem embalagem) e das amostras F1 (concentração mínima de antioxidante), F5 (contendo somente pó de café), F7 (contendo somente pó de cacau) e F8 (concentração máxima de antioxidante) após 45 dias de estocagem.

A*	Cacau (%)	Café (%**)	Aumento no teor de hexanal $\mu\text{g/mL}$ (%)	Aumento no teor de dienos conjugados $\text{mg}/100\text{g}$ (%)
C1	—	—	4,38 ^a (297,96)	31,80 ^a (25,54)
C2	—	—	19,93 ^b (1355,78)	58,70 ^b (47,15)
C3	—	—	31,54 ^c (2145,58)	134,85 ^c (108,31)
F1	-1,00 (0,30)	-1,00 (0,07)	0,62 ^d (42,18)	13,80 ^d (9,99)
F5	-1,41 (0,00)	0,00 (0,23)	0,36 ^d (23,81)	10,10 ^{e,f} (7,84)
F7	0,00 (1,00)	-1,41 (0,00)	0,46 ^d (31,29)	12,75 ^{d,f} (9,79)
F8	0,00 (1,00)	1,41 (0,46)	0,33 ^d (22,45)	9,05 ^e (6,85)

* Amostras; ** Concentração do extrato seco; *** Valores que apresentam a mesma letra nas colunas, não apresentam diferenças significativas ($p>0,05$).

Para o teor de dienos conjugados, o azeite embalado na formulação F8 também apresentou os menores valores, seguida por F5, F7 e F1. Os resultados obtidos para o produto embalado na formulação F8 apresentou diferenças significativas somente quando comparada com a formulação F1 ($p < 0,05$). O aumento no teor de dienos do produto embalado na formulação F8 foi 71,54% menor do que o apresentado pelo controle 1.

Estes resultados confirmam mais uma vez a eficácia do pó de cacau e o pó de café como aditivos antioxidantes.

4.0. CONCLUSÕES

A cada ano aumenta a busca por novos antioxidantes e novos materiais para o desenvolvimento de embalagens ativas. Portanto o uso de produtos naturais para o desenvolvimento de uma embalagem ativa antioxidante é de grande interesse para a indústria de alimentos. Os derivados de cacau e café são conhecidos por serem ricos em compostos fenólicos. O presente trabalho mostra que o desenvolvimento de um biofilme antioxidante contendo fontes de polifenóis como o cacau e o café é completamente viável e eficaz na proteção de produtos oleosos. Trabalhos futuros poderiam avaliar o efeito antioxidante dos compostos fenólicos provenientes do cacau e do café em outras matrizes de biofilmes e também em material polimérico convencional, a fim de aumentar as possibilidades de aplicação.

Agradecimentos

Os autores gostariam de agradecer à Cargill Agrícola S.A, Açúcar Guarani S.A. e Odelsa S.A. pela doação dos ingredientes utilizados e à Fapesb, Capes e CNPQ pelo apoio financeiro.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALBU, S. JOYCE, E.; PANIWNIAK, L.; LORIMER, J. P.; MASON, T. J. Potential for the use of ultrasound in the extraction of antioxidants from *Rosmarinus officinalis* for the food and pharmaceutical industry. **Ultrasonics Sonochemistry**, v. 11, p. 261–265, 2004.

AMSTALDEN, L. C.; LEITE, F.; MENEZES, H.C. Identificação e quantificação de voláteis de café através de cromatografia gasosa de alta resolução/espectrometria de massas empregando um amostrador automático de “headspace”. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 21, p. 123-128, 2001.

AOAC. Association of Official Analytical Chemists. **Official Methods of Analysis Cd 8b-90**. 2000.

AOCS. American Oil Chemists Society. **Official method of analysis Ti 1a-64**. Spectrophotometric determination of conjugated dienoic acid. 1993.

ARVANITOYANNIS, I.; BILIADERIS, C. G. Physical properties of polyol-plasticized edible films made from sodium caseinate and soluble starch blends. **Food Chemistry**, v. 62, p. 333-342, 1998.

ATOUI, A. K.; MANSOURI, A.; BOSKOU, G.; KEFALAS, P. Tea and herbal infusions: Their antioxidant activity and phenolic profile. **Food Chemistry**, v. 89, p. 27–36, 2005.

AZEREDO, H. M. C.; FARIA, J. A. F.; AZEREDO, A. M. C. Embalagens Ativas para alimentos. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 20, p. 337-341, 2000.

AZIZAH, O.; ISMAIL, A.; GHANI, N. A.; ADENAN, I. Antioxidant capacity and phenolic content of cocoa beans. **Food Chemistry**, v. 100, n. 4, p. 1523-1530, 2007.

FAMÁ, L.; FLORES, S. K.; GERSCHENSON, L.; GOYANES, S. Physical characterization of cassava starch biofilms with special reference to dynamic mechanical properties at low temperatures. **Carbohydrate Polymers**, v. 66, p. 8–15, 2006.

FAOSTAT. Food and Agriculture Organization of the United Nations Statistical Databases. **Agricultural Data**. 2009. Disponível em: <<http://faostat.fao.org/faostat>>. Acesso em: 05 jan. 2009.

FARAH, A.; DONANGELO, C.M. Phenolic compounds in coffee. **Brazilian Journal of Plant Physiology**, v. 18, n. 1, p. 23-36, 2006.

FERNANDES, S. M.; PINTO, N. A. V. D.; THÉ, P. M. P.; PEREIRA, R. G. F. A.; CARVALHO, V. D. *et al.* Teores de Polifenóis, Ácido Clorogênico, Cafeína e Proteína em Café Torrado. **Revista Brasileira de Agrociência**, v. 7, n. 3, p. 197-199, 2001.

FUKUMOTO, L. R.; MAZZA, G. Assessing Antioxidant and Prooxidant Activities of Phenolic Compounds. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 48, p. 3597-3604, 2000.

GRISI, C. V. B.; SILVA, L. T.; CABRAL-ALBUQUERQUE, E. C.; DRUZIAN, J. I. **Evaluation of the viability of incorporating natural antioxidants in bio-based packagings**. Nova Science Publishers - Food Chemistry Research Developments. v. 1, p. 1-11, 2008.

HAYASHI, A.; VEIGA-SANTOS, P.; DITCHFIELD, C.; TADINI, C. C. Investigation of Antioxidant Activity of Cassava Starch Biobased Materials. **VI International Symposium on Future of Food Engineering**, Warsaw, Poland, in CD. 2006.

JONFIA-ESSIEN, W. A.; WEST, G.; ALDERSON, P. G.; TUCKER, G. Phenolic content and antioxidant capacity of hybrid variety cocoa beans. **Food Chemistry**, v. 108, p. 1155-1159, 2008.

JONGJAREONRAK, A.; BENJAKUL, S.; VISESSANGUAN, W.; TANAKA, M. Antioxidative activity and properties of fish skin gelatin films incorporated with BHT and α -tocopherol. **Food Hydrocolloids**, v. 22, p. 440-458, 2008.

LEE, K. W.; KIM Y. J.; LEE, H. J.; LEE, C. Y. Cocoa Has More Phenolic Phytochemicals and a Higher Antioxidant Capacity than Teas and Red Wine. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 51, p. 7292-7295, 2003.

LOULI, V.; RAGOUSSIS, N.; MAGOULAS, K. Recovery of phenolic antioxidants from wine industry by-products. **Bioresource Technology**, v. 92, p. 201-208, 2004.

LOURDIN, D.; COIGNARD, L.; BIZOT, H.; COLONNA, P. Influence of equilibrium relative humidity and plasticizer concentration on the water content and glass transition of starch materials. **Polymers**, v. 38, n. 21, p. 5401-5406. 1997.

MATHEW, S.; ABRAHAM, E. Characterisation of ferrúlico acid incorporated starch-chitosan blend films. **Food Hydrocolloids**, v. 22, p. 826-835, 2008.

NERÍN, C.; TOVAR, L.; SALAFRANCA J. Behaviour of a new antioxidant active film versus oxidizable model compounds. **Journal of Food Engineering**, v. 84, p. 313-320, 2008.

NIEMENAK, N.; ROHSIUS, C.; ELWERS, S.; NDOUMOU, D. O.; LIEBEREI, R. Comparative study of different cocoa (*Theobroma cacao* L.) clones in terms of their phenolics and anthocyanins contents. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 19, p. 6-7, 2006.

PASSOTO, J. A.; PENTEADO, M. V. C.; MANCINI-FILHO, J. Activity of β -carotene and vitamin A: A comparative study with synthetic antioxidant. **Food Science Technology**, v. 18, p. 624-632, 1998.

ROESLER, R.; MALTA, L. G.; CARRASCO, L. C.; HOLANDA, R. B.; SOUSA, C. A. S.; PASTORE, G. M. Atividade antioxidante de frutas do cerrado. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 27, n. 1, p. 53-60. 2007.

SOUZA, C. M. M.; SILVA, H. R.; VIEIRA-JR, G. M.; AYRES, M. C. C.; COSTA, C. L. S.; ARAÚJO, D. S.; CAVALCANTE, L. C. D.; BARROS, E. D. S.; ARAUJO, P. B. M.; BRANDÃO, M. S.; CHAVES, M. H. Fenóis Totais e Atividade Antioxidante de Cinco Plantas Medicinais. **Química Nova**, v. 30, p. 351-355, 2007.

SWAIN, T.; HILLIS, W. E. The phenolic constituents of *Prunus domestica*: The quantitative analysis of phenolic constituents. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 10, p. 63-68, 1959.

VEIGA-SANTOS, P. e SCAMPARINI, A. R. P. **Indicador** irreversível de temperatura utilizando carboidratos. Patente protocolizada n. 4.315. (INPI). 23/08/2004.

VEIGA-SANTOS, P.; OLIVEIRA, L. M. CEREDA, M. P.; SCAMPARINI, A. R. P. Sucrose and inverted sugar as plasticizer. Effect on cassava starch–gelatin film mechanical properties, hydrophilicity and water activity. **Food Chemistry**, v. 103, p. 255–262. 2007.

WESSLING, C.; NIELSEN, T.; GIACIN, J. R. Antioxidant ability of BHT and α -tocopherol impregnated LDPE film in packaging of oatmeal. **Journal of the science of food and agriculture**, v. 81, p. 194-201, 2000.

WOLLGAST, J.; ANKLAM, E. Review on polyphenols in *Theobroma cacao*: changes in composition during the manufacture of chocolate and methodology for identification and quantification. **Food Research International**, v. 33, p. 423-447, 2000.

ZHENG, W.; WANG, S. Y. Antioxidant Activity and Phenolic Compounds in Selected Herbs. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 49, p. 5165-5170, 2001.

Capítulo 3

Incorporação de Café e Cacao em Biofilmes de Amido de Mandioca: Propriedades Físico-químicas, Mecânicas e Térmicas

CAPITULO 3

Incorporação de Café e Cacau em Biofilmes de Amido de Mandioca: Propriedades Físico-químicas, Mecânicas e Térmicas

RESUMO

No presente estudo foram medidas as propriedades físico-químicas, térmicas e mecânicas de biofilmes de amido de mandioca contendo derivados de cacau e café como aditivos. O efeito da incorporação de diferentes quantidades de pó de café e pó de cacau na matriz do biofilme foi avaliado. O efeito dos aditivos variando de 0,0-1,7%*m/m* nas propriedades dos biofilmes foi avaliada através de análises de espessura, teor de sólidos totais, permeabilidade ao vapor de água, Espectroscopia IR, temperatura de transição vítrea, e alongação. Biofilmes de amido de mandioca sem os aditivos foram usados como controle (C). Os resultados indicam que os filmes comestíveis contendo diferentes concentrações de café e cacau, em condições de umidade e temperatura controladas, mostraram mudanças significativas nas análises de IR, permeabilidade ao vapor de água, e nas propriedades mecânicas e térmicas ($p > 0.05$). A permeabilidade ao vapor de água diminuiu com a incorporação dos aditivos a matriz nas concentrações de 1,00 e 1,70%. A alongação dos biofilmes variou de -17,86 até 312% em relação controle, dependendo das quantidades de café e cacau adicionadas. A resistência à tração foi 42,33 a 54,67% menor do que a apresentada pelo controle. O número (1-7) de transições vítreas (T_gs) sofreu alterações dependendo da quantidade de café e cacau adicionada. As quantidades máximas de café (0,39% *m/m*) e cacau (1,7% *m/m*) aumentaram o número de temperaturas de transição vítrea (T_gs), entretanto a concentração mínima dos aditivos (0,30% *m/m* de café e 0,07% *m/m* cacau) diminuiu. Estes parâmetros são importantes para entender o comportamento dos biofilmes depois da adição de café e cacau. Conclui-se que as propriedades dos biofilmes comestíveis formulados com amido de

mandioca podem ser afetadas pela quantidade de café e cacau adicionada, alterando o comportamento dos biofilmes.

Palavras-chaves: Café e cacau, aditivos, biofilmes de amido de mandioca.

ABSTRACT

Addition effect of coffee and cocoa on cassava starch edible films: physic-chemical, thermo and mechanical properties. In this study the physic-chemical, thermo and mechanical properties of starch films formulated with coffee and cocoa as additives were studying. Different coffee and cocoa concentrations on properties of cassava starch biofilms were incorporate. The effect of coffee and cocoa addition (0.0 at 1.7%) in the bio-based films properties was evaluated by monitoring through IR spectroscopy, differential scanning calorimetric (DSC), elongation, thickness, moisture content, and water vapor permeability analysis. Cassava starch films without additives (C), served as controls. Results have indicated that products with bio-based films (50%UR/25°C) containing the coffee and cocoa concentrations different presented significant affected in materials IR spectrums, water vapor permeability, thermal and mechanical properties ($p>0.05$). The water vapor permeability decrease with additives incorporation at high concentrations (1.0 and 1.7%). Through the entire cocoa and coffee concentrations, the elongation of the films demonstrated its values at -17.86 until 312 % compared with control, depending its concentration. The tensile strength was 41,33-54,67% lower when compared with control C. The glass transition temperature (Tgs) numbers (1 to 7) were significantly ($p<0.05$) altered with increasing cocoa and coffee content. Maximum in coffee power and cocoa extract content increase the Tgs number; however concentrations minimum additives decrease the Tgs number. It is helpful in understanding the performance of edible films with coffee and cocoa addition. It is concluded that the properties of edible films can be affected by the cocoa and coffee additives, altering biofilms performance.

Keywords: cocoa and coffee; additives; cassava starch films, characterization, thermo and mechanical properties.

1.0. INTRODUÇÃO

A oxidação é uma das reações de degradação mais importantes que ocorrem nos alimentos, limitando a conservação dos mesmos. Alimentos contendo apenas cerca de 1% de lipídios são afetados pelas reações de degradação, principalmente as reações de oxidação química (ALBU *et al.*, 2004; NERÍN *et al.*, 2008), podendo causar perda da qualidade, formação de odores e sabores estranhos (*off-flavors*) (FUKUMOTO & MAZZA, 2000; LOULI *et al.*, 2004) e de compostos químicos indesejáveis (LOULI *et al.*, 2004).

A oxidação pode ser evitada ou retardada através do uso de antioxidantes sintéticos ou naturais. Os antioxidantes são compostos capazes de diminuir, retardar ou prevenir a auto-oxidação. Eles podem reagir com radicais livres ou podem interromper a cadeia de propagação da oxidação (ALBU *et al.*, 2004; LOULI *et al.*, 2004; ATOUI *et al.*, 2005).

Atualmente o uso de antioxidantes sintéticos em alimentos se encontra em questionamento devido ao potencial toxicológico relacionado aos efeitos de seu uso prolongado (ZHENG & WANG, 2001; ALBU *et al.*, 2004; LOULI *et al.*, 2004; NERÍN *et al.*, 2008). Este fato tem elevado o interesse na identificação e isolamento de antioxidantes naturais (FUKUMOTO & MAZZA, 2000; ZHENG & WANG, 2001; ALBU *et al.*, 2004). O crescente interesse na substituição dos antioxidantes sintéticos por naturais para uso em alimentos tem estimulado a busca de fontes vegetais que possam agir como fonte de novos antioxidantes (ZHENG & WANG, 2001). Estes podem ser incorporados à embalagem, que além de proteger o produto promove uma barreira inerte às condições externas, interagem com o produto podendo inclusive responder a mudanças que possam ocorrer ao mesmo (AZEREDO *et al.*, 2000).

Nos últimos anos tem aumentado o interesse e os esforços em desenvolver novos conceitos de embalagens para alimentos, os quais podem ter um papel pró-ativo visando a preservação do produto e um aumento da vida de prateleira. Muitas estratégias têm sido utilizadas para se obter uma maior proteção das embalagens de alimentos, entre elas a embalagem pode participar da retenção de moléculas indesejáveis como aldeídos e oxigênio, bem como, da liberação de substâncias desejáveis como aromas, dióxido de carbono, etc. Esse novo conceito de embalagem tem sido chamado de Embalagens ativas (NERÍN *et al.*, 2008).

A maioria das embalagens ativas é produzida utilizando material plástico, derivado do petróleo, gerando uma série de problemas ambientais (ARVANITOYANNIS & BILIADERIS, 1998). Como alternativa a estes problemas, surgiram as embalagens biodegradáveis obtidas a partir de fontes renováveis (LOURDIN *et al.*, 1997) como, por exemplo, os filmes produzidos a partir do amido (VEIGA-SANTOS & SCAMPARINI, 2004; GRISI *et al.*, 2008).

A mandioca (*Manihot esculenta Crantz*) é um tubérculo economicamente crucial para a economia do Brasil, Tailândia e outros países tropicais. É uma fonte de amido, de farinha e de derivados abundante e de baixo custo. Estruturalmente o amido de mandioca consiste de amilose, um polímero substancialmente linear, e amilopectina, um polímero altamente ramificado. O conteúdo de amilose de aproximadamente 18% é responsável pelas características de formação de biofilmes (GUINESI *et al.*, 2006).

Filmes flexíveis obtidos a partir de amido de mandioca foram desenvolvidos com sucesso (VEIGA-SANTOS *et al.*, 2007) e também já foram utilizados como matriz biodegradável para incorporação de novos antioxidantes naturais (GRISI *et al.*, 2008), entretanto mostraram propriedades mecânicas inadequadas, além de uma alta permeabilidade ao vapor de água.

Os polifenóis são um dos principais compostos com ação antioxidante presentes nas plantas (SOUZA *et al.*, 2007). Dentre as diversas fontes naturais de polifenóis citadas, o café (*Coffea arabica L.*) e o cacau (*Theobroma cacao L.*) são considerados as fontes mais ricas. A concentração de compostos fenólicos no cacau e no café varia de 67-410 mg/g e 57-94 mg/g, respectivamente (FERNANDES *et al.*, 2001; NIEMENAK. *et al.*, 2006; FARAH & DONANGELO, 2006; JONFIA-ESSIEN *et al.*, 2008).

O cacau, o café e seus derivados são produzidos em grandes quantidades e consumidos no mundo todo (JONFIA-ESSIEN *et al.*, 2008). Além da grande concentração de polifenóis, a possibilidade de adição de derivados de cacau e café em embalagens produzidas com amido de mandioca tem uma grande importância econômica para o Brasil, que produziu em 2007, 27 milhões de toneladas de mandioca, 2 milhões de toneladas de café e 221 mil toneladas de cacau (FAOSTAT, 2009).

No presente estudo foi avaliado o efeito da incorporação de derivados de cacau e café como aditivos em biofilmes formulados com amido de mandioca,

nas propriedades físico-químicas, térmicas e mecânicas dos mesmos. Um biofilme de amido de mandioca sem a adição de cacau e café foi utilizado como controle.

2.0. MATERIAIS E MÉTODOS

2.1. MATERIAIS

A amido da mandioca e o pó de cacau foram doados pela Cargill Agrícola S/A, a sacarose e açúcar invertido pela Açúcar Guarani S/A, o café Melita adquirido nos supermercados.

2.2. PREPARAÇÃO DOS BIOFILMES

Para preparação da solução filmogênica, inicialmente foi preparado um extrato de café obtido através da percolação de 2 litros de água destilada a 90°C (FAMÁ *et al.*, 2006) sobre as concentrações de café definidas na tabela 1. A este extrato foram adicionados: pó do cacau, nas concentrações apresentadas na tabela 1, amido de mandioca (4%, g/100g) além de sacarose (0,7%, g/100g) e açúcar invertido (1,4%, g/100g), que agem como agentes plastificantes. Em seguida esta solução foi aquecida até a temperatura de retrogradação do amido, 70°C, com agitação constante. Os filmes de amido foram preparados através da técnica de “casting”, foram desidratados com circulação de ar (35° ± 2°C) em placas de Petri de poliestireno. Os filmes foram armazenados durante 3 dias, para acondicionamento dos biofilmes nas condições de umidade e temperatura específicos para cada análise. Como forma de comparação dos resultados, foi utilizado um biofilme de amido de mandioca sem a adição dos anitoxidantes (controle – C1).

Tabela 1. Concentrações de pó de cacau e de extrato de café (%) adicionados aos biofilmes.

Amostras	Pó de Cacau (%)	Extrato de Café (%)*
C	—	—
FA	0,30	0,07
FB	1,00	0,23
FC	1,70	0,39

*Concentração do extrato seco.

2.3. CARACTERIZAÇÃO TÉRMICA E MECÂNICA DOS BIOFILMES

2.3.1. Espessura

A espessura dos filmes pré-acondicionados (50% UR, 25°C) foi avaliada através da espessura média, de 6 medições em posições aleatórias, por meio de micrômetro digital Mitutoyo de ponta plana (com resolução de 1µm), em triplicata.

2.3.2. Caracterização por infravermelho (FTIR)

O espectro infravermelho dos biofilmes foram medidos em discos de brometo de potássio (KBr), usando um espectrofotômetro Perkin Elmer, modelo Spectrum 1000, com a frequência variando entre 4000-400 cm⁻¹. O biofilme (50%UR/25°C) foi misturado com o KBr e pressionado por prensa hidráulica (Perkin Elmer modelo 4037) para forma um disco fino. O KBr (Vetec) foi previamente dessecado em estufa à 120°C até peso constante e triturado em almofariz de ágata. Posteriormente foram colocados 100 mg do KBr no pastilhador seguido de compressão em pressão de 10^a toneladas por 2 minutos, para obtenção das pastilhas finas e transparentes

2.3.3. Propriedades mecânicas

A porcentagem de alongamento (PA) a resistência à tração (RT) foram medidas usando um instrumento de testes Instron Universal (modelo 5500R), operando conforme as especificações da ASTM método padrão D882-00 (ASTM, 2001), de acordo com Veiga-Santos *et al.* (2005).

Tiras (7 x 2,5 cm) dos filmes foram cortadas sob as condições de pré-acondicionamento (50% UR, 23°C) e montadas entre as garras do equipamento. A espessura de cada amostra foi medida em quatro pontos, em posições aleatórias, com um micrômetro digital Digimes de superfícies planas e paralelas. A posição inicial e a velocidade de separação das garras foram fixadas a 50 mm e 12,5 mm/min, respectivamente. Cinco medidas foram feitas para cada amostra.

Como parâmetro de comparação foram utilizadas tiras (7 x 2,5 cm) de filmes de amido de mandioca (sem aditivo antioxidante) pré-acondicionados (50% UR, 23°C) nas mesmas condições de análise.

2.3.4. Permeabilidade ao vapor de água

A permeabilidade ao vapor de água dos filmes pré-acondicionados (75% UR, 23°C) foi medida pelo método gravimétrico de acordo com a ASTM E104-85 (2001), modificado por Gontard *et al.* (1992). A umidade relativa fora da câmara foi de 75% (solução saturada de NaCl) e dentro, 0% (sílica seca). As amostras foram sucessivamente pesadas até que o peso da sílica aumentasse em 4%. Devido ao caráter hidrofóbico dos biofilmes. Utilizou-se um corpo de prova adicional, preparados sem dessecante (branco).

2.3.5. Teor de sólidos totais

O teor de sólidos totais das amostras pré-condicionadas (75% UR, 23°C) foi determinado após 24h de secagem a 105°C (POUPLIN *et al.*, 1999).

2.3.6. Temperatura de transição vítrea

A temperatura de transição vítrea (T_g) dos biofilmes foi analisada através de Calorimetria Exploratória Diferencial (DSC), instrumento universal Perkin Elmer, modelo DSC 7. Cerca de 8-10 mg de amostras pré-condicionadas (50%UR, 25°C) foram hermeticamente seladas em cadinhos de alumínio, para prevenir a evaporação da água durante a varredura. Um cadinho de alumínio vazio serviu como referência. A varredura foi realizada, nas temperaturas de -40°C à 40°C, 40°C à -40°C e -40°C à 200°C, com uma taxa de 10 °C/min e 10 mm de N₂/min. As amostras foram avaliadas conforme metodologia proposta por Sobral *et al.* (2001), e a temperatura de transição vítrea (T_g) foi calculada pela média da variação na linha de base do gráfico gerado na varredura.

3.0. RESULTADOS E DISCUSSÃO

A matriz polimérica de amido de mandioca já foi selecionada com sucesso para desenvolvimento de biofilmes comestíveis (VEIGA-SANTOS *et al.*, 2005, VEIGA-SANTOS *et al.*, 2007; GRISI *et al.*, 2008) e também como matriz para incorporação de aditivos com propriedades ativas (HAYASHI *et al.*, 2006; GRISI *et al.*, 2008). Estes biofilmes comestíveis apresentam boas características de proteção aos produtos lipídicos embalados, uma vez que são inodoros e impermeáveis ao oxigênio, entretanto mostram propriedades mecânicas inadequadas, além de uma alta permeabilidade ao vapor de água (PHAN THE *et al.*, 2009). No presente trabalho foi investigado o efeito da incorporação simultânea de pó de cacau e de extrato de café como aditivos em biofilmes de amido de mandioca sobre as propriedades mecânicas, térmicas e físico-químicas. O percentual de incorporação (% m/m) dos aditivos nos biofilmes está expressa na tabela 1.

O efeito da adição de derivados de cacau e café nos biofilmes foi avaliada por espectroscopia por infra-vermelho. Os espectros de FTIR das amostras, realizados sob as mesmas condições de análise, estão representadas na figura 1 e sumarizados na tabela 2. Os espectros obtidos para os biofilmes que contém derivados de cacau e café (FA, FB e FC) foram semelhantes ao biofilme controle (C, sem aditivos).

Na região espectral de 3700 a 1800 cm^{-1} , não foi notada alteração significativa para as diferentes formulações dos biofilmes.

É evidente que nos espectros dos biofilmes aparece uma banda larga e de grande intensidade de absorção a 3422 cm^{-1} , que é a região em que se encontram as ligações de hidrogênio com grupos OH (Figura 1, Tabela 2). Porém na região de 1800 a 900 cm^{-1} , observam-se alterações nos espectros que caracterizam modificações na composição ou/e alterações na concentração química das formulações.

A principal mudança pode ser observada nas bandas da região de 1400 a 1750 cm^{-1} , característica de grupos carbonílicos (-C=O, -COO-) ou de compostos nitrogenados como de amida ou outros (deformações -N-H, -C=N). Nesta região (1710 a 1730 cm^{-1}) observa-se uma pequena banda em C, que a medida que passa de FA para FB se intensifica. Em FC esta banda torna-se

muito intensa e dupla, que pode ser característica da presença de compostos dicarbonílicos.

Tabela 2. Principais bandas obtidas dos espectros de infravermelho dos biofilmes.

Bandas (ν , cm^{-1})				Característica
Controle (C)	FA	FB	FC	
3450	3450	3450	3450	O-H
2940	2940	2940	2940	-C-H alifático
1710	1710	1710	1710, 1730	-C=O de cetonas ou -COO de ácidos carboxílicos
-	-	1510	1510	-C-O de COO ⁻ , de formação N-H ou +C=N de amida
1420	1420	1420	1420	(-COO-), ou de CH ₂ , CH ₃ -C-O-C-
1125	1125	1125	1125	-C-O-C-O-, C- de acetal
1060	1060	1060	1060	C-O de deformação angular de açúcares

Como a intensidade da banda aumenta à medida que aumenta o percentual de café e cacau das formulações, pode indicar a presença de compostos carbonílicos ou dicarbonílicos oriundos dos aditivos incorporados a formulação, ou também de alterações, principalmente derivadas das reações de escurecimento químico e enzimático, devido a presença de compostos intermediários ou melanoidinas da reação de Maillard (BRITO *et al.*, 2002; HARDIE *et al.*, 2007), ou de melaninas do escurecimento enzimático (VILLAMIEL *et al.*, 2007), que podem ocorrer durante o processamento dos aditivos e/ou biofilmes (Figura 1, Tabela 2).

Na região próxima a 1060 cm^{-1} também se constata mudanças na formulação FC (1,70%) em relação às demais, devido a deformação angular C-O, característica de açúcares. Dois picos, um ao redor de 1125 e outro em 1060 cm^{-1} são atribuídos a ligações acetal -C-O-C-O-C- do amido (Figura 1, Tabela 2). O amido é composto dois polímeros de glicose, a amilose, um polímero linear com peso molecular variando entre 100.000 e 500.000 e, amilopectina, um polímero altamente ramificado com peso molecular variando entre 1 e 2 milhões (GUINESI *et al.*, 2006).

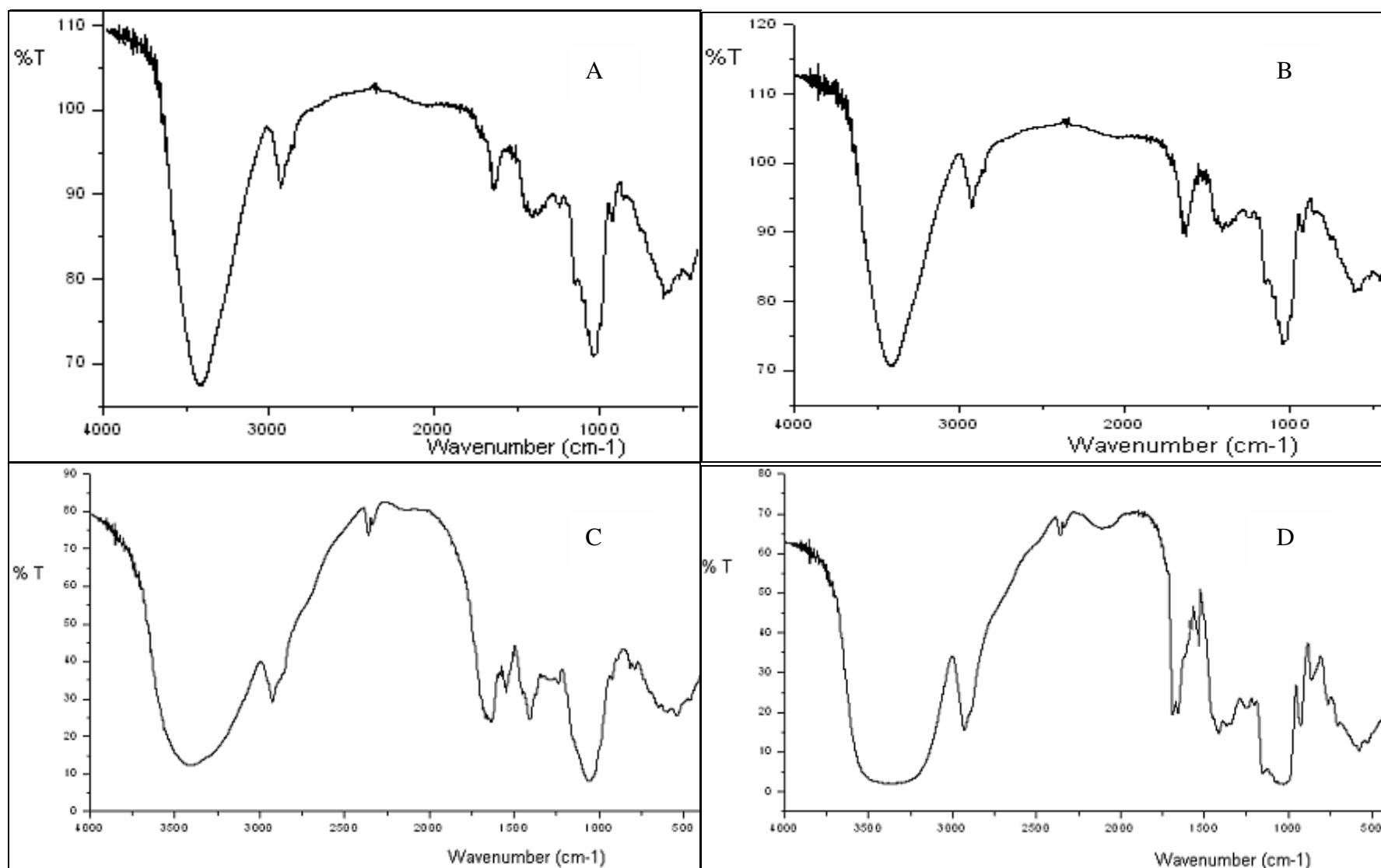


Figura 1. Espectro FTIR (cm^{-1}) dos biofilmes: (A) Controle C, formulação sem cacau e café; (B) FA, formulação com 0,30% de pó de cacau e 0,07% de extrato café; (C) FB, formulação com 1,00% de pó de cacau e 0,23% de extrato de café; (D) FC, formulação com 1,70% de pó de cacau e 0,39% de extrato de café.

O comportamento dos biofilmes com aditivos sob congelamento, refrigeração e à temperatura ambiente foram avaliados através da análise de calorimetria exploratória diferencial (DSC) nas temperaturas de -40 a 40°C, 40 a -40°C e -40 a 200°C (Figura 2, Tabela 3).

Os resultados demonstram que o controle, biofilme sem adição dos derivados de cacau e café apresentou quatro temperaturas de transição vítrea (tg). Contudo, quando maiores as concentrações de aditivos incorporados (FB e FC), novas temperaturas de transições vítreas foram obtidas, indicando separação de fases, provavelmente porque os aditivos antioxidantes não foram completamente envolvidos pela matriz. Porém, na amostra F1A, contendo concentração mínima de aditivos, apenas uma tg foi constatada, indicando uma baixa separação de fases, provavelmente porque nesta concentração (0,07% de extrato de café e 0,30% de pó de cacau) os aditivos foram completamente envolvidos pela matriz. Os valores de ΔH das formulações FA, FB e FC, foram significativamente ($p < 0,05$) menores do que o apresentado pelo controle C, o que pode ser atribuído a uma redução na disponibilidade da água presente, causando gelatinização parcial das regiões cristalinas nos grânulos de amido. Para as demais temperaturas de transição encontradas, a utilização do Teste de Tuckey não indicou diferenças significativas ($p < 0,05$) entre as amostras FB, FC e o controle C (Tabela 3).

As formulações de biofilmes foram também investigadas quanto à sua espessura, teor de sólidos e permeabilidade ao vapor de água (Tabela 3), a fim de avaliar a influência da adição de derivados de cacau e café sobre estes parâmetros. Como parâmetro de comparação foi avaliado também o controle (C - sem adição de cacau e café).

A espessura das amostras variou de 0,113 a 0,143 μm , porém não apresentou diferenças significativas entre as amostras ($p > 0,05$). O teor de sólidos totais, como esperado, também não apresentou diferenças significativas entre as amostras ($p > 0,05$), variando entre 87,81 a 88,08%. Os resultados de espessura e de sólidos totais já eram esperados, visto que os biofilmes foram formulados de forma a conter o mesmo teor de sólidos para todas as amostras, levando em conta o teor de sólidos e as quantidades de cada ingrediente adicionado às formulações. Resultados semelhantes foram encontrados por Müller *et al.* (2008),

ao incorporar fibras de celulose em biofilmes de amido, nos quais não foram encontradas diferenças significativas em relação ao biofilme de amido sem a adição das fibras.

Os resultados apresentados na tabela 3 também indicam que pó de cacau e o pó de café alteram significativamente ($p > 0,05$) além da temperatura de transição vítrea, a permeabilidade ao vapor de água, e o percentual de alongação dos biofilmes, a depender da concentração de aditivos incorporada à matriz.

A adição dos aditivos em baixas concentrações (FA - 0,3% de pó de cacau e 0,07% de extrato de café) levou a um aumento nos valores de permeabilidade ao vapor de água, enquanto em altas concentrações (FB - 1,0% de cacau e 0,23% de extrato de café e FC - 1,7% de pó de cacau e 0,39% de extrato de café) houve uma redução no valor de permeabilidade (Tabela 3), variando de $6,50 \times 10^{-8}$ a $10,4 \times 10^{-8}$ $\text{gH}_2\text{O} \cdot \mu\text{m}/\text{m}^2 \cdot \text{h} \cdot \text{mmHg}$, quando comparadas com o controle ($C = 9,25 \times 10^{-8}$ $\text{gH}_2\text{O} \cdot \mu\text{m}/\text{m}^2 \cdot \text{h} \cdot \text{mmHg}$) ($p < 0,05$). Este resultado já era esperado devido à natureza hidrofílica dos aditivos (cacau e café) (AVÉROUS *et al.*, 2000).

Muller *et al.* (2008), ao avaliar biofilmes contendo fibras, atribuíram a redução nos valores de permeabilidade ao vapor de água a alterações na estrutura dos biofilmes. Segundo os autores, a adição de fibras insolúveis agiria diminuindo os espaços livres na matriz polimérica dificultando a passagem do vapor de água através da matriz.

Mathew & Abraham (2008), relataram que a adição de ácido ferrúlico na concentração de 75mg em biofilmes de amido e quitosana reduzem a permeabilidade ao vapor de água, quando comparado com o biofilme sem a adição do ácido ferrúlico e ao aumentar a concentração para 100mg, a permeabilidade foi reduzida a um valor inferior ao apresentado pelo biofilme controle (sem ácido ferrúlico).

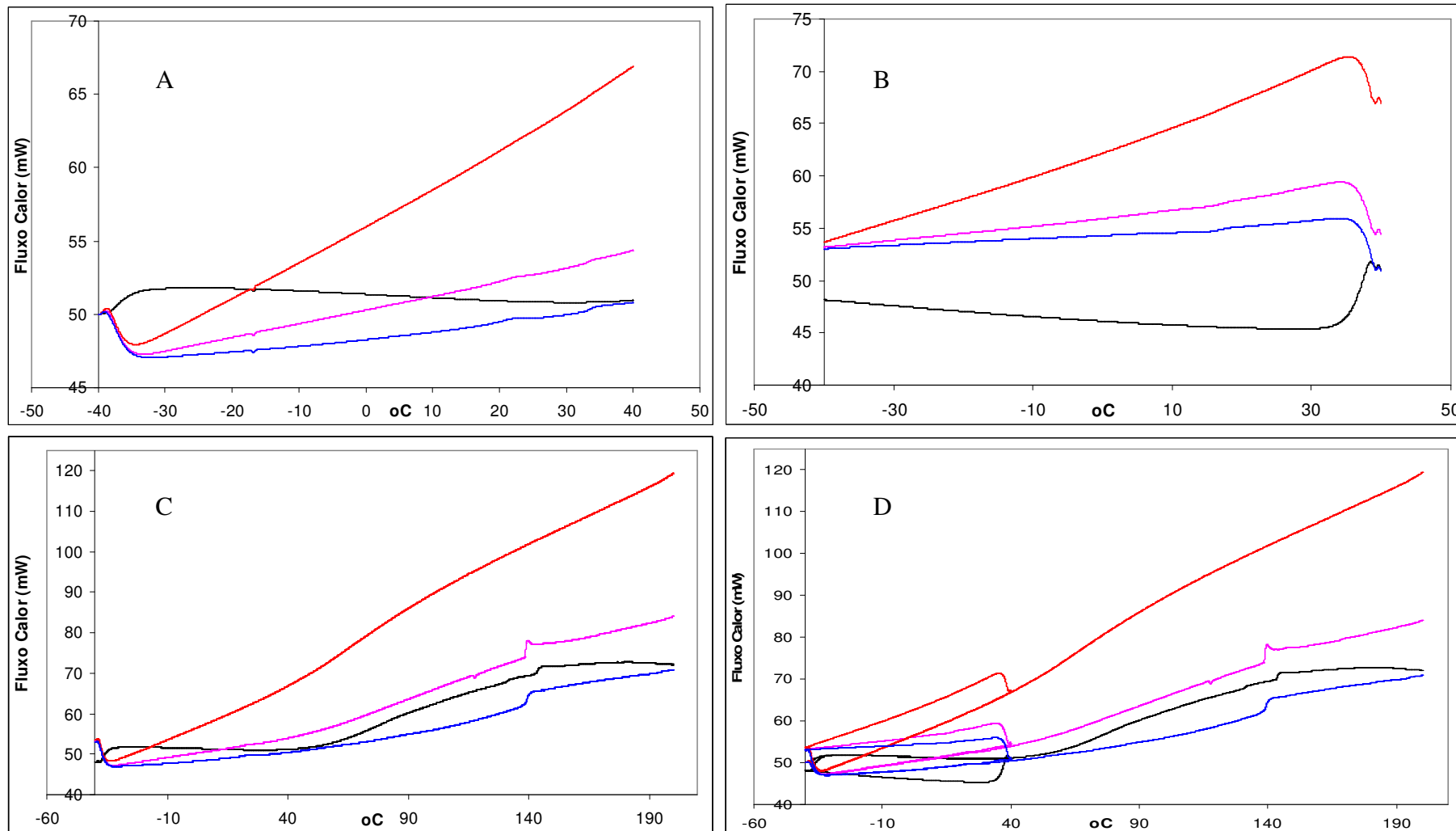


Figura 2. Termogramas DSC do controle C (—) e das formulações FA(—), FB (—) e FC (—) nas varreduras: A) -40°C a 40°C; B) 40°C a -40°C; C) -40°C a 200°C e D) Varredura completa (A, B e C juntos).

Tabela 3. Resultados das propriedades mecânicas do controle C e das amostras FA (0,30% de pó de cacau e 0,07% de extrato de café), FB (1,00% de pó de cacau e 0,23% de extrato de café) e FC (1,70% de pó de cacau e 0,39% de extrato de café): PA, porcentagem de alongamento (%); RT, resistência à tração (mPA); PVD, permeabilidade ao vapor de água (gH₂O.µm/m².h.mmHg); Tgs, temperatura de transição vítrea (°C); e ΔHs, entalpia (J/g).

A*	PA	RT	PVD	Tgs (ΔHs)						
				-40 a 40°C			40 a -40°C		-40 a 200°C	
				Tg1 (ΔH1)	Tg2 (ΔH2)	Tg3 (ΔH3)	Tg4 (ΔH4)	Tg5 (ΔH5)	Tg6 (ΔH6)	Tg7 (ΔH7)
C	14,0	7,5	9,25x10 ⁻⁸	-16,80 (-0,051)	30,9 (-0,72)	-	-	-	130,33 (+1,66)	145,05 (+4,64)
FA	57,7	3,4	10,4x10 ⁻⁸	-16,80 (-0,054)	-	-	-	-	-	-
FB	27,5	3,4	6,96x10 ⁻⁸	-16,80 (-0,054)	22,56 (+0,24)	34,08 (+0,17)	15,37 (-0,62)	-	117,47 (-0,46)	139,54 (+35,26)
FC	11,5	4,4	6,50x10 ⁻⁸	-16,80 (-0,057)	22,16 (+0,54)	34,73 (+0,49)	14,54 (-1,05)	23,07 (+1,27)	-	141,96 (+63,67)

*Amostras

Analisando-se os resultados de porcentagem de alongamento (Figura 3, Tabela 3), é possível observar que a adição dos derivados de cacau e café, em pequenas quantidades (FA) promove um aumento significativo no percentual de alongação em comparação com o controle (312% de C) ($p < 0,05$), porém, à medida que ocorre um aumento na concentração de aditivos incorporados a matriz, este percentual cai drasticamente até alcançar um valor mínimo na amostra FC (-17,86% de C), que apresenta um percentual de alongamento inferior ao do controle C.

Observa-se também que a incorporação dos aditivos nas maiores concentrações (FC - 1,70% m/m de cacau e 0,39 m/m de café), resulta um aumento da resistência à tração (Figura 3, Tabela 3), quando comparado com as formulações com menores concentrações de aditivos (FA - 0,30% m/m de cacau e 0,07% m/m de café e FB - 1,00% m/m de cacau e 0,23% m/m de café). Quando comparadas com o controle C, as três formulações (FA, FB e FC) apresentaram valores inferiores, entretanto com percentuais diferenciados, FA e FB apresentam-se 54,67% menor e FC, 41,33% menor.

Resultados semelhantes foram obtidos por Hayashi *et al.* (2006), ao incorporar extratos de espinafre e de uva em biofilmes de amido de mandioca, aonde em baixas concentrações o biofilme apresentou um percentual de alongamento maior do que o controle, porém quando se elevou a concentração dos aditivos os resultados foram inferiores ao controle de amido. Os autores relatam também uma redução de 78,90% nos valores de resistência à tração, quando comparados com o controle.

Grisi *et al.* (2008), para biofilmes de amido de mandioca contendo azeite de dendê e fruto do dendê, relataram uma redução de 36,69% na porcentagem de alongamento e um aumento de 19,08% na resistência à tração dos biofilmes quando comparados com o biofilme de amido de mandioca sem aditivos.

Attarian *et al.* (2006), relataram um aumento na porcentagem de alongamento em biofilmes de amido de mandioca contendo extrato de espinafre, enquanto que os biofilmes contendo extrato de uva apresentaram uma redução na porcentagem de alongamento. Porém, ambos os biofilmes apresentaram uma redução na resistência à tração quando comparados ao controle.

Péroval *et al.* (2002), avaliando biofilmes contendo arabinosídeos, relatam uma diminuição no percentual de alongamento ao adicionar ácidos graxos. Segundo os autores, alguns lipídios são incapazes de formar uma matriz coesiva e contínua, resultando em uma redução no percentual de alongamento.

Muller *et al.* (2008), relataram uma redução na porcentagem de alongamento e um aumento na resistência à tração, ao incorporar fibras de celulose em biofilmes de amido.

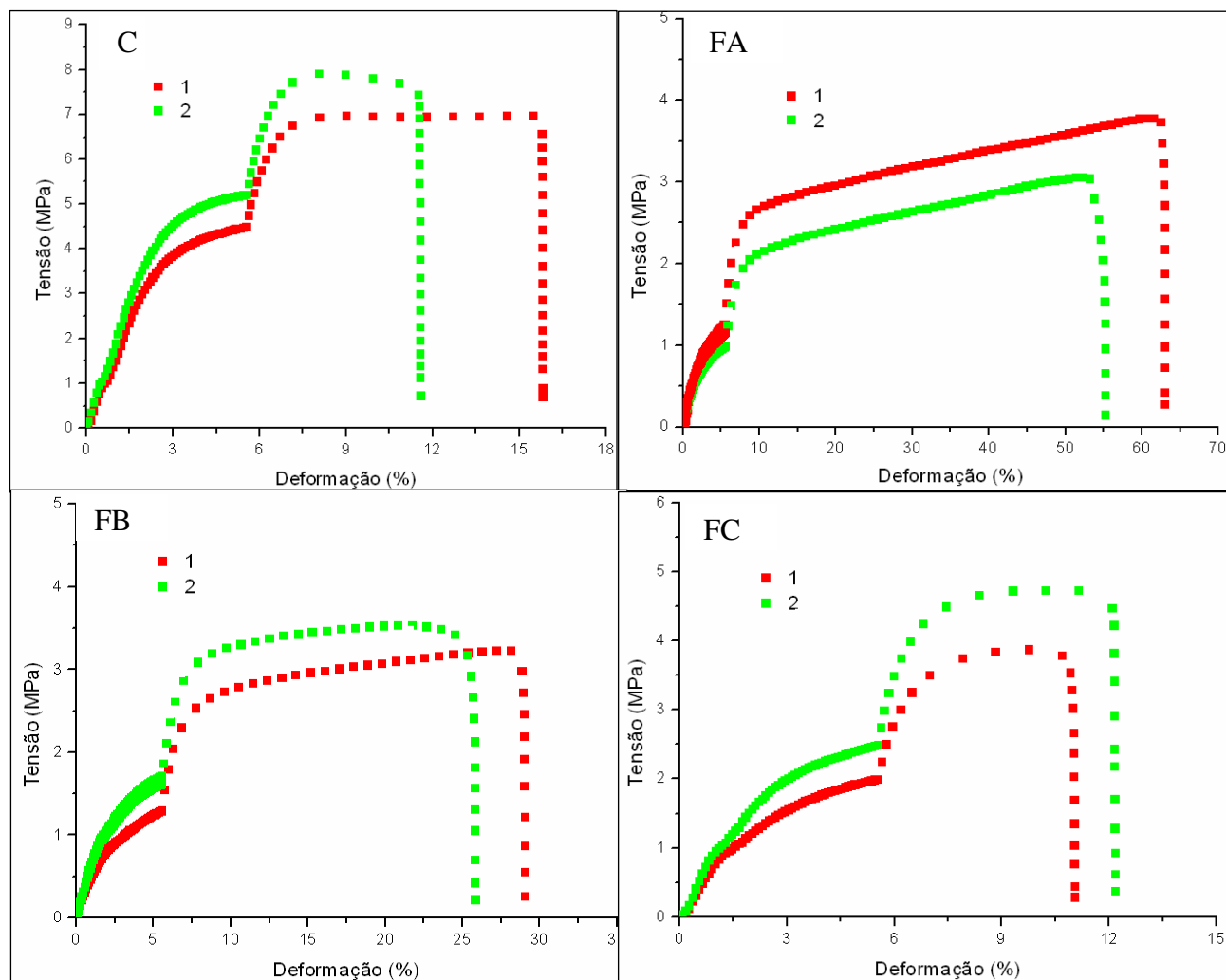


Figura 3. Limites da deformação (%) e de resistência à tração (mPa) do controle (C) e das formulações FA (0,30% de pó de cacau e 0,07% de extrato de café), FB (1,00% de pó de cacau e 0,23% de extrato de café) e FC (1,70% de pó de cacau e 0,39% de extrato de café), valores mínimos (1) e máximos (2) dentre 7 medidas.

Portanto, a incorporação de pó de cacau e de pó de café como aditivos em um biofilme de amido de mandioca, afeta significativamente a permeabilidade ao vapor de água e a resistência térmica e mecânica da matriz. A incorporação dos aditivos a matriz em altas concentrações (FB e FC), reduzem a permeabilidade ao vapor de água, o que é desejável visto que a água catalisa as reações oxidativas. As propriedades mecânicas e térmicas são afetadas dependendo da concentração dos aditivos. Quando são incorporados 0,3% m/m de cacau e 0,07% m/m de café a matriz, o percentual de alongamento aumentou e o número de transições vítreas diminuiu. Entretanto quando foram incorporados 1,7% m/m de cacau e 0,39% m/m de café, o percentual de alongamento diminuiu e o número de transições vítreas aumentou quando comparados ao filme formulado somente com a matriz.

4.0. CONCLUSÕES

A adição de pó de café e de pó de cacau a matriz de amido de mandioca em baixas concentrações promove uma melhora nas propriedades térmicas e mecânicas dos biofilmes, indicando que nesta concentração os aditivos são totalmente incorporados e agem como plastificantes, porém promove também um aumento na permeabilidade ao vapor de água. Com o aumento da concentração de aditivos, ocorre uma inversão dos efeitos, reduzindo a permeabilidade ao vapor de água e passando a agir como anti-plastificantes, promovendo uma diminuição na porcentagem de alongamento e aumento do número de temperaturas de transições vítreas, indicando que os aditivos não são totalmente incorporados a matriz. Em todas as concentrações ocorre uma redução na resistência à tração dos biofilmes. Estes parâmetros são importantes para entender o comportamento dos biofilmes depois da adição de café e cacau. Conclui-se que as propriedades dos biofilmes comestíveis formulados com amido de mandioca podem ser afetadas pela quantidade de café e cacau adicionada, alterando o comportamento dos biofilmes. Trabalhos futuros poderão avaliar o efeito da adição de derivados de cacau e café quando incorporados em outras matrizes biodegradáveis ou em materiais poliméricos convencionais, aumentando a possibilidade de aplicações.

AGRADECIMENTOS

Os autores gostariam de agradecer a Cargill Agrícola SA, Açúcar Guarani SA e Odelsa S.A. pela doação dos ingredientes e também a Fapesb, ao CNPq e a Capes pelo apoio financeiro do experimento e pelas bolsas de estudo. Gostariam também de agradecer as Profas. Dra. Rosario Elida Suman Bretas e Dra. Márcia Branciforti do Departamento de Engenharia de Materiais da UFSCAR pelas análises de caracterização térmicas e mecânicas.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALBU, S. JOYCE, E.; PANIWNIK, L.; LORIMER, J. P.; MASON, T. J. Potential for the use of ultrasound in the extraction of antioxidants from *Rosmarinus officinalis* for the food and pharmaceutical industry. **Ultrasonics Sonochemistry**, v. 11, p. 261–265, 2004.

ARVANITTOYANNIS, I.; BILIADERIS, C. G. Physical properties of polyol-plasticized edible films made from sodium caseinate and soluble starch blends. **Food Chemistry**, v. 62, p. 333-342, 1998.

ASTM. American Society for Testing and Materials. **Standard Test Method for tensile properties of thin plastic sheeting ASTM D882-00, 1**, 2001.

ASTM. American Society for Testing and Materials. **Standard practice for maintaining constant relative humidity by means of aqueous solution ASTM E104-85, 6**, 2001.

ATOUI, A. K.; MANSOURI, A.; BOSKOU, G.; KEFALAS, P. Tea and herbal infusions: Their antioxidant activity and phenolic profile. **Food Chemistry**, v. 89, p. 27–36, 2005.

ATTARIAN, A. C.; VEIGA-SANTOS, P.; DITCHFIELD, C.; PARRA, D. F.; LUGÃO, A. B.; TADINI, C. C. Investigation of natural additives as pH indicators for cassava starch biobased materials. **VI International symposium on future of food engineering**, Warsaw, Poland, 2006.

AVÉROUS, L; MORO, L; DOLE, P; FRINGANT, C. Properties of thermoplastics blends: starch-polycaprolactone. **Polymer**, v. 41, n. 11, p. 4157-4167. 2000.

AZEREDO, H. M. C.; FARIA, J. A. F.; AZEREDO, A. M. C. Embalagens Ativas para alimentos. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 20, p. 337-341, 2000.

BRITO, E. S. De; NARAIN, N.; GARCÍA, N. H. P.; VALENTE, A. L. P.; PINI, G. F. Effect of glucose and glycine addition to cocoa mass before roasting on Maillard precursor consumption and pyrazine formation. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 82, n. 5, p. 534-537, 2002.

FAMÁ, L.; FLORES, S. K.; GERSCHENSON, L.; GOYANES, S. Physical characterization of cassava starch biofilms with special reference to dynamic mechanical properties at low temperatures. **Carbohydrate Polymers**, v. 66, p. 8-15, 2006.

FAOSTAT. Food and Agriculture Organization of the United Nations Statistical Databases. **Agricultural Data**. 2009. Disponível em: <<http://faostat.fao.org/faostat>>. Acesso em: 05 jan. 2009.

FARAH, A.; DONANGELO, C.M. Phenolic compounds in coffee. **Brazilian Journal of Plant Physiology**, v. 18, n. 1, p. 23-36, 2006.

FERNANDES, S. M.; PINTO, N. A. V. D.; THÉ, P. M. P.; PEREIRA, R. G. F. A.; CARVALHO, V. D. *et al.* Teores de Polifenóis, Ácido Clorogênico, Cafeína e Proteína em Café Torrado. **Revista Brasileira de Agrociência**, v. 7, n. 3, p. 197-199, 2001.

FUKUMOTO, L. R.; MAZZA, G. Assessing Antioxidant and Prooxidant Activities of Phenolic Compounds. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 48, p. 3597-3604, 2000.

GONTARD, N.; GUILBERT, S.; CUQ, J. Edible wheat gluten films: influence of the main process variables on film properties using response surface methodology. **Journal of Food Science**, v. 57, p. 190-195, 1992.

GRISI, C. V. B.; SILVA, L. T.; CABRAL-ALBUQUERQUE, E. C.; DRUZIAN, J. I. **Evaluation of the viability of incorporating natural antioxidants in bio-based packagings**. Nova Science Publishers - Food Chemistry Research Developments, v. 1, p. 1-11, 2008.

GUINESI, L. S.; RÓZ, A. L. Da; CORRANDINI, E.; MALTOSO, L. H. C.; TEIXEIRA, E. M.; CURVELO, A. A. S. Kinetics of Thermal Degradation Applied to Starches from Different Botanical Origins by Non-isothermal Procedures. **Thermochimica Acta**, v. 447, n. 2, p. 190-196, 2006.

HARDIE, A. G.; DUNES, J. J.; KAZAK, L. M.; HUANG, P. M. Influence of polyphenols on the integrated polyphenolmaillard reaction humification pathway as catalyzed by birnessite. **Annals of Environmental Science**, v. 1, p. 91-110, 2007.

HAYASHI, A.; VEIGA-SANTOS, P.; DITCHFIELD, C.; TADINI, C. C. Investigation of Antioxidant Activity of Cassava Starch Biobased Materials. **VI International Symposium on Future of Food Engineering**, Warsaw, Poland, in CD. 2006.

JONFIA-ESSIEN, W. A.; WEST, G.; ALDERSON, P. G.; TUCKER, G. Phenolic content and antioxidant capacity of hybrid variety cocoa beans. **Food Chemistry**, v. 108, p. 1155-1159, 2008.

LOURDIN, D.; COIGNARD, L.; BIZOT, H., AND COLONNA, P. Influence of equilibrium relative humidity and plasticizer concentration on the water content and glass transition of starch materials. **Polymers**, v. 38, n. 21, p. 5401-5406. 1997.

LOULI, V.; RAGOUSSIS, N.; MAGOULAS, K. Recovery of phenolic antioxidants from wine industry by-products. **Bioresource Technology**, v. 92, p. 201–208, 2004.

MATHEW, S.; ABRAHAM, E. Characterisation of ferrúlico acid incorporated starch-chitosan blend films. **Food Hydrocolloids**, v. 22, p. 826-835, 2008.

MÜLLER, C. M. O.; LAURINDO, J. B.; YAMASHITA, F. Effect of cellulose fibers addition on the mechanical properties and water barrier of starch-based films. **Food hydrocolloids**, v.23, n.9, p. 1328-1333, 2009.

NERÍN, C.; TOVAR, L.; SALAFRANCA J. Behaviour of a new antioxidant active film versus oxidizable model compounds. **Journal of Food Engineering**, v. 84, p. 313–320, 2008.

NIEMENAK, N.; ROHSIUS, C.; ELWERS, S.; NDOUMOU, D. O.; LIEBEREI, R. Comparative study of different cocoa (*Theobroma cacao* L.) clones in terms of their phenolics and anthocyanins contents. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 19, p. 6-7, 2006.

PÉROVAL, C. Edible arabinoxylan-based films: 1. Effects of lipid type on water vapor permeability, film structure and other physical characteristics. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 50, p. 3977-3983, 2002.

PHAN THE, D.; DEBEAUFORT, F.; VOILLEY, A.; LUU, D. Biopolymer Interactions Affect the Functional Properties of Edible Films Based on Ágar, Cassava Starch and Arabinoxylan Blends. **Journal of Food Engineering**, v. 90, p. 548-558, 2009.

POUPLIN, M.; REDL, A.; GONTARD, N. Glass transition of wheat gluten plasticized with water, glycerol, or sorbitol. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 47, p. 538-543, 1999.

ROONEY, M. L. **Overview of active food packaging**. In: Active Food Packaging. London: Blackie Academic & Professional. London, UK. p. 1-37, 1995.

SOBRAL, P. J. A. Phase diagram for freeze-dried persimmon. **Thermochimica Acta**, v. 376, p. 83-89, 2001.

SOUZA, C. M. M.; SILVA, H. R.; VIEIRA-JR, G. M.; AYRES, M. C. C.; COSTA, C. L. S.; ARAÚJO, D. S.; CAVALCANTE, L. C. D.; BARROS, E. D. S.; ARAUJO, P. B. M.; BRANDÃO, M. S.; CHAVES, M. H. Fenóis Totais e Atividade Antioxidante de Cinco Plantas Medicinais. **Química Nova**, v. 30, p. 351-355, 2007.

VEIGA-SANTOS, P.; SCAMPARINI, A. R. P. **Indicador** irreversível de temperatura utilizando carboidratos. Patente protocolizada n. 4.315. (INPI). 23/08/2004.

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.

VEIGA-SANTOS, P.; OLIVEIRA, L. M.; CEREDA, M. P.; SCAMPARINI, A. R. P. Sucrose and inverted sugar as plasticizer: Effect on cassava starch–gelatin film mechanical properties, hydrophilicity and water activity. **Food Chemistry**, v. 103, p. 255–262, 2007.

VILLAMIEL, M.; CASTILLO, M. D. DEL; CORZO, N. **Browning Reactions**. Food Biochemistry and Food Processing. p. 71-100, 2007.

ZHENG, W.; WANG, S. Y. Antioxidant Activity and Phenolic Compounds in Selected Herbs. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 49, p. 5165-5170, 2001.

CONCLUSÕES GERAIS

Com o aumento da demanda dos consumidores por produtos mais seguros, de maior qualidade e que não agridam o meio ambiente, vem crescendo o interesse da comunidade científica em desenvolver novas tecnologias e também novos materiais para embalagens. Entre estas tecnologias estão as embalagens ativas, principalmente as que possuem ação antioxidante, visto que a oxidação lipídica é uma das principais reações de degradação dos alimentos.

No presente trabalho foi possível desenvolver uma embalagem ativa antioxidante e biodegradável, a partir de materiais de grande importância para a agroindústria baiana e brasileira, como o amido de mandioca, o cacau e o café.

A incorporação de pó de cacau e/ou de café como aditivos na matriz de amido de mandioca e plastificantes resultaram em biofilmes bastante viáveis, visto que os antioxidantes (compostos fenólicos) provenientes dos aditivos permaneceram na matriz, mesmo após 45 dias de estocagem, indicando grande potencial como aditivos antioxidantes.

Os biofilmes contendo os antioxidantes apresentaram uma maior proteção contra o processo oxidativo, alcançando um efeito máximo na formulação que contém teor máximo de café.

A incorporação dos aditivos à matriz polimérica de amido de mandioca e plastificantes altera significativamente as propriedades mecânicas, a permeabilidade ao vapor de água e a temperatura de transição vítrea, dependendo da concentração de aditivos no biofilme. Em pequenas concentrações promove um aumento na porcentagem de alongamento, agindo como plastificante, reduz o número de tgs, indicando uma pequena separação de fases. Porém, em baixas concentrações, ocorre um aumento na permeabilidade ao vapor de água. Em concentrações mais elevadas de aditivos ocorre uma inversão nestes efeitos, reduzindo a permeabilidade ao vapor de água e a porcentagem de alongamento e, promovendo um aumento no número de transições vitreas, ou seja, agindo como anti-plastificante. Em todas as concentrações ocorre uma redução nos valores de resistência à tração dos biofilmes.

A embalagem desenvolvida com a incorporação desses aditivos antioxidantes pode ser utilizada em produtos lipídicos, com baixo teor de umidade, a fim de retardar a sua oxidação, aumentando assim a sua vida de prateleira, tornando-se uma alternativa à utilização de antioxidantes sintéticos. Sua aplicação não deve ficar limitada à matrizes de amido, podendo ser incorporada a outros materiais, tanto biodegradáveis, como material polimérico convencional, aumentando assim o potencial de aplicação destes aditivos antioxidantes.

ANEXO I

Análises estatísticas dos resultados obtidos nos experimentos. Para validar a equação do modelo, foi analisada a ANOVA presente nas tabelas. O F_{calc} mostra um ajuste do modelo desde que $F_{calc} > F_{tab}$ indicando que o modelo é válido. O gráfico Pareto e o erro puro também foram utilizados para validar o modelo ($p < 0.05$).

1. Análise estatística da redução nos teores de polifenóis totais dos biofilmes no dia 7

Tabela 1. ANOVA para o modelo quadrático da redução nos teores de polifenóis dos biofilmes, após 7 dias de estocagem.

Coeficientes de Variação	Soma Quadrática (SS)	Grau de Liberdade (DF)	Média Quadrática (MS)	F-valor F_{calc}
Regressão	103,96	5	20,79	44,13
Resíduo	2,36	5	0,47	
Total (SS)	106,31	10		

$F_{tab}(5,5; 0,95) = 5,05$

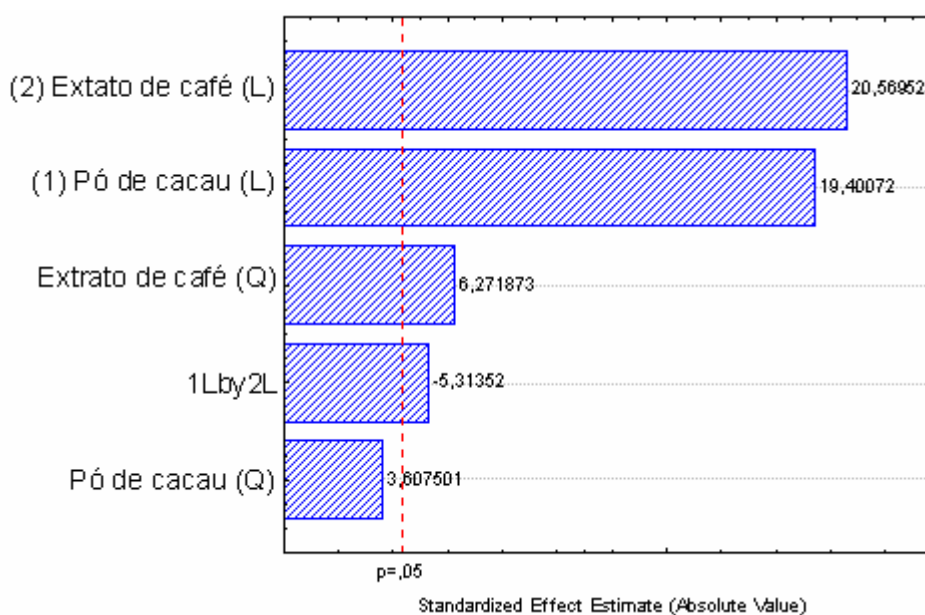
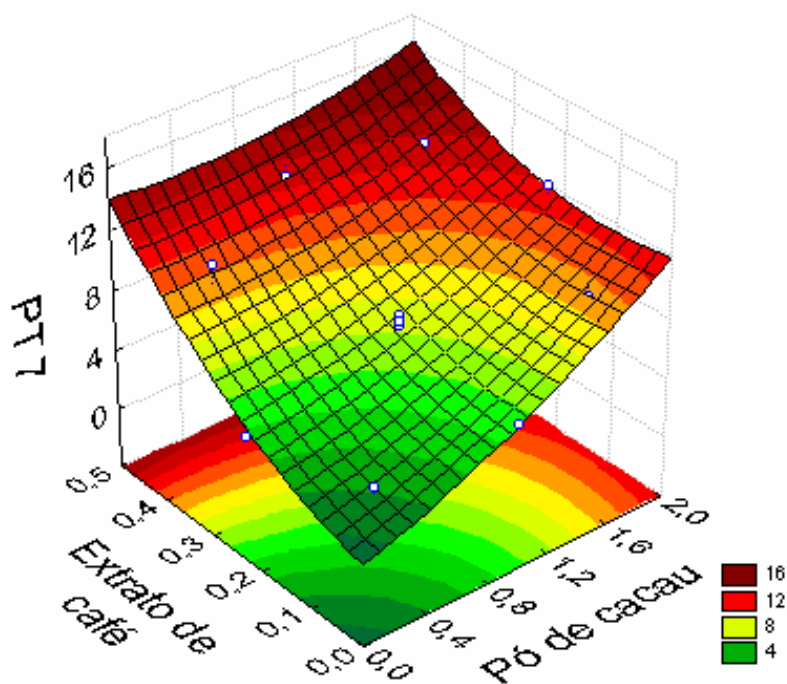


Figura 1. Gráfico de Pareto da redução no teor de polifenóis totais para o dia 7.



$$PT (\text{Dia } 7) = 1,46 + 3,12 X_1 + 1,74 X_2 + 1,86 X_2^2 - 1,87 X_1 X_2 \quad R^2 = 0,98$$

Figura 2. Superfície de resposta e equação do modelo da perda no teor de polifenóis totais dos biofilmes no dia 7.

2. Análise estatística da redução nos teores de polifenóis totais dos biofilmes no dia 15

Tabela 2. ANOVA para o modelo quadrático da redução nos teores de polifenóis dos biofilmes, após 15 dias de estocagem.

Coeficientes de Variação	Soma Quadrática (SS)	Grau de Liberdade (DF)	Média Quadrática (MS)	F _{calc}
Regressão	83,80	5	16,76	50,46
Resíduo	1,66	5	0,33	
Total (SS)	85,47	10		

$$F_{\text{tab}}(5,5; 0,95) = 5,05$$

F_{calc} > F_{tab}, teve efeito significativo

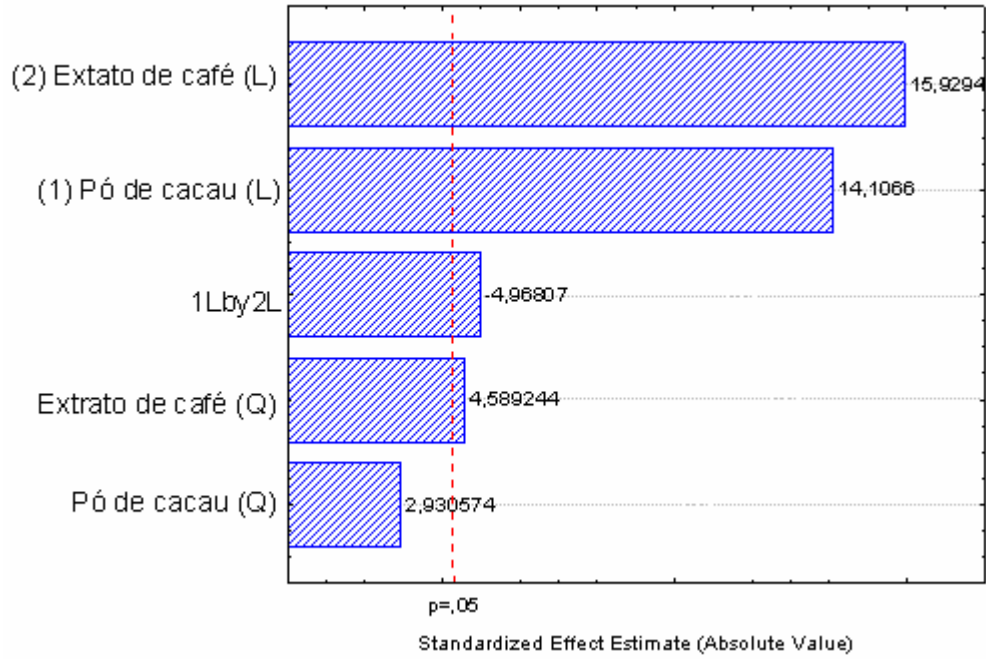
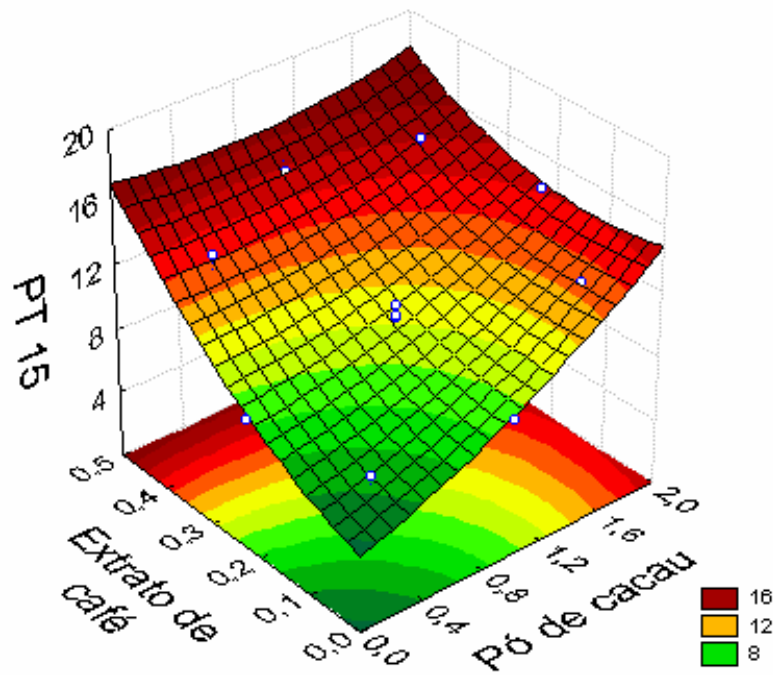


Figura 3. Gráfico de Pareto da redução no teor de polifenóis totais para o dia 15.



$$PT (\text{Dia } 15) = 4,69 + 2,93 X_1 + 2,14 X_2 + 1,61 X_2^2 - 2,07 X_1 X_2 \quad R^2 = 0,98$$

Figura 4. Superfície de resposta e equação do modelo da perda no teor de polifenóis totais dos biofilmes no dia 15.

3. Análise estatística da redução nos teores de polifenóis totais dos biofilmes no dia 30

Tabela 3. ANOVA para o modelo quadrático da redução nos teores de polifenóis dos biofilmes, após 30 dias de estocagem.

Coefficientes de Variação	Soma Quadrática (SS)	Grau de Liberdade (DF)	Média Quadrática (MS)	F_{calc}
Regressão	89,64	5	17,93	28,22
Resíduo	3,18	5	0,63	
Total (SS)	92,82	10		

$$F_{tab}(5,5; 0,95) = 5,05$$

F_{calc} > F_{tab}, teve efeito significativo

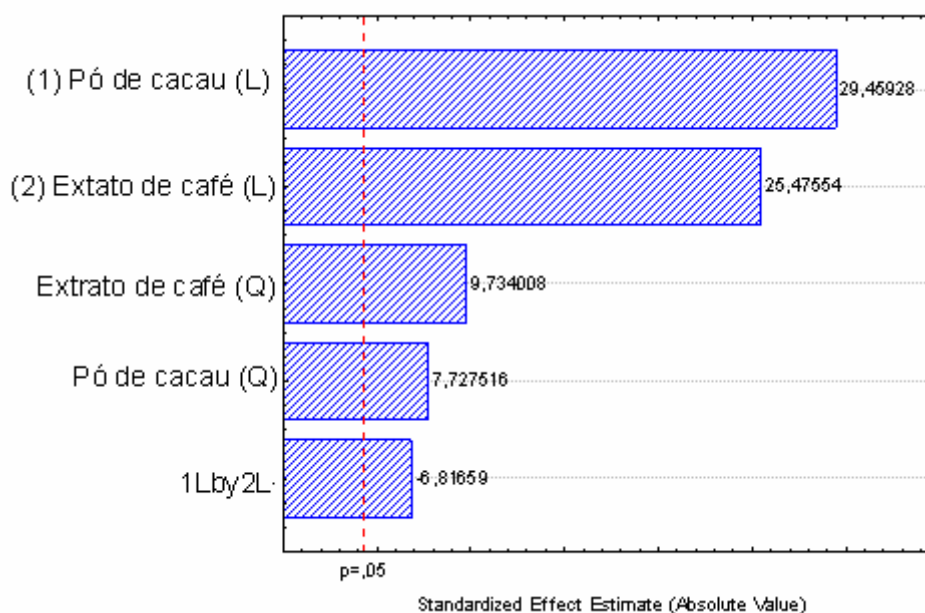
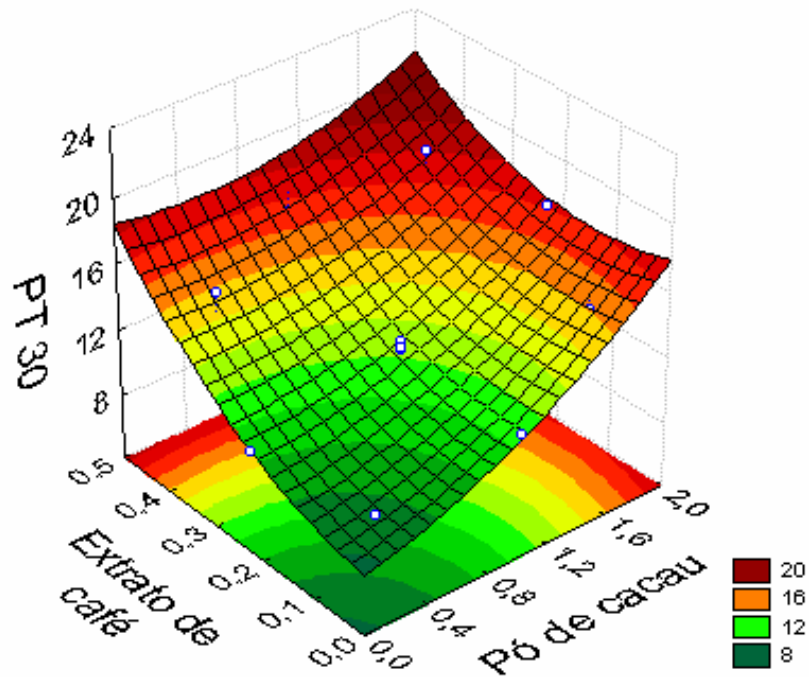


Figura 5. Gráfico de Pareto da redução no teor de polifenóis totais para o dia 30.



$$PT (\text{Dia } 30) = 7,76 + 1,98 X_1 + 1,53 X_1^2 + 0,71 X_2 + 1,93 X_2^2 - 1,60 X_1 X_2 \quad R^2 = 0,97$$

Figura 6. Superfície de resposta e equação do modelo da perda no teor de polifenóis totais dos biofilmes no dia 30.

4. Análise estatística da redução nos teores de polifenóis totais dos biofilmes no dia 45

Tabela 4. ANOVA para o modelo quadrático da redução nos teores de polifenóis totais dos biofilmes, após 45 dias de estocagem.

Coeficientes de Variação	Soma Quadrática (SS)	Grau de Liberdade (DF)	Média Quadrática (MS)	F _{calc}
Regressão	98,31	5	19,66	35,11
Resíduo	82,82	5	1,620,56	
Total (SS)	101,14	10		

$$F_{\text{tab}}(5,5; 0,95) = 5,05$$

F_{calc} > F_{tab}, teve efeito significativo

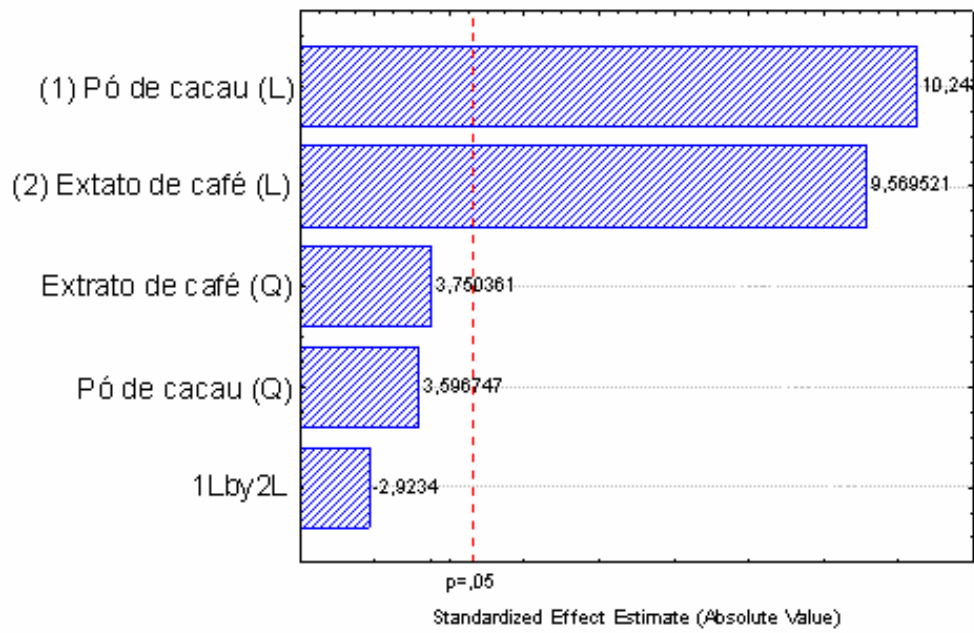


Figura 7. Gráfico de Pareto da redução no teor de polifenóis totais para o dia 45.

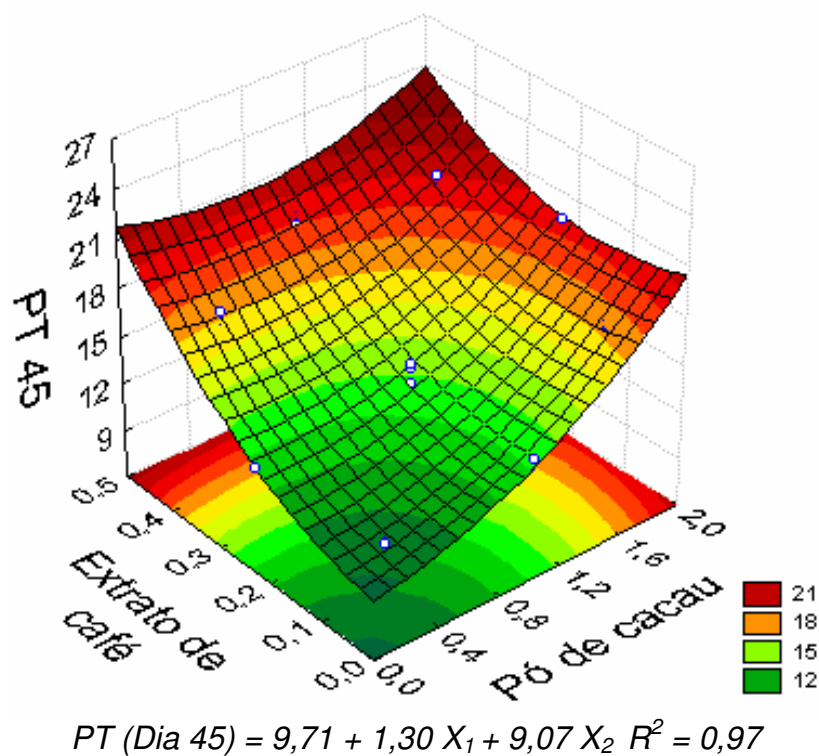


Figura 8. Superfície de resposta e equação do modelo da perda no teor de polifenóis totais dos biofilmes no dia 45.

5. Análise estatística da redução nos teores de flavonóides totais dos biofilmes no dia 7

Tabela 5. ANOVA para o modelo quadrático da redução nos teores de flavonóides totais dos biofilmes, após 7 dias de estocagem.

Coefficientes de Variação	Soma Quadrática (SS)	Grau de Liberdade (DF)	Média Quadrática (MS)	F_{calc}
Regressão	114,17	5	22,83	14,06
Resíduo	8,11	5	1,62	
Total (SS)	122,28	10		

$F_{tab}(5,5; 0,95) = 5,05$

Fcal > Ftab, teve efeito significativo

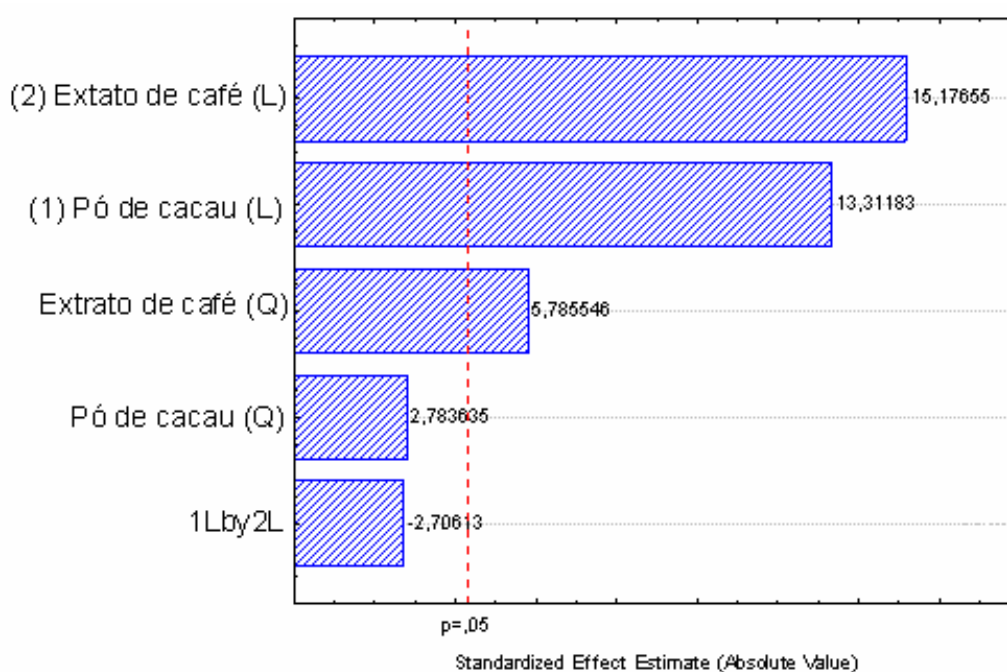
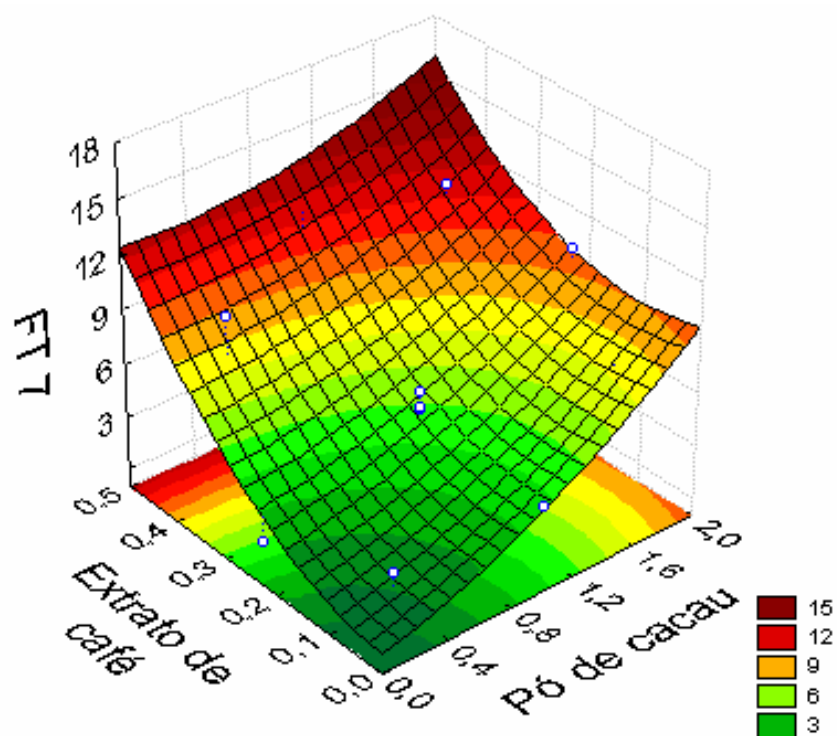


Figura 9. Gráfico de Pareto da redução no teor de flavonóides totais para o dia 7.



$$FT (\text{Dia } 7) = 1,18 + 2,37 X_1 + 2,47 X_2 + 2,50 X_2^2 \quad R^2 = 0,93$$

Figura 10. Superfície de resposta e equação do modelo da perda no teor de flavonóides totais dos biofilmes no dia 7.

6. Análise estatística da redução nos teores de flavonóides totais dos biofilmes no dia 15

Tabela 6. ANOVA para o modelo quadrático da redução nos teores de flavonóides dos biofilmes, após 15 dias de estocagem.

Coeficientes de Variação	Soma Quadrática (SS)	Grau de Liberdade (DF)	Média Quadrática (MS)	F-valor F_{calc}
Regressão	138,52	5	27,70	14,27
Resíduo	9,70	5	1,94	
Total (SS)	142,23	10		

$$F_{\text{tab}}(5,5; 0,95) = 5,05$$

F_{calc} > F_{tab}, teve efeito significativo

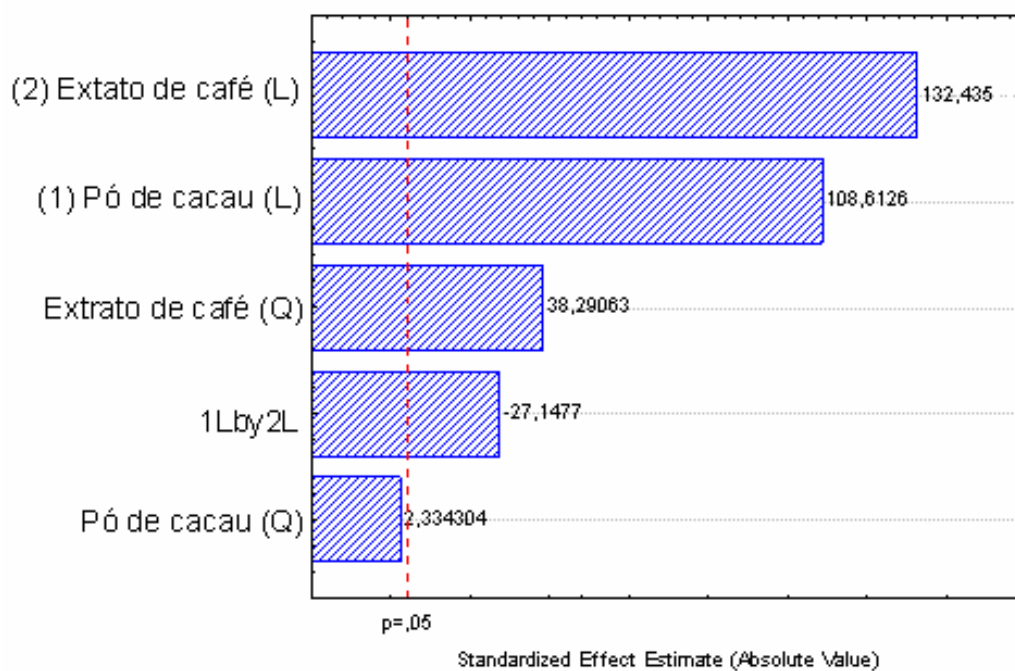
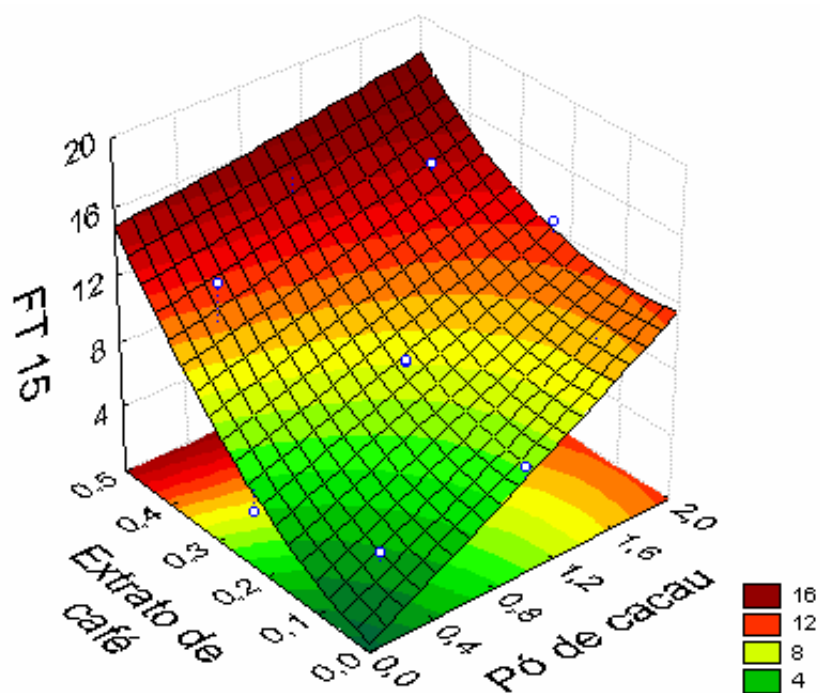


Figura 11. Gráfico de Pareto da redução no teor de flavonóides totais para o dia 15.



$$FT(\text{Dia } 15) = 0,54 + 5,20 X_1 + 1,91 X_2 + 2,18 X_2^2 - 1,83 X_1 X_2 \quad R^2 = 0,93$$

Figura 12. Superfície de resposta e equação do modelo da perda no teor de flavonóides totais dos biofilmes no dia 15.

7. Análise estatística da redução nos teores de flavonóides totais dos biofilmes no dia 30

Tabela 7. ANOVA para o modelo quadrático da redução nos teores de flavonóides dos biofilmes, após 30 dias de estocagem.

Coefficientes de Variação	Soma Quadrática (SS)	Grau de Liberdade (DF)	Média Quadrática (MS)	F-valor F_{calc}
Regressão	135,84	5	27,17	19,48
Resíduo	6,97	5	1,39	
Total (SS)	142,82	10		

$F_{tab}(5,5; 0,95) = 5,05$

F_{calc} > F_{tab}, teve efeito significativo

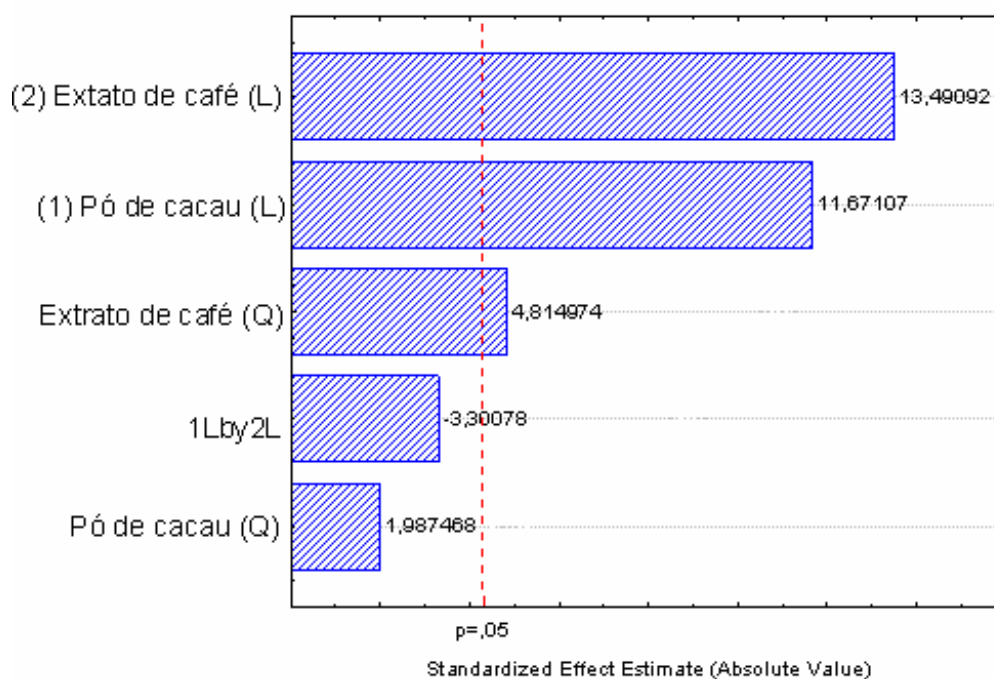
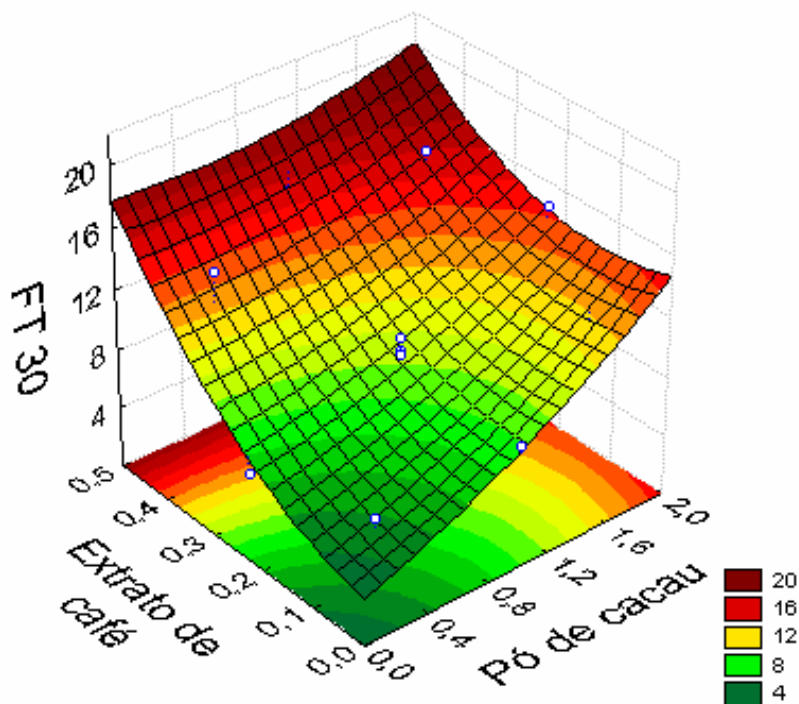


Figura 13. Gráfico de Pareto da redução no teor de flavonóides totais para o dia 30.



$$FT (\text{Dia } 30) = 3,15 + 3,63 X_1 + 1,19 X_2 + 2,57 X_2^2 \quad R^2 = 0,95$$

Figura 14. Superfície de resposta e equação do modelo da perda no teor de flavonóides totais dos biofilmes no dia 30.

8. Análise estatística da redução nos teores de flavonóides totais dos biofilmes no dia 45

Tabela 8. ANOVA para o modelo quadrático da redução nos teores de flavonóides dos biofilmes, após 45 dias de estocagem.

Coeficientes de Variação	Soma Quadrática (SS)	Grau de Liberdade (DF)	Média Quadrática (MS)	F-valor F_{calc}
Regressão	140,18	5	28,04	24,17
Resíduo	5,81	5	1,16	
Total (SS)	145,99	10		

$$F_{\text{tab}}(5,5; 0,95) = 5,05$$

$F_{\text{cal}} > F_{\text{tab}}$, teve efeito significativo

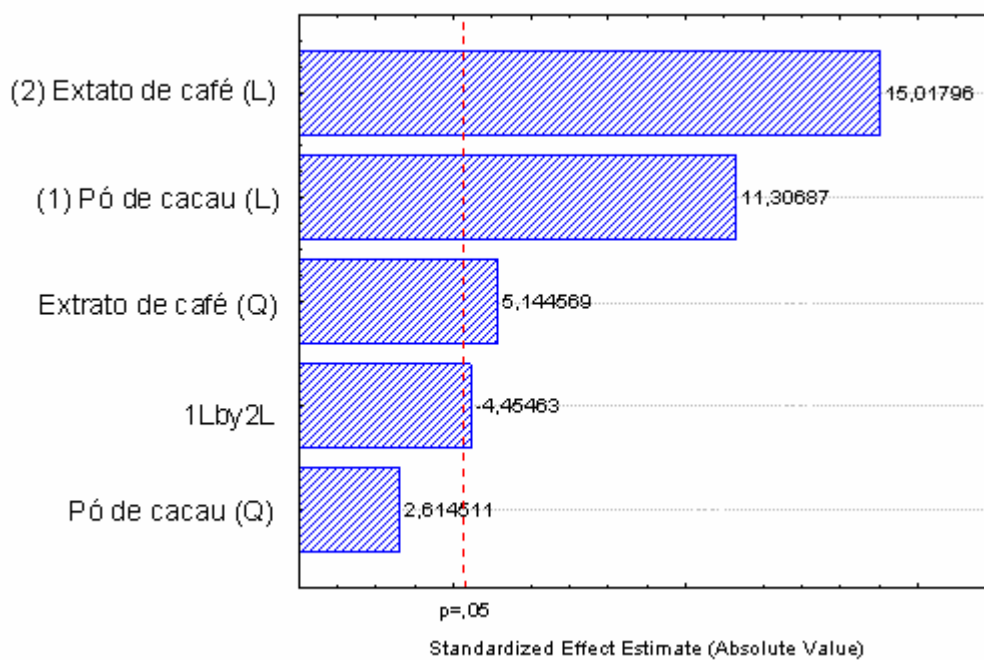
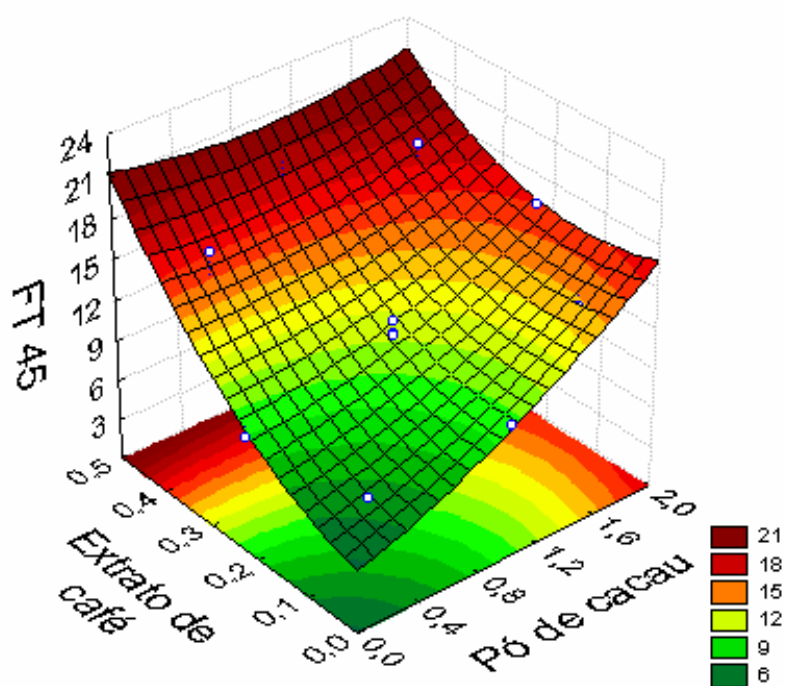


Figura 15. Gráfico de Pareto da redução no teor de flavonóides totais para o dia 45.



$$FT (\text{Dia } 45) = 4,79 + 3,41 X_1 + 1,95 X_2 + 2,61 X_2^2 - 2,69 X_1 X_2 \quad R^2 = 0,96$$

Figura 16. Superfície de resposta e equação do modelo da perda no teor de flavonóides totais dos biofilmes no dia 45.

9. Análise estatística do aumento nos teores de índice de peróxidos do produto embalado (azeite de dendê) no dia 7

Tabela 9. ANOVA para o modelo quadrático do aumento nos teores de índice de peróxidos do produto embalado (azeite de dendê), após 7 dias de estocagem.

Coeficientes de Variação	Soma Quadrática (SS)	Grau de Liberdade (DF)	Média Quadrática (MS)	F-valor F_{calc}
Regressão	6,23	5	1,25	21,95
Resíduo	0,28	5	0,06	
Total (SS)	6,51	10		

$F_{tab}(5,5; 0,95) = 5,05$

F_{cal} > F_{tab}, teve efeito significativo

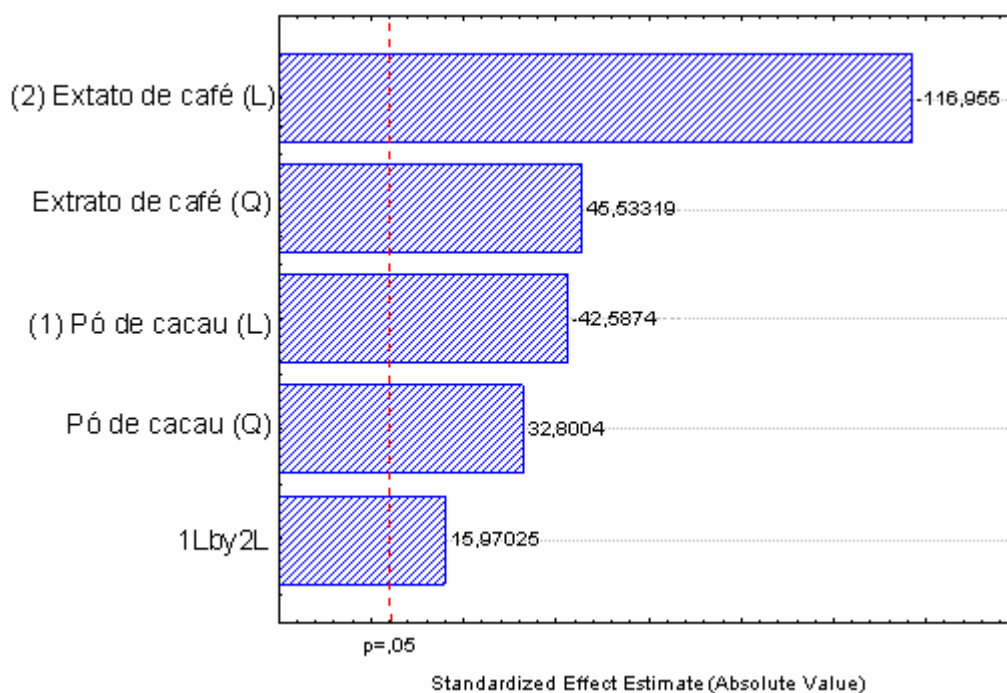
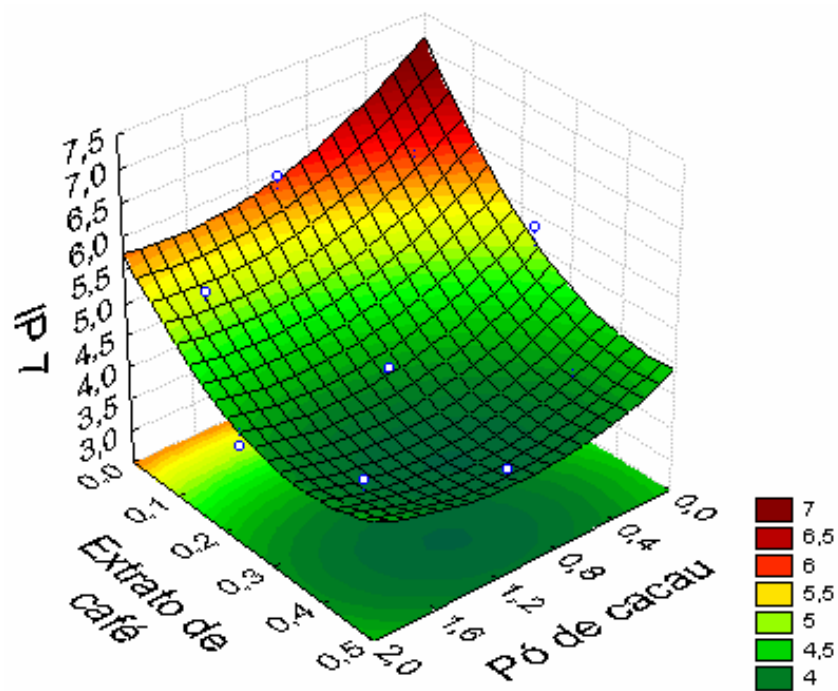


Figura 17. Gráfico de Pareto do aumento no teor de índice de peróxidos no dia 7.



$$IP(7\text{ Dias}) = 7,15 - 1,74 X_1 + 0,52 X_1^2 - 2,84 X_2 + 0,72 X_2^2 + 0,30 X_1 X_2 \quad R^2 = 0,96$$

Figura 18. Superfície de resposta e equação do modelo do aumento no teor de índice de peróxidos no dia 7.

10. Análise estatística do aumento nos teores de índice de peróxidos do produto embalado (azeite de dendê) no dia 15

Tabela 10. ANOVA para o modelo quadrático do aumento nos teores de índice de peróxidos do produto embalado (azeite de dendê), após 15 dias de estocagem.

Coeficientes de Variação	Soma Quadrática (SS)	Grau de Liberdade (DF)	Média Quadrática (MS)	F-valor F_{calc}
Regressão	4,80	5	0,96	17,98
Resíduo	0,27	5	0,05	
Total (SS)	5,06	10		

$$F_{tab}(5,5; 0,95) = 5,05$$

F_{calc} > F_{tab}, teve efeito significativo

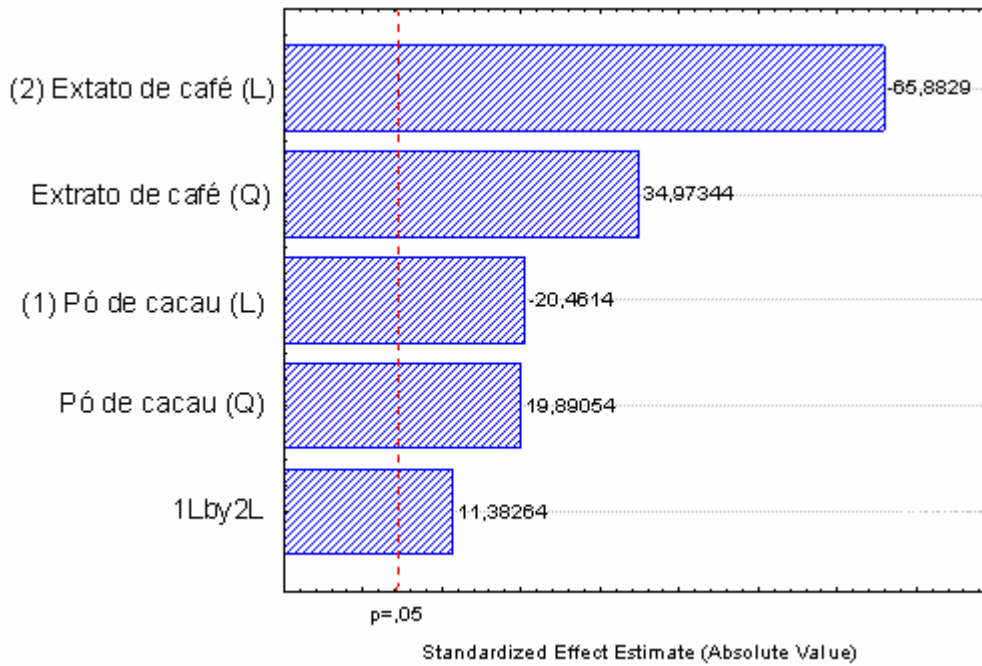
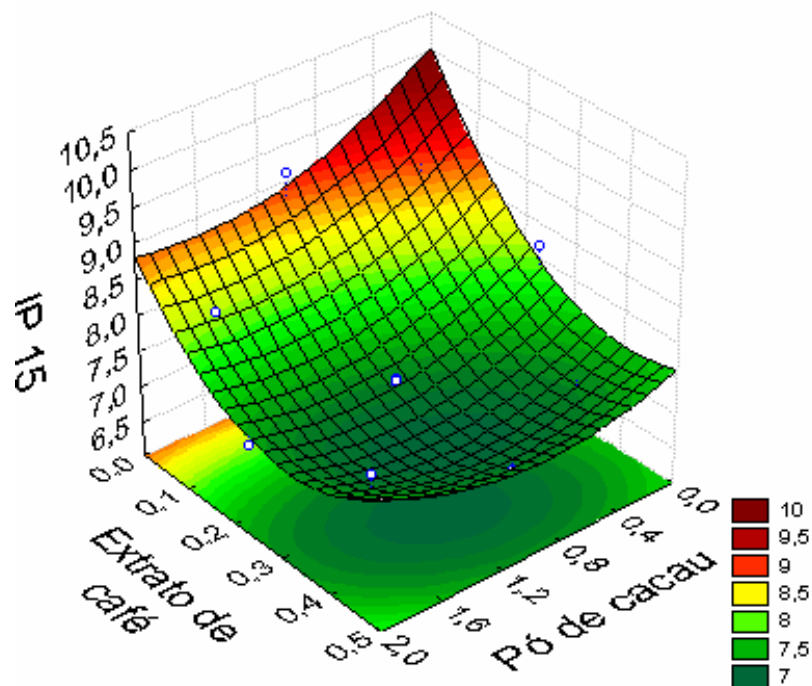


Figura 19. Gráfico de Pareto do aumento no teor de índice de peróxidos no dia 15.



$$IP (15 \text{ Dias}) = 10,04 - 1,56 X_1 + 0,47 X_1^2 - 2,92 X_2 + 0,83 X_2^2 + 0,32 X_1 X_2 R^2 = 0,95$$

Figura 20. Superfície de resposta e equação do modelo do aumento no teor de índice de peróxidos no dia 15.

11. Análise estatística do aumento nos teores de índice de peróxidos do produto embalado (azeite de dendê) no dia 30

Tabela 11. ANOVA para o modelo quadrático do aumento nos teores de índice de peróxidos do produto embalado (azeite de dendê), após 30 dias de estocagem.

Coefficientes de Variação	Soma Quadrática (SS)	Grau de Liberdade (DF)	Média Quadrática (MS)	F-valor F_{calc}
Regressão	24,45	5	4,89	18,92
Resíduo	1,29	5	0,26	
Total (SS)	25,75	10		

$$F_{tab}(5,5; 0,95) = 5,05$$

F_{calc} > F_{tab}, teve efeito significativo

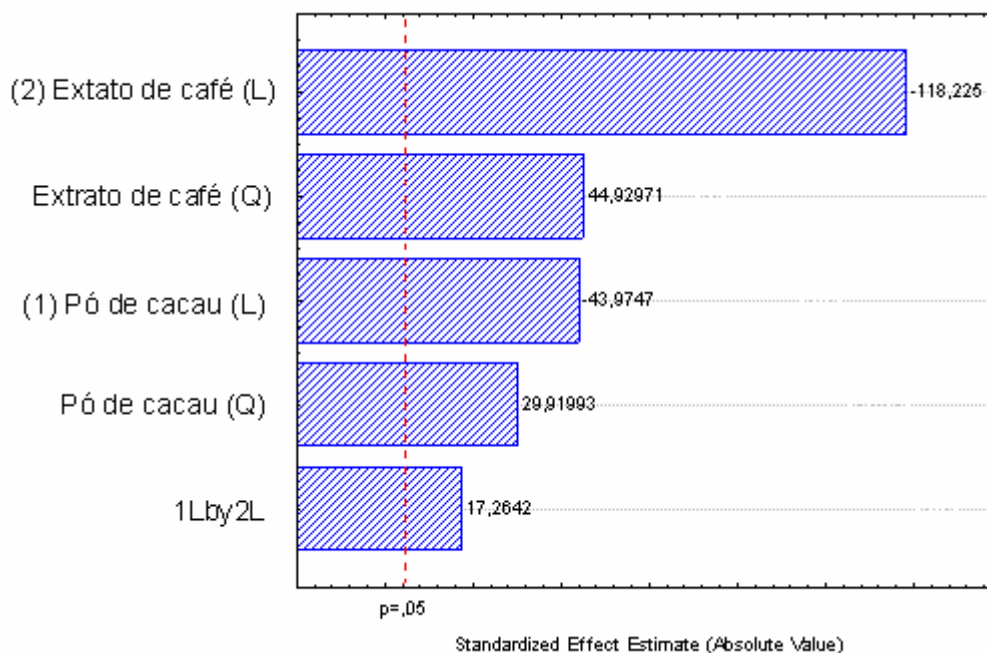
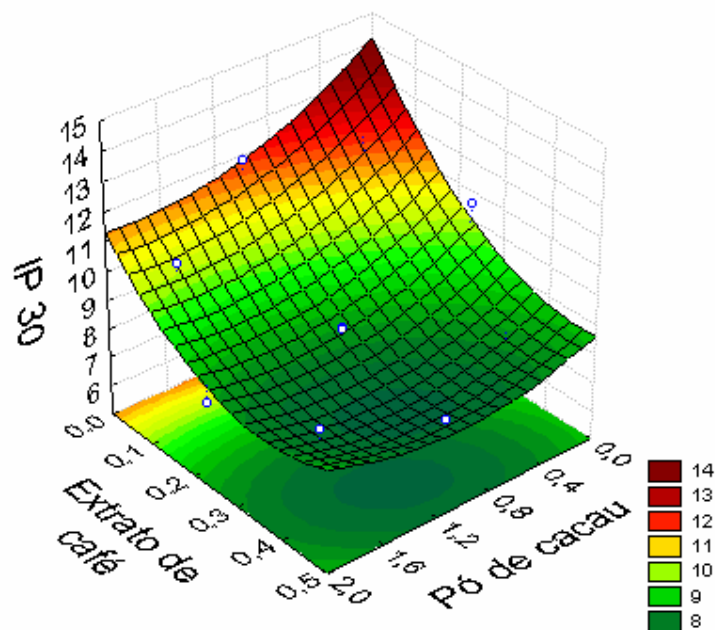


Figura 21. Gráfico de Pareto do aumento no teor de índice de peróxidos no dia 30.



$$IP (30 \text{ Dias}) = 14,22 - 3,31 X_1 + 0,93 X_1^2 - 5,61 X_2 + 1,40 X_2^2 + 0,64 X_1 X_2 \quad R^2 = 0,95$$

Figura 22. Superfície de resposta e equação do modelo do aumento no teor de índice de peróxidos no dia 30.

12. Análise estatística do aumento nos teores de índice de peróxidos do produto embalado (azeite de dendê) no dia 45

Tabela 12. ANOVA para o modelo quadrático do aumento nos teores de índice de peróxidos do produto embalado (azeite de dendê), após 45 dias de estocagem.

Coeficientes de Variação	Soma Quadrática (SS)	Grau de Liberdade (DF)	Média Quadrática (MS)	F-valor F_{calc}
Regressão	18,70	5	3,74	20,35
Resíduo	0,92	5	0,18	
Total (SS)	19,62	10		

$$F_{tab} (5,5; 0,95) = 5,05$$

$F_{cal} > F_{tab}$, teve efeito significativo

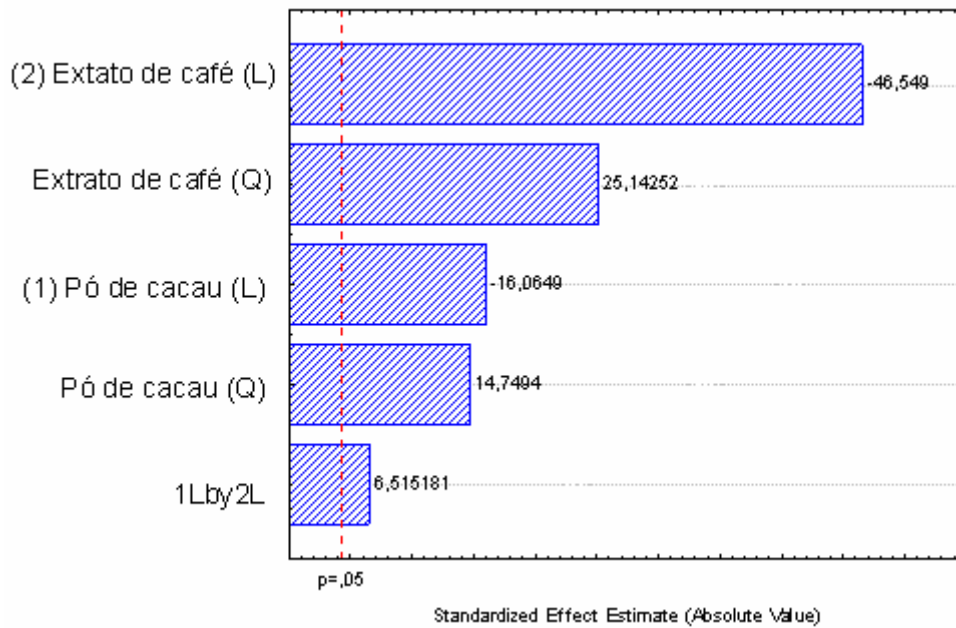
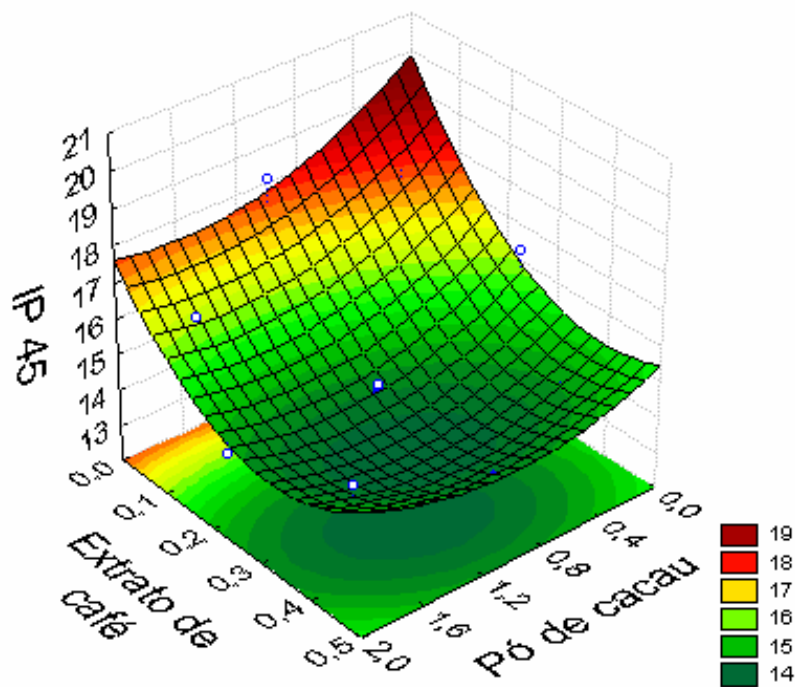


Figura 23. Gráfico de Pareto do aumento no teor de índice de peróxidos no dia 45



$$IP (45 \text{ Dias}) = 19,90 - 3,08 X_1 + 0,97 X_1^2 - 5,64 X_2 + 1,66 X_2^2 + 0,51 X_1 X_2 \quad R^2 = 0,95$$

Figura 24. Superfície de resposta e equação do modelo do aumento no teor de índice de peróxidos no dia 45.

13. Análise estatística da perda nos teores de carotenóides totais do produto embalado (azeite de dendê) no dia 7

Tabela 13. ANOVA para o modelo quadrático da redução nos teores de carotenóides totais do produto embalado, após 7 dias de estocagem.

Coefficientes de Variação	Soma Quadrática (SS)	Grau de Liberdade (DF)	Média Quadrática (MS)	F-valor F_{calc}
Regressão	46,33	5	9,27	5,88
Resíduo	7,88	5	1,58	
Total (SS)	54,21	10		

$F_{tab}(5,5; 0,95) = 5,05$

F_{calc} < F_{tab}, não teve efeito significativo

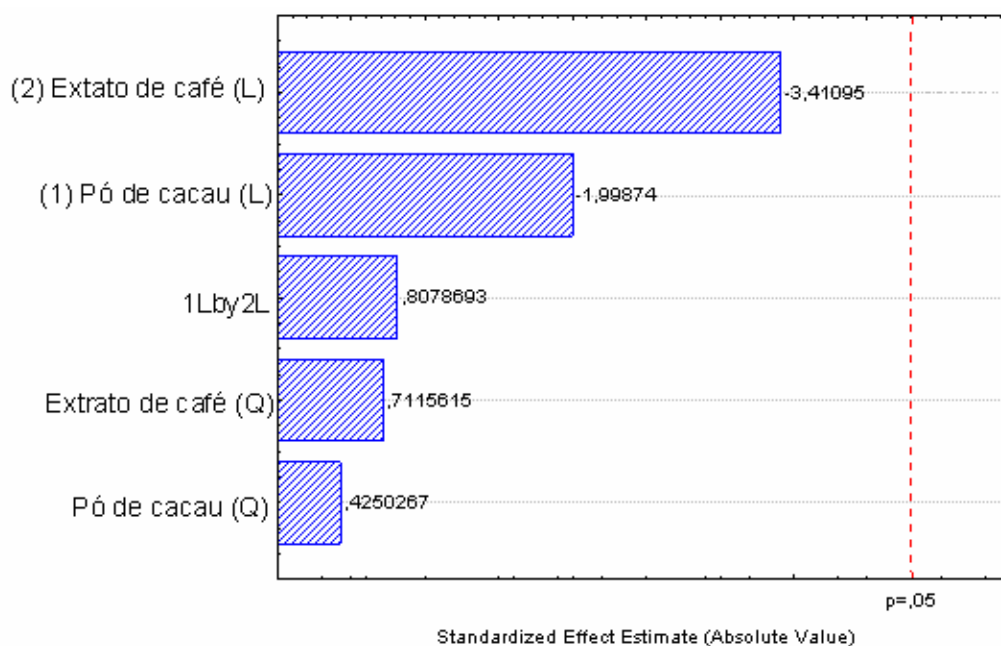


Figura 25. Gráfico de Pareto da redução no teor de carotenóides totais no produto embalado (azeite de dendê) no dia 7.

14. Análise estatística da perda nos teores de carotenóides totais do produto embalado (azeite de dendê) no dia 15

Tabela 14. ANOVA para o modelo quadrático da redução nos teores de carotenóides totais do produto embalado, após 15 dias de estocagem.

Coefficientes de Variação	Soma Quadrática (SS)	Grau de Liberdade (DF)	Média Quadrática (MS)	F_{calc}
Regressão	154,54	5	30,91	2,78
Resíduo	55,61	5	11,12	
Total (SS)	210,15	10		

$$F_{tab}(5,5; 0,95) = 5,05$$

F_{calc} < F_{tab}, não teve efeito significativo

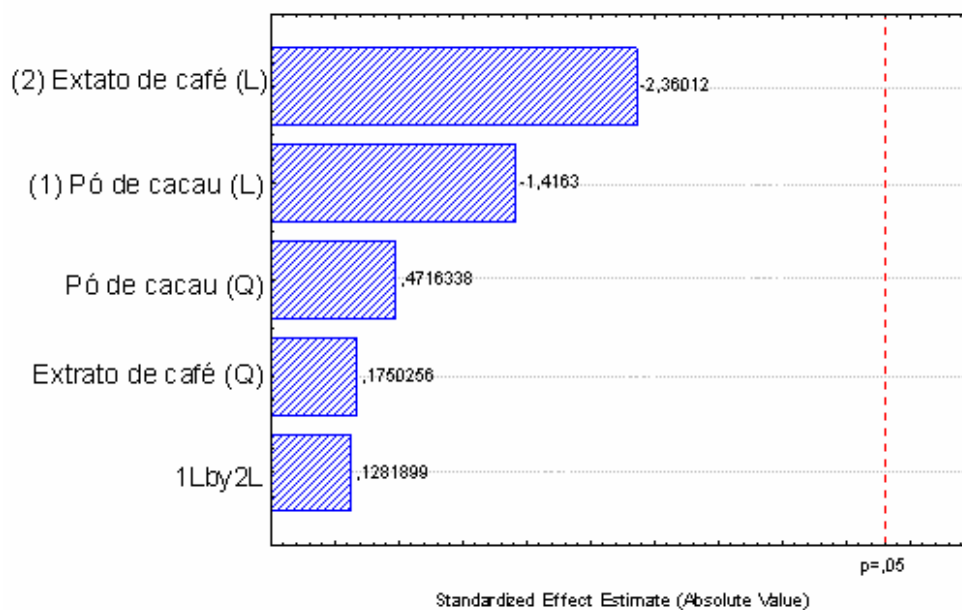


Figura 26. Gráfico de Pareto da redução no teor de carotenóides totais no produto embalado (azeite de dendê) no dia 15.

15. Análise estatística da perda nos teores de carotenóides totais do produto embalado (azeite de dendê) no dia 30

Tabela 15. ANOVA para o modelo quadrático da redução nos teores de carotenóides totais do produto embalado, após 30 dias de estocagem.

Coefficientes de Variação	Soma Quadrática (SS)	Grau de Liberdade (DF)	Média Quadrática (MS)	F_{calc}
Regressão	462,76	5	95,55	3,83
Resíduo	120,85	5	24,17	
Total (SS)	523,61	10		

$F_{tab}(5,5; 0,95) = 5,05$

F_{calc} < F_{tab}, não teve efeito significativo

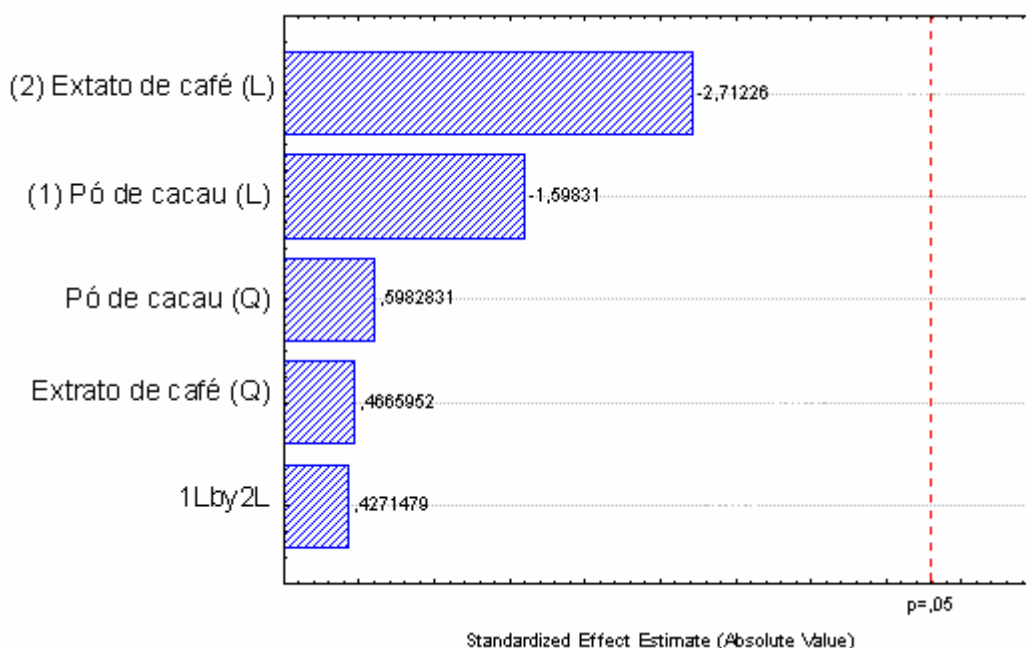


Figura 27. Gráfico de Pareto da redução no teor de carotenóides totais no produto embalado (azeite de dendê) no dia 30.

16. Análise estatística da perda nos teores de carotenóides totais do produto embalado (azeite de dendê) no dia 45

Tabela 16. ANOVA para o modelo quadrático da redução nos teores de carotenóides totais do produto embalado, após 45 dias de estocagem.

Coefficientes de Variação	Soma Quadrática (SS)	Grau de Liberdade (DF)	Média Quadrática (MS)	F _{calc}
Regressão	607,85	5	121,57	2,54
Resíduo	239,59	5	47,92	
Total (SS)	847,44	10		

$F_{\text{tab}}(5,5; 0,95) = 5,05$

F_{calc}, F_{tab}, não teve efeito significativo

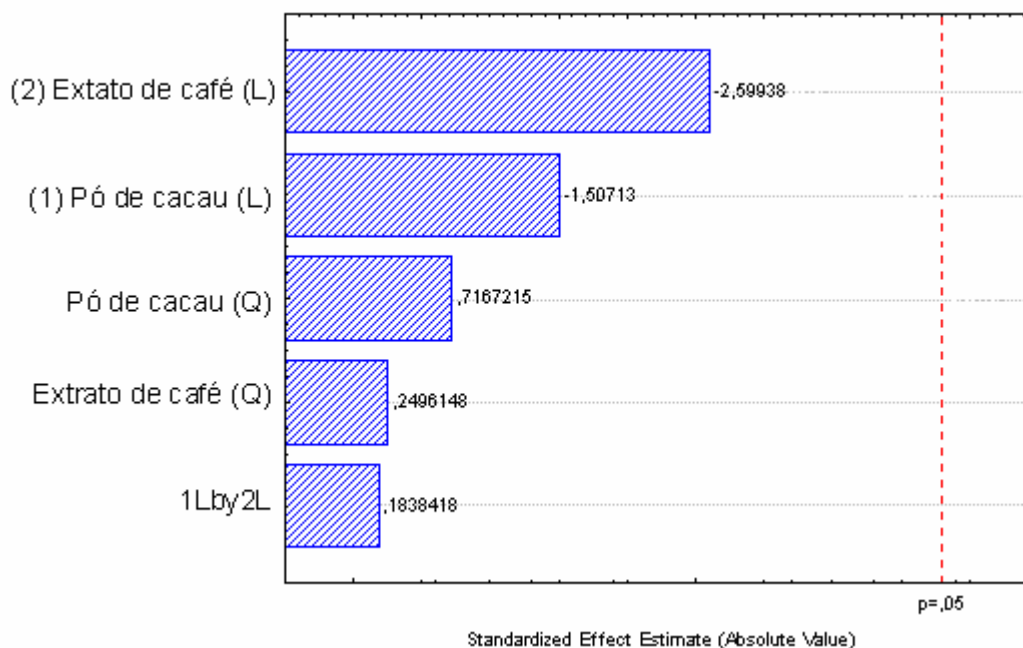


Figura 28. Gráfico de Pareto da redução no teor de carotenóides totais no produto embalado (azeite de dendê) no dia 45.

17. Análise estatística da análise de espessura dos biofilmes, no dia 0

Tabela 17. ANOVA para o modelo quadrático da análise de espessura no dia 0.

Coeficientes de Variação	Soma Quadrática (SS)	Grau de Liberdade (DF)	Média Quadrática (MS)	F_{calc}
Regressão	0,00024	5	0,00005	0,40
Resíduo	0,00060	5	0,00012	
Total (SS)	0,00084	10		

$F_{tab}(5,5; 0,95) = 5,05$

F_{calc} < F_{tab}, não teve efeito significativo

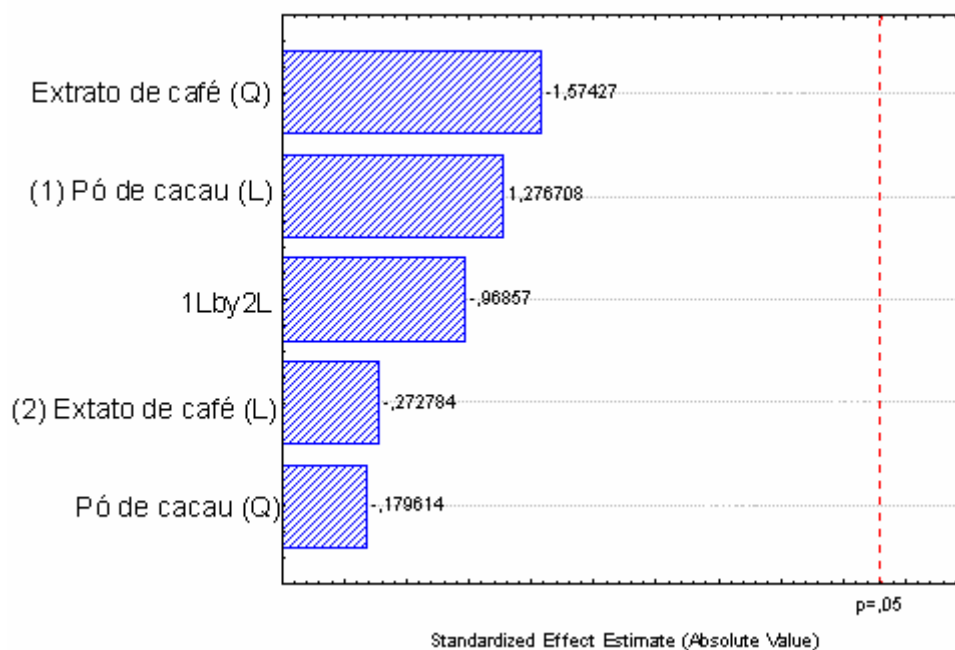


Figura 29. Gráfico de Pareto da análise de espessura dos biofilmes no dia 0.

18. Análise estatística da análise de sólidos totais dos biofilmes, no dia 0

Tabela 18. ANOVA para o modelo quadrático da análise de sólidos totais no dia 0.

Coeficientes de Variação	Soma Quadrática (SS)	Grau de Liberdade (DF)	Média Quadrática (MS)	F_{calc}
Regressão	0,353	5	0,070	1,02
Resíduo	0,343	5	0,069	
Total (SS)	0,697	10		

$F_{tab}(5,5; 0,95) = 5,05$

F_{calc} < F_{tab}, não teve efeito significativo

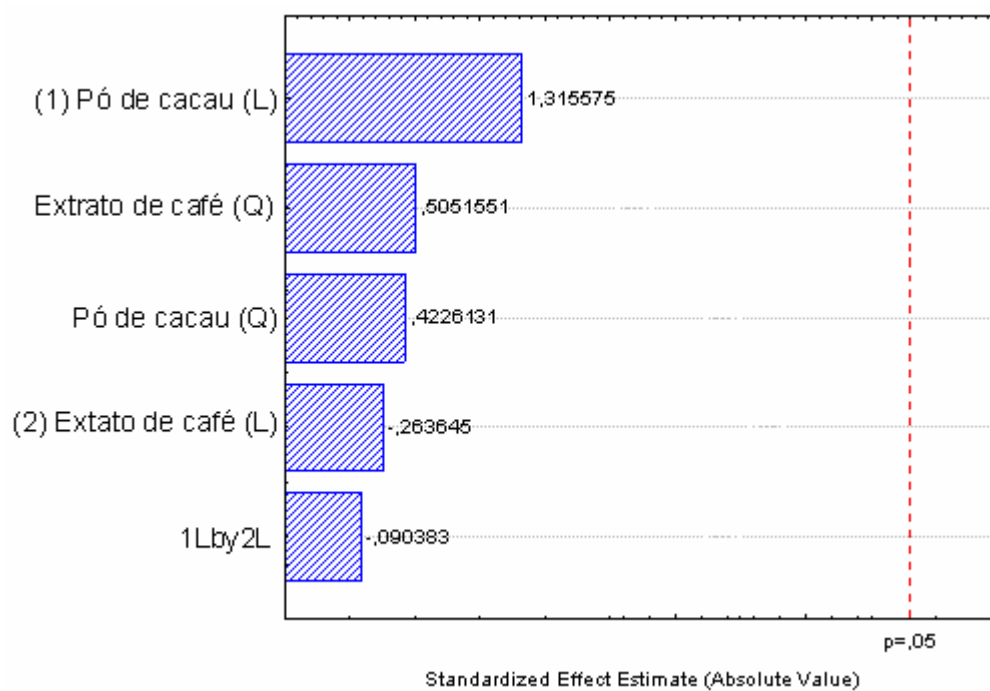


Figura 30. Gráfico de Pareto da análise de sólidos totais dos biofilmes no dia 0.

ANEXO II

RESULTADOS COMPLETOS

1. Teores de polifenóis totais (mg/g) apresentados pelos biofilmes os dias 0, 7, 15, 30 e 45.

Amostra	Dia				
	0	7	15	30	45
F1	35,05	30,64	27,44	25,58	23,87
F2	97,70	86,95	84,18	82,39	80,15
F3	71,24	61,98	58,77	56,41	54,48
F4	112,3	99,45	97,06	93,86	92,10
F5	57,10	52,82	49,19	46,99	44,49
F6	94,91	82,88	80,88	77,96	75,36
F7	39,17	33,47	30,69	27,41	24,47
F8	118,6	106,5	104,0	102,5	100,0
F9*	75,92	68,88	65,89	63,76	61,64
F10*	76,87	69,14	65,08	64,30	62,20
F11*	76,76	69,42	64,56	64,56	63,37

* Pontos centrais

2. Teores de flavonóides totais (mg/g) apresentados pelos biofilmes os dias 0, 7, 15, 30 e 45.

Amostra	Dia				
	0	7	15	30	45
F1	23,24	21,45	20,18	18,08	16,62
F2	84,95	75,38	72,45	70,73	68,20
F3	55,35	48,70	46,96	41,12	41,96
F4	99,92	88,23	85,68	83,73	81,67
F5	47,91	46,47	44,64	42,18	39,39
F6	85,59	75,67	72,96	71,07	69,56
F7	30,38	26,54	23,78	22,20	20,43
F8	102,5	92,47	89,23	87,53	85,43
F9*	66,41	61,68	58,27	57,16	55,22
F10*	67,16	61,52	59,11	56,95	55,09
F11*	66,28	61,49	58,12	57,24	55,34

* Pontos centrais

3. Teores de índice de peróxidos (meq/Kg) apresentados pelo produto embalado (azeite de dendê) nos dias 0, 7, 15, 30 e 45.

Amostra	Dia				
	0	7	15	30	45
C1	23,42	31,08	34,23	38,72	44,54
C2	23,42	32,56	41,56	62,11	85,10
C3	23,42	52,31	61,70	126,1	173,4
F1	23,67	29,36	32,21	35,02	40,68
F2	23,39	27,29	30,53	31,10	37,75
F3	23,48	28,69	31,58	33,87	39,63
F4	23,45	27,46	30,78	31,45	37,55
F5	23,43	28,75	31,63	31,30	39,80
F6	23,55	27,55	30,79	34,03	37,95
F7	23,62	29,57	32,75	31,42	41,47
F8	23,45	27,21	30,46	30,99	37,45
F9*	23,62	27,75	30,78	31,92	37,85
F10*	23,39	27,58	31,61	31,62	37,74
F11*	23,48	27,60	30,68	31,76	37,87

* Pontos centrais

3. Teores de carotenóides totais (µg/g) apresentados pelo produto embalado (azeite de dendê) nos dias 0, 7, 15, 30 e 45.

Amostra	Dia				
	0	7	15	30	45
C1	516,2	494,7	459,8	430,3	398,6
C2	516,2	482,5	455,7	413,6	366,3
C3	516,2	460,2	437,1	362,3	297,3
F1	518,6	496,8	467,6	433,6	408,0
F2	513,5	498,1	472,2	440,4	416,6
F3	567,1	548,6	518,4	489,4	461,8
F4	504,9	490,4	465,6	436,8	417,3
F5	528,5	510,5	480,1	449,6	421,0
F6	496,2	481,9	458,2	431,4	409,6
F7	477,4	458,4	430,4	400,2	376,2
F8	504,9	490,8	466,1	437,6	417,6
F9*	477,4	462,8	438,4	413,9	389,4
F10*	513,5	498,0	474,3	443,7	421,8
F11*	567,1	546,5	519,7	491,5	475,6

* Pontos centrais

4. Teores de hexanal ($\mu\text{g/mL}$) apresentados pelo produto embalado (azeite de dendê) nos dias 0 e 45.

Amostra	Dia 0	Dia 45
C1	1,47	5,85
C2	1,46	21,39
C3	1,47	33,01
F1	1,48	2,10
F5	1,45	1,81
F7	1,46	1,92
F8	1,47	1,80

5. Teores de dienos conjugados ($\text{mg}/100\text{g}$) apresentados pelo produto embalado (azeite de dendê) nos dias 0 e 45.

Amostra	Dia 0	Dia 45
C1	124,5	157,0
C2	124,5	183,2
C3	124,5	259,3
F1	138,1	151,6
F5	130,2	143,0
F7	128,8	138,7
F8	132,1	141,1

ANEXO III

FIGURAS

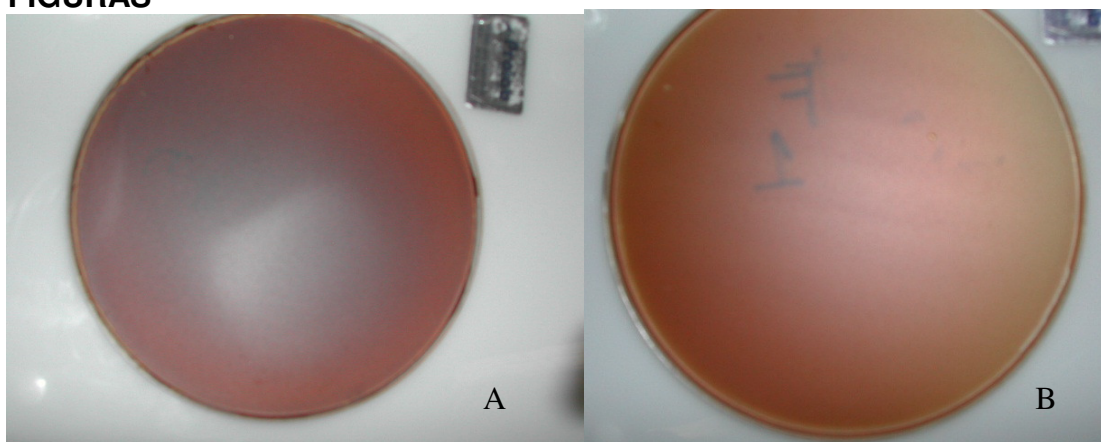


Figura 1. Biofilmes das formulações F4 (concentração máxima de aditivos) (A) e F1 (concentração mínima de aditivos) (B).

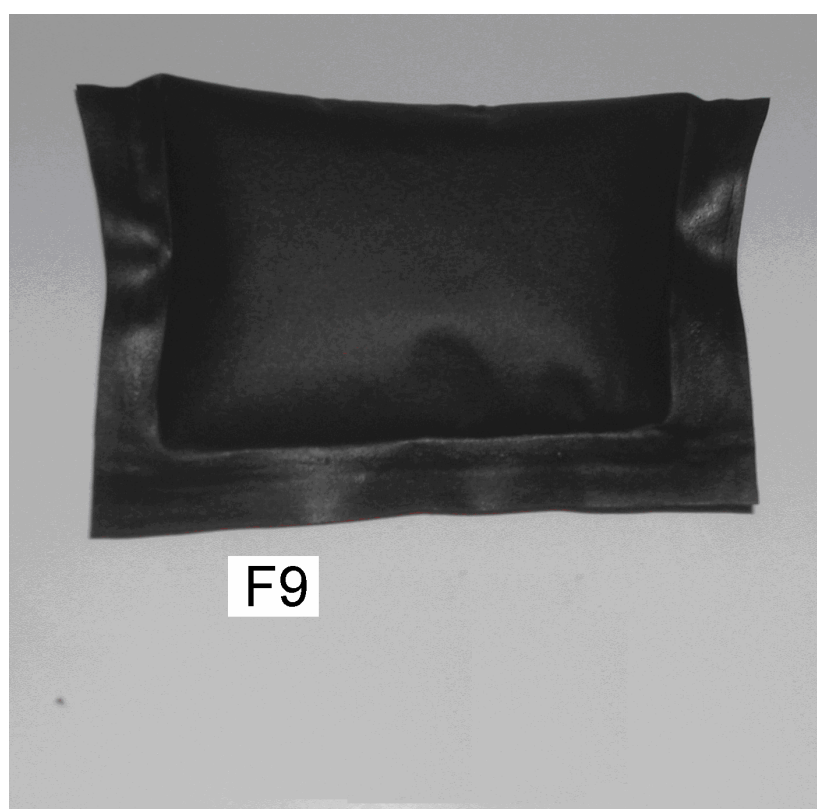


Figura 2. Produto embalado com o biofilme (formulação F9 – ponto central).

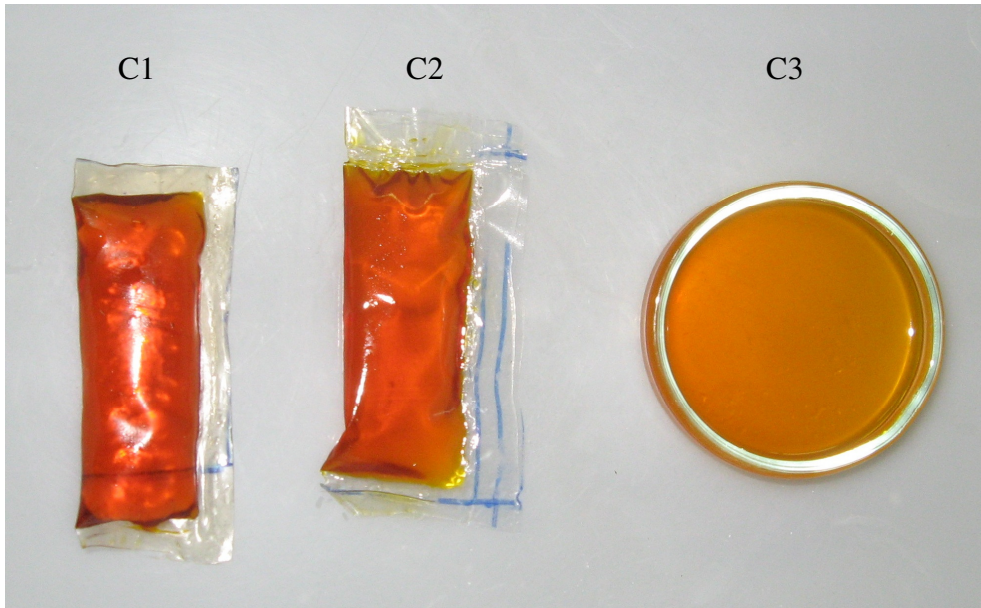


Figura 3. Produto embalado com o biofilme de amido de mandioca sem aditivos (C1), PEBD (C2) e sem embalagem (C3).

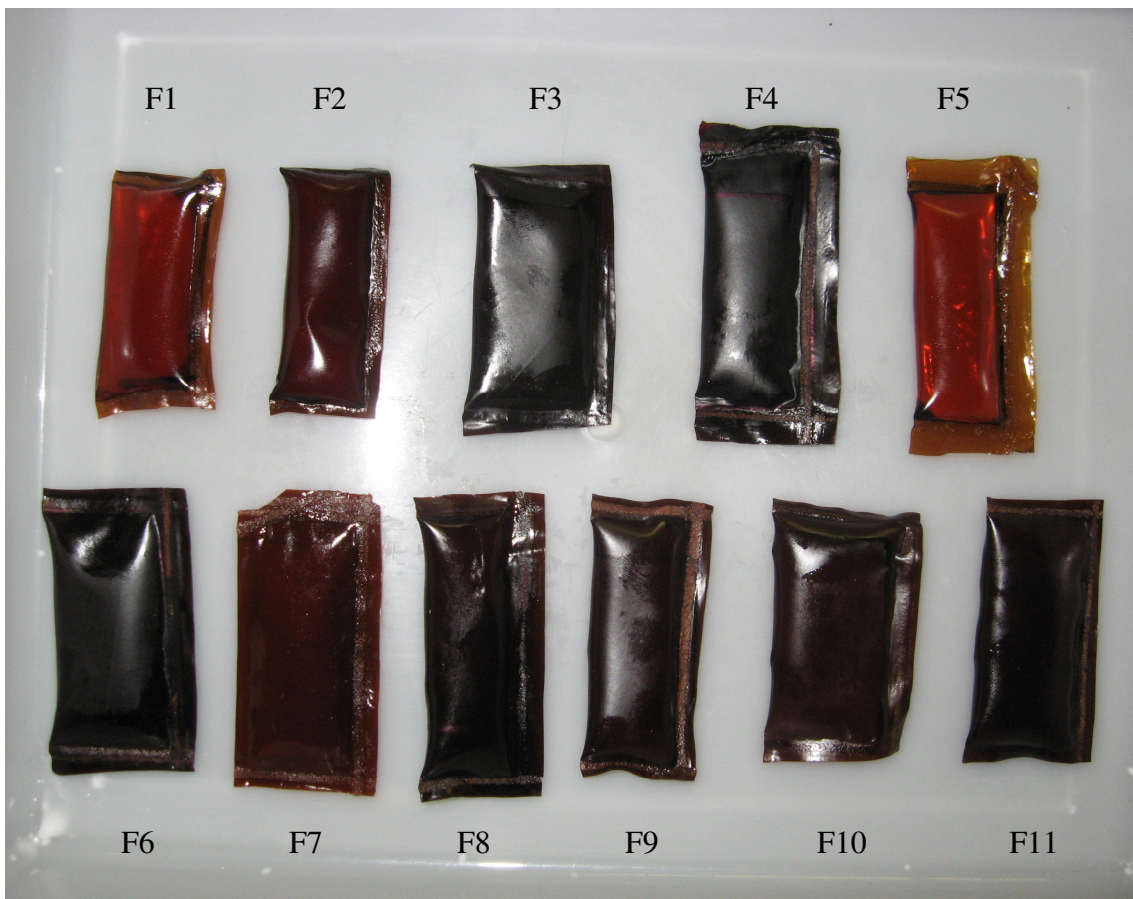


Figura 4. Produto embalado com as 11 formulações.

ANEXO IV

Cromatogramas da análise de teor de hexanal.

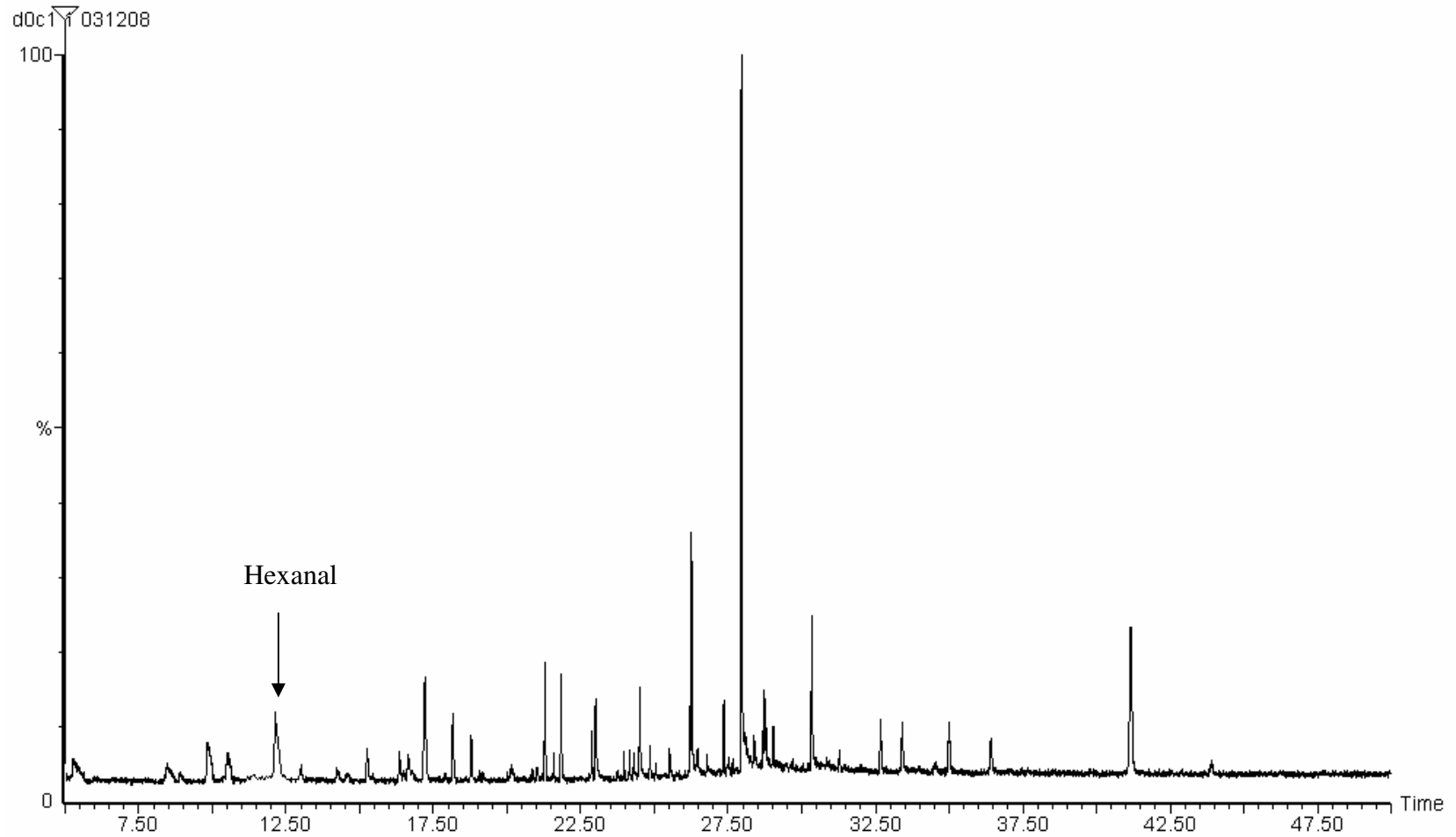


Figura. 1. Cromatograma do azeite de dendê no dia 0.

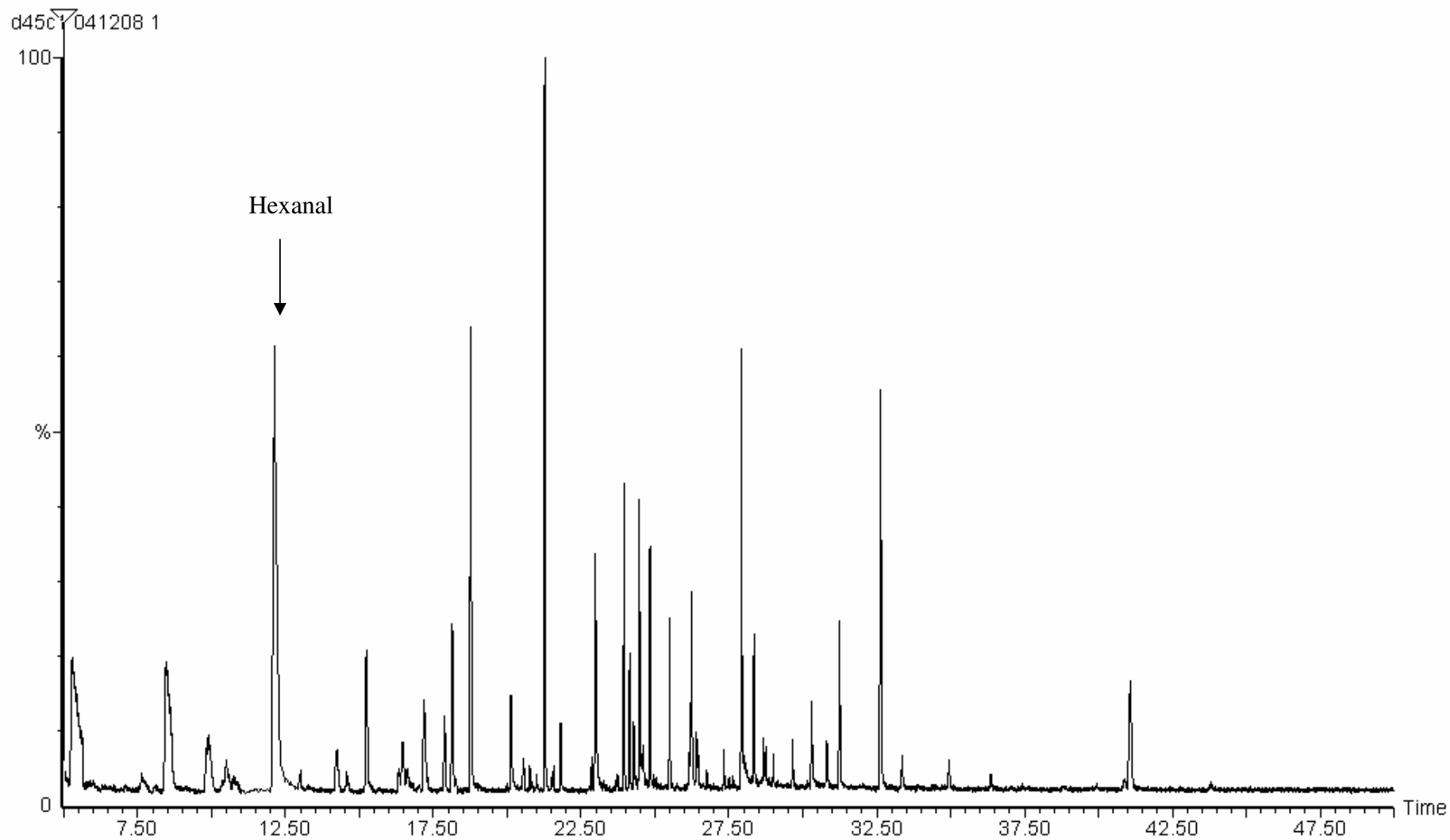


Figura 2. Cromatograma do controle sem aditivos (C1) após 45 dias de estocagem.

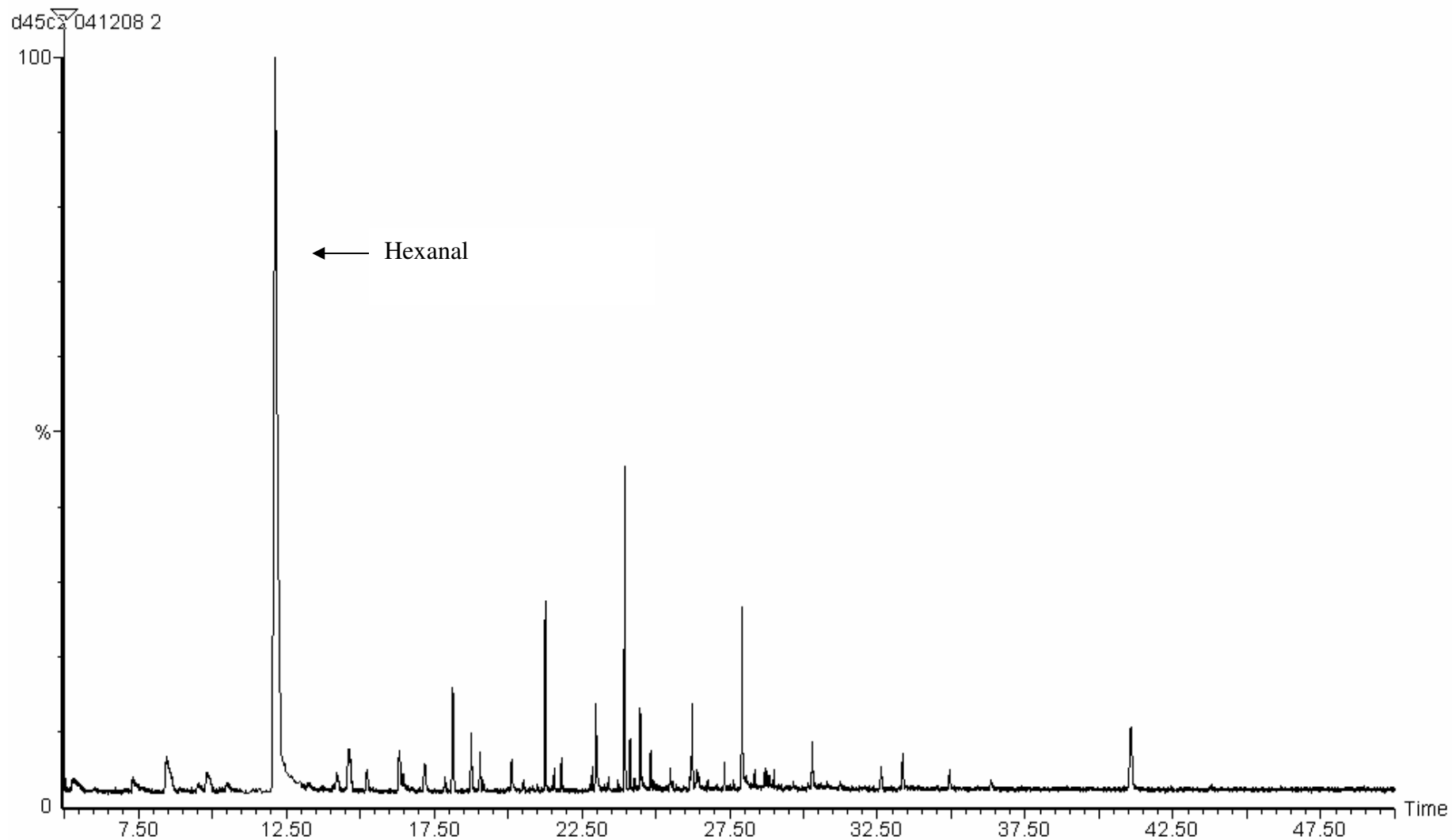


Figura 3. Cromatograma do controle de PEBD após 45 dias de estocagem.

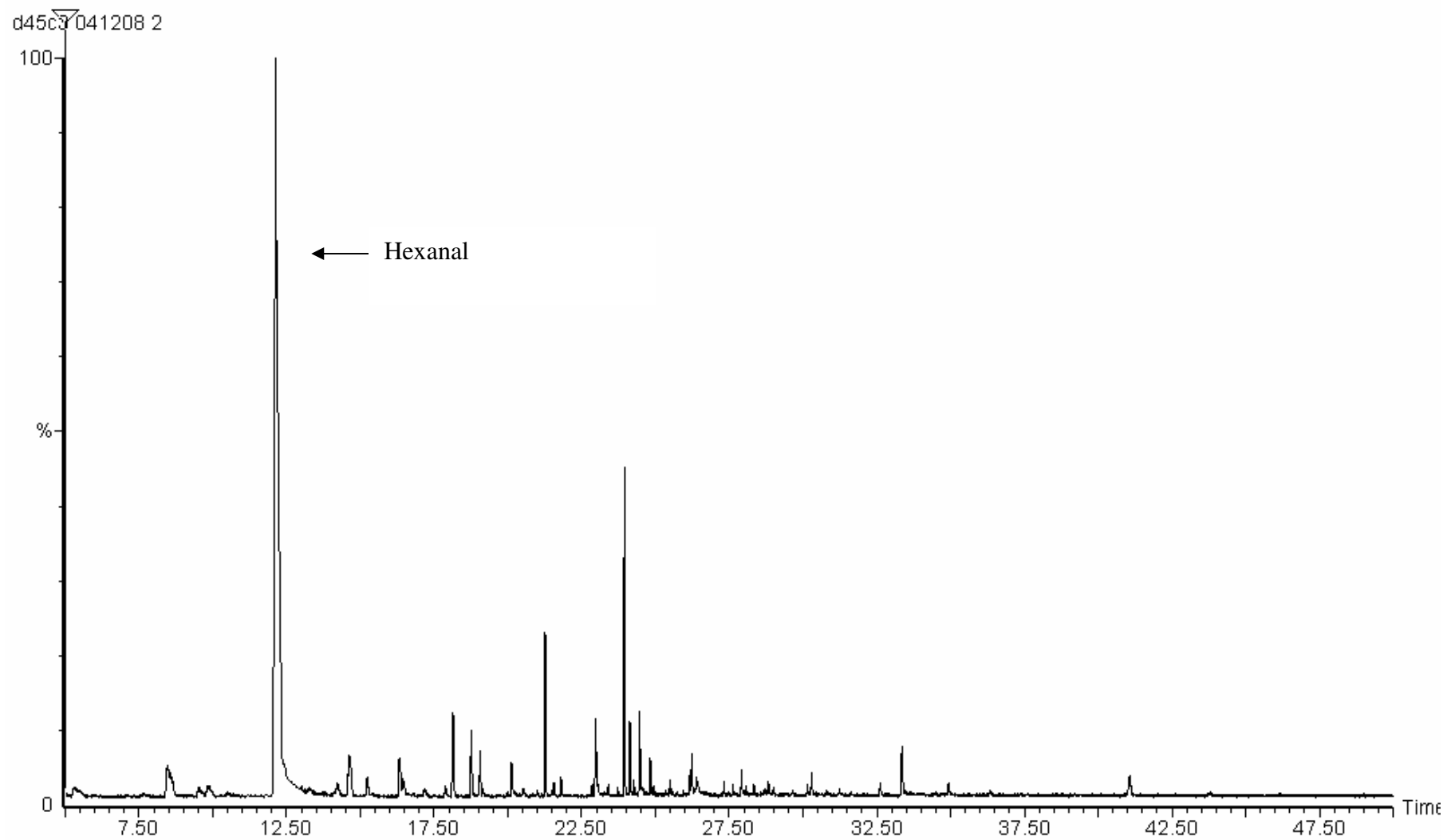


Figura 4. Cromatograma do azeite de dendê sem embalagem após 45 dias de estocagem.

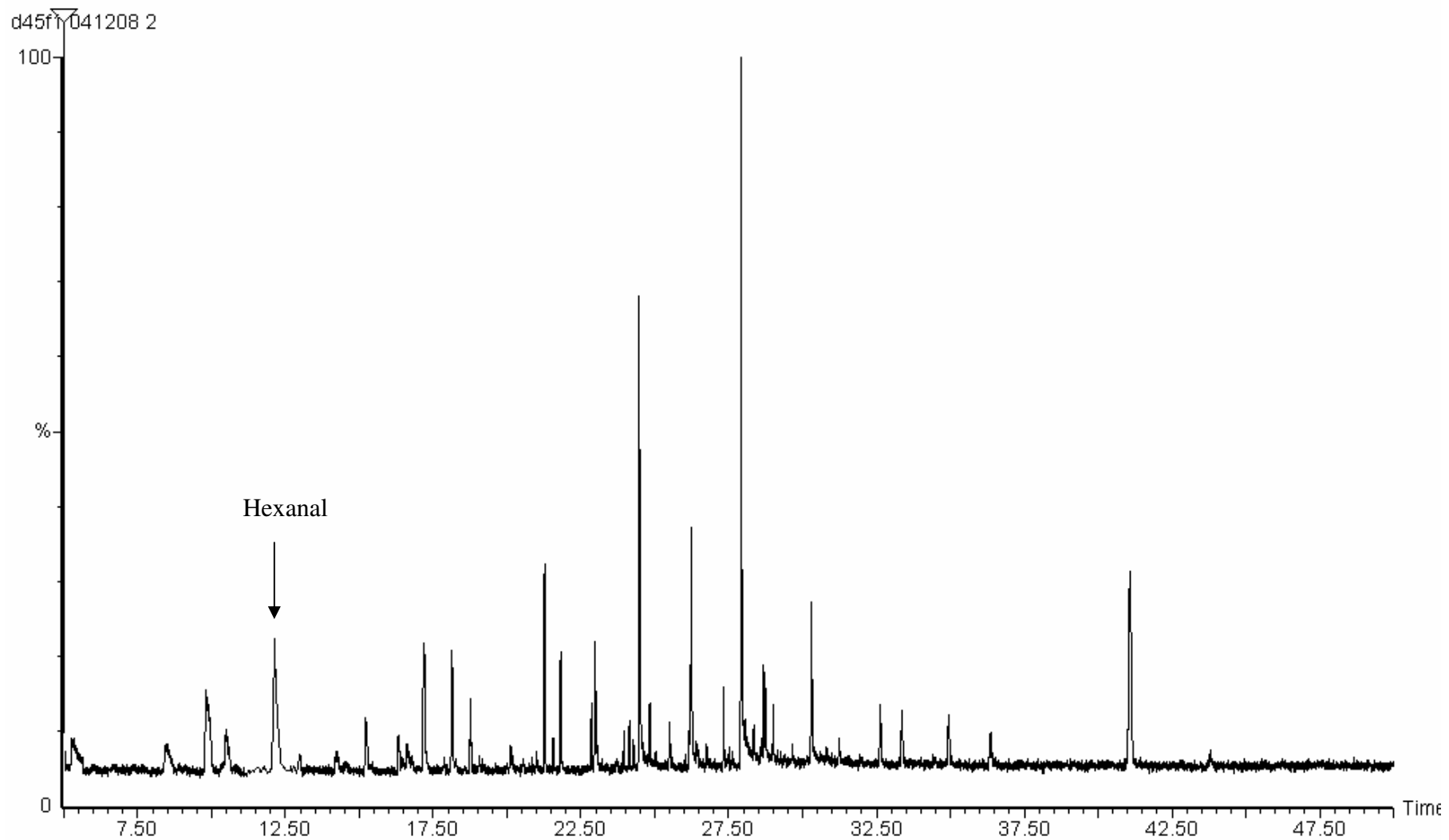


Figura 5. Cromatograma do azeite de dendê embalado com a formulação F1 (concentração mínima de aditivo), após 45 dias de estocagem.

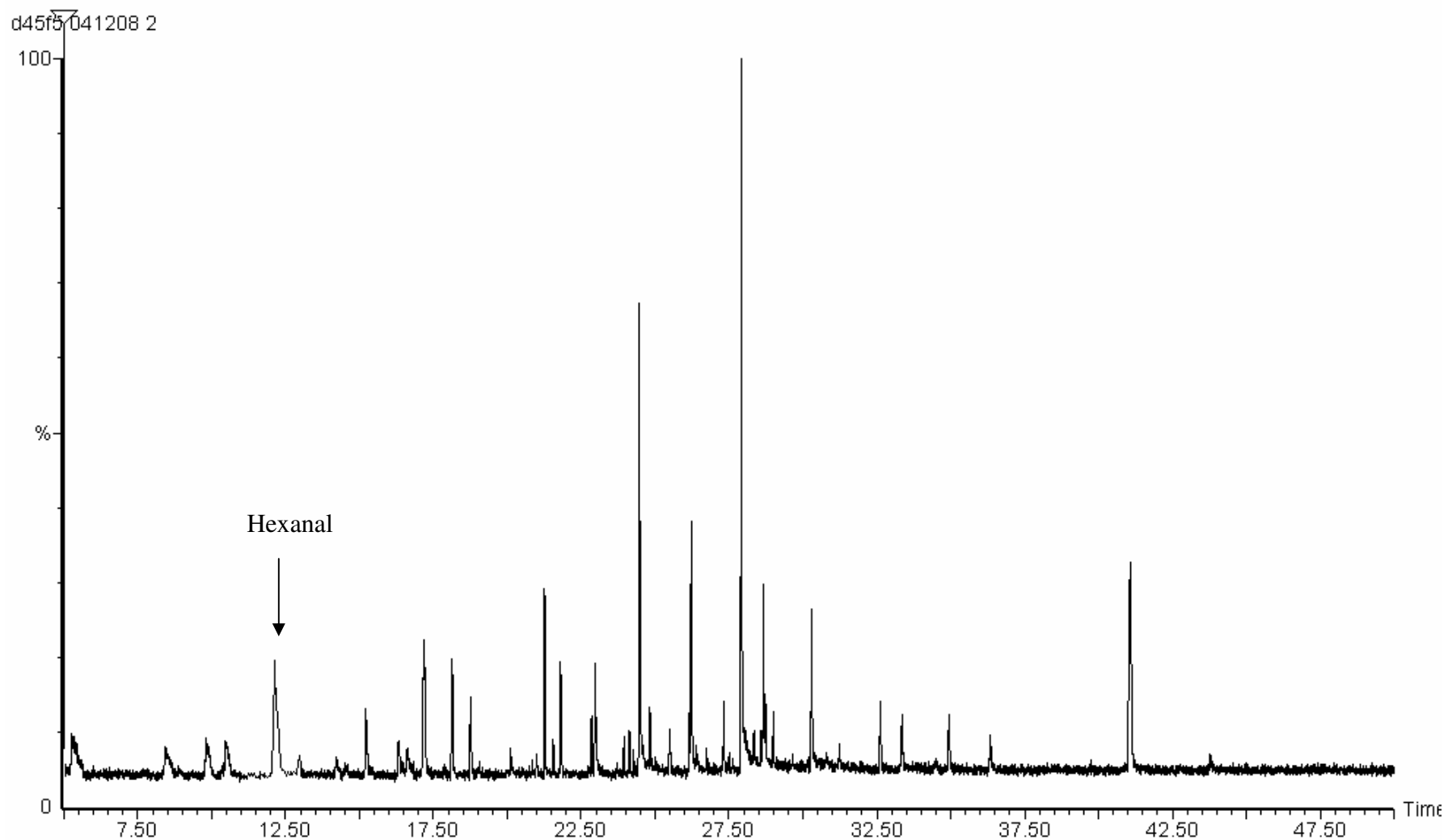


Figura 6. Cromatograma do azeite de dendê embalado com a formulação F5 (somente pó de café), após 45 dias de estocagem.

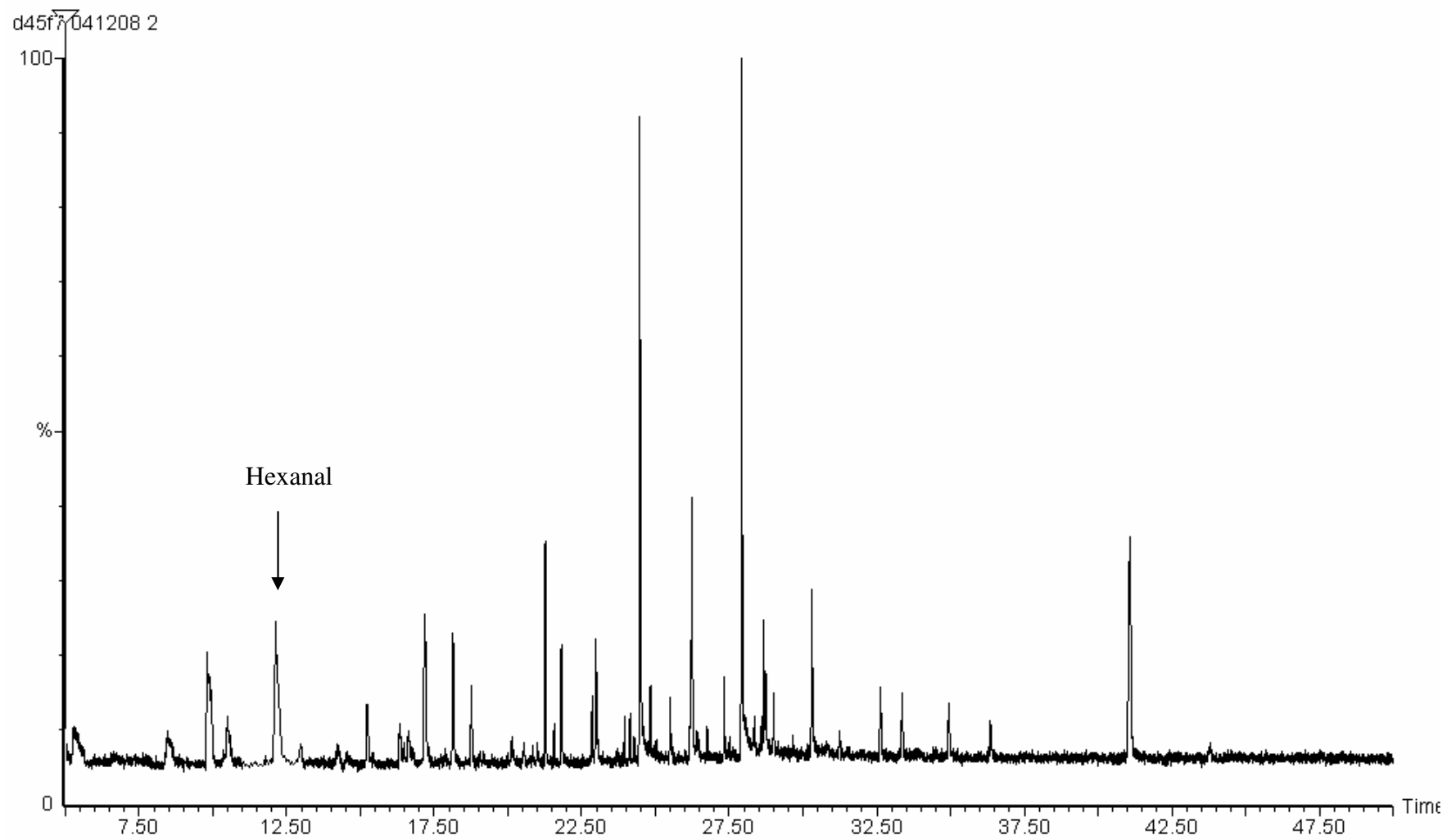


Figura 7. Cromatograma do azeite de dendê embalado com a formulação F7 (somente pó de cacau), após 45 dias de estocagem.

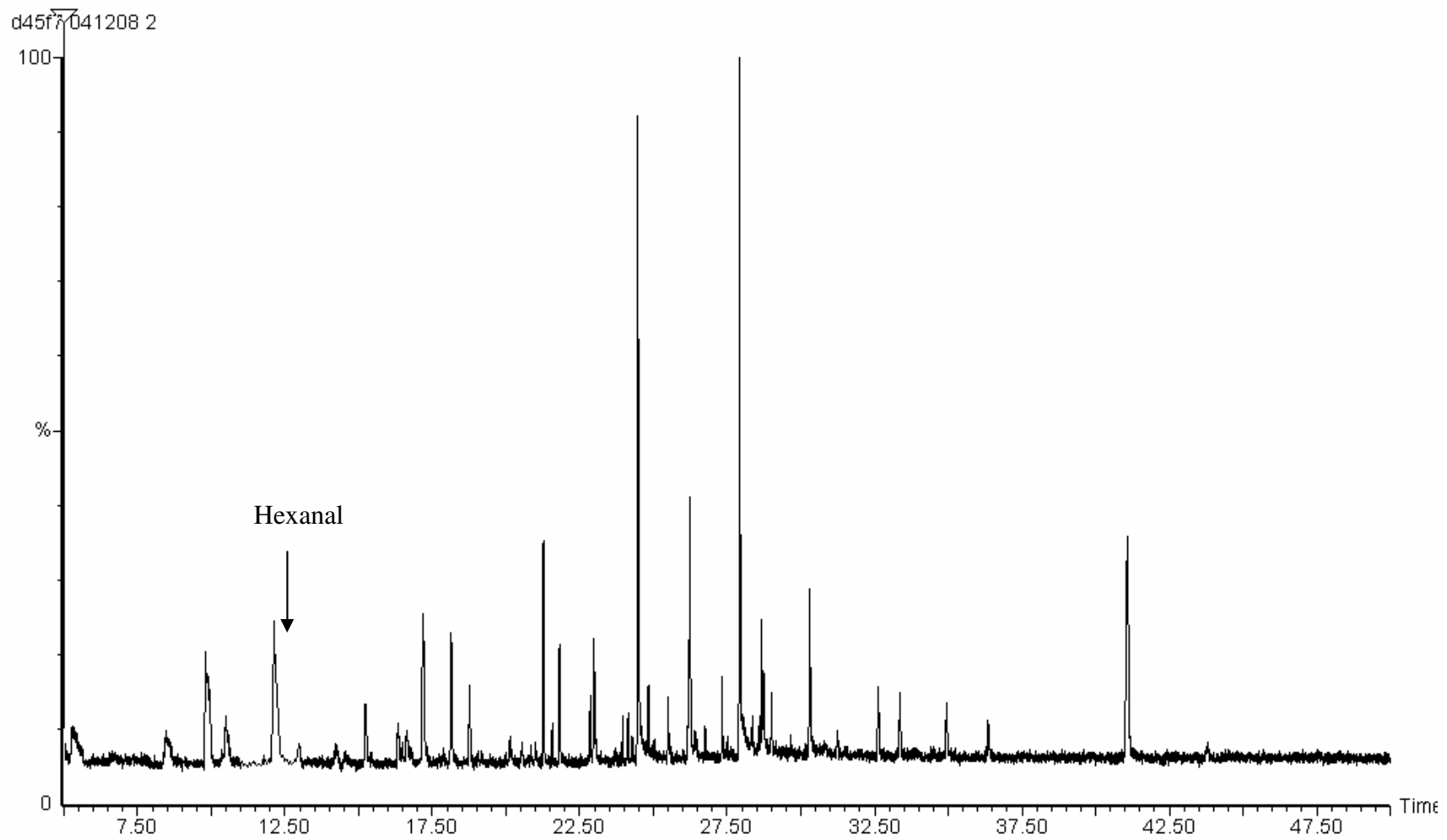


Figura 8. Cromatograma do azeite de dendê embalado com a formulação F8 (máximo de antioxidantes), após 45 dias de estocagem.

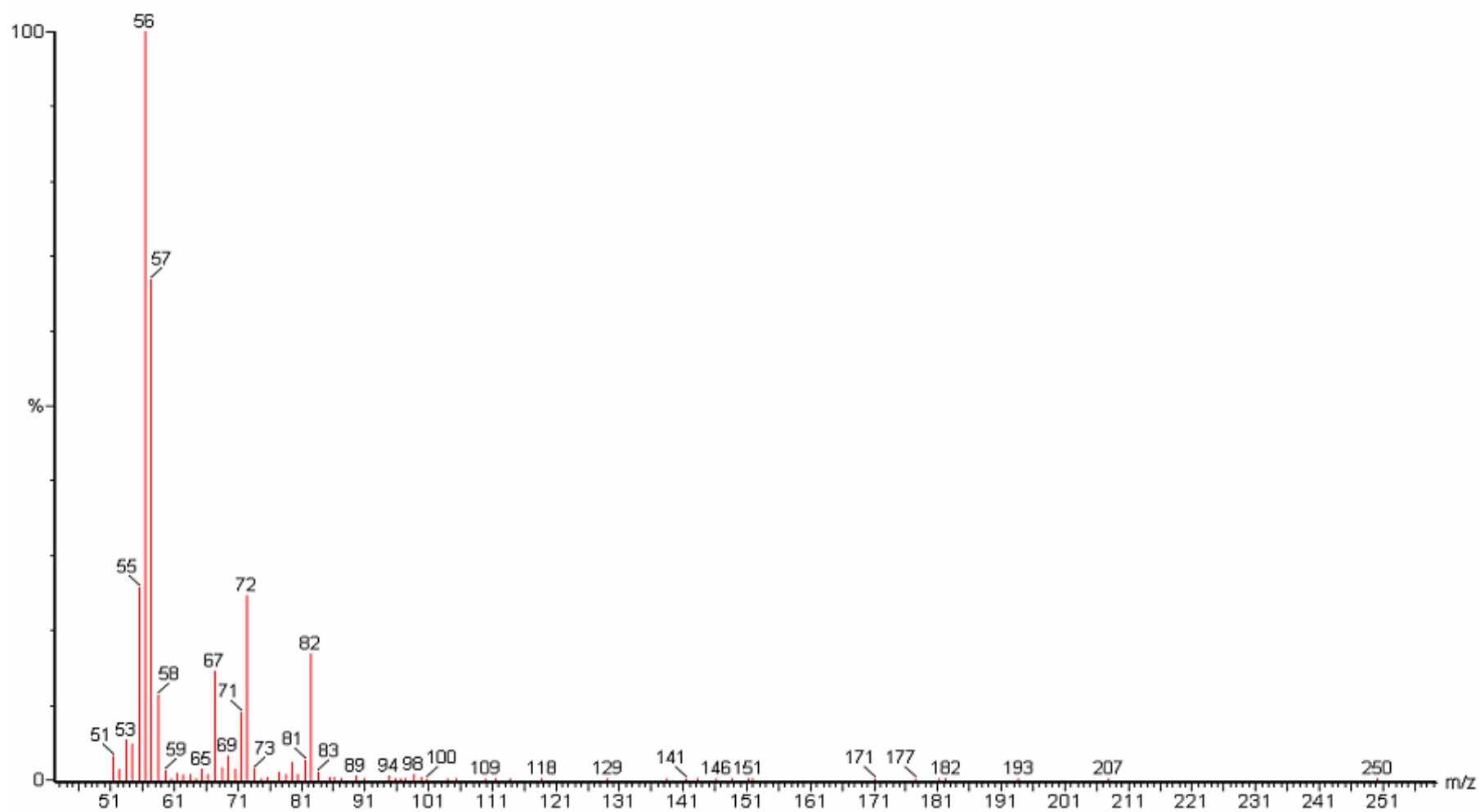


Figura 9. Espectro de massas do hexanal.