

---

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL  
ESCOLA DE ENGENHARIA  
DEPARTAMENTO DE ENGENHARIA QUÍMICA  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA QUÍMICA

**PRODUÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DE FILMES BIODEGRADÁVEIS  
OBTIDOS A PARTIR DO RESÍDUO DA EXTRAÇÃO DO ÓLEO DE  
ABACATE**

- Tese de Doutorado -

Cassandra Dalle Mulle Santos

Porto Alegre

2018



---

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL  
ESCOLA DE ENGENHARIA  
DEPARTAMENTO DE ENGENHARIA QUÍMICA  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA QUÍMICA

**PRODUÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DE FILMES BIODEGRADÁVEIS  
OBTIDOS A PARTIR DO RESÍDUO DA EXTRAÇÃO DO ÓLEO DE  
ABACATE**

Cassandra Dalle Mulle Santos

Tese de doutorado apresentada como requisito parcial para obtenção do título de Doutora em Engenharia Química.

**Orientadores:**

**Prof. Dr. Nilo Sérgio Medeiros Cardozo**

**Co-Orientadora:**

**Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Simone Hickmann Flôres**

**Colaboradora:**

**Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Débora Jung Luvizetto Faccin**

Porto Alegre

2018



---

## Agradecimentos

À Universidade Federal do Rio Grande do Sul e ao Programa de Pós-Graduação em Engenharia Química, pelo suporte e estrutura disponibilizados para a realização desse trabalho. À Capes pelo apoio financeiro.

Aos meus orientadores Nilo, Simone e Débora pelo incentivo, compreensão, críticas e pela disponibilidade e compreensão na construção do conhecimento aqui retratado.

À Avocado BR Óleo Essencias, na figura de seu proprietário, Sr Larri, pela doação do resíduo para este trabalho.

Aos colegas do Laboratório de Compostos Bioativos (ICTA), do Laboratório de Processamento de Polímeros (LATEP/LAFCA) e à comunidade do DEQUI pela colaboração e auxílio nesse trabalho. Este foi um trabalho construído com muitas mãos e certamente não teria sido realizado sem a ajuda e contribuição de cada um dos colegas que fazem parte dessa comunidade.

À minha família, pelo apoio, amor, dedicação, suporte e empenho para que eu pudesse trilhar os caminhos até este momento.

À Sociedade brasileira, por mais uma vez me oportunizar uma educação pública, gratuita e de qualidade.

À minha mãe Zulema e minha avó Maria, essas mulheres fortes, que através do amor, esforços e sacrifícios me abriram portas e me ensinaram a lutar.



---

## Resumo

O uso de subprodutos ou resíduos da indústria alimentícia como matéria-prima para produção de embalagens e outras novas aplicações tem recebido crescente interesse, tanto pelo apelo ambiental quanto como forma de aumentar a lucratividade no setor de alimentos. O uso da polpa de abacate ou do resíduo de extração de óleo de abacate como fonte primária na produção de filmes biodegradáveis ainda não foi explorado na literatura, apesar do seu elevado conteúdo de proteínas, carboidratos e óleo. Na produção do óleo de abacate, vários resíduos são gerados, sendo o utilizado neste trabalho tratar-se da polpa parcialmente desengordurada e hidratada. Sendo assim, o objetivo desta pesquisa é utilizar o resíduo de extração de óleo de abacate por centrifugação para obtenção de filmes poliméricos como material para embalagens. Este trabalho é dividido em três partes. Na primeira, foram desenvolvidas sete formulações contendo o resíduo de abacate, como componente principal, e amido, glicerol e celulose microcristalina, como componentes estruturantes. Todos os filmes apresentaram baixos valores de permeabilidade ao vapor d'água ( $0,064$  à  $0,446 \text{ g mm m}^{-2} \text{ kPa}^{-1} \text{ h}^{-1}$ ) e valores médios de solubilidade ( $43,79$  à  $56,92 \%$ ). Os filmes compostos de amido de mandioca e glicerol apresentaram os melhores resultados mecânicos (tensão de ruptura:  $2,70 \text{ MPa}$ ; alongação na ruptura:  $13,7 \%$ ) e propriedades térmicas em intervalo típico encontrado na literatura para filmes produzidos a partir de agropolímeros. Na segunda parte do trabalho, foram desenvolvidas nove formulações contendo a polpa de abacate, amido de mandioca, e ácidos cítrico ou ascórbico, como aditivos para melhoramento das propriedades funcionais. A adição dos ácidos a matriz teve os seguintes efeitos nos filmes produzidos: diminuição dos valores de permeabilidade ao vapor d'água, mudança de coloração, efeito plastificante (ácido cítrico), e de reticulação (ácidos cítrico e ascórbico). Todos os filmes desenvolvidos apresentaram atividade antioxidante e antibacteriana. Por fim, foram elaboradas seis formulações contendo a polpa de abacate, gelatina bovina, e ácidos cítrico ou ascórbico. Os filmes apresentaram baixa solubilidade ( $30 \%$ ), valores de permeabilidade ao vapor d'água, propriedades mecânicas adequadas quando comparado a outros filmes biodegradáveis com composição similar, e atividade antioxidante para todas as formulações desenvolvidas.

**Palavras-chave:** abacate, resíduo, subproduto, filmes comestíveis, filmes biodegradáveis, embalagens ativas; atividade antioxidante; atividade antimicrobiana, frutas e vegetais.





---

## Abstract

The use of by-products or waste from the food industry as raw material for the production of packaging and other new applications has received increasing interest, both for its environmental appeal and as a way to increase profitability in the food sector. The use of avocado pulp or avocado oil extraction residue as a primary source in the production of biodegradable films has not yet been explored in literature despite its high content of proteins, carbohydrates and oil. The focus of the present work is on the partially defatted and hydrated pulp obtained by centrifugation, one of the several residues generated in the avocado oil production. The aim of this research is to use this residue to obtain polymeric films for packaging material. This work is divided into three parts. In the first, seven formulations containing the avocado residue as the main component and starch, glycerol and microcrystalline cellulose as structural components were developed. All films presented low values of water vapor permeability (0.064 to 0.446 g mm m<sup>-2</sup> kPa<sup>-1</sup> h<sup>-1</sup>) and average solubility values (43.79 to 56.92 %). The films composed of cassava starch and glycerol presented the best mechanical results (rupture stress: 2.70 MPa, elongation at rupture: 13.7 %) and thermal properties in a typical range found in the literature for films produced from agropolymers. In the second part of the work, nine formulations containing avocado pulp, cassava starch, and citric or ascorbic acids as additives for improving functional properties were developed. The addition of the acids produced the following effects on the films: decrease of the water vapor permeability values, change in coloration, plasticizing effect (citric acid), and crosslinking (citric and ascorbic acids). All the films developed presented antioxidant and antibacterial activity. Finally, six formulations containing avocado pulp, bovine gelatin, and citric or ascorbic acid were prepared. The films presented low solubility (30 %), good water vapor permeability values, adequate mechanical properties when compared to other biodegradable films with similar composition, and antioxidant activity for all formulations developed.

**Keywords:** avocado, residue, by-product, edible films, biobased films, active packaging; antioxidant activity; antimicrobial activity, fruits and vegetables.



---

## LISTA DE FIGURAS

<b>Figura 2.1.</b> Classificação de alguns polímeros mais utilizados quanto à biodegradabilidade e à fonte de matéria -prima.....	6
<b>Figura 2.2.</b> Atributos e características a serem consideradas na aplicação de filmes biodegradáveis como embalagem para alimentos. ....	9
<b>Figura 2.3.</b> Representação esquemática dos principais materiais formadores de filme, sua origem e principais funções na formulação de filmes biodegradáveis.....	10
<b>Figura 2.4.</b> Esquema de representação dos prováveis mecanismos de formação de filmes biodegradáveis e/ou comestíveis. ....	11
<b>Figura 2.5.</b> Representação dos processos de transferência de massa ocorridos na liberação de compostos antioxidantes da embalagem para o alimento.....	23
<b>Figura 2.6.</b> Distribuição da produção mundial de abacate em toneladas (2016).....	33
<b>Figura 3.1.</b> Fluxograma do processo de extração por centrifugação do óleo de abacate e quantidade aproximada de resíduos produzidos estipulando 100 kg de abacate na alimentação. ....	38
<b>Figura 3.1.</b> Fluxograma do processo de obtenção do resíduo, tratamento e acondicionamento das amostras.....	39
<b>Figure 4.1.</b> Micrographs of avocado biobased films: (a) AC, (b)AG05, (c)AG10, (d) AMG05, (e) AMG10, (f) ASG05, (g) ASG10.....	59
<b>Figure 4.2.</b> TGA and DTG curves of samples: (a) AG, (b) AMG, (c) ASG. Results for sample AC are also presented, in all cases, as basis of comparison.....	67
<b>Figure 5.1.</b> DTG curves of biobased avocado films: (a) without addition of acids (WA), (b) with addition of citric acid (CA), (c) with addition of ascorbic acid (AA). ....	83
<b>Figure 5.2.</b> FTIR spectra of avocado biobased films; (a) without the addition of acids (WA), (b) with the addition of citric acid (CA), (c) with the addition of ascorbic acid (AA).....	85
<b>Figura 6.1.</b> Análise de componentes principais para as nove formulações desenvolvidas para filmes contendo polpa de abacate, gelatina e ácido cítrico e ascórbico. ....	96
<b>Figura 6.2.</b> Filmes biodegradáveis à base do resíduo do óleo de abacate e gelatina. Da esquerda para a direita: sem adição de ácidos (WA), com ácido cítrico (CA) e com ácido ascórbico (AA). ....	101

---

<b>Figura A.1.</b> Larger version of the TGA and DTG curves presented in Figure 4.2 for AG samples.....	138
<b>Figura A.2.</b> Larger version of the TGA and DTG curves presented in Figure 4.2 for AMG samples.....	139
<b>Figura A.3.</b> Larger version of the TGA and DTG curves presented in Figure 4.2 for AG samples.....	140
<b>Figura A.4.</b> Larger version of DTG curves presented in Figure 5.1 for biobased avocado films without addition of acids (WA) .....	141
<b>Figura A.5.</b> Larger version of DTG curves presented in Figure 5.1 for biobased avocado films with addition of acitric acid (CA). .....	142
<b>Figura A.6.</b> Larger version of DTG curves presented in Figure 5.1 for biobased avocado films with addition of ascorbic acid (AA).....	143
<b>Figura A.7.</b> Larger version of FTIR spectra of avocado biobased films without the addition of acids (WA).....	144
<b>Figura A.8.</b> Larger version of FTIR spectra of avocado biobased films with the addition of citric acid (CA).....	145
<b>Figura A.9.</b> Larger version of FTIR spectra of avocado biobased films with the addition of ascorbic acid (AA). .....	146

---

## LISTA DE TABELAS

<b>Tabela 2.1.</b> Composição de filmes biodegradáveis e/ou comestíveis à base de frutas e vegetais. ....	27
<b>Tabela 2.2.</b> Propriedades de filmes biodegradáveis e/ou comestíveis à base de frutas e vegetais. ....	30
<b>Tabela 3.1</b> Composição dos filmes de abacate elaborados com amido de mandioca, celulose e glicerol. ....	40
<b>Tabela 3.2</b> Composição dos filmes de abacate com o resíduo puro, ácido cítrico e ácido ascórbico, e amido de mandioca. ....	42
<b>Tabela 3.3</b> Composição dos filmes de abacate com o resíduo puro, ácido cítrico e ácido ascórbico, e gelatina bovina. ....	42
<b>Table 4.1</b> Composition of film-forming solutions prepared with avocado oil extraction residue .....	54
<b>Table 4.2</b> Thickness, moisture content, water soluble fraction and grammage of the avocado. ....	61
<b>Table 4.3</b> Optical properties of avocado extraction residue films. ....	62
<b>Table 4.4</b> Mechanical and barrier properties of avocado oil extraction residue film. ....	64
<b>Table 5.1</b> Composition of the film-forming solutions employed. ....	74
<b>Table 5.2</b> Thickness, moisture content, water-soluble fraction and WVP of avocado biobased films with and without acids. ....	78
<b>Table 5.3</b> Color and opacity of avocado biobased films with and without acids. ....	80
<b>Table 5.4</b> Mechanical properties of avocado biobased films with and without acids. ....	81
<b>Table 5.5</b> Antioxidant and antibacterial activity of avocado biobased films with and without acids. ....	87
<b>Tabela 6.1.</b> Composição dos filmes de abacate com o resíduo puro, ácido cítrico e ácido ascórbico, e gelatina bovina. ....	93
<b>Tabela 6.2.</b> Propriedades dos filmes à base de polpa de abacate e gelatina contendo ou não ácidos orgânicos: espessura, umidade, solubilidade, permeabilidade ao vapor d'água (PVA), tensão de ruptura, alongação na ruptura, módulo de Young, opacidade, luminosidade, Chroma, Hue, atividade antioxidante (DPPH). ....	97

---

**Tabela A.1.** Autovetores obtidos na Análise de Componentes Principais apresentada no Artigo III..  
..... 137

---

## Lista de siglas, abreviaturas e símbolos

A	área de permeação
a*	parâmetro de cor (do verde (-) ao vermelho (+))
a <sub>0</sub>	parâmetro de cor do disco branco padrão
ABS	Acrilonitrila butadieno estireno
ABTS	2,2'-azino-bis(3- etilbenzoiltiazolina-6-sulfônico)
AA - 100:0:0	filmes de abacate contendo o resíduo puro e 0,6 % de ácido ascórbico
AA - 96:2:2	filmes de abacate contendo 0,6 % de ácido ascórbico, 2 % de amido e 2 % de glicerol
AA - 95:3:2	filmes de abacate contendo 0,6 % de ácido ascórbico, 3 % de amido e 2 % de glicerol
ACP	Análise de componentes principais
AC	filmes de abacate contendo resíduo puro
AG05	filmes de abacate contendo 0,5 % de glicerol
AG10	filmes de abacate contendo 1 % de glicerol
ASG05	filmes de abacate contendo 0,5 % de glicerol e 1 % de amido
ASG10	filmes de abacate contendo 1 % de glicerol e 1 % de amido
AMG05	filmes de abacate contendo 0,5 % de glicerol e 1 % de celulose microcristalina
AMG10	filmes de abacate contendo 1 % de glicerol e 1 % de celulose microcristalina
ANOVA	análise de variância
A <sub>w</sub>	atividade de água
b*	parâmetro de cor (do azul (-) ao amarelo (+))
BHA	<i>buthylated hydroxyanisole</i>
BHT	<i>butylated hydroxytoluene</i>
b <sub>0</sub>	parâmetro de cor do disco branco padrão
b.s.	base seca ( <i>d.b. – dry basis</i> )
CMC	carboxymethyl celulose
CA - 100:0:0	filmes de abacate contendo o resíduo puro e 0,6 % de ácido cítrico
CA - 96:2:2	filmes de abacate contendo 0,6 % de ácido cítrico, 2 % de amido e 2 % de glicerol
CA - 95:3:2	filmes de abacate contendo 0,6 % de ácido cítrico, 3 % de amido e 2 % de glicerol
CFU	<i>colony forming unit</i>
CS	<i>cassava starch</i>

---

DPD	N-dietil-p-fenilenodiamina
DPPH	2,2-difenil-1-picril-hidrazila
<i>d</i>	diâmetro
$\Delta E$	diferença total de cor
$\varepsilon$	elongação na ruptura (%) ( <i>maximum percentage Elongation at Break</i> )
E	modulo de Young (MPa) ( <i>Young's modulus</i> )
EDTA	ácido etilenodiamino tetra-acético
FRAP	poder redutor de íons ferro
FTIR	<i>Fourier transformed infrared spectroscopy</i>
FV	frutas e vegetais
HDL	<i>High Density Lipoproteins</i>
<i>L</i>	espessura do filme (mm)
<i>L*</i>	parâmetro de cor (luminosidade; do preto (0) ao branco (100))
<i>L</i> <sub>0</sub>	parâmetro de cor de luminosidade do disco branco padrão
LDL	<i>Low Density Lipoproteins</i>
<i>m</i>	massa (g)
MCC	celulose microcristalina
MEV	Microscopia Eletrônica de Varredura
m/m	massa por massa
NaOH	hidróxido de sódio
NCC	nanocristais de celulose
<i>OI</i>	<i>opacity index</i>
PA11	poliamida 11 (nylon 11)
PB	polibutileno
PBS	polibutileno succinato
PCBS	poli(1-cistinabisamida-g-sulfadiazina)
PCL	policaprolactona
PE	polietileno
PET	polietileno tereftalato
pH	potencial hidrogeniônico
PHA	polihidroxialcanoato
PLA	ácido polilático
PO3G	poliol obtido pela polimerização de 1- propanodiol
PP	polipropileno
PVA	permeabilidade a vapor de água



---

PVC	cloreto de polivinila
PUR	poliuretano
PTMAT	politetrametileno adipato tereftalato
$\Delta p$	diferença de pressão de vapor (kPa)
SEM	<i>Scanning Electronic Microscopy</i>
$\sigma$	tensão de ruptura (MPa) ( <i>Tensile strength</i> )
$t$	tempo de permeação (h)
TGA	<i>Thermogravimetric analysis</i>
T <sub>600</sub>	transmitância a 600 nm
UATR	refletância total atenuada universal
UFC	unidade de formação de colônias
UR	umidade relativa
UV/VIS	ultravioleta/ visível
$W$	peso de água que permeou através do filme (g)
WA - 100:0:0	filmes de abacate contendo o resíduo puro
WA - 96:2:2	filmes de abacate contendo 2 % de amido e 2 % de glicerol
WA - 95:3:2	filmes de abacate contendo 3 % de amido e 2 % de glicerol
WVP	<i>Water Vapor Permeability</i>
WS	<i>Water soluble fraction</i>
$x$	espessura do filme ( <i>thickness</i> )



---

## SUMÁRIO

<b>Capítulo 1 - Introdução</b> .....	<b>1</b>
<b>Capítulo 2 - Fundamentação Teórica e Revisão Bibliográfica</b> .....	<b>5</b>
<b>2.1. Biopolímeros</b> .....	<b>5</b>
<b>2.2. Filmes biodegradáveis e/ou comestíveis</b> .....	<b>7</b>
2.2.1. Materiais na composição de filmes biodegradáveis.....	9
2.2.2. Caracterização e propriedades de filmes biodegradáveis.....	16
2.2.2.1. Espessura.....	16
2.2.2.2. Solubilidade em água.....	17
2.2.2.3. Propriedades Mecânicas.....	17
2.2.2.4. Permeabilidade ao vapor d'água (PVA).....	18
2.2.2.5. Propriedades ópticas.....	19
2.2.2.6. Propriedades térmicas e morfológicas.....	20
2.2.3. Atividade Antioxidante.....	21
2.2.4. Atividade Antimicrobiana.....	24
<b>2.3. Filmes biodegradáveis e/ou comestíveis à base de frutas</b> .....	<b>26</b>
<b>2.4. Resíduo da extração aquosa do óleo de abacate</b> .....	<b>32</b>
<b>Capítulo 3 - Materiais e Métodos</b> .....	<b>37</b>
<b>3.1. Obtenção do resíduo da extração aquosa do óleo de abacate</b> .....	<b>37</b>
<b>3.2. Composição centesimal do resíduo</b> .....	<b>39</b>
<b>3.3. Elaboração dos filmes</b> .....	<b>40</b>
3.3.1. Filmes do resíduo da extração do óleo de abacate contendo amido de mandioca, celulose e glicerol.....	40
3.3.2. Filmes do resíduo da extração do óleo de abacate contendo amido de mandioca, ácido ascórbico e ácido cítrico.....	41
3.3.3. Filmes do resíduo da extração do óleo de abacate contendo gelatina bovina, ácido ascórbico e ácido cítrico.....	42
<b>3.4. Análise do conteúdo de amilose do amido de mandioca</b> .....	<b>43</b>
<b>3.5. Caracterização dos filmes de abacate</b> .....	<b>43</b>
3.5.1. Umidade e Solubilidade.....	44
3.5.2. Gramagem.....	44
3.5.3. Cor.....	44

---

3.5.4. Opacidade.....	45
3.5.5. Permeabilidade ao vapor d'água (PVA) .....	45
3.5.6. Propriedades Mecânicas.....	45
3.5.7. Morfologia .....	46
3.5.8. Comportamento Termogravimétrico.....	46
3.5.9. Espectroscopia de Infravermelho por Transformada de Fourier (FTIR) .....	46
3.5.10. Atividade Antioxidante .....	46
3.5.11. Atividade Antibacteriana .....	47
3.5.12. Análise Estatística .....	47
<b>Apresentação aos capítulos 4, 5 e 6.....</b>	<b>49</b>
<b>Capítulo 4 – Artigo I – <i>Biobased polymer films from avocado oil extraction residue: Production and characterization</i> .....</b>	<b>51</b>
<b><i>4.1. Introduction.....</i></b>	<b><i>51</i></b>
<b><i>4.2. Experimental .....</i></b>	<b><i>53</i></b>
4.2.1. Materials.....	53
4.2.2. Nutritional composition of the residue.....	53
4.2.3. Film preparation.....	54
4.2.4. Characterization .....	55
4.2.4.1. <i>Thickness and moisture content</i> .....	55
4.2.4.2. <i>Grammage</i> .....	55
4.2.4.3. <i>Water soluble fraction (WS)</i> .....	55
4.2.4.4. <i>Morphology</i> .....	55
4.2.4.5. <i>Film color</i> .....	56
4.2.4.6. <i>Opacity index</i> .....	56
4.2.4.7. <i>Water vapor permeability (WVP)</i> .....	56
4.2.4.8. <i>Mechanical properties</i> .....	57
4.2.4.9. <i>Thermogravimetric behavior</i> .....	57
4.2.5. Statistical analysis .....	57
<b><i>4.3. Results and discussion .....</i></b>	<b><i>58</i></b>
4.3.1. Composition of the residue .....	58
4.3.2. Film-forming features .....	58
4.3.3. Characterization .....	59
4.3.3.1. <i>Scanning electron microscopy</i> .....	59

---

4.3.3.2. Thickness, moisture content and water soluble fraction and grammage .....	60
4.3.3.3. Color and opacity index (OI).....	62
4.3.3.4. Water vapor permeability (WVP).....	63
4.3.3.5. Mechanical properties.....	65
4.3.3.6. Thermogravimetric behavior.....	66
<b>4.4. Conclusion .....</b>	<b>68</b>
<b>4.5. Acknowledgements .....</b>	<b>69</b>
<b>Capítulo 5 – Artigo II – Avocado-cassava starch films: influence of organic acids on properties, antibacterial and antioxidant activity .....</b>	<b>71</b>
<b>5.1. Introduction .....</b>	<b>71</b>
<b>5.2. Material and methods.....</b>	<b>73</b>
5.2.1. Materials .....	73
5.2.2. Film preparation .....	73
5.2.3. Characterization.....	74
5.2.4. Statistical analysis .....	76
<b>5.3. Results and discussion.....</b>	<b>77</b>
5.3.1. Thickness, moisture content, and water-soluble fraction .....	77
5.3.2. Water Vapor Permeability (WVP) .....	78
5.3.3. Optical properties: Color and Opacity.....	79
5.3.4. Tensile properties .....	80
5.3.5. Thermogravimetric analysis and Fourier transform infrared spectroscopy.....	81
5.3.6. Fourier transform infrared spectroscopy .....	84
5.3.7. Antioxidant and Antibacterial Activity .....	86
<b>5.4. Conclusion .....</b>	<b>87</b>
<b>5.5. Acknowledgements .....</b>	<b>88</b>
<b>Capítulo 6 – Artigo III – Desenvolvimento de filmes biodegradáveis baseados no resíduo da extração de óleo de abacate e gelatina bovina. ....</b>	<b>89</b>
<b>6.1. Introdução.....</b>	<b>89</b>
<b>6.2. Materiais e métodos.....</b>	<b>91</b>
6.2.1. Materiais .....	91
6.2.2. Preparação dos filmes.....	92
6.2.3. Caracterização dos filmes.....	93
<b>6.3. Resultados e Discussão.....</b>	<b>96</b>
<b>6.4. Conclusão.....</b>	<b>102</b>

---

<b>Considerações Finais e Sugestões para trabalhos futuros.....</b>	<b>105</b>
<b>Referências Bibliográficas .....</b>	<b>109</b>
<b>Apêndice.....</b>	<b>137</b>

## Capítulo 1 - Introdução

Os impactos ambiental e social são variáveis que ganham cada vez mais importância quando se pensa sobre os processos produtivos e a sua viabilidade como negócio. Portanto, o desenvolvimento de tecnologias e soluções que diminuam os resíduos gerados e transformem esses resíduos em subprodutos na mesma cadeia produtiva torna-se cada vez mais interessante.

O uso de subprodutos ou resíduos da indústria alimentícia como matéria-prima para produção de embalagens e outras novas aplicações tem recebido crescente interesse tanto pelo seu apelo ambiental quanto por seu potencial como forma de aumentar a lucratividade nos processos industriais. Nesse sentido, filmes e revestimentos biodegradáveis e/ou comestíveis produzidos a partir de biopolímeros são de especial interesse como alternativas para embalagens plásticas, considerando sua rápida degradabilidade e o fato de virem de fontes renováveis.

As embalagens à base de biopolímeros podem ser produzidas a partir de produtos agrícolas não processados ou subprodutos da indústria alimentícia, incluindo proteínas, lípidos, polissacarídeos, resinas e suas combinações. Os filmes à base de proteínas e/ou polissacarídeos costumam apresentar boa barreira a gases, porém devido ao seu caráter hidrofílico podem ter maiores conteúdos de umidade e valores de permeabilidade ao vapor d'água. A mistura desses materiais tem sido estudada como forma de melhorar e modificar as suas propriedades e dessa forma, viabilizar o uso desses materiais como embalagem. Além disso, têm-se feito uso da adição de outros componentes (aditivos) como ácidos orgânicos, para o melhoramento das propriedades da embalagem. Esses ácidos têm se revelado potenciais antioxidantes e antimicrobianos naturais, atendendo a demanda do mercado pelo desenvolvimento de embalagens ativas.

Frutas e vegetais, e seus subprodutos de processamento, como frutos maduros, sementes e casca, estão entre os materiais cuja utilização como matéria-prima para filmes tem recebido atenção crescente na literatura. Isso porque as frutas contêm vários biopolímeros, como proteínas e polissacarídeos e, conseqüentemente, possuem potencial intrínseco para essa aplicação.

A produção do óleo de abacate (produto com alto valor agregado) gera uma grande quantidade de resíduos durante o seu processamento. Portanto, torna-se interessante a investigação desses resíduos como matéria-prima para o desenvolvimento e fabricação de outros produtos. Dentre as tecnologias utilizadas, a extração por centrifugação (ou aquosa) é uma opção para pequenos produtores, uma vez que não requer grandes investimentos iniciais. Ao mesmo tempo, é atraente do ponto de vista ambiental e leva a alta pureza do óleo extraído e do subproduto do processo devido a não utilização de reagentes químicos durante o processamento. Este subproduto consiste basicamente em uma polpa hidratada e parcialmente desengordurada, com grande potencial como matéria-prima para a indústria alimentícia e outras aplicações.

Também deve-se destacar a importância em desenvolver produtos a partir de alimentos produzidos em baixa escala. Ao utilizar esses alimentos como fontes de produtos pode-se promover o desenvolvimento sustentável, impedir o desaparecimento da biodiversidade regional e promover o desenvolvimento econômico local e social. O abacate é uma fruta com significativa produção mundial, principalmente no México, onde está intrinsecamente ligado à gastronomia e cultura do país. Porém, ao redor do globo, diversos cultivares de abacate são encontradas, sendo interessante a criação de produtos que aumentem a produção dessa fruta em outros locais, de forma a evitar o desaparecimento dessas outras variedades.

Assim, levando em consideração a grande quantidade de resíduo gerado na produção de óleo de abacate, o potencial deste resíduo para a produção de filmes biodegradáveis e o fato que o uso da polpa de abacate ou do resíduo de extração de óleo de abacate para este fim ainda não foi explorado na literatura, o objetivo principal desta pesquisa foi utilizar o resíduo de extração de óleo de abacate por centrifugação para obtenção de filmes poliméricos como material para embalagens. Para alcançar este objetivo principal, foram especificados os seguintes objetivos específicos:



- 
- i. desenvolver filmes biodegradáveis a partir do resíduo da extração do óleo de abacate;
  - ii. desenvolver filmes a partir do referido resíduo aditivado com ácidos orgânicos e avaliar seu potencial como embalagens antioxidantes e antimicrobiana;
  - iii. caracterizar os filmes quanto as suas propriedades físico-químicas, mecânicas, estruturais e de barreira.
  - iv. testar ácidos orgânicos, gelatina e amido como componentes de formulação na produção de filmes a partir do resíduo da extração do óleo de abacate.

O presente trabalho apresenta as sessões de Revisão Bibliográfica e Materiais e Métodos, seguido da apresentação em formato de Artigos, publicado (Artigos I) e a serem submetidos a revistas internacionais (Artigos II e III), bem como um capítulo de encerramento tratando das conclusões e perspectivas futuras.



## Capítulo 2 - Fundamentação Teórica e Revisão Bibliográfica

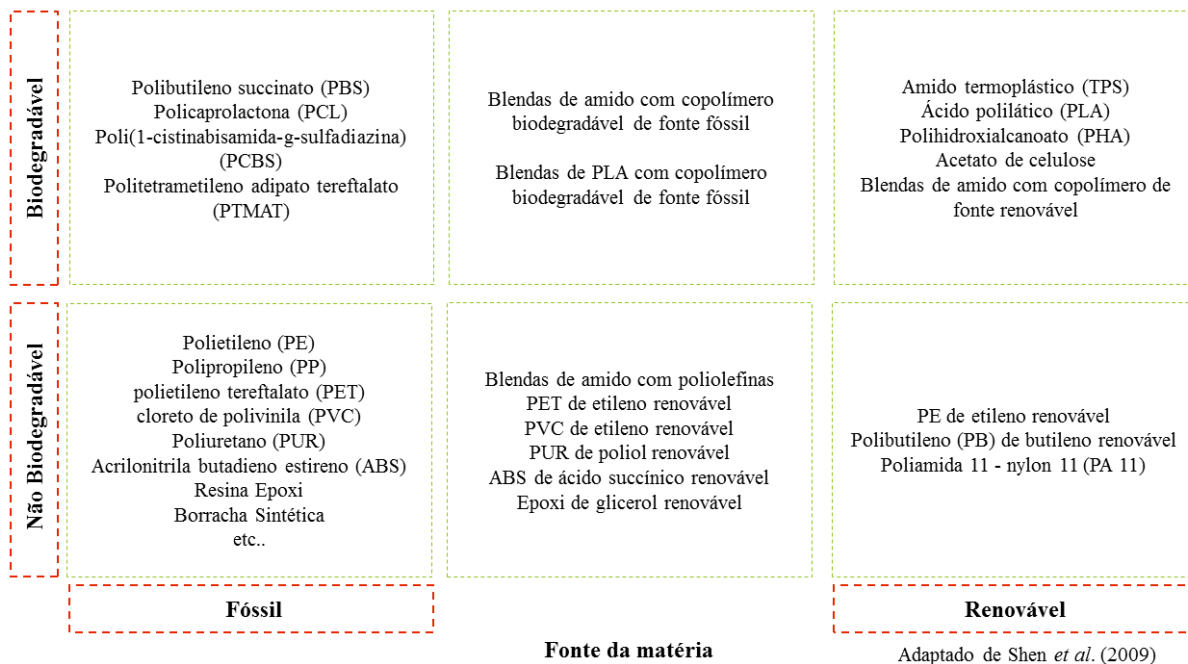
### 2.1. Biopolímeros

Biopolímeros são polímeros naturais, copolímeros ou biomoléculas poliméricas produzidas a partir de matérias-primas de fonte renovável (Abnt, 2008). Dependendo de seu modo de produção e de suas características podem ou não ser biodegradáveis, tóxicos e/ou comestíveis (Ebnesajjad, 2013).

Em geral, existem três formas de classificação quanto à forma de produção destes materiais: (i) através de polímeros naturais (amidos, proteínas, celulose, quitina), que podem ser modificados (química ou fisicamente), mas permanecem estruturalmente intactos em grande medida; (ii) através de monômeros posteriormente polimerizados obtidos a partir de processos de fermentação ou químicos convencionais (ácido polilático, polímeros verdes, polietileno); e (iii) produção direta do polímero por microrganismos (bactérias) ou culturas geneticamente modificadas (polihidroxialcanoatos) (Shen *et al.*, 2009; Babu *et al.*, 2013; Nakajima *et al.*, 2017).

Esses biopolímeros (*biobased polymers*) (Vert *et al.*, 2012) podem ou não ser biodegradáveis (Figura 2.1). Considera-se plástico biodegradável todo aquele material que sofre degradação através da ação natural de microrganismos, transformando-se em substâncias elementares como dióxido de carbono, água, metano e biomassa (Shah *et al.*, 2008; Astm, 2012a). Avérous (2004) classifica os polímeros completamente biodegradáveis em duas grandes famílias: agro-polímeros originários diretamente de biomassa e os poliésteres biodegradáveis (PLA, PHA, PCL).

**Figura 2.1.** Classificação de alguns polímeros mais utilizados quanto à biodegradabilidade e à fonte de matéria -prima.



Os agro-polímeros tratam-se de polissacarídeos, proteínas, lipídeos, resinas, tanto de origem animal quanto vegetal. Eles podem ser obtidos diretamente do produto não processado ou como subproduto da indústria alimentícia. Por isso, esses polímeros além de serem geralmente biodegradáveis, podem também ser comestíveis, dependendo do processamento aplicado e de sua composição.

Atualmente, a maior parte das pesquisas relacionadas a estes biopolímeros têm sido sua utilização como cobertura em alimentos, cápsulas, e embalagens rígidas e flexíveis (Huber e Embuscado, 2009; Elizabeth *et al.*, 2012; Ramos *et al.*, 2012; Ebnesajjad, 2013; Han, 2014c). Também é importante destacar que os agro-polímeros podem ser encontrados, na literatura, como polímeros naturais (Vieira *et al.*, 2011), polímeros padrão (Teck Kim *et al.*, 2014b), bioplásticos (S Araújo *et al.*, 2018) ou simplesmente biopolímeros.

O foco desta tese de doutorado são filmes obtidos a partir de agro-polímeros. Portanto, a partir dessa etapa, sempre que nos referirmos a filmes biodegradáveis estaremos nos referindo a materiais obtidos, especificamente, a partir destas matérias-primas. Também é importante ressaltar que nos artigos aqui apresentados o termo *biobased polymers* é utilizado, sendo definido como “composto ou derivado, no todo ou em parte, de produtos biológicos derivados a partir da biomassa” segundo Vert *et al.* (2012).

## 2.2. Filmes biodegradáveis e/ou comestíveis

As embalagens têm por função proteger, conter, comunicar informações e/ou viabilizar o transporte do material que está acondicionando. Um dos materiais amplamente utilizados para este fim é o plástico, principalmente devido a sua flexibilidade quanto às propriedades, resistência (em comparação ao vidro, p. ex.), custo e peso (transporte) (Selke e Hernandez, 2016). Segundo a Associação Brasileira de Embalagens (2015), 40 % (aproximadamente 23 bilhões de reais) do valor bruto de produção de embalagens no país e 35 % da produção física correspondem àquelas produzidas com plásticos. Especificamente no setor alimentício esse material corresponde a 40 % do consumo nacional em unidades e 20 % em toneladas de todas as embalagens comercializadas em 2011 (Sarantópoulos e Rego, 2012). Devido ao alto impacto ambiental causado pelo descarte desse tipo de embalagem no meio ambiente, vários estudos têm sido desenvolvidos nos últimos anos com a intenção de substituir ou melhorar os materiais utilizados de forma a reduzirem este problema (Carneiro-Da-Cunha *et al.*, 2009; Mohanasrinivasan *et al.*, 2014; Duba e Fiori, 2015; Gómez-Estaca *et al.*, 2015; Piccinno *et al.*, 2015; Vardanega *et al.*, 2015). Além disso, a procura dos consumidores por produtos ambiental e socialmente sustentáveis impulsionou a produção, o desenvolvimento e a pesquisa nesta área (Rokka e Uusitalo, 2008; Silvenius *et al.*, 2014).

Neste cenário encontram-se os filmes biodegradáveis, que são materiais com espessuras não maiores do que 0,25 mm (Astm, 2012c) com capacidade intrínseca de biodegradação utilizada como barreira entre o ambiente e o material a ser protegido. Na aplicação em alimentos, dependendo de sua composição podem ser comestíveis ou não, tendo o potencial de serem consumidos como parte do alimento (Krochta e Mulder-Johnston, 1997).

Estes filmes podem ser aplicados como revestimento (cobertura) diretamente no alimento ou como uma lâmina pré-produzida (filmes) colocada sobre ou entre os alimentos (Krochta e Mulder-Johnston, 1997). Na literatura, filmes e coberturas são utilizados como sinônimos, sendo as coberturas consideradas filmes com espessuras menores (Ramos *et al.*, 2012; Han, 2014b; Galus e Kadzińska, 2015). Não há, normalmente, diferenças em relação aos materiais utilizados entre os dois, sendo a principal distinção a técnica de produção e de aplicação no alimento. Além disso, coberturas podem ser separadas do alimento onde foram aplicadas, embora, geralmente, esse não ser o *design* planejado inicialmente para este tipo de embalagem (Jooyandeh, 2011).

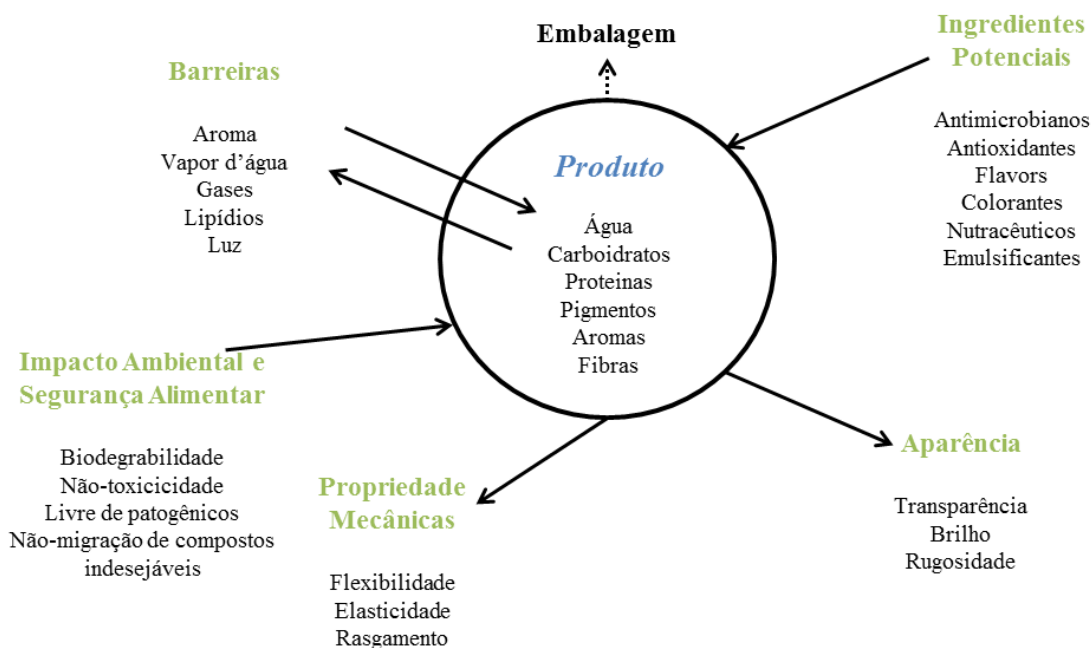
A técnica mais utilizada a nível de bancada para a produção destas películas é a de *casting* (Han e Floros, 1997; Perez-Gago e Krochta, 2001; Rojas-Graü *et al.*, 2007; Hoque *et al.*, 2011; Iahnke *et al.*, 2016). Nesta técnica, verte-se a solução filmogênica sobre uma superfície não-adesiva e deixa-se o material secando (em estufas, secadores ou ao ar livre) até a total formação da película. No caso de filmes biodegradáveis, a solução filmogênica consiste em uma dispersão das macromoléculas (polissacarídeos, lipídeos e proteínas) em solvente (água, etanol), que é posteriormente seca, proporcionando a formação da matriz polimérica. Nesta solução podem-se adicionar aditivos (plastificantes, agentes antioxidantes, emulsificantes) com o propósito de melhorar e/ou modificar as propriedades da embalagem e, desta forma obter as características desejadas (Han, 2014b). Outras formas de produção têm sido reportadas na literatura nos últimos anos, como aplicadores automáticos de filmes (Jorge, 2012; Cozzolino *et al.*, 2014), extrusão (Li *et al.*, 2011; Krishna *et al.*, 2012; Belyamani *et al.*, 2014) e moldagem por compressão (Krishna *et al.*, 2012).

Esses filmes, de modo geral, possuem baixo custo de matérias-primas, boa estabilidade bio e físico-química, e potencial de reduzir as perdas de componentes dos alimentos devido às suas propriedades de barreira (gases, água, luz, aroma, lipídeos). Além disso, podem ser biodegradáveis, comestíveis e não-tóxicos, resultando na conservação das características organolépticas do alimento e no prolongamento de sua vida de prateleira (Park *et al.*, 2000; Tharanathan, 2003; Daraba, 2008; Elizabeth e Robert, 2011; Shit e Shah, 2014).

Diversos fatores determinam a escolha e a aplicação de uma embalagem de alimentos, entre eles pode-se citar: as características do produto, as condições de estocagem (tempo, umidade, temperatura), a forma de distribuição, as propriedades do material, o *design* da embalagem e a preferência do consumidor/mercado (Robertson; 2013). Atualmente, desenvolvem-se embalagens ativas e inteligentes que possuem a capacidade de interagir com o alimento. Embalagens ativas são aquelas que têm como objetivo estender o prazo de validade ou melhorar as condições dos alimentos através da liberação ou absorção de substâncias presentes na embalagem pelo produto embalado. Já as embalagens inteligentes são materiais que monitoram a condição do alimento embalado ou o meio ambiente ao redor do mesmo (Dainelli *et al.*, 2008). Essas embalagens têm, incorporadas a sua matriz polimérica, elementos que interagem com o alimento causando efeitos desejados (antimicrobianas, anti-escurecimento, antioxidantes) e positivos como a extensão da vida de prateleira, garantia da segurança alimentar e aumento/manutenção da qualidade e de

características desejadas (Ramos, 2011; López-De-Dicastillo *et al.*, 2012; Bodaghi *et al.*, 2013; Gómez-Estaca *et al.*, 2014). A Figura 2.2 apresenta algumas características e atributos importantes a serem considerados quando da aplicação dessas películas em alimentos.

**Figura 2.2.** Atributos e características a serem consideradas na aplicação de filmes biodegradáveis como embalagem para alimentos.



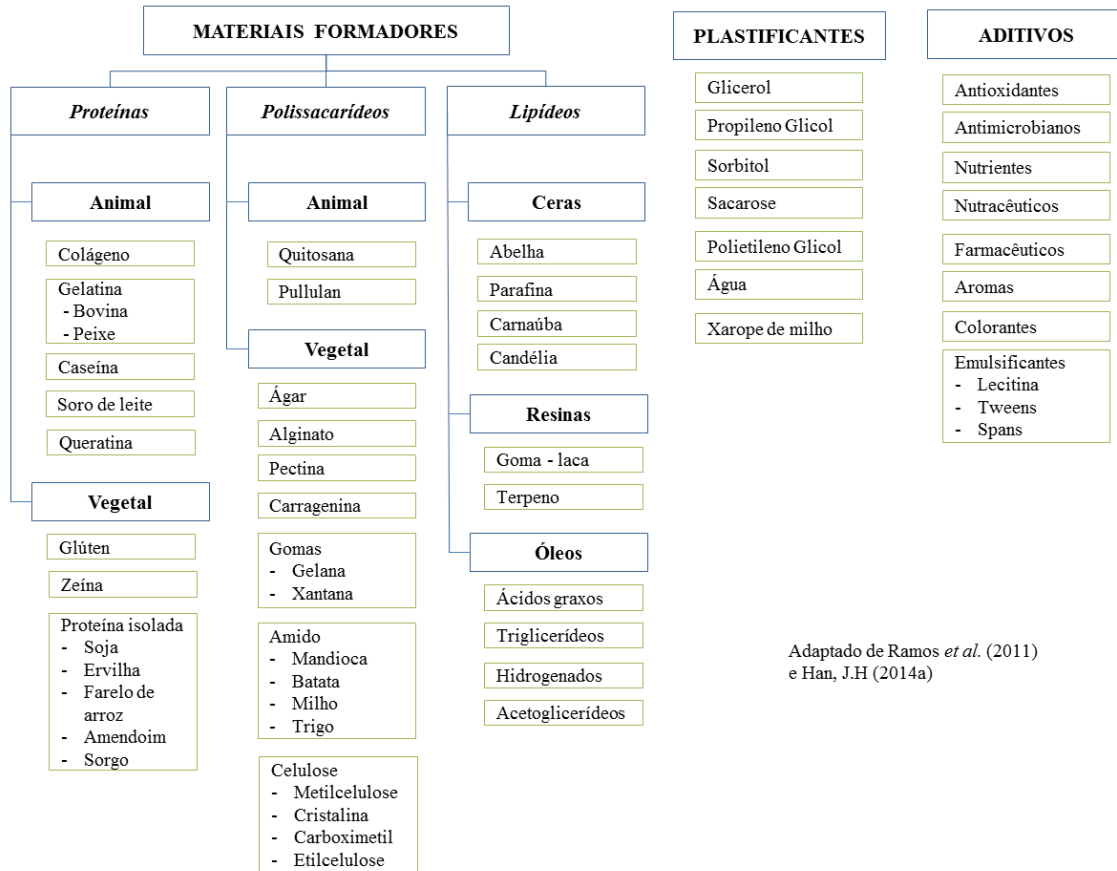
Adaptado de Ramos *et al.* (2011)

Essas características e propriedades são altamente dependentes da composição da embalagem, sendo a escolha dos materiais formadores e suas interações determinantes na funcionalidade e aplicação das mesmas.

### 2.2.1. Materiais na composição de filmes biodegradáveis

Proteínas, polissacarídeos, lipídeos e resinas, bem como suas combinações, são os principais componentes usados na composição de filmes biodegradáveis. Outros materiais também podem ser adicionados na composição com o propósito de modificar as características de acordo com a aplicação desejada. Na Figura 2.3 estão apresentados exemplos dos materiais biopoliméricos comumente utilizados, sua fonte e principais funções na composição das soluções filmogênicas.

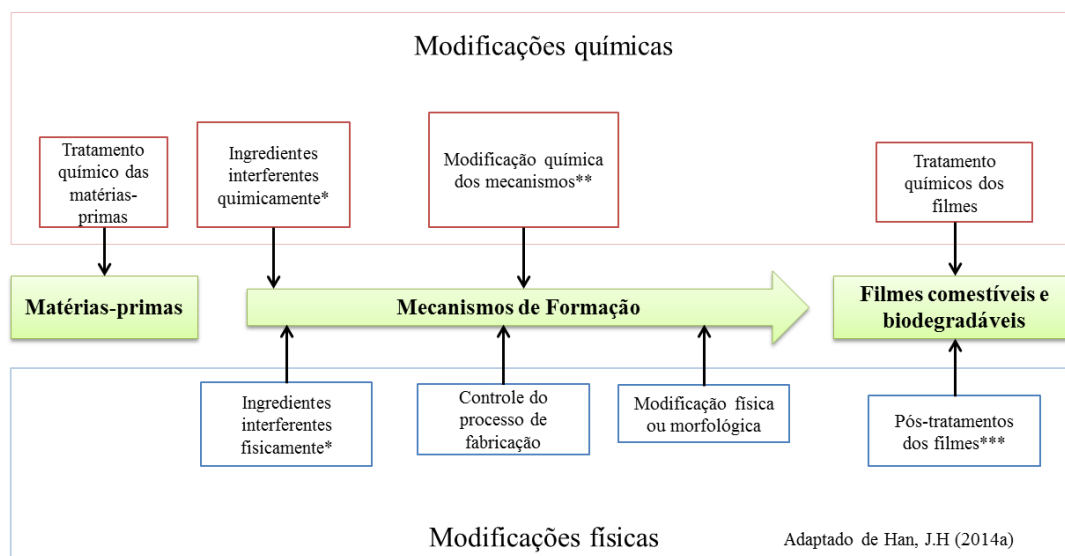
**Figura 2.3.** Representação esquemática dos principais materiais formadores de filme, sua origem e principais funções na formulação de filmes biodegradáveis.



Os mecanismos de formação destes materiais ainda são diversos e não estão totalmente elucidados. Estes biopolímeros são uma combinação de materiais complexos, os quais formam extensas redes tridimensionais interativas. Em geral, as matérias-primas utilizadas são gelatinizadas ou geleificáveis durante a produção da solução filmogênica (Han, 2014b). Han (2014a) propõem um esquema de representação dos mecanismos na formação de filmes biodegradáveis e/ou comestíveis (Figura 2.4). As matérias-primas podem ser modificadas e/ou tratadas antes da preparação da solução filmogênica, através de secagem, tratamentos ácidos, modificações químicas, por exemplo. Os mecanismos de composição da solução filmogênica e do processamento são os mais variados dependendo das matérias-primas e das características finais dos filmes a serem formados.



**Figura 2.4.** Esquema de representação dos prováveis mecanismos de formação de filmes biodegradáveis e/ou comestíveis.



\* Adição de materiais que química ou fisicamente realçam ou interferem nos mecanismos de formação.

\*\* Inclui qualquer reticulação química, substituição química de cadeias laterais criando interações hidrofóbicas e eletrostáticas ou qualquer outra modificação química que resultem em outros mecanismos de formação.

\*\*\* Laminação, adição de coberturas, radiação.

Pode-se citar como estágios críticos a gelatinização dos componentes e/ou uma boa miscibilidade entre os reagentes escolhidos (Han, 2014b). As forças intermoleculares que ocorrem costumam ser ligações covalentes (reticulação) e eletrostáticas, interações hidrofóbicas e hidrofílicas e interações iônicas (De Souza *et al.*, 2010; De'nobili *et al.*, 2013). Todas essas ligações e reações influenciam nas propriedades do material final. Pode-se modificar e/ou controlar os mecanismos de formação através do controle das variáveis do processo, tais como adição de novos compostos, velocidade de agitação, aquecimento, modificação de pH, temperatura de secagem, convecção durante a secagem, microencapsulação, modificação enzimática, tratamento com micro-ondas, entre outros (Krochta, 2002; De Souza *et al.*, 2010; Han, 2014b; Lacroix e Vu, 2014).

O amido é um polissacarídeo largamente empregado na produção de filmes biodegradáveis por ter a habilidade de aumentar a sua viscosidade quando hidratado (Park *et al.*, 2014). É um material de baixo custo, biodegradável e renovável e encontrado principalmente em legumes e cereais. O amido é constituído por amilopectina e amilose. A proporção entre os componentes depende da fonte do amido e do método de extração utilizado (Byun e Kim, 2014a). And e Han (2006) reportaram que a formação dos filmes está correlacionada com a quantidade de amilose presente. Filmes com uma quantidade de amilose maior apresentaram baixos valores de permeabilidade ao oxigênio, menor solubilidade em

água e valores de tensão de ruptura e módulo de elasticidade maiores comparado com filmes com menor quantidade (Muscat *et al.*, 2012; Cano *et al.*, 2014; Park *et al.*, 2014; Zhang *et al.*, 2014). Filmes produzidos a partir de amido, contudo, podem sofrer processos de retrogradação e apresentar uma maior permeabilidade a vapor de água (Wu *et al.*, 2013; Zhang *et al.*, 2014).

O processo de gelatinização do amido e a temperatura empregada neste são importantes para a formação de filmes. A gelatinização é um processo irreversível e promove a ruptura do grânulo de amido fazendo com que a amilose e amilopectina interajam com as moléculas de água presente através da interação entre os grupos hidroxila (Jiménez *et al.*, 2012). O amido após gelatinizado, torna-se um material termoplástico e mantém as características inodora e incolor, porém por ser um material hidrofílico possui maior umidade e solubilidade em água, e valores de tensão de ruptura e módulo de elasticidade menores quando comparadas com os plásticos comerciais (Dias *et al.*, 2010; Fakhouri *et al.*, 2013). Quando utilizado puro pode ter um comportamento quebradiço e frágil, sendo indicadas a utilização de plastificantes e outros componentes (blendas) para melhorar o desempenho dos filmes produzidos a partir desse material.

A gelatina é outro material muito utilizado na produção de filmes. Trata-se de uma proteína obtida através da desnaturação química do colágeno presente na pele, ossos e tendões animais. A gelatina tem propriedades espessantes, geleificantes e estabilizantes, é sólida à temperatura ambiente (Park *et al.*, 2014). Esse material pode ser obtido de vários animais (peixe, bovino, porco) e é amplamente comercializado, com baixo custo e utilizado na indústria farmacêutica, fotográfica e alimentícia (Nur Hanani *et al.*, 2014). As características finais dos filmes produzidos a partir de gelatina são influenciados por diversos fatores, tais como características originais do colágeno, processamento do colágeno em gelatina (pH, tempo de extração, temperatura), tipo e composição dos aminoácidos presentes, massa molar, etc. (Gómez-Estaca *et al.*, 2015; Ramos *et al.*, 2016).

Filmes à base de gelatina são flexíveis, com baixos valores de permeabilidade ao oxigênio, água e óleo e podem carregar agentes antimicrobianos e antioxidantes (Bourtoom, 2008; Park *et al.*, 2014). Por ser um material hidrofílico costuma ter baixa barreira contra vapor d'água (Krochta e Mulder-Johnston, 1997). Também devido a sua característica higroscópica pode ocorrer inchamento ou dissolução quando em contato com uma superfície muito úmida (Nur Hanani *et al.*, 2014; Ramos *et al.*, 2016). Por isso diversos estudos são

---

realizados para melhorar suas propriedades funcionais através da adição de plastificantes, aditivos, agentes de fortalecimento e reticulação (Mellinas *et al.*, 2015). A modificação de seu caráter hidrofílico pode ocorrer devido a mudança nas estruturas moleculares e pela formação de novas ligações covalentes e de hidrogênio com os outros componentes adicionados à matriz (Alfaro *et al.*, 2015).

Já, os plastificantes são aditivos adicionados à matriz polimérica com o objetivo de aumentar a flexibilidade e a estabilidade dos materiais. Plastificantes reduzem as forças intermoleculares entre as cadeias poliméricas, aumentando a mobilidade das cadeias e criando volume livre entre elas (Byun *et al.*, 2014). Os plastificantes mais utilizados em biopolímeros costumam ser mono e oligossacarídeos, polióis e lipídeos (Baldwin *et al.*, 1997). Os plastificantes que têm como base mono e oligossacarídeos e polióis podem possuir diferentes números de grupos hidroxilas presentes em sua cadeia, possuindo assim um caráter hidrofílico. Já os plastificantes lipídicos podem diminuir a hidrofiliabilidade dos filmes, diminuindo a permeabilidade a vapor d'água, porém podem exibir propriedades mecânicas mais pobres por poderem produzir uma matriz menos coesa (Gontard *et al.*, 2007). Segundo Byun *et al.* (2014) a adição de plastificantes, até 10 % em massa, promove aumento da ductibilidade, resistência mecânica e processabilidade e diminuição da permeabilidade ao oxigênio (plastificante hidrofílico) e permeabilidade a vapor d'água (plastificante lipídico).

A escolha do plastificante a ser utilizado depende de vários fatores, entre eles pode-se citar: migração para superfície do filme, volatilidade, resistência à extração por líquidos (água, óleo e solventes), compatibilidade, resistência térmica, toxicidade (Santos *et al.*, 2015). Os plastificantes mais utilizados em filmes compostos por amido e gelatina são sorbitol e glicerol. O sorbitol é menos higroscópico, porém menos eficiente como plastificante quando comparado com o glicerol (Byun *et al.*, 2014). Estes polióis diminuem a temperatura de transição vítrea (Tg) do material, influenciando principalmente nas propriedades físico-químicas e mecânicas dos filmes (Krochta e Mulder-Johnston, 1997).

Em filmes produzidos por Brault *et al.* (1997) à base de proteínas do leite (caseinato de sódio e de cálcio), o glicerol atuou como plastificante e também como promotor de ligações cruzadas aumentando a resistência à perfuração do material. Zhang *et al.* (2001) notaram uma diminuição da Tg, aumento da elongação e diminuição da tensão de escoamento com o aumento do glicerol em filmes extrudados de proteína de soja.

A funcionalidade e aplicabilidade dos filmes biodegradáveis dependem fortemente dos elementos que o compõe. Para se obter as propriedades desejadas para uma embalagem torna-se interessante a mistura de diversos polímeros. A desvantagem de um polímero pode ser compensada pela adição de outro material à matriz. Na escolha dos materiais a serem combinados é importante levar em consideração a miscibilidade entre os componentes, polaridade das substâncias, propriedades a serem alcançadas, aplicação da embalagem, proporção entre os elementos na solução filmogênica. Além de diferentes polímeros (polissacarídeos, proteínas, lipídeos) outros elementos podem ser adicionados satisfatoriamente à mistura como: solventes, plastificantes, elementos antioxidantes, antibacterianos, materiais de enchimento. Filmes de amido e gelatina têm características higroscópicas, por isso torna-se interessante a mistura destes com componentes lipídicos, por exemplo (Nur Hanani *et al.*, 2014). Filmes à base de frutas e vegetais (farinha ou polpa) costumam ser blendas naturais, já que esses contêm originalmente todos os biopolímeros formadores de filmes (Sartori e Menegalli, 2016). Em filmes de gelatina torna-se interessante a adição de substâncias reticulantes, agentes reforçantes e aditivos que interajam com a proteína de forma a modificar seu caráter hidrofílico (Alfaro *et al.*, 2015).

Filmes à base de amido de sagu e gelatina de peixe foram produzidos com glicerol e sorbitol como plastificantes com a finalidade de investigar a influência destes compostos nas propriedades mecânicas e permeabilidade a vapor d'água (Al-Hassan e Norziah, 2012). Óleos essenciais reforçaram as propriedades de barreira e aumentaram o alongamento na ruptura em filmes de amido de milho (Ghasemlou *et al.*, 2013). Quitosana tem sido utilizada em filmes de gelatina bovina e de peixe para diminuir os valores de permeabilidade a vapor d'água (Gómez-Estaca *et al.*, 2010). Wang *et al.* (2011) produziram filmes contendo purê de cenoura, gelatina, amido de milho e celulose e obtiveram filmes coesos com PVA intermediário quando comparados com outros filmes comestíveis.

Outro material utilizado na composição de blendas em filmes biodegradáveis é a celulose, utilizada como material de reforço nas formulações. A eficiência do reforço é dependente da natureza deste polímero, tamanho de partícula, fonte e tipo de matéria-prima, tratamento químico realizado e cristalinidade (Mahecha *et al.*, 2011). A adição deste material em filmes pode reduzir a permeabilidade ao vapor d'água, aumentar a rigidez e a resistência mecânica (Kumar e Singh, 2008; Ma *et al.*, 2008). Porém, a melhoria nas propriedades depende da boa miscibilidade e incorporação e dispersão deste material entre os componentes

---

da matriz, o que é dificultado devido a natureza físico-química dos elementos presentes e grau de interação entre eles (Dufresne *et al.*, 2000; Avérous *et al.*, 2001). Uma das principais desvantagens de sua utilização é seu caráter hidrofílico e natureza polar, o que resulta em maiores dificuldades quando combinado com materiais não-polares (Mahecha *et al.*, 2011). Existem diversos tipos de celulose aplicadas na produção de filmes biodegradáveis e disponíveis comercialmente. Entre elas têm-se a celulose microcristalina (MCC), a qual é utilizada principalmente como material aglutinante e de controle reológico em produtos farmacêuticos (Siró e Plackett, 2010). Wittaya (2009) adicionou MCC a filmes de amido de arroz e observou aumento na resistência à tração do material. Azeredo *et al.* (2010) utilizaram MCC em filmes de quitosana e obtiveram filmes com maiores valores de tensão a ruptura e menor alongação na ruptura, além de diminuir a permeabilidade a vapor d'água com esta adição. Os autores atribuem esses resultados devido à boa interação entre os grupos polares presentes tanto na quitosana quanto na celulose utilizada. Além disso, os mesmo autores (Azeredo *et al.*, 2009) realizaram a adição da celulose microcristalina quimicamente modificada em filmes à base de purê de manga, obtendo melhoras no PVA e nas propriedades mecânicas para quantidades maiores de 10 g para cada 100 g de purê utilizado.

Além dos hidrocolóides e reforçadores acrescidos na composição de filmes, alguns materiais podem ser adicionados como aditivos para obter-se características específicas ao material, ou modificar algumas de suas propriedades. Ácidos orgânicos e outros sais têm sido investigados na literatura como um desses aditivos devido a seu potencial como reticulantes, atividade antioxidante e modificadores das propriedades dos filmes (Da Silva Bastos *et al.*, 2009; Atarés *et al.*, 2011; Pérez *et al.*, 2012; De'nobili *et al.*, 2013; Robles-Sánchez *et al.*, 2013). Compostos como ácido ascórbico, ácido cítrico, ácido tânico, tocoferol, BHT, BHA, resveratrol, trifosfato de sódio são alguns dos compostos utilizados com este objetivo (Eça *et al.*, 2014). Efeitos diversos podem ocorrer após a adição destes compostos à matriz, como mudanças estruturais, óticas, mecânicas e de barreira, além da capacidade antioxidante dos filmes, dependendo dos componentes escolhidos para compor a formulação (Da Silva Bastos *et al.*, 2009; De'nobili *et al.*, 2013). Ligações cruzadas e reticulações podem ocorrer entre aditivos e a matriz, melhorando as propriedades de barreira e modificando as características mecânicas (Atarés *et al.*, 2011; Fabra *et al.*, 2011; Uranga *et al.*, 2016)

O ácido cítrico é um ácido fraco composto por um grupo hidroxila e três carboxilas, sendo largamente encontrado em frutas cítricas. É utilizado na indústria de alimentos como

antioxidante devido a sua capacidade de complexação de metais (De'nobili *et al.*, 2016). Devido à presença do grupo carboxila pode interagir com os grupos hidroxila do amido e com as aminas presentes em proteínas (De'nobili *et al.*, 2016; Uranga *et al.*, 2016) formando pontes de hidrogênio e promovendo reticulação com outros componentes presentes na matriz. Atua também como plastificante nas formulações e influencia nas propriedades de vapor d'água dos filmes (Ghanbarzadeh *et al.*, 2011). Já o ácido ascórbico trata-se de um ácido composto por quatro hidroxilas e possui alta atividade redutora devido a sua capacidade de doação de hidrogênio. Em filmes contendo esse ácido, principalmente com a presença de amido, apresenta efeito plastificante e antioxidante (Yoon, 2014; Kowalczyk, 2016; Sartori e Menegalli, 2016). No caso de filmes baseados em frutas e vegetais os mesmos são usados principalmente como agentes anti-escurecimento nas polpas e extratos utilizados (Otoni *et al.*, 2017).

### **2.2.2. Caracterização e propriedades de filmes biodegradáveis**

O potencial de aplicação dos filmes e coberturas biodegradáveis e/ou comestíveis depende de suas características, suas propriedades físico-químicas e uma adequada caracterização destas. A partir do conhecimento dessas características pode-se determinar ou confirmar a aplicação de determinado filme para determinado produto. Propriedades mecânicas (ensaio de tração-tensão), propriedades de barreira (permeabilidade a vapor d'água, permeabilidade a gases) e propriedades óticas (opacidade, cor) são as características mais investigadas quando se trata da aplicação de embalagens. Além disso, outros atributos como espessura, reologia, solubilidade e estabilidade térmica podem ser investigados como forma de compreender e desenvolver os filmes que estão sendo produzidos.

#### **2.2.2.1. Espessura**

A espessura é uma das características mais importantes dos filmes. A espessura influencia a maioria das outras propriedades investigadas, como permeabilidade a vapor d'água e a gases, tensão, alongação e opacidade. Segundo Basiak *et al.* (2016) a espessura é dependente de vários fatores, incluindo, quantidade água antes e depois da secagem, profundidade do recipiente de casting, tempo e temperatura de secagem. A uniformidade da espessura ao longo da película pode ser de difícil controle, principalmente na técnica de *casting*, onde soluções filmogênicas muito viscosas podem ser de difícil espalhamento com o aparecimento de bolhas de ar na solução (Sobral, 2000). Sobral (2000) constataram que em filmes de proteínas miofibrilares a permeabilidade a vapor d'água, cor, opacidade e força de

---

perfuração aumentaram linearmente com a espessura. Kayserilioğlu *et al.* (2003) para filmes de glúten de trigo constataram que a espessura diminuía significativamente conforme aumentava a temperatura de secagem (20 – 80 °C).

#### 2.1.2.2. Solubilidade em água

A solubilidade do filme em água define diretamente a aplicação do mesmo como embalagem. Dependendo do produto pode-se desejar um filme mais ou menos solúvel. Filmes aplicados como sachês para porções de comida individuais a serem cozidos tem por interesse serem totalmente solúveis. Já filmes destinados para conservação de alimentos em prateleiras ou alimentos líquidos devem ser mais insolúveis, enquanto que embalagens descartáveis podem ser parcialmente solúveis. O tipo de plastificante e sua concentração influenciam nessa propriedade. Plastificantes hidrofílicos, como o glicerol tendem a aumentar a solubilidade do filme (Müller *et al.*, 2008; Matta Jr *et al.*, 2011). A coesão e interação entre os vários componentes da matriz também são importantes parâmetros. Araujo-Farro *et al.* (2010) obtiveram filmes de amido de quinoa e glicerol com baixos valores de solubilidade devido ao elevado nível de coesão na matriz e uma estrutura compacta dos elementos presentes. A adição de ácidos orgânicos, como ácido cítrico, também pode diminuir a solubilidade de filmes devido à interação desses ácidos com a matriz.

#### 2.2.2.3. Propriedades Mecânicas

Filmes biodegradáveis e/ou comestíveis devem possuir características mecânicas adequadas e durabilidade de forma a manter a integridade do produto que estão embalando de qualquer dano externo que venha a ocorrer durante o processamento, transporte e armazenamento (Yang e Paulson, 2000a; Mali *et al.*, 2006). As propriedades mecânicas são dependentes do tipo de material que compõe o filme, coesão entre os elementos da matriz, tipo de secagem aplicada, solvente utilizado, taxa de secagem e evaporação, espessura do filme, taxa de deformação e força aplicadas no teste, umidade e temperatura do ambiente (Krochta e Mulder-Johnston, 1997; Lacroix, 2009; Astm, 2012b). Segundo Gontard *et al.* (2006) a capacidade do polímero de formar ligações (fortes e numerosas) entre cadeias influencia na força necessária quando submetido o material a tensão. Além disso, os autores citam que a extensão da cadeia polimérica formada dependerá da distribuição da massa molar, geometria, natureza e posição dos grupamentos laterais.

As propriedades principais investigadas em testes mecânicos tratam-se da tensão à tração, percentagem de alongação e módulo de Young ou módulo de elasticidade, os quais são

obtidos através da curva tensão-deformação através do método padrão ASTM D882-02 (Astm, 2012b). A tensão a tração é definida como a tensão máxima suportada pelo filme no momento da ruptura. Percentagem de alongação é capacidade que o filme tem de se deformar antes da ruptura. O módulo de Young é um indicador da rigidez do material sendo caracterizado como a razão entre a tensão e deformação do filme, na parte linear inicial da curva tensão-deformação (Astm, 2012b).

Os plastificantes aumentam a flexibilidade do filme, ou seja, a alongação, ao mesmo tempo em que diminuem a tensão a tração (Vanin *et al.*, 2005; Lacroix, 2009; Byun *et al.*, 2014). A cristalinidade do material está relacionada diretamente com um aumento das forças intermoleculares e, portanto ligado ao aumento da rigidez e fragilidade do filme (Ziani *et al.*, 2008). Materiais como celulose atuam como materiais de reforço, influenciando nas propriedades mecânicas dos filmes. Agente reticulantes, como ácidos orgânicos e sais, também influenciam estas propriedades e as modificações estão relacionadas a sua composição e interação com os outros compostos da matriz. Filmes extrusados de proteína de soja variaram de um comportamento rígido para semi-rígido com o aumento da quantidade de glicerol adicionada à matriz (Zhang *et al.*, 2001). Os autores obtiveram folhas com significativa diminuição do Módulo de Young e limite de elasticidade com o aumento de glicerol de 10 para 30 partes.

#### 2.2.2.4. Permeabilidade ao vapor d'água (PVA)

Permeabilidade é definida como a taxa de transmissão de vapor (ou gás) por unidade de área através de um filme ou membrana multiplicado pela espessura, induzida pela diferença de pressão de vapor entre os dois lados do material, sob determinada temperatura e umidade (Astm, 2015). Segundo Mali *et al.* (2010) o processo de permeação de vapores e gases ocorre através dos espaços intermoleculares da matriz, ocorrendo em três etapas principais: solubilização e sorção do permeante na superfície do filme, difusão do permeante através do material polimérico devido ao gradiente de concentração e pressão, e dessorção e evaporação do permeante após a passagem pela extensão do filme.

PVA é influenciado pela espessura do filme, integridade da matriz, hidroflicidade do filme, polaridade da matriz, composição química e estrutural do filme, cristalinidade do material, tamanho de poros (Sangaj e Malshe, 2004; Lacroix, 2009; Ahmad, Hani, *et al.*, 2015). Gelatina e amido são materiais hidrofílicos, portanto, costumam ter valores de permeabilidade ao vapor d'água mais elevados. Por esse motivo, é interessante a adição de



---

materiais lipídicos e/ou hidrofóbicos com uma distribuição uniforme, de forma a diminuir estes valores (Karbowski *et al.*, 2007). A cristalinidade do filme também é determinante, filmes mais cristalinos são mais compactos e, deste modo, menos permeáveis (Perez-Gago e Krochta, 2001). A presença de plastificantes também aumenta a permeabilidade ao vapor d'água em filmes, não somente devido ao seu caráter hidrofílico, mas por uma diminuição da densidade da matriz, propiciando um aumento da difusão da água ao longo de sua estrutura (Lacroix, 2009).

Esta propriedade é largamente utilizada e caracterizada devido a sua importância na aplicação do filme como embalagem. Filmes com alta permeabilidade são adequados para alimentos que necessitam respirar, tais como pães e frutas climatéricas. Filmes com baixa permeabilidade são mais adequados para bebidas gasosas, produtos processados e/ou congelados, sementes, por exemplo (Siracusa *et al.*, 2008; Ramos *et al.*, 2012; Dhall, 2013). A PVA influencia no aumento da vida de prateleira e qualidade do alimento, ao limitar a migração exterior de água a qual pode acelerar ou promover reações deteriorantes (Mauer *et al.*, 2000). Porém um filme com maior permeabilidade pode ser benéfico ao evitar a condensação da água dentro da embalagem, a qual pode promover um ambiente adequado para o crescimento microbiano e fungico (De Souza *et al.*, 2010).

Ma *et al.* (2012) adicionaram azeite de oliva em filmes à base de gelatina e obtiveram uma diminuição dos valores de PVA. Kokoszka *et al.* (2010) testaram a influência de diferentes gradientes de umidade relativa (UR) na permeabilidade ao vapor d'água para filmes de proteína de soja. Eles observaram que com o aumento do gradiente maior são os valores de permeabilidade obtidos e maior é a influência do conteúdo de glicerol nesta propriedade.

#### 2.2.2.5. Propriedades ópticas

A cor e opacidade são características importantes de serem medidas, sobretudo quando na aplicação de embalagens para alimentos. O consumidor é atraído tanto pela aparência externa da embalagem no momento da compra, como no momento da ingestão. Além disso, essas propriedades estão relacionadas com a capacidade do filme como barreira à luz, a qual pode produzir reações deteriorantes dependendo do alimento que está sendo embalado. A cor pode ser medida utilizando-se a metodologia CIE  $L^*a^*b^*$ , baseado nos sensores de cor dos olhos humanos (sensíveis às cores vermelha, verde e azul e mistura destas) e luminosidade do objeto analisado (García *et al.*, 2009).

A opacidade é determinada pela medida de transmitância interna do filme. Quanto maior o valor de transmitância medida através de um espectrofotômetro UV/VIS, maior é a transparência do material. E quanto mais luz passa pela embalagem, maior a sua ação sobre o alimento, podendo desencadear reações de fotodegradação e fotoxidação de compostos nutricionais (Souza *et al.*, 2012; Silva-Weiss *et al.*, 2013). Filmes opacos podem ser uma alternativa para alimentos que necessitam de proteção a radiação UV, as quais podem causar desnaturação de enzimas, degradação de pigmentos, destruição de vitaminas e redução do valor nutricional (Falguera *et al.*, 2011).

#### 2.2.2.6. Propriedades térmicas e morfológicas

A avaliação do comportamento térmico de filmes permite observar as modificações físicas e químicas que ocorrem ao material quando este é submetido a uma taxa de aquecimento ou resfriamento controlada. Ter o conhecimento de como o material comporta-se termicamente é importante na avaliação da aplicação deste. A análise termogravimétrica (TGA) permite que se realize esse acompanhamento através da medida do peso da amostra ao longo de uma rampa de aquecimento. A partir da variação de massa da amostra pode-se visualizar as transformações químicas (degradação, decomposição, oxidação) e físicas (sublimação, evaporação, condensação) que estão ocorrendo no material. Além disso a técnica pode fornecer informações sobre a cinética do material polimérico, cristalinidade e massa molar dos componentes presentes na matriz (Prime *et al.*, 2008).

Para filmes biodegradáveis é comum o aparecimento de três picos principais: o pico de água (0 – 100° C), o pico de plastificante e componentes de baixa massa molar (150 – 250° C) e o pico de degradação de compostos com alta massa molar (300 – 400°C) (Ahmad, Hani, *et al.*, 2015; Ahmad, Nirmal, *et al.*, 2015; Torabi *et al.*, 2016).

O conhecimento da estrutura dos filmes é uma característica a ser investigada, pois pode esclarecer várias das propriedades físicas que este material apresenta, como seu comportamento mecânico e permeabilidade a vapor/gás (Hernandez-Izquierdo e Krochta, 2008). Essas propriedades são dependentes de fatores como proporção de zonas cristalinas e amorfas, mobilidade das cadeias poliméricas, e interações entre grupos funcionais do polímero e a substância permeante dentro das zonas amorfas (García *et al.*, 2009). Técnicas empregadas para esclarecer a estrutura dos filmes compreendem microscopia eletrônica de varredura (MEV), difração de raio-X, calorimetria diferencial de varredura (DSC), espectroscopia de infravermelho por transformada de Fourier (FTIR). Difração de raio X é

---

frequentemente utilizado para avaliar o grau de cristalinidade dos filmes. Já na análise de DSC podem-se avaliar a temperatura de transição vítrea e temperatura de fusão do material.

MEV pode ser utilizada para avaliar a homogeneidade do filme, a estrutura e coesão das camadas, rachaduras e poros, espessura, distribuição das diferentes substâncias na matriz, ocorrência de separação de fases e suavidade da superfície (Mcglashan Stewart e Halley Peter, 2003; De Souza *et al.*, 2010).

Já a técnica de FTIR é útil para complementar as informações obtidas em outras técnicas microestruturais, pois pode ser utilizada para avaliar as diferentes interações que estão ocorrendo entre os componentes do filme. Uma das bandas comumente encontradas em agro-polímeros é uma banda larga entre 3000 e 3600  $\text{cm}^{-1}$ , característica da presença de grupos hidroxilas no estiramento de pontes de hidrogênio, advindas de grupos hidroxila livres, inter e intramolecular (García *et al.*, 2009; Liang e Wang, 2018). Os picos encontrados em torno de 2930 e 2850  $\text{cm}^{-1}$  estão relacionadas com a vibração simétrica/assimétrica de estiramento dos grupos  $-\text{CH}_2$  (García *et al.*, 2009; Nur Hanani *et al.*, 2013). Bandas que aparecem em torno de 1730  $\text{cm}^{-1}$  são atribuídas a carbonila presente em ésteres (C=O) e carboxilas (COO). Grupos aminos, característicos de proteínas são geralmente encontrados entre 1635 (amido I; C=O), 1550 (amido II; N-H e C-N,  $-\text{NH}_2$ ) e 1235  $\text{cm}^{-1}$  (amido III; N-H e C-N, e  $\text{CH}_2$ ) (Nur Hanani *et al.*, 2013; Liang e Wang, 2018). Bandas em torno de 1050, 1010, e 870  $\text{cm}^{-1}$  são atribuídas ao estiramento da ligação C=O, sendo as duas primeiras características de anéis de anidrogucose (Liang e Wang, 2018).

### **2.2.3. Atividade Antioxidante**

Compostos antioxidantes são amplamente utilizados na indústria alimentícia como retardadores ou protetores contra reações de escurecimento enzimático, rancidez oxidativa e degradação (Avena-Bustillos e Mchugh, 2012). Apesar de tradicionalmente utilizarem-se esses compostos diretamente no alimento (formulação, processamento, pós-tratamento), a adição desses compostos em embalagens (embalagens ativas) tem sido investigada como alternativa já que podem promover uma liberação do composto a taxas controladas (aumentado a vida de prateleira ou evitando o uso destes durante o armazenamento), bem como diminuir uma das etapas no processamento do alimento (Bolumar *et al.*, 2011; Gómez-Estaca *et al.*, 2014). A adição de antioxidantes aos filmes contribui de forma global na qualidade, segurança, valor nutritivo e características organolépticas do alimento; aumenta ou mantém a integridade mecânica e características de manipulação; pode agir como veículo para

fortificantes como ácido fólico, ácido ascórbico, ômega 3 e compostos bioativos; e controlar as reações de oxidação causadoras de degradação microbiana e escurecimento (Silva-Weiss *et al.*, 2013). Além disso, esses compostos também contribuem para a própria estabilidade e preservação dos filmes, já que estes muitas vezes, podem ser constituídos de elementos que sofrem degradações e escurecimento.

Devido à procura, cada vez mais constante dos consumidores, por alimentos mais seguros e saudáveis apresenta-se uma preferência pela utilização de aditivos de origem natural quando na incorporação de compostos ativos no alimento. Por isso, agentes antioxidantes como extratos de plantas, óleos essenciais,  $\alpha$ -tocoferol, ácido ascórbico e ácido cítrico tem sido estudados em substituição aos antioxidantes sintéticos como BHA (*butylated hydroxyanisole*) e BHT (*butylated hydroxytoluene*) (Eça *et al.*, 2014; Lee, 2014). Diferentes métodos para incorporação desses compostos nas embalagens biodegradáveis têm sido estudadas com o intuito de melhorar a eficácia desse sistema, tais como encapsulamento, absorção e mistura (Lee, 2014).

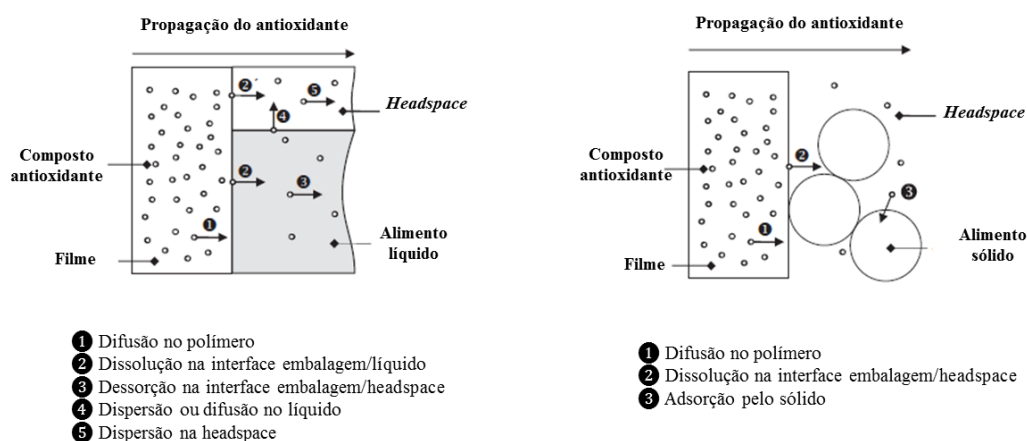
Segundo Silva-Weiss *et al.*(2013) a interação entre o filme e o alimento revestido depende do tamanho molecular do biopolímero (peso e volume), a natureza química dos compostos (polaridade, afinidade), condições do processo (temperatura, tempo, umidade), estrutura do filme (cristalinidade, reticulação, morfologia, temperatura de transição vítrea), espessura e natureza do material. Além disso, a adição do composto na formulação interfere nas propriedades mecânicas, de barreira e físico-química do filme.

Antioxidantes presentes nos filmes produzidos podem migrar diretamente para líquidos ou indiretamente para alimentos sólidos, prevenindo a oxidação. Essa transferência de massa ocorre principalmente através da região amorfa dos filmes semi-cristalinos (Silva-Weiss *et al.*, 2013). O mecanismo de transferência desses compostos da embalagem para o alimento pode ser descrito como apresentado na Figura 2.5 (Lee, 2014).

Compostos como tocoferol e ácido ascórbico são substâncias utilizados na formulação dos filmes, que possuem baixa volatilidade e, portanto, são mais adequados para embalar alimentos líquidos, já que entram em contato direto com a superfície, liberando o agente pelo mecanismo de difusão. Já para embalagens de alimentos sólidos ou que não tenham contato direto com a superfície dos filmes, pode-se utilizar agentes ativos voláteis (óleos essenciais),

os quais podem inibir as reações de oxidação dos radicais livres em fase gasosa presentes no *headspace* (Gómez-Estaca *et al.*, 2014; Lee, 2014).

**Figura 2.5.** Representação dos processos de transferência de massa ocorridos na liberação de compostos antioxidantes da embalagem para o alimento.



Adaptado de Lee (2014)

A atividade antioxidante de filmes biodegradáveis tem sido testada a partir do potencial de eliminação de radicais livres de uma substância específica. Entre os métodos mais utilizados na literatura que detectam a eliminação desses elétrons e compostos estão: ABTS (2,2'-azinobis(3-etilbenzotiazolína-6-sulfônico), DPPH (2,2-difenil-1-picrilhidrazil), DPD (N-dietil-p-fenilenodiamina) e FRAP (poder redutor de íons ferro) (Bonilla *et al.*, 2012; Silva-Weiss *et al.*, 2013). Em geral nesses métodos, o efeito antioxidante do composto é proporcional ao desaparecimento desses radicais nas amostras. O ensaio de redução do radical livre DPPH consiste em reduzir este radical através de um composto que seja doador de prótons (doador de hidrogênio) para sua forma não radical (DPPH-H), através do acompanhamento dessa reação a partir da medida de absorvância a 515 nm. No ensaio FRAP determina-se diretamente a capacidade antioxidante através da redução do complexo férrico para a forma ferrosa em baixo pH. A reação é acompanhada pela medida de absorvância a 593 nm (cor azul). E no ensaio ABTS, o radical catiônico  $ABTS^+$  é produzido por oxidação do ABTS com persulfato de potássio. A redução do radical através de doadores de prótons pode ser acompanhada pela medida de absorvância a 734 nm. O método ABTS é aplicável tanto para a fase aquosa quanto líquida da amostra (Bonilla *et al.*, 2012; Silva-Weiss *et al.*, 2013).

O método de redução do radical livre DPPH é um dos métodos utilizados para estimar a capacidade antioxidante por ser um método fácil, rápido e pouco custoso apesar de haver limitações devido a dependência da migração do antioxidante para o meio, o que pode subestimar os resultados obtidos. Entre os autores que utilizaram este método em filmes biodegradáveis, Pastor *et al.* (2013) observaram atividade antioxidante (DPPH) em filmes de quitosana e metilcelulose contendo resveratrol, e esta atividade cresceu na mesma proporção que a quantidade de resveratrol adicionado à formulação. Já Jouki *et al.* (2014) obtiveram aumento dessa mesma atividade com a adição de óleo essencial de orégano em filmes de mucilagem de marmelo. Mehdizadeh *et al.* (2012) colocaram óleo essencial de *Thymus kotschyanus* em blendas de amido e quitosana e aumentaram entre 10 e 30 % a inibição do radical DPPH. A adição de extrato de maqui berry a filmes de quitosana apresentou aumento da inibição do DPPH devido à presença de compostos fenólicos, flavonóides e antocianinas presentes no extrato.

Outros autores realizaram a medida da capacidade antioxidante dos filmes através de sistema modelo onde ocorre o revestimento de alimentos e a medida de sua atividade antioxidante protetora. Reis *et al.* (2015) incorporaram polpa de manga em pó e extrato de erva-mate em filmes à base de amido de mandioca e embalsamaram óleo de palma com estes filmes. Foi observada atividade antioxidante principalmente devido à presença do extrato de erva-mate, compostos fenólicos e flavonoides presentes. Já, Iahnke *et al.* (2016) embalsamaram óleo de girassol em filmes de gelatina e resíduo de beterraba, obtendo proteção do óleo da oxidação primária.

#### **2.2.4. Atividade Antimicrobiana**

Assim como os compostos antioxidantes, os agentes antimicrobianos podem ser adicionados aos filmes como agentes ativos de proteção aos alimentos. Os compostos antimicrobianos podem prevenir e/ou retardar o crescimento de microrganismos patogênicos e fungos no alimento a ser recoberto, além de interferir no sabor e em outros atributos organolépticos do alimento (Mellinas *et al.*, 2015; Pagno *et al.*, 2016). Tradicionalmente esses agentes são incorporados diretamente no produto, porém pode ocorrer inibição dos mesmos por componentes da matriz ou diluição do composto abaixo da concentração ideal, diminuindo sua eficiência (Appendini e Hotchkiss, 2002). Para esses casos, incorporar agentes antimicrobianos a embalagem, que podem migrar constantemente para o produto de

---

forma a manter uma concentração maior na superfície durante um período de tempo mais longo, torna-se uma alternativa interessante.

As embalagens antimicrobianas desempenham um papel na segurança dos alimentos, já que previnem o crescimento de microrganismos patogênicos. Também estendem a vida útil de prateleira do produto e a qualidade do alimento, sendo interessantes do ponto de vista econômico e logístico, através da prevenção do crescimento de microrganismos deteriorantes (Han, 2003; Corrales *et al.*, 2014).

Os agentes naturais utilizados mais comumente em filmes biodegradáveis são ácidos orgânicos (acético, láctico, cítrico, málico, benzoico), bactericidas (nisina), enzimas (lisozima), polissacarídeos (quitosana), ácidos graxos e extratos naturais (Martín-Belloso *et al.*, 2009; Ramos, 2011; Corrales *et al.*, 2014). Eles podem agir no microrganismo reduzindo a taxa de crescimento do mesmo, aumentando a fase “lag” (número de microrganismos permanece igual) ou inativação através de contato direto (Ferreira, 2012). Essa inativação pode ocorrer pela inibição das vias metabólicas essenciais (ou genética reprodutivas) ou alteração das estruturas de membranas da célula (Han, 2003).

O composto antimicrobiano é adicionado à embalagem durante a produção do filme e são produzidas a partir de dois *designs*: com ou sem migração. Nas embalagens com migração o composto migra para o alimento através do contato direto ou indireto com o alimento, podendo haver migração para o *headspace*/atmosfera caso o agente seja volátil. Já nas embalagens sem migração, o agente encontra-se na superfície da embalagem e atua no microrganismo quando este entra em contato com a superfície do filme (Ferreira, 2012; Corrales *et al.*, 2014). Assim como nos compostos antioxidantes o mecanismo de propagação do agente se dá através de difusão, dissolução, sorção e evaporação (voláteis) na fronteira embalagem-alimento. Em geral, o crescimento microbiano ocorre na superfície do alimento (sólido ou semi-sólido) portanto embalagens desenhadas com essa tecnologia apresentam-se efetivas quanto maior for o contato direto entre o agente e o produto (Mellinas *et al.*, 2015; Atarés e Chiralt, 2016; Pagno *et al.*, 2016). Umidade, pH e atividade de água são os fatores principais que afetam as taxas de difusão do antimicrobiano da embalagem para o alimento (Corrales *et al.*, 2014).

Os agentes antimicrobianos alteram as propriedades físico-químicas do filme, principalmente as propriedades mecânicas e de barreira, além de em alguns casos produzir

atividade antioxidante (Ghasemlou *et al.*, 2013). Também é importante comentar a interação do composto com a matriz filmogênica. A quantidade de antimicrobiano adicionada e sua interação com a matriz estão altamente relacionados com a performance das propriedades mecânicas e estruturais da embalagem (Han, 2003). Compostos com baixa massa molar podem ser adicionados à matriz e serem posicionados na região amorfa da matriz polimérica. Quando em excesso, podem interferir na região cristalina e, portanto na integridade e opacidade do filme (Han, 2003). Esses mesmos compostos, por terem tamanho reduzido, podem atuar como plastificantes, promovendo maior alongação ao filme e diminuindo a tensão de ruptura (Corrales *et al.*, 2014).

Alguns dos aspectos a serem considerados na escolha do composto são: mecanismo de inibição; fisiologia do microrganismo-alvo; características físico-químicas do alimento; cinéticas de difusão e migração no alimento; processo de fabricação da embalagem; compatibilização ente composto antimicrobiano e material da embalagem; e aspectos legais (Han, 2003; Mellinas *et al.*, 2015; Valdés *et al.*, 2017). Dentre as características fisiológicas do microrganismo-alvo a serem observadas pode-se citar: oxigênio (aeróbio, anaeróbio), composição da membrana, forma de crescimento (esporos, células vegetativas), temperatura ótima de crescimento (termófilo, mesófilo, psicotrópico) e resistência a osmose ácida (Han, 2003). No caso de óleos essenciais, percebe-se uma maior estabilização dos compostos em sistemas alimentares, o que aumenta sua eficiência quando ocorre o processo de liberação no alimento embalado (Bhargava *et al.*, 2015).

Uma das características que podem desfavorecer o uso de antimicrobianos deve-se ao sabor e aromas marcantes dos compostos utilizados. Este fator pode interferir ou modificar a qualidade sensorial do produto e, portanto a escolha do consumidor.

### **2.3. Filmes biodegradáveis e/ou comestíveis à base de frutas**

Filmes biodegradáveis à base de frutas e vegetais têm aumentado sua relevância nos últimos anos devido ao largo espectro de possíveis aplicações bem como as inúmeras fontes (*in natura*, resíduos) disponíveis. Além disso, esses alimentos são fontes de diversos nutrientes e antioxidantes, sendo interessantes na aplicação de filmes comestíveis. O primeiro filme a ser reportado na literatura à base de frutas e vegetais foi obtido no trabalho de Mchugh *et al.* (1996), os quais desenvolveram filmes a partir de purês de pêssego, pera, damasco e maçã. Após este primeiro trabalho, encontram-se alguns trabalhos envolvendo estes alimentos



como base dos filmes, havendo um aumento mais expressivo nos últimos cinco anos (Otoni *et al.*, 2017).

Estes filmes podem ser desenvolvidos somente a partir de frutas e vegetais, já que esses alimentos possuem naturalmente proteínas e polissacarídeos em sua composição, compostos base na produção de filmes e coberturas devido ao seu potencial de polimerização. Entre estes podemos citar filmes à base de pêra, maçã, pêssego e damasco (Mchugh *et al.*, 1996), banana (Martelli *et al.*, 2014) e manga (Sothornvit e Rodsamran, 2008). Porém, filmes desenvolvidos somente a partir dessas matrizes tendem a apresentar um comportamento frágil, pouca flexibilidade e propriedades de barreira pobres (Otoni *et al.*, 2017). Assim sendo, nas pesquisas desenvolvidas outros hidrocolóides (amido, gelatina, pectina, celulose, etc...) e plastificantes são adicionados à formulação, formando blendas poliméricas mais complexas e coesas, com propriedades físico-químicas mais desejáveis de acordo com a aplicação.

Frutas e vegetais podem ser aplicados de várias formas na formulação da embalagem. A literatura reporta a utilização na forma de purês (Sothornvit e Rodsamran, 2008; Du, Olsen, Avena-Bustillos, Mchugh, Levin, Mandrell, *et al.*, 2009; Azeredo *et al.*, 2012), extratos (Park e Zhao, 2006; Deng e Zhao, 2011; Eça Kaliana *et al.*, 2015), farinhas (Nascimento *et al.*, 2012; Andrade *et al.*, 2016), componentes isolados (Santos *et al.*, 2015), bagaço e, resíduos e subprodutos da indústria alimentícia (Fai *et al.*, 2016). Na Tabela 2.1 apresenta uma lista dos filmes obtidos à base de frutas e vegetais encontrados na literatura, a fonte do alimento e os hidrocolóides/plastificantes/aditivos utilizados nas formulações.

**Tabela 2.1.** Composição de filmes biodegradáveis e/ou comestíveis à base de frutas e vegetais.

Frutas e vegetais	Fonte	Hidrocolóide	Plastificante	Aditivo	Referência
Abóbora	Extrato do resíduo	Amido de mandioca	Glicerol	Lecitina de soja	(Caetano <i>et al.</i> , 2017)
Abóbora	Extrato do resíduo	Amido de mandioca	Glicerol	Lecitina de soja	(Dos Santos Caetano <i>et al.</i> , 2018)
Acerola	Farinha	Amido de mandioca	Glicerol		(Farias <i>et al.</i> , 2012)
Acerola	Purê	Alginato, nanocristais de celulose (NCC)	Xarope de milho	Alginato de sódio	(Azeredo <i>et al.</i> , 2012)
Acerola	Polpa	Amido de mandioca	Glicerol		(Dantas <i>et al.</i> , 2015)
Acerola	Extrato	Pectina	Glicerol	Cloreto de cálcio	(Eça Kaliana <i>et al.</i> , 2015)

Tabela 2.1 Continuação da Tabela 2.1.

Frutas e vegetais	Fonte	Hidrocolóide	Plastificante	Aditivo	Referência
Banana	Farinha	Pectina	Glicerol	Cloreto de sódio	(Sothornvit e Pitak, 2007)
Banana	Purê	Quitosana, pectina	Glicerol	Ácido ascórbico e cítrico	(Martelli Milena <i>et al.</i> , 2012)
Beterraba	Farinha do resíduo	Gelatina	Glicerol		(Iahnke <i>et al.</i> , 2016)
Cenoura	Purê	Amido de milho, carboximetil celulose (CMC), gelatina bovina	Glicerol		(Wang <i>et al.</i> , 2011)
Cenoura	Farinha do resíduo	Gelatina	Glicerol		(Iahnke <i>et al.</i> , 2015)
Cranberry	Extrato do bagaço	Pectina	Glicerol, Sorbitol		(Park e Zhao, 2006)
Damasco	Purê	NA			(Mchugh <i>et al.</i> , 1996)
Maçã	Purê	NA			(Mchugh <i>et al.</i> , 1996)
Maçã	Purê	Pectina	Glicerol	Ácido Cítrico e ascórbico, óleos: orégano, lemongrass, canela	(Rojas-Graü <i>et al.</i> , 2006)
Maçã	Purê	Alginato		<i>N</i> -acetylcysteine, óleos de orégano, carvacrol, lemongrass, canela, citral, cinamaldeído	(Rojas-Graü <i>et al.</i> , 2007)
Maçã	Purê e polifenol extraído da casca	Pectina	Glicerol	Ácido ascórbico e cítrico	(Du <i>et al.</i> , 2011)
Maçã	Extrato	Pectina	Glicerol	Cloreto de cálcio	(Eça Kaliana <i>et al.</i> , 2015)
Mamão	Farinha da casca	Gelatina	Glicerol		(De Moraes Crizel <i>et al.</i> , 2018b)
Manga	Purê	NA			(Sothornvit e Rodsamran, 2008)
Manga	Purê	Nanocristais de celulose (NCC)			(Azeredo Henriette <i>et al.</i> , 2009)
Manga	Polpa	Amido de mandioca	Glicerol		(Dantas <i>et al.</i> , 2015)
Manga	Polpa em pó	Amido de mandioca	Glicerol	Erva Mate	(Reis <i>et al.</i> , 2015)
Maracujá	Farinha	Amido de mandioca	Glicerol	Nanopartículas de argila	(Nascimento <i>et al.</i> , 2012)

**Tabela 2.1** Continuação da Tabela 2.1.

<b>Frutas e vegetais</b>	<b>Fonte</b>	<b>Hidrocolóide</b>	<b>Plastificante</b>	<b>Aditivo</b>	<b>Referência</b>
<b>Maracujá</b>	Farinha	Amido de mandioca	Glicerol	Nanopartículas de argila	(Nascimento <i>et al.</i> , 2012)
<b>Mirtilo</b>	Farinha e extrato do bagaço	Gelatina	Glicerol		(De Moraes Crizel <i>et al.</i> , 2016)
<b>Mix de FV</b>	Farinha do resíduo	NA, farinha de batata			(Andrade <i>et al.</i> , 2016)
<b>Morango</b>	Extrato	Pectina	Glicerol	Cloreto de cálcio	(Eça Kaliana <i>et al.</i> , 2015)
<b>Oliva</b>	Farinha do bagaço	Quitosana	Glicerol		(De Moraes Crizel <i>et al.</i> , 2018a)
<b>Pêra</b>	Purê	NA		Cloreto de cálcio	(Mchugh <i>et al.</i> , 1996)
<b>Pêssego</b>	Purê	NA			(Mchugh <i>et al.</i> , 1996)
<b>Romã</b>	Suco	Pectina	Glicerol	Ácido cítrico	(Azeredo <i>et al.</i> , 2016)
<b>Seriguela</b>	Polpa	Amido de mandioca	Glicerol		(Dantas <i>et al.</i> , 2015)
<b>Tomate</b>	Purê	Pectina		Óleo de orégano	(Du, W. X. <i>et al.</i> , 2008)
<b>Tomate</b>	Purê	Pectina		Óleos de pimenta da jamaica, alho, e orégano	(Du, Olsen, Avena-Bustillos, Mchugh, Levin, Mandrell, <i>et al.</i> , 2009)
<b>Uva</b>	Extrato do bagaço	Alginato, pectina	Glicerol		(Deng e Zhao, 2011)

NA = Não Aditivado

Filmes biodegradáveis à base de frutas e vegetais possuem propriedades mecânicas e de barreira variadas, assim como os filmes obtidos a partir do petróleo. As propriedades mecânicas e de barreira dependem fortemente da composição do filme e da interação entre os diferentes componentes da matriz. A Tabela 2.2 apresenta os valores encontrados na literatura para as propriedades mecânicas, permeabilidade ao vapor d'água, atividade antioxidante e antimicrobiana.

**Tabela 2.2.** Propriedades de filmes biodegradáveis e/ou comestíveis à base de frutas e vegetais.

Frutas e vegetais	Tensão de ruptura [Mpa]	Elongação [%]	Módulo de Yang [Mpa]	PVA (°C, RH) [g mm m <sup>-2</sup> kPa <sup>-1</sup> h <sup>-1</sup> ]	Atividade Antiox.	Atividade Antimic.	Referência
Abóbora				0,9 (25, 75/0)	X	X	(Caetano <i>et al.</i> , 2017)
Abóbora	0,32 – 1,7	114 - 258	84 -1648	0,41 – 0,66 (25, 75/0)	X	X	(Dos Santos Caetano <i>et al.</i> , 2018)
Acerola		14 - 22			X		(Dantas <i>et al.</i> , 2015)
Acerola	10,7	10,5	391	0,123 (25,65/33)	X		(Eça Kaliana <i>et al.</i> , 2015)
Acerola	3,16 – 6,10	16 - 28	15 - 50	0,31 – 0,87 (24, 75/0)			(Azeredo <i>et al.</i> , 2012)
Acerola	0,77 – 3,9	23 - 44		0,20 – 0,27 (25, NI)			(Farias <i>et al.</i> , 2012)
Banana	2,5 – 16	3,0 - 17	0,8 - 10				(Sothornvit e Pitak, 2007)
Banana	0,7 - 6,9	12,0 - 27	4 - 120	1,9 - 3,03 (25, 100/0)		Não encontrado	(Martelli Milena <i>et al.</i> , 2012)
Beterraba	2,4	117 - 229	365 -731	0,43 – 0,46 (25, 75/0)	X		(Iahnke <i>et al.</i> , 2016)
Cenoura	1,2 – 2,5	61 - 213	232 - 1831	0,42 – 0,64 (25, 75/0)	X		(Iahnke <i>et al.</i> , 2015)
Cenoura	2,46 - 12,31	4,36 - 22,7		4,8 - 18,41 (25,85/0)			(Wang <i>et al.</i> , 2011)
Cranberry	1 - 8,1	12,9 - 47,7		2,85 - 3,05 (25,100/50)			(Park e Zhao, 2006)
Damasco				7,7			(Mchugh <i>et al.</i> , 1996)
Maçã				4,2			(Mchugh <i>et al.</i> , 1996)
Maçã	0,54 - 0,79	22 - 26	4 - 7,6	6,17 - 7,48 (25, 63/0)		X	(Rojas-Graü <i>et al.</i> , 2006)
Maçã	2,4 - 2,9	51 - 58	5,7 - 7	4,37 - 5,25 (25, 65/0)		X	(Rojas-Graü <i>et al.</i> , 2007)
Maçã	2,2 -2,9	38,2 - 42,2	2,29 - 9,05	3,13 - 3,96 (25, 74/0)		X	(Du <i>et al.</i> , 2011)
Maçã	2,8-3,6	48 – 54	3,6 - 5,1	3,4 - 3,8 (25, 78/0)		X	(Du, Olsen, Avena-Bustillos, Mchugh, Levin e Friedman, 2009)
Maçã	1,4-1,9	38 - 50		3,8 - 5 (25, 78/0)		X	(Du, W.-X. <i>et al.</i> , 2008)
Maçã	8,3	10,8	244	0,148 (25,65/33)	X		(Eça Kaliana <i>et al.</i> , 2015)
Mamão	1,0 – 1,8	59 - 132	664 - 856	1,64 – 1,75 (25, 75/0)	X		(De Moraes Crizel <i>et al.</i> , 2018b)

Tabela 2.2 Continuação da Tabela 2.2.

Frutas e vegetais	Tensão de ruptura [Mpa]	Elongação [%]	Módulo de Yang [Mpa]	PVA (°C, RH) [g mm m <sup>-2</sup> kPa <sup>-1</sup> h <sup>-1</sup> ]	Atividade Antiox.	Atividade Antimic.	Referência
Manga	1,2	18,5	8,3	8,87 (27,50/0)			(Sothornvit e Rodsamran, 2008)
Manga	4,09 - 8,76	31,5 - 44,0	19,85 - 322	1,9 - 2,66 (24, NI)			(Azeredo Henriette <i>et al.</i> , 2009)
Manga		24 - 35			X		(Dantas <i>et al.</i> , 2015)
Manga	1,36 - 4,03	55 - 69		5,74 - 9,55 (23, 0/75)	X		(Reis <i>et al.</i> , 2015)
Maracujá	1 - 8,0	11,0 - 16	146 - 203	0,29 - 0,36 (25,100/0)			(Nascimento <i>et al.</i> , 2012)
Mirtilo	2,8 - 1,3	86 - 300	196 - 735	0,99 - 0,57 (25, 75/0)	X		(De Moraes Crizel <i>et al.</i> , 2016)
Mix de FV	28-84	30 - 34	3,0-4	2,45 - 2,78 (25, 100/0)			(Andrade <i>et al.</i> , 2016)
Morango	10	6,8	384	0,104 (25,65/33)	X		(Eça Kaliana <i>et al.</i> , 2015)
Oliva	2,89 - 7,58	13,3 - 17,5	12 - 40	1,32 - 2,23 (25, 75/0)	X		(De Moraes Crizel <i>et al.</i> , 2018a)
Pêra				2,4 - 4,1			(Mchugh <i>et al.</i> , 1996)
Pêssego				5,8			(Mchugh <i>et al.</i> , 1996)
Romã	1,82-7,77	8 - 20	7-45,0	3,4 - 10,9 (25, NI)			(Azeredo <i>et al.</i> , 2016)
Seriguela		26 - 34			X		(Dantas <i>et al.</i> , 2015)
Tomate	8,9 - 14,8	6 - 11,2	187 - 465	2,11 - 2,68 (25, 83/0)		X	(Du, W. X. <i>et al.</i> , 2008)
Tomate	7,1 - 9,1	29 - 32	44-68	2,3 - 2,7 (25,80/0)		X	(Du, Olsen, Avena-Bustillos, Mchugh, Levin, Mandrell, <i>et al.</i> , 2009)
Uva	1,12-4,04	9,89 - 23		2,5 - 2,9 (25,100/50)		X	(Deng e Zhao, 2011)

Quando comparados aos filmes comerciais, os filmes à base de frutas e vegetais possuem valores de tensão de ruptura próximos ao polietileno de baixa densidade (8 a 10 MPa), polietileno de alta densidade (19 a 31 MPa) e menores que o de policloreto de vinila

(42 a 55 MPa) e polipropileno (27 a 98). Já a elongação na ruptura possui um espectro maior de valores, podendo ser comparado ao poliestireno (2 a 3 %), polietileno de alta densidade (20 a 50 %) e ao policloreto de vinila (20 a 180 %) (Bastarrachea *et al.*, 2011). Em geral, filmes à base de frutas apresentam maior elongação do que os vegetais, devido à quantidade de açúcares presentes (os quais podem atuar como plastificantes). Enquanto os filmes à base de vegetais são mais fortes devido à quantidade de fibras presentes nesses alimentos (Otoni *et al.*, 2017). Dependendo da aplicação desejada, como por exemplo na separação de frios, bolachas e massas, filmes com menor elongação podem ser aplicados. Já na cobertura de alimentos que devem ser protegidos de fraturas, filmes com maior tensão de ruptura são mais adequados.

Quanto às propriedades de barreira, filmes biodegradáveis em geral possuem uma baixa permeabilidade a gases e uma maior permeabilidade ao vapor d'água (PVA). Filmes à base de frutas costumam apresentar valores de PVA mais elevados devido à composição hidrofílica dos componentes presentes. Uma das formas de diminuir estes valores é a adição de óleos ou ceras às blendas, e aditivos que promovam reticulação dos compostos durante o processamento do filme. Devido a este caráter hidrofílico, estes filmes também costumam apresentar altos valores de solubilidade, inchamento e umidade. Para aplicações como sachês para alimentos prontos (arroz, massas) filmes altamente solúveis podem ser aplicados como embalagem. Já para aplicações em alimentos secos e desidratados (nozes, salgadinhos) deve-se utilizar filmes com menor afinidade à água.

Além disso, filmes à base de frutas e vegetais costumam apresentar atividade antioxidante e antimicrobiana. Devido à presença natural de polifenóis, tocoferóis, vitaminas, óleos essenciais e ácidos orgânicos em frutas e vegetais, filmes produzidos a partir desses alimentos são altamente promissores como embalagens ativas. Como discutido anteriormente, essas embalagens tem se tornado cada vez mais interessantes devido ao seu papel na segurança alimentar, aumento da vida de prateleira e suplemento nutricional.

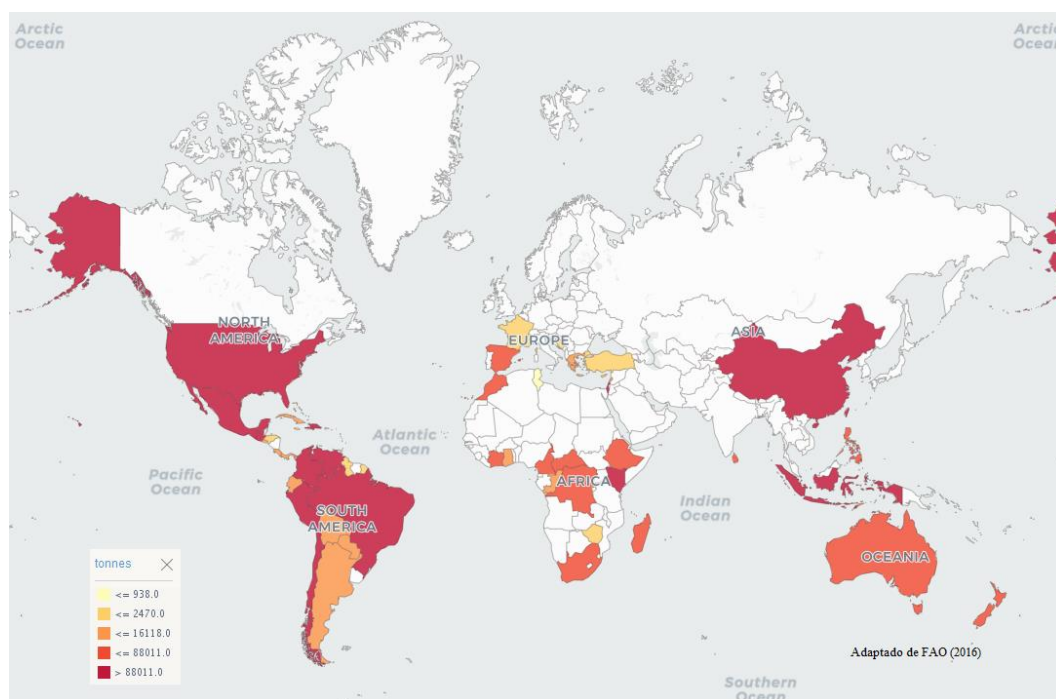
#### **2.4. Resíduo da extração aquosa do óleo de abacate**

O abacate (*Persea Americana*) é um fruto tropical e subtropical originário da América Central, destacando-se a Guatemala, Antilhas e México. A produção mundial do fruto é cerca de 5,5 milhões de toneladas anuais, com uma área de plantio de 564 mil ha (FAO, 2016), estando o Brasil na sexta posição (Figura 2.6). A produção brasileira ocorre em todas as

regiões do país, sendo as regiões Sudeste, Sul e Nordeste os principais produtores. O estado de São Paulo é o maior produtor com 52 % da produção total nacional, seguido de Minas Gerais (26 %), Paraná (10 %) e Rio Grande do Sul (5 %) (IBGE, 2016). O mercado desse produto encontra-se em crescimento devido aos avanços nas tecnologias de pós-colheita, redução de barreiras comerciais e aumento ao incentivo de plantação nos países produtores. Além disso, a cultura é considerada de baixo risco comercial, devido às demandas no mercado externo e interno, estimulado pela divulgação dos benefícios do abacate à saúde (Pereira, 2015).

Os cultivares existentes são inúmeros possuindo diversas formas, tamanhos e pesos, bem como diferentes proporções de casca, caroço e polpa (Tango *et al.*, 2004). No Brasil os cultivares mais comercializadas são Simmonds, Barbieri, Quintal e Fortuna. As variedades Hass e Fuerte que possuem menor calibre são as mais exportadas, possuem selo de certificação e são comercializadas sob a denominação ‘Abacate’ (Pereira, 2015).

**Figura 2.6.** Distribuição da produção mundial de abacate em toneladas (2016).



Diversos estudos foram realizados comprovando os benefícios do abacate e de seus derivados na dieta humana. As pesquisas demonstraram que o consumo de abacate apresenta relação na prevenção de doenças vasculares, pois a presença de gorduras monoinsaturadas reduz o colesterol total, triglicerídeos e diminui o LDL (*Low Density Lipoproteins*) e aumenta o HDL (*High Density Lipoproteins*) (Werman *et al.*, 1989; Salazar *et al.*, 2005; Ortiz-Avila *et al.*, 2013). Devido à presença de carotenoides absorvidos pelo organismo em combinação com

outros fitoquímicos presentes na dieta, o consumo do fruto pode reduzir o risco de câncer de próstata (Lu *et al.*, 2005; Ding *et al.*, 2007). Além disso, a presença de luteína e zeaxantina, principais carotenoides presentes, são anti-inflamatórios com atividades antioxidantes e analgésicas, contribuindo no tratamento de osteoartrite e na prevenção da diminuição da visão devido à idade (Dreher e Davenport, 2012).

O abacate possui como característica o elevado conteúdo de lipídios em sua composição, o qual pode variar de 10 a 30 % dependendo do cultivar, além de possuir menor quantidade de carboidratos (aproximadamente 10 %) se comparado com outras frutas (Kadam e Salunkhe, 1995; Tango *et al.*, 2004; Dreher e Davenport, 2012). A polpa do abacate possui um extrato seco elevado e bom teor de proteínas, as quais são em torno de 2 % (Tango *et al.*, 2004). Contém vitaminas lipossolúveis, principalmente A e B, com menores quantidades de vitaminas D e E. Além disso, o fruto é rico em ácidos graxos monoinsaturados, ômega 6 e 9, fitoesteróis e tocoferóis (Ding *et al.*, 2007; Dos Santos *et al.*, 2014), os quais têm sido reconhecidos como benéficos para a saúde. Os ácidos graxos ômega 9 apresentam relação com a prevenção de doenças cardiovasculares (Rebollo *et al.*, 1998).

Por ser um fruto climatérico possui taxa de perecibilidade elevada sendo este um entrave para sua comercialização. A comercialização da polpa do fruto do abacate também é um desafio devido ao escurecimento enzimático provocado pela ação da polifenoloxidase e da peroxidase (Soliva *et al.*, 2000; Gómez-López, 2002; Rojas-Reyes José *et al.*, 2013; Bi *et al.*, 2015). Além disso, devido ao alto teor de lipídeos, o fruto torna-se suscetível a rancidez oxidativa e hidrolítica (Tango *et al.*, 2004).

Para a estabilização da polpa de abacate, utiliza-se a combinação de diferentes métodos, como a conservação a frio, utilização de aditivos, controle de temperatura e diminuição de pH. Dentre os métodos utilizados está a adição de ácido ascórbico e ácido cítrico, além da utilização de técnicas de tratamento térmico e utilização de embalagens com atmosfera modificada (Soliva *et al.*, 2000; Elez-Martínez *et al.*, 2006; Ramos-Villaruel Ana *et al.*, 2011). Tratamentos térmicos mais agressivos inativam a polifenoloxidase, mas podem alterar a granulidade da polpa, além do desenvolvimento de gosto amargo (Ben-Et *et al.*, 1973). Outros tratamentos como micro-ondas, radiação UV e processamento por alta pressão estão sendo utilizados para aumentar a estabilidade desse produto (Guzmán *et al.*, 2002; Daiuto e Vieites, 2008; Jacobo-Velázquez e Hernández-Brenes, 2010). Também são utilizados  $\alpha$ -tocoferol e EDTA (ácido etilenodiamino tetra-acético) e o uso de pulsos elétricos



---

para o aumento da estabilidade lipídica oxidativa do produto (Elez-Martínez *et al.*, 2006; Aguiló-Aguayo *et al.*, 2014).

O fruto possui diversas aplicações comerciais, desde o consumo do fruto propriamente dito, até o consumo do óleo da fruta, proveniente da extração. O óleo é utilizado principalmente na indústria farmacêutica e cosmética devido ao seu valor na conservação e restauração da pele (Bleinroth e De Castro, 1992). O óleo do abacate também assemelha-se ao azeite de oliva em suas propriedades físico-químicas, devido a similaridade na composição de ácidos graxos, predominantemente o ácido oleico, sendo considerado um substituto ao azeite de oliva (Tango e Turatti, 1992). Apesar de não terem sido encontradas informações sistemáticas sobre a produção do óleo de abacate na literatura, mas sim apenas algumas informações pontuais, sabe-se que ele é produzido nos Estados Unidos, México, China e Nova Zelândia, Chile, Quênia e África do Sul (Wong *et al.*, 2010). No Brasil, não foram encontrados dados sobre a produção do óleo, mas a fabricação tem sido promovida, principalmente na região de Minas Gerais devido a grande quantidade plantação do cultivar na região e parceria com a Emater – MG (Borges, 2015).

A extração do óleo do abacate, um dos principais produtos advindos do processamento desse fruto pode ser realizado de diversas maneiras. Uma das formas trata-se do processo por centrifugação ou extração aquosa, onde semente e casca são retirados e a polpa é homogeneizada com água quente. A temperatura da água pode variar entre 40 – 80 °C. Após a homogeneização, a mistura formada é colocada em uma centrífuga, onde ocorre o processo de separação entre o óleo e o restante da polpa adicionada de água. Este é o processo mais simples de extração do óleo, porém consome uma quantidade de água substancial para que o processo seja realizado. O rendimento fica em torno de 60 % (Tango e Turatti, 1992; Rosenthal *et al.*, 1996; Bi *et al.*, 2015; Ferrari, 2015).

Outro processo trata-se da extração por prensagem. Neste processo a polpa passa por um pré-tratamento, onde é seca para a retirada de água (60 % do conteúdo da polpa, aproximadamente) e triturada para uma melhor retirada dos óleos. Após, são adicionados auxiliares de prensagem e realizada a prensagem a quente da polpa desidratada, obtendo-se assim, o óleo e a farinha da polpa. Este processo possui um rendimento maior que o anteriormente citado e pode ser realizado com a presença da casca no processo, porém neste último caso o rendimento torna-se menor. Devido à grande quantidade de umidade presente na polpa do fruto, o processo de secagem pode-se tornar oneroso e demorado, dependendo da

temperatura utilizada. Temperaturas muito elevadas, para a retirada da umidade, podem promover a oxidação dos óleos extraídos (Tango *et al.*, 2004).

Por último, o processo que possui maior rendimento, trata-se da extração por solvente (Werman e Neeman, 1987; Rosenthal *et al.*, 1996). O solvente mais utilizado e que possui o maior rendimento comercial é do hexano. A polpa (e a casca, dependendo do processo) são secas e moídas, após é realizado o processo de extração por solvente em extrator tipo soxhlet. A extração produz um resíduo seco e uma mistura de óleo e solvente que depois passará por um processo de evaporação para a retirada do hexano presente (Moreno *et al.*, 2003).

O processo de extração aquosa, apesar de ser o que apresenta o menor rendimento, não utiliza aditivos ou solventes químicos para a sua realização, tornando-se um processo ecologicamente mais atraente (Rosenthal *et al.*, 1996). A tendência ao desenvolvimento de produtos cada vez mais naturais e processos que produzam poucos resíduos e sejam menos danosos ao meio ambiente torna esse processo de extração relevante. Além disso, trata-se do processo com menor custo de implementação e investimento, podendo ser utilizado por pequenas empresas ou pequenos produtores que, por exemplo, organizados em cooperativas podem agregar valor na cadeia de comercialização, que não seja somente o produto in natura (Bizimana *et al.*, 1993).

Os resíduos desse processo são a polpa hidratada e parcialmente desengordurada, o caroço e a casca do abacate. Desses resíduos, atualmente a casca e a polpa são destinados para a adubagem e o caroço para a produção de mudas e posterior replantio (Ferrari, 2015).

Sendo assim, o aproveitamento do resíduo da extração de óleo de abacate, especificamente a polpa parcialmente desengordurada e hidratada, apresenta-se como uma fonte promissora no desenvolvimento de embalagens e produtos na indústria alimentícia.

## **Capítulo 3 - Materiais e Métodos**

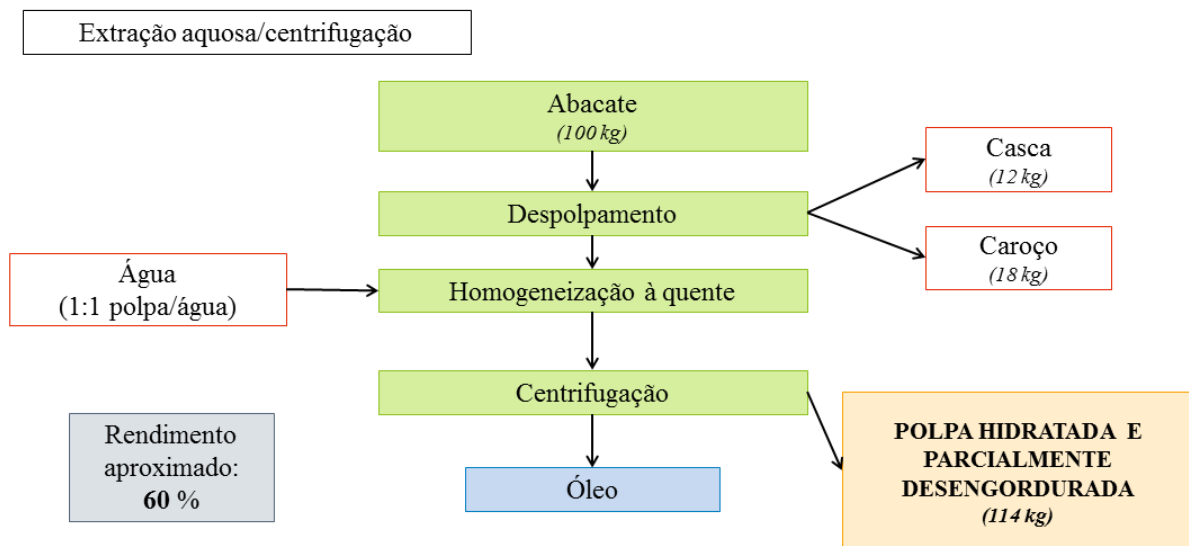
O presente trabalho foi desenvolvido utilizando infraestrutura de diferentes laboratórios da Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS). As análises físico-químicas e propriedades dos filmes foram realizadas no Laboratório de Compostos Bioativos e Equipamentos Especiais do Instituto de Ciência e Tecnologia de Alimentos (ICTA). As análises microbiológicas e estatísticas no Laboratório de Tecnologia e Processamento de Polímeros (LATEP) e Laboratório de Tecnologia Química (LATEQ) do Departamento de Engenharia Química (DEQUI). A análise de microscopia eletrônica de varredura foi realizada no Centro de Microscopia Eletrônica (CME). As análises térmicas e de infravermelho foram realizadas no Laboratório de Altas Pressões e Materiais Avançados (LAPMA) e na Central Analítica do Programa de Pós-Graduação em Engenharia Química (PPGEQ/UFRGS).

### **3.1. Obtenção do resíduo da extração aquosa do óleo de abacate**

Como relatado no capítulo anterior o resíduo da extração aquosa (ou por centrifugação) do óleo de abacate trata-se de uma polpa parcialmente desengordurada e hidratada (Figura 3.1). Este resíduo não contém qualquer aditivo ou reagente químico e, portanto, possui grau alimentício segundo as Boas Práticas de Fabricação de Alimentos. O resíduo foi fornecido pela empresa Avocado BR Óleos Essenciais Ltda., localizada na cidade de Venâncio Aires, a qual comercializa o óleo de abacate, extraído pelo método de centrifugação, com registro sob a patente PI 0602714-8/2007. Segundo o fornecedor, o abacate utilizado na produção é de uma variedade híbrida dos cultivares Hass e Fuerte, os quais têm pequeno calibre.

A polpa compreende aproximadamente 70 % do peso total do fruto (Tango *et al.*, 2004). Considerando, que abacates da variedade Hass têm em média 30 % de lipídeos presentes na polpa em sua composição e que o rendimento da extração do óleo seria em torno de 60 %, gera-se em torno de 85 g de resíduo para 100 g de abacate utilizado para alimentação. Sendo este resíduo composto por 60 % polpa parcialmente desengordurada, 12 % casca e 18 % caroço, aproximadamente. Além, é claro, da água utilizada no processo, que possui uma relação de aproximadamente 1:1 polpa/água. A polpa, portanto, é o componente majoritário do resíduo deste processo de extração de óleo.

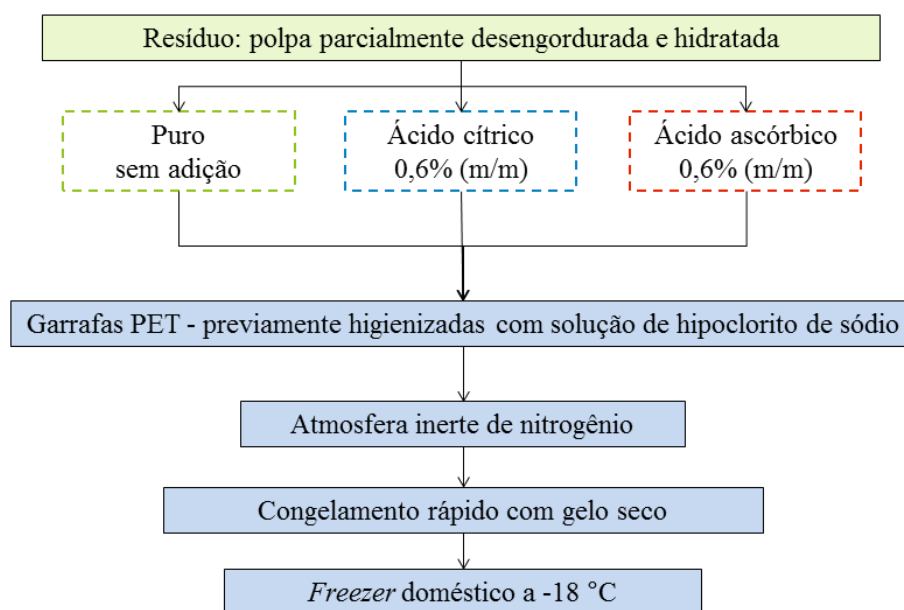
**Figura 3.1.** Fluxograma do processo de extração por centrifugação do óleo de abacate e quantidade aproximada de resíduos produzidos estipulando 100 kg de abacate na alimentação.



Sessenta litros (60 L) de resíduo foram coletados diretamente da linha de processamento e divididos em 3 partes iguais. Em uma das partes foi adicionado ácido cítrico em uma proporção de 0,6 % (m/m) em base úmida. Na segunda parte foi adicionado ácido ascórbico também em uma proporção de 0,6 % (m/m) em base úmida. E à terceira parte não foi adicionado nenhum outro aditivo. Após, as amostras foram acondicionadas em garrafas PET, previamente higienizadas com solução de hipoclorito de sódio, sob atmosfera inerte de nitrogênio e submetidas a congelamento rápido com gelo seco. Todas as amostras coletadas foram mantidas acondicionadas em freezer doméstico a -18 °C até a sua utilização nos experimentos. A Figura 3.2 apresenta o fluxograma do processo de obtenção do resíduo, tratamento e acondicionamento das amostras. Os ácidos cítrico e ascórbico foram adicionados com o intuito de prevenir o escurecimento enzimático da polpa durante a sua conservação e utilização. As quantidades utilizadas (0,6 % m/m) foram determinadas baseadas em trabalhos reportados anteriormente na literatura (Soliva *et al.*, 2000; Ramos-Villarroel Ana *et al.*, 2011).

Para todos os testes e experimentos realizados, as amostras congeladas foram descongeladas a temperatura ambiente, sem descongelamento rápido ou forçado, ou calor e se pudesse obter o resíduo o mais próximo do estado físico-químico quando da saída da produção do óleo de abacate.

**Figura 3.1.** Fluxograma do processo de obtenção do resíduo, tratamento e acondicionamento das amostras.



### 3.2. Composição centesimal do resíduo

O resíduo foi caracterizado de acordo com o método AOAC (AOAC, 2012) de caracterização físico-química para determinação de umidade, proteína, gorduras e cinzas. Todas as análises foram realizadas em triplicata e os resultados expressos em g/100 g em base seca.

Para determinação da umidade, 10 gramas de amostra do resíduo puro foram pesadas (Shimadzu, modelo AY 220, Japão) e colocadas em estufa (DeLeo, modelo 48 TLK, Brasil) a 105 °C para secar e pesadas regularmente até atingir-se peso constante. O conteúdo total de proteínas foi calculado pelo método de Kjeldahl clássico (fator de correção: 6,5). A determinação da quantidade de lipídios no resíduo foi realizada usando-se um extrator Soxlet (Foss Soxtec, modelo 2055, Denmark) com éter de petróleo como solvente. O conteúdo de cinzas foi determinado por incineração a 550 °C usando uma mufla (Elektro Therm Linn, 312.6 SO LM 1729, Germany) por 12 h.

A quantidade de fibras solúveis e insolúveis foi determinada pelo método enzimático-gravimétrico, utilizando-se o *kit* de ensaio total de fibra dietética TDF 100A (Sigma Aldrich).

Os carboidratos foram obtidos por diferença, subtraindo de 100 % a soma dos outros componentes identificados anteriormente.

### 3.3. Elaboração dos filmes

A seguir são apresentadas as formulações das soluções filmogênicas, bem como os parâmetros de secagem utilizados na elaboração dos filmes de abacate. As codificações utilizadas para cada uma das formulações elaboradas são as mesmas utilizadas nos artigos apresentados nos capítulos seguintes. Todos os filmes elaborados foram preparados pelo método de *casting*.

#### 3.3.1. Filmes do resíduo da extração do óleo de abacate contendo amido de mandioca, celulose e glicerol

Sete soluções filmogênicas foram elaboradas usando o resíduo puro como componente principal na formulação. A primeira delas, codificada como AC, foi produzida utilizando-se somente o resíduo puro. Outras seis formulações foram elaboradas usando diferentes proporções de glicerol (Dinâmica, Brasil) (0,5 a 1 g), amido de mandioca (amilose: 18 %, amilopectina: 82 %; Yoki, Brasil) (1 g) e celulose microcristalina (densidade: 0,26 – 0,32; massa molar: 162 g mol<sup>-1</sup>; grau de polimerização: 350; Synth, Brasil) (0,5 g). A composição e a codificação dos filmes são apresentadas na Tabela 3.1.

**Tabela 3.1** Composição dos filmes de abacate elaborados com amido de mandioca, celulose e glicerol.

Filme	Resíduo (g)	Glicerol (g)	Amido de Mandioca (g)	Celulose Microcristalina (g)
AC	100	-	-	-
AG05	99,5	0,5	-	-
AG10	99	1	-	-
ASG05	98,5	0,5	1	-
ASG10	98	1	1	-
AMG05	99	0,5	-	0,5
AMG10	98,5	1	-	0,5

Filmes de abacate (A) sem nenhum aditivo (C → amostra controle) e com adição de 0,5 e 1 g de glicerol (G05 e G10), amido de mandioca (S) ou celulose microcristalina (M).

Primeiramente, a solução de amido de mandioca foi preparada com uma suspensão de 5 g de amido para 100 g de água destilada (5 % m/m). A solução foi aquecida em uma placa

---

aquecedora (Fisatom, modelo 752A, Brasil) até aproximadamente 75 °C sob constante agitação (450 rpm) (Eduotec, modelo EEQ9034, Brasil), e mantida aproximadamente por 20 min até a completa gelatinização do amido. Então, a solução de amido gelatinizada foi mantida em banho-maria (DeLeo B450, Brasil) a 40°C até a sua utilização na preparação das soluções.

Após, foram preparadas as soluções filmogênicas conforme as proporções apresentadas na Tabela 3.1. Todas as soluções foram agitadas a 300 rpm durante 10 min a temperatura ambiente a fim de obter uma solução homogênea e garantir uma boa mistura de todos os componentes. As soluções foram vertidas em placas de acrílico na quantidade de 0,20 g cm<sup>-2</sup> e levadas para secagem. Foram produzidas nove placas para cada uma das 7 formulações. Os filmes foram secos durante 16 h a 40 °C em estufa (DeLeo, model B5AFD, Brasil) com convecção forçada.

### ***3.3.2. Filmes do resíduo da extração do óleo de abacate contendo amido de mandioca, ácido ascórbico e ácido cítrico***

A partir dos resultados obtidos para os filmes descritos anteriormente foram elaborados nove soluções filmogênicas usando o resíduo puro, o resíduo com adição de 0,6 % de ácido ascórbico e o resíduo com 0,6 % de ácido cítrico como componente principal nas formulações. Nestas formulações, quantidades previamente estipuladas de glicerol (2 g) e amido de mandioca (2 a 3 g) foram adicionadas. A solução de amido de mandioca (5 g de amido/100 g de água destilada) foi aquecida até aproximadamente 75 °C, sob constante agitação (450 rpm) e mantida nessas condições até a completa gelatinização do amido por aproximadamente 30 min. A solução foi mantida em banho-maria (DeLeo B450, Brasil) a 60°C até a sua utilização na preparação das soluções filmogênicas. Após, as soluções filmogênicas foram preparadas conforme apresentado na Tabela 3.2.

O soluções filmogênicas preparadas foram agitadas (300 rpm) (Eduotec, EEQ9034 model, Brazil) a temperatura ambiente durante 5 min a fim de obter uma boa homogeneização de todos os componentes da mistura. Então, estas foram vertidas em placas de acrílico na quantidade de 0,25 g cm<sup>-2</sup> e secas em estufa (DeLeo, model B5AFD, Brazil) durante 16 h a 40°C com convecção forçada. Foram produzidos doze filmes para cada uma das nove formulações.

**Tabela 3.2** Composição dos filmes de abacate com o resíduo puro, ácido cítrico e ácido ascórbico, e amido de mandioca.

Filme	Polpa de abacate utilizada	Composição da solução filmogênica (w/w)		
		Polpa de abacate (com ou sem ácido)	Amido de mandioca	Glicerol
WA - 100:0:0	Pura	100	0	0
CA - 100:0:0	Adicionada de 0,6 % de CA	100	0	0
AA - 100:0:0	Adicionada 0,6 % de AA	100	0	0
WA - 96:2:2	Pura	96	2	2
CA - 96:2:2	Adicionada de 0,6 % de CA	96	2	2
AA - 96:2:2	Adicionada de 0,6 % de AA	96	2	2
WA - 95:3:2	Pura	95	3	2
CA - 95:3:2	Aditcionada 0,6 % de CA	95	3	2
AA - 95:3:2	Adicionada com 0,6 % de AA	95	3	2

Filmes de abacate sem nenhum aditivo (WA) e com adição de ácido cítrico (CA) ou ácido ascórbico (AA).

### 3.3.3. Filmes do resíduo da extração do óleo de abacate contendo gelatina bovina, ácido ascórbico e ácido cítrico

Para esta parte do trabalho, seis soluções filmogênicas foram elaboradas. Além disso, as formulações contendo somente polpa de abacate (com em sem ácidos) são apresentadas no Artigo III para melhor compreensão e discussão dos fenômenos que ocorrem nos filmes contendo gelatina. As seis soluções filmogênicas elaboradas são compostas pelas polpas de abacate (com ou sem ácido ascórbico ou cítrico) e diferentes proporções de gelatina bovina e glicerol como descrito na Tabela 3.3.

**Tabela 3.3** Composição dos filmes de abacate com o resíduo puro, ácido cítrico e ácido ascórbico, e gelatina bovina.

Filme	Polpa de abacate utilizada	Composição da solução filmogênica (m/m)		
		Polpa de abacate (com ou sem ácido)	Gelatina Bovina	Glicerol
WA - 100:0:0	Pura	100	0	0
CA - 100:0:0	Com 0,6 % de CA	100	0	0
AA - 100:0:0	Com 0,6 % de AA	100	0	0
WA - 97:2:1	Pura	97	2	1
CA - 97:2:1	Com 0,6 % de CA	97	2	1
AA - 97:2:1	Com 0,6 % de AA	97	2	1
WA - 96:2:2	Pura	96	2	2
CA - 96:2:2	Com 0,6 % de CA	96	2	2
AA - 96:2:2	Com 0,6 % de AA	96	2	2

Filmes de abacate sem nenhum aditivo (WA) e com adição de ácido cítrico (CA) ou com ácido ascórbico (AA).

Inicialmente, elaborou-se uma solução suspendendo-se 10 g de gelatina em pó em 100 g de água destilada. Essa solução foi agitada (200 rpm) à temperatura ambiente (25 °C)



---

durante 20 min. Após, a solução de gelatina foi aquecida até 70°C e agitada durante 10 min. Sendo mantida em banho controlado à 70°C até a sua utilização no preparo das soluções filmogênicas.

Então, os materiais foram misturados, nas proporções apresentadas na Tabela 3.3, durante 5 min com o auxílio de um agitador suspenso (Eduotec, EEQ9034 model, Brasil) e a solução filmogênica despejada em placas de petri de acrílico na quantidade de 0,25 g cm<sup>-2</sup>. Após, as amostras foram secas (*casting*) em uma estufa de secagem com circulação de ar (DeLeo, model B5AFD, Brasil) a 40° C durante 16 h.

### **3.4. Análise do conteúdo de amilose do amido de mandioca**

Foi realizada a medida da quantidade de amilose utilizando-se o método colorimétrico de iodo simplificado (Martinez e Cuevas, 1989). A amostra de 100 mg de amido de mandioca foi colocada em balão volumétrico (100 mL) e acrescentados 1 mL de álcool etílico 96 % (Êxodo, Brasil) e 9 mL de solução de NaOH (1 N) (Neon, Brasil). Após, foi colocada em banho-maria a 100 °C por 10 min, deixada resfriar e completado o volume do balão. Depois desta primeira preparação, alíquotas de 5 mL desta solução foram transferidas para outro balão volumétrico (100 mL), onde foram adicionados 2 mL de solução de iodo 2 % (p/v) e 1 mL de ácido acético 1 N e completado o volume do balão com água destilada. Para a construção da curva padrão foi utilizada 40 mg de amilose pura (Sigma, USA) e submetidas ao mesmo procedimento das amostras de amido de mandioca. A leitura de absorbância foi realizada em espectrofotômetro (modelo UV-1800, Shimadzu, Japão) a 610 nm, 30 minutos após adição da solução de iodo. O cálculo do conteúdo de amilose foi obtido pela média dos valores retirados na leitura de absorbância das amostras e obtidos através da equação da reta elaborada para a curva padrão.

### **3.5. Caracterização dos filmes de abacate**

Todas as amostras foram acondicionadas em dessecador com solução saturada de brometo de sódio (Dinamica, Brazil) a 25 ± 2 °C e 50 ± 5 % UR por pelo menos 48 h antes da realização das análises. Todas as análises, quando aplicável, foram realizadas com o lado do filme exposto ao ar durante o processo de secagem.

A espessura dos filmes para cada formulação desenvolvida foi obtida a partir de vinte tiras removidas dos filmes produzidos para cada formulação, realizando-se medidas de

espessura local em cinco pontos por amostra com um micrômetro digital (Digimess, modelo IP40, Brasil) com precisão de 0,001 mm. A média e o erro padrão dos valores obtidos foram calculados.

### 3.5.1. Umidade e Solubilidade

Discos com 2 cm de diâmetro foram cortados, colocados em cadinhos metálicos previamente secos e pesados em uma balança analítica (Shimadzu, modelo AY 220, Japão). Os filmes foram secos em estufa (DeLeo, model B5AFD, Brasil) a 105 °C por 24 h, armazenados em dessecador contendo sílica e pesados novamente. A umidade das amostras é a diferença de massa encontrada entre os filmes antes e depois da secagem e expressa em % (Analysis, 2008). A solubilidade dos filmes foi determinada gravimetricamente usando os discos (2 cm) previamente secos na análise de umidade (Gontard *et al.*, 1992). Os filmes foram imersos em 30 mL de água destilada e colocados em banho-maria com agitação (80 rpm) (Novatecnica, modelo NT145, Brasil) a 25° C por 24 h. Após, foi retirada a água em excesso dos recipientes contendo as amostras e estas foram novamente secas em estufa por 24 h e 105 °C. As amostras foram, então, retiradas da estufa e pesadas novamente. A solubilidade foi determinada como a percentagem de matéria seca solubilizada após 24 h de imersão.

### 3.5.2. Gramagem

Gramagem ( $\text{g cm}^{-2}$ ) ou massa por unidade de área foi medida de acordo com a norma T410 om-13 (Tappi/Ansi, 2013). Os filmes após a secagem foram recortados em retângulos (10 cm x 5 cm) e pesadas em uma balança analítica (Shimadzu, modelo AY 220, Japão).

### 3.5.3. Cor

A cor dos filmes foi medida com um colorímetro (Minolta, CR400, Japão) à luz do dia com D65. Os parâmetros  $L^*$  (luminosidade),  $a^*$  (verde – vermelho) e  $b^*$  (azul – amarelo) da escala CIELAB foram medidos (García e Sobral, 2005; García *et al.*, 2009). As amostras foram analisadas sobre um disco branco ( $L_0$ : 97.67;  $a_0$ : 50.13 e  $b_0$ : 51.57) e foi calculado no Artigo I a diferença total de cores ( $\Delta E$ ) (Iahnke *et al.*, 2016) e nos Artigos II e III a intensidade de cor (*Chroma* –  $C^*_{ab}$ ) e o tipo de cor (*Hue* –  $h_{ab}$ ), utilizando as equações descritas a seguir:

$$\Delta E = \sqrt{(\Delta L^*)^2 + (\Delta a^*)^2 + (\Delta b^*)^2} \quad (1)$$

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

$$h_{ab} = \arctan (b^* / a^*) \quad (3)$$

onde  $\Delta L^* = L^* - L_0$ ,  $\Delta a^* = a^* - a_0$ ,  $\Delta b^* = b^* - b_0$ .

#### 3.5.4. Opacidade

A opacidade dos filmes foi medida usando um espectrofotômetro UV/VIS (Shimadzu, modelo CPS 240 A, Japão e Varian, modelo Cary 100, EUA) no comprimento de onda de 600 nm (Shiku *et al.*, 2004). Amostras retangulares dos filmes (1 mm × 5 mm) foram cortadas e colocadas no espectrofotômetro para a medida de transmitância. Os resultados de opacidade foram calculados de acordo com a equação a seguir (Han e Floros, 1997):

$$\text{Opacidade} = (-\log T_{600}) / x \quad (4)$$

onde  $T_{600}$  é a transmitância a 600 nm e  $x$  é a espessura do filme (mm).

#### 3.5.5. Permeabilidade ao vapor d'água (PVA)

A permeabilidade ao vapor d'água foi medida de acordo com a norma ASTM E96/E96M – 15 (Astm, 2015) com modificações (Dick *et al.*, 2015; Pagno *et al.*, 2015). As amostras foram colocadas em células de permeação (diâmetro interno: 63 mm; altura: 25 mm) enchidas com cloreto de cálcio anidro, granulado e desumidificado (0 % UR). As células foram hermeticamente fechadas e armazenadas a 25 °C em uma cuba de vidro contendo solução saturada de cloreto de sódio (75 % UR). As células foram pesadas em uma balança analítica (Shimadzu, AY 220 model, Japan) antes e depois de 24 horas de armazenamento. PVA foi calculado conforme a equação (3):

$$WVP = (W \times L) / (A \times t \times \Delta p) \quad (5)$$

onde  $W$  é a massa de água que permeou através do filme (g),  $L$  é a espessura do filme (mm),  $A$  é a área de permeação (0,0032 m<sup>2</sup>),  $t$  é o tempo de permeação (h), e  $\Delta p$  é a diferença de pressão de vapor entre os dois lados do filme (2,376 kPa, 25 °C).

#### 3.5.6. Propriedades Mecânicas

Tensão de ruptura ( $\sigma$ ), percentagem de alongação na ruptura ( $\varepsilon$ ) e Módulo de Young (E) foram determinados de acordo com a norma ASTM D882-12 (Astm, 2012b) usando um texturômetro (TA.XT2i, Stable Micro Systems, UK). As amostras foram cortadas em tiras (100 mm × 25 mm) e sua espessura foi medida com o um micrômetro digital. Os testes foram realizados a uma velocidade de 10 mm min<sup>-1</sup> com separação entre as garras de 50 mm.  $\sigma$  foi obtido dividindo-se a carga máxima pela área da seção transversal da amostra, enquanto que E

foi calculado como a inclinação da porção linear inicial do alongamento versus o alongamento relativo (i.e., a relação entre o alongamento absoluto no ponto considerado e a curva inicial de comprimento de medida). E  $\epsilon$  foi reportado em termos de percentagem de alongamento (isto é, alongamento relativo multiplicado por 100).

### **3.5.7. Morfologia**

A morfologia dos filmes produzidos foi avaliada por microscopia eletrônica de varredura (MEV/SEM). As amostras dos filmes foram fixadas em *stubs* de alumínio usando uma fita adesiva dupla-face e recobertas com uma fina camada de ouro. As imagens da superfície (em contato com o ar livre durante a secagem) dos filmes foram obtidas em um microscópio eletrônico de varredura (JEOL, modelo JSM 6060) com aceleração potencial de 5 kV.

### **3.5.8. Comportamento Termogravimétrico**

As análises termogravimétricas (TGA) dos filmes foram realizadas em laboratórios e equipamentos diferentes para os dois artigos. Para o Artigo I, as amostras foram analisadas em um analisador termogravimétrico (modelo TGA-50, Japão) sob vazão de argônio de 50 mL min<sup>-1</sup> com taxa de aquecimento de 10 °C min<sup>-1</sup>, da temperatura ambiente até 650 °C, utilizando 8 ± 0,5 mg de amostra. Para o Artigo II foram realizadas as TGA (TA Instruments, SDT-Q600, EUA) sob vazão de nitrogênio (100 mL min<sup>-1</sup>) a uma taxa de aquecimento de 10 °C min<sup>-1</sup>, da temperatura ambiente até 650 °C, com 10 ± 1 mg de amostra. Para uma melhor análise e discussão dos resultados obtidos foi calculada a derivada da curva gravimétrica (DTG) gerada.

### **3.5.9. Espectroscopia de Infravermelho por Transformada de Fourier (FTIR)**

A análise de espectroscopia de infravermelho por Transformada de Fourier (FTIR) foi realizada em um espectrômetro de infravermelho (Perkin Elmer, Frontier model, USA) utilizando o método de refletância total atenuada universal (UATR) (Li *et al.*, 2014). Foram realizadas 20 varreduras por amostra com resolução de 4 cm<sup>-1</sup> na faixa de número de onda de 650 a 4000 cm<sup>-1</sup>.

### **3.5.10. Atividade Antioxidante**

A atividade antioxidante foi medida através do método de captura do radical 2,2-difenil-1-picrilhidrazil (DPPH) descrito por Iahnke *et al.* (2015). Amostras de 1 cm<sup>2</sup> foram cortadas para cada uma das formulações e colocadas em 3,9 mL de solução de DPPH

metanólico ( $0,06 \text{ mmol L}^{-1}$ ). Uma solução pura de DPPH foi usada como branco. As soluções foram medidas a 517 nm após 100 min utilizando um espectrofotômetro UV/VIS (Shimadzu, UV-1800, Japão). A atividade antioxidante ( $I_{100}$ ) foi determinada como a porcentagem de inibição (%) do radical DPPH e calculada como se segue:

$$I_{100} = [(A_0 - A_{100}) \div A_0] \times 100 \quad (4)$$

onde  $A_0$  é a absorbância da amostra em branco e  $A_{100}$  é a absorbância da amostra contendo o filme.

### 3.5.11. Atividade Antibacteriana

A atividade antibacteriana foi realizada utilizando o método de difusão em ágar com adaptações. Cepas de *Salmonella Enteritidis* and *Staphylococcus aureus* provenientes de surto foram inoculadas em uma infusão de cérebro e coração (*Brain Heart Infusion*) durante 24 h a 37 °C. Filmes de 15 mm de diâmetro previamente esterilizados em capela de fluxo laminar (Pachane, modelo PA 50, Brasil) durante 15 min sob luz UV, em ambos os lados, foram cortados e colocados em placas de ágar triptona de soja (*Trypticase Soy Agar*) (Oxoid, UK) semeadas com 0,1 mL de inóculo ( $10^7 \text{ CFU mL}^{-1}$ ). As placas com as amostras foram, então, incubadas por 24 h a 37 °C (Marconi, modelo MA33, Brasil). Os valores dos diâmetros externos da zona de inibição foram medidos com o auxílio de um paquímetro e o crescimento microbiano na superfície de contato entre o disco de filme e o ágar foram visualmente examinados. O diâmetro de inibição (mm) foi calculado subtraindo o diâmetro total medido do diâmetro do disco de filme (15 mm) (Pagno *et al.*, 2016)

### 3.5.12. Análise Estatística

A análise estatística foi realizada por meio da Análise de Variância (ANOVA) e Teste de Tukey, utilizando o software Statistica 12.0 (Statsoft Inc., Tulsa, EUA) com um nível de significância de 0,05. Os resultados foram expressos utilizando letras diferentes para grupos de médias estatisticamente diferentes.

Além disso, especificamente para o Artigo III foi realizada a Análise de Componentes Principais (ACP) utilizando-se o software Statistica 12.0 (Statsoft Inc., Tulsa, EUA). Os gráficos e autovetores obtidos são apresentados, respectivamente, no corpo do artigo e no Apêndice.



## Apresentação aos capítulos 4, 5 e 6

Os Capítulos 4, 5 e 6 estão apresentados na forma de artigos científicos. Os artigos contêm introdução, materiais e métodos, discussão e resultados, e conclusão.

No Capítulo 4 é apresentado o Artigo I - **Biobased polymer films from avocado oil extraction residue: Production and characterization**, publicado no periódico *Journal of Applied Polymer Science*, v.133, n. 37, p. 43957 – 43957 (DOI: 10.1002/APP.43957). Neste trabalho foi utilizado o resíduo de extração de óleo de abacate por centrifugação para obtenção de filmes biodegradáveis. Diferentes formulações foram desenvolvidas, sendo utilizado o resíduo como componente principal e a utilização de outros materiais como amido, glicerol e celulose microcristalina com o objetivo de melhorar as propriedades dos filmes desenvolvidos. Foi realizada a caracterização dos filmes elaborados, tais como, testes das propriedades mecânicas e de barreira a fim de analisar o potencial de aplicação desses filmes como embalagens.

O Capítulo 5 apresenta o Artigo II – **Avocado-cassava starch films: influence of organic acids on properties, antibacterial and antioxidant activity**. No Artigo II procurou-se desenvolver filmes a partir do resíduo de extração aquosa de óleo de abacate e amido de mandioca e melhorar as propriedades funcionais destes pela adição dos ácidos cítrico e ascórbico na composição. A influência destes aditivos nas propriedades mecânicas, permeabilidade ao vapor de água, teor de umidade, fração solúvel em água, opacidade, degradação térmica e atividades antioxidante e antibacteriana foram avaliadas.

O Capítulo 6 apresenta o Artigo III – **Desenvolvimento de filmes biodegradáveis baseados no resíduo da extração de óleo de abacate e gelatina bovina**. No Artigo III procurou-se desenvolver filmes a partir da mistura do resíduo da extração aquosa do óleo de

---

abacate e gelatina, bem como adicionar ácido ascórbico e cítrico para proteção da polpa utilizada e observar suas influências. Foram avaliadas as propriedades mecânicas, de barreira e óticas dos filmes bem como a capacidade antioxidante (DPPH) dos filmes produzidos.



---

## Capítulo 4 – Artigo I – *Biobased polymer films from avocado oil extraction residue: Production and characterization*

Cassandra Dalle Mulle Santos<sup>1</sup>, Carlos Henrique Pagno<sup>2</sup>, Tania Maria Haas Costa<sup>2,3</sup>, Débora Jung Luvizetto Faccin<sup>1</sup>, Simone Hickmann Flôres<sup>2</sup>, Nilo Sérgio Medeiros Cardozo<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Polymer Processing Technology Laboratory, Chemical Engineering Department, Federal University of Rio Grande do Sul (UFRGS), Rua Engenheiro Luiz Englert, s/n. Campus Central, ZC: 90040-040, Porto Alegre, RS, Brazil

<sup>2</sup>Bioactive Compounds Laboratory, Food Science and Technology Institute, Federal University of Rio Grande do Sul, Av. Bento Gonçalves n. 9500, PO Box 15059, 91501-970 Porto Alegre, RS, Brazil

<sup>3</sup>Laboratory of Solids and Surfaces, Institute of Chemistry, Federal University of Rio Grande do Sul, PO Box 15003, 91501-970, Porto Alegre, RS, Brazil

### Abstract

In view of the increasing interest in the use of residues from the food industry as source for packing applications, the by-product of the mechanical extraction of avocado oil is an attractive product since it consists basically a hydrated and defatted pulp, rich in proteins, fibers and oil. This work aims to produce biobased polymer films from avocado oil extraction residue. Seven film-forming solutions were elaborated from puree and the additives tested were glycerol, cassava starch and microcrystalline cellulose. The films obtained from the pure residue presented brittle behavior. All films presented low values of water vapor permeability (0.064 to 0.446 g mm m<sup>-2</sup> kPa<sup>-1</sup> h<sup>-1</sup>) and medium water soluble fraction (43.79 to 56.92 %). The films with cassava starch and glycerol presented the best results, with mechanical (tensile: 2.70 MPa; elongation: 13.7 %) and thermal properties in the range typically found in the literature for biobased films.

### 4.1. Introduction

The use of by-products or residues from the food industry as source for packaging and other new applications has been receiving increasing interest both for its environmental appeal and its potential as a way to increase profit in industrial processes (Mohanasrinivasan *et al.*, 2014; Duba e Fiori, 2015; Gómez-Estaca *et al.*, 2015; Piccinno *et al.*, 2015; Vardanega *et al.*, 2015). In this sense, edible and biodegradable films and coatings produced from

---

biopolymers are of special interest as alternatives for plastic packages (Rokka e Uusitalo, 2008; Han, 2014a; Silvenius *et al.*, 2014), considering their fast degradability and the fact that they come from renewable sources (Park *et al.*, 2000; Han, 2014a).

Biopolymer-based packaging can be produced either from non-processed agricultural products or by-products from food industry, including proteins, lipids, polysaccharides, resins and combinations thereof (Galus e Kadzińska, 2015). Blends of different materials in the film-forming solutions have been studied as a form of improving the characteristics of biopolymer-based packaging (Wang *et al.*, 2011; Ma *et al.*, 2012; Iahnke *et al.*, 2016). The addition of lipids results, generally, in films with better moisture barrier properties and increased rigidity, also affording opaque characteristics (Byun e Kim, 2014a). Protein-based films have hydrophilic character, resulting in poor water barrier, but good oxygen, carbon dioxide, and lipid barrier properties in comparison to conventional synthetic polymers. Their main drawback is the fact that they usually exhibit lower mechanical strength (Bourtoom, 2009). Addition of polysaccharides (such as starch, microcrystalline cellulose, nanoclays, fibers, among others) to the formulation generally leads to improved mechanical properties and moisture content of the film (Byun e Kim, 2014b). Extensibility and elasticity of these films may be improved by using proper plasticizers (Brault *et al.*, 1997). Glycerol is a plasticizer commonly used in this kind of product because, due to its polar nature and low molecular weight, it reduces the interaction between the macromolecules in the film-forming solution (Zhang *et al.*, 2001; Kokoszka, Debeaufort, Hambleton, *et al.*, 2010).

The avocado pulp is rich in proteins, fibers and oil, and poor in polysaccharides when compared with other fruits (Tango *et al.*, 2004). In the extraction process of avocado oil - a product of high aggregate value - great amount of residual pulp is generated. Extraction by chemical solvents is the most used process for oil production due to high efficiency (Werman e Neeman, 1987; Rosenthal *et al.*, 1996). On the other hand, extraction by centrifugation is an option for small producers, since it does not require large initial investments (Bizimana *et al.*, 1993; Rosenthal *et al.*, 1996). Besides, it is attractive from an environmental point of view and leads to high purity both of the extracted oil and the by-product from the process. This by-product consists basically in a hydrated and defatted pulp, with great potential as raw material for food industry and other applications. Thereby, based on the results obtained by other researchers with other fruit pulps, such as mango (Reis *et al.*, 2015), acerola (Azeredo *et*

*al.*, 2012) and apple puree (Rojas-Graü *et al.*, 2007), this material may represent an interesting alternative for application in film-forming solutions.

The use of avocado pulp or the residue of avocado oil extraction as source for film-forming solution has not yet been explored in the literature. Being so, the aim of this research is, primarily, to use the residue of avocado oil extraction by centrifugation to obtain biobased polymer films. Different film-forming solutions are proposed and characterization of their mechanical, optical, barrier and thermal properties is performed to analyze the potential of application of the produced biobased polymer films.

## **4.2. Experimental**

### **4.2.1. Materials**

The avocado oil extraction residue (hydrated and defatted avocado pulp) was provided by a local producer (AvocadoBR Essential Oils, Venâncio Aires, RS, Brazil). The avocado fruit, after pulping, undergoes a thermal treatment (50 °C) before centrifugation for the oil extraction.

The samples were placed in PET bottles under nitrogen atmosphere (100 %), frozen by rapid freezing with dry ice, and stored at -18 °C under these conditions until use. Glycerol p.a. (Dinâmica, Brazil) was used as plasticizer. Microcrystalline p.a. (MCC) (density: 0.26 – 0.32; average molecular weight: 162, degree of polymerization: 350; Synth, Brazil) and cassava starch (CS) (amylose: 18 %, amylopectin: 82 %; Yoki, Brazil) were used as reinforcing agents.

### **4.2.2. Nutritional composition of the residue**

The residue was characterized by physicochemical methods, according to the official AOAC method (AOAC, 2012), for the determination of moisture, protein, fat and ash. Moisture was determined by drying the sample until constant weight in an oven (DeLeo, model 48 TLK, Brazil) at 105 °C. Total protein content was calculated by the Kjeldahl method (correction factor: 6.5). Total lipid content was obtained using a Soxhlet extractor (Foss Soxtec, model 2055, Denmark) with petroleum ether as solvent. The ash content was determined by incineration at 550 °C using a muffle for 12 h (Elektro Therm Linn, 312.6 SO LM 1729, Germany). The quantity of soluble dietary fiber and insoluble dietary fiber was determined by enzymatic-gravimetric method, using the total dietary fiber assay kit

TDF 100A (Sigma Aldrich, USA). Carbohydrates were obtained by difference, subtracting from 100 % the sum of the other components. All the analyses were done in triplicate for each sample and the results expressed in grams per 100 g of dry matter.

### 4.2.3. Film preparation

Seven film-forming solutions were elaborated using the residue as main component. The first one, called control (AC), was produced using exclusively avocado oil extraction residue. The other six formulations were prepared with the addition of different concentrations of glycerol (0.5 or 1 g), cassava starch (1 g) and microcrystalline cellulose (0.5 g) to the residue, as described in Table 4.1. For clarity and concision, the abbreviations AG, ASG and AMG will be used along the text to refer to the corresponding pairs of samples (i.e., AG05 and AG10, ASG05 and ASG10, and AMG05 and AMG10, respectively).

**Table 4.1** Composition of film-forming solutions prepared with avocado oil extraction residue

Film*	Residue (g)	Glycerol (g)	Cassava Starch (g)	Cellulose (g)
AC	100	-	-	-
AG05	99.5	0.5	-	-
AG10	99.0	1.0	-	-
ASG05	98.5	0.5	1.0	-
ASG10	98.0	1.0	1.0	-
AMG05	99.0	0.5	-	0.5
AMG10	98.5	1.0	-	0.5

Avocado films (A) without any additive (C → control sample) and with addition of 0.5 and 1 g of glycerol (G05 and G10), cassava starch (S) or microcrystalline cellulose (M).

The cassava starch solution was previously prepared from a suspension of 10 g of starch in 200 g of distilled water. The CS solution was heated until 75 °C with constant stirring for proximately 20 min, until the complete gelatinization of the starch. This was made to avoid the degradation of the components of the residue. Then, the CS solution was maintained in a water bath at 40°C.

All film-forming solutions were stirred at 300 rpm using an overhead stirrer (Edutec, EEQ9034 model, Brazil), for 10 min at 25 °C, in order to obtain a good mixture of the different components and a homogeneous solution. The films were produced by casting method. The solutions were transferred to acrylic petri dishes in an amount of 0.2 g cm<sup>-2</sup>. The samples were dried in a laboratory oven (DeLeo, model B5AFD, Brazil) with forced air circulation at 40 °C for 16 h.

#### **4.2.4. Characterization**

All samples were conditioned at  $50 \pm 5$  % RH and  $25 \pm 2$  °C for at least 48 h before the analyses, in a desiccator with saturated sodium bromide solution (Dinamica, Brazil). All the analyses, when applicable, were performed on the side of film exposed to air during the drying process.

##### *4.2.4.1. Thickness and moisture content*

Thickness was measured using a digital micrometer (Digimess, IP40 model, Brazil) with a precision of  $\pm 0.001$  mm. Thirty six different positions of four samples of each film formulation were measured, and the average value and standard error were calculated.

The moisture content was determined in an analytical balance (Shimadzu, AY 220 model, Japan) with  $\pm 0.001$  g precision by measuring the weight loss of the films after dried at 105 °C for 24 h. Seven samples with 2 cm of diameter were used for each formulation.

##### *4.2.4.2. Grammage*

Grammage ( $\text{g cm}^{-2}$ ) or mass per unit area was measured according to TAPPI T 410 om-13 (Tappi/Ansi, 2013). The samples were cut in squares (10 cm x 5 cm) and weighted in an analytical balance (Shimadzu, AY 220 model, Japan).

##### *4.2.4.3. Water soluble fraction (WS)*

The WS was determined gravimetrically by using the dried 2 cm diameter samples obtained at the end of the moisture content determination procedure. These samples were put in 30 mL of distilled water and placed in shaking water bath (Novatecnica, NT145, Brazil) slowly (80 rpm) and periodically agitated at 25 °C for 24 h. After that, the samples were dried again in an oven at 105 °C for 24 h and then weighted. WS was calculated as the percentage of dry matter solubilized after the 24 h of immersion.

##### *4.2.4.4. Morphology*

The morphology of the produced films was evaluated by scanning electron microscopy (SEM). The film samples were put on aluminum stubs using a double-sided adhesive tape and coated with a thin layer of gold. The images of the films surface were taken with a scanning electron microscope (JEOL, JSM 6060 model) with an acceleration potential of 5 kV.

#### 4.2.4.5. Film color

Color analysis was performed in a colorimeter (Minolta, CR400, Japan) using D65 at day light. The parameters  $L^*$  (luminosity),  $a^*$  (green - red) and  $b^*$  (blue - yellow) were measured (García e Sobral, 2005). The film samples were analyzed on a white disk ( $L_0 = 97.67$ ;  $a_0 = 0.13$  and  $b_0 = 1.57$ ) and the total color difference ( $\Delta E$ ) was calculated using Equation (1). High  $\Delta E$  values indicate high color intensity (Pagno *et al.*, 2015). Twelve measurements were made on different areas of each sample.

$$\Delta E = \sqrt{(\Delta L^*)^2 + (\Delta a^*)^2 + (\Delta b^*)^2} \quad (1)$$

where  $\Delta L^* = L^* - L_0$ ,  $\Delta a^* = a^* - a_0$ ,  $\Delta b^* = b^* - b_0$

#### 4.2.4.6. Opacity index

The light transmittance was measured at 600 nm using a UV spectrophotometer (Shimadzu, CPS 240 A model, Japan) according to Shiku *et al.* (2004) modified by using a quartz test cell. Rectangular film samples (1 mm  $\times$  5 mm) were cut and placed on a quartz test cell and then in the spectrophotometer. An empty quartz test cell was used as the reference.

The opacity index (*OI*) of the films was calculated as proposed by Han e Floros (1997):

$$OI = (-\log T_{600}) / x \quad (2)$$

where  $T_{600}$  is the transmittance at 600 nm, and  $x$  is the film thickness (mm). According to Equation (2), higher values of *OI* indicate higher opacity and, consequently, lower transparency. No less than twelve measurements were made for each sample.

#### 4.2.4.7. Water vapor permeability (WVP)

The WVP was determined according to ASTM E96/E96M – 15 (Astm, 2015) with the modification proposed by Pagno *et al.* (2015). The samples were positioned in permeation cells (inner diameter = 63 mm, height = 25 mm) filled with granular anhydrous calcium chloride. The cells were subsequently hermetically sealed (0 % RH) and stored at 25 °C and in a glass chamber with saturated sodium chloride solution (75 % RH). The cells were weighed before and after 24 hours of storage in an analytical balance (Shimadzu, AY 220 model, Japan), precision  $\pm 0.001$  g. The samples were analyzed in triplicate and WVP was calculated as follows:

$$WVP = (W \times L) / (A \times t \times \Delta p) \quad (3)$$

where  $W$  is the weight of water that permeated through the film (g),  $L$  is the thickness of the film (mm),  $A$  is the permeation area (m<sup>2</sup>),  $t$  is the time of permeation (h), and  $\Delta p$  is the water vapor pressure difference between the two sides of the film (2.376 kPa, 25 °C).

#### 4.2.4.8. Mechanical properties

Tensile strength ( $\sigma$ ), elongation at break ( $\varepsilon$ ), and Young's modulus ( $E$ ) were determined in a texture analyzer (TA.XT2i, Stable Micro Systems, UK), according to the modified ASTM D882-12 (Astm, 2012b). The samples were cut into strips (80 mm × 25 mm) and their thickness was measured at three random positions for each strip. The tests were performed at a speed of 10 mm·min<sup>-1</sup> with an initial grip separation of 50 mm. Twelve samples of each formulation were tested.  $\sigma$  was obtained by dividing the maximum load by the cross-sectional area of the sample, while  $E$  was calculated as the slope of the initial linear portion of the stress versus relative elongation (i.e., the ratio between the absolute elongation at considered point and the initial gage length) curve. On the other hand, all values of elongation at break are reported in terms of percent elongation (i.e., relative elongation multiplied by 100).

#### 4.2.4.9. Thermogravimetric behavior

Thermogravimetric analysis (TGA) was performed in a Shimadzu Instrument (TGA-50 model, Japan), under argon flow of 50 mL·min<sup>-1</sup> with a heating rate of 10 °C·min<sup>-1</sup>, from room temperature up to 650 °C, using 8 ± 0.5 mg for each sample. The derivative thermogravimetric (DTG) curve was obtained directly from the TGA curve. All samples were analyzed in duplicate.

#### 4.2.5. Statistical analysis

The statistical analysis of the obtained data was performed with the Statistica 12.0 software (Statsoft Inc., Tulsa, USA), using analysis of variance (ANOVA) and Tukey's test at a significance level of 0.05. To express the results of the Tukey's test, each group of statistically equal means was represented by a different letter.

### 4.3. Results and discussion

#### 4.3.1. *Composition of the residue*

The analysis of the avocado oil residue composition showed that it has 95.63 % moisture content, and other elements on a dry basis were 10.45 % protein, 36.53 % fat, 10.70 % soluble dietary fiber and 15.27 % insoluble dietary fiber, 7.60 % ash and 19.44 % carbohydrates. The quantities of oil and protein still present in the residue, after the extraction, were high if compared to the composition of the pulp without any treatment (oil: 55.8%; protein: 2.7%; total fibers: 24.5%; carbohydrate: 6.9% for Hass avocado on a dry basis)(Dreher e Davenport, 2012). This result is intrinsically related to the species of avocado used and the specific characteristics of the extraction by centrifugation. The avocado fruits used in the oil extraction process that generated the residue under study are, generally, species of small size, like Hass and Fuerte, which have high content of oil. Additionally, extraction by centrifugation has low efficiency, mainly because it does not use solvents, leaving a considerable quantity of oil in the extraction residue.

#### 4.3.2. *Film-forming features*

It was found that the avocado oil extraction residue has adequate properties as film-forming solution material, since it was possible to produce biobased films from the pure residue (formulation AC). This is probably due to its high content of proteins and residual oil. Furthermore, in the centrifugation process the partially hydrated pulp undergoes heat treatment and homogenization at approximately 50 °C. Hence, the proteins are expected to denature in some extent during this process, which facilitates the formation of the film-forming solution (Perez-Gago e Krochta, 2001; Lacroix e Vu, 2014). Regarding the oil present in the film-forming solution, it seems to maintain, at least partially, the level of interaction with the other components of the mixture observed originally in the avocado fruit. This statement is based on the fact that regular and stable films were obtained, which would not be possible otherwise. It is important to remark that in most of the works related to the use of fruit pulp in the production of biobased films, the pulp is used as an additive in gelatin, starch, alginate or pectin-based films (Rojas-Graü *et al.*, 2007; Wang *et al.*, 2011; Azeredo *et al.*, 2012; Reis *et al.*, 2015; Iahnke *et al.*, 2016). Similar results, i.e, biobased films using the pulp as main ingredient, were found by Azeredo *et al.* (2009) for mango films and Martelli *et al.* (2014) for banana puree films.

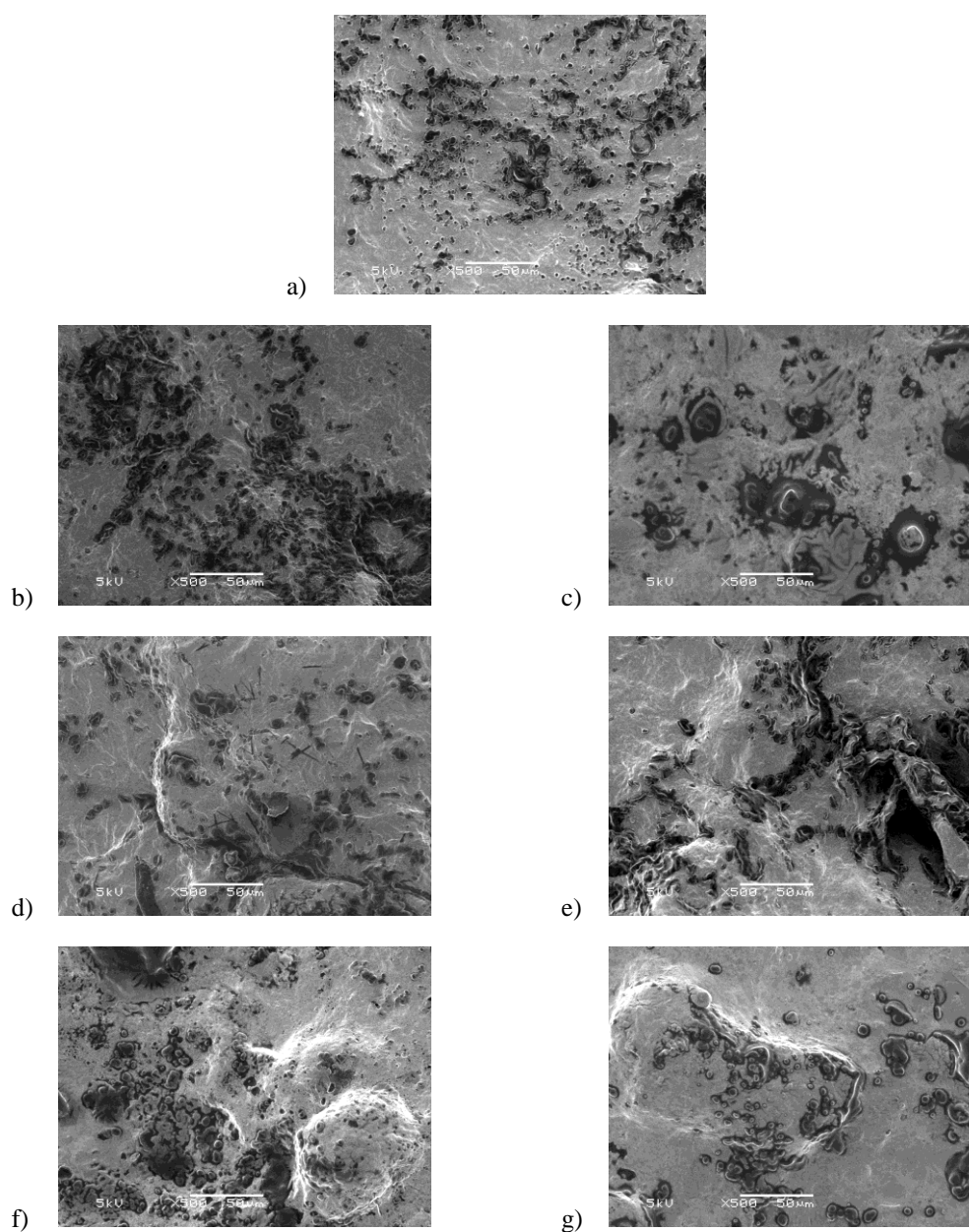


Another aspect to be mentioned is that all films produced from pure avocado oil extraction residue exhibited brittle behavior. Therefore, six other formulations were prepared, aiming to obtain more flexible films. Glycerol, a known plasticizer, was tested in two different proportions in order to increase the flexibility of the formed films. In addition, fixed amounts of CS and MCC were also tested as additives.

### 4.3.3. Characterization

#### 4.3.3.1. Scanning electron microscopy

**Figure 4.1.** Micrographs of avocado biobased films: (a) AC, (b)AG05, (c)AG10, (d) AMG05, (e) AMG10, (f) ASG05, (g) ASG10.



---

Figure 4.1 shows the surface micrographs of the obtained films. All samples presented complex morphologies throughout the film surface at the micrometer level, in which two main phases are observed: a dispersed phase composed mainly of oil (dark areas) and a continuous phase composed of the remaining components of the avocado pulp. In the samples in which glycerol was the only additive used (AG05 and AG10), increase of glycerol content led to coalescence and increase of the dispersed oil phase dimensions, probably due to the increase of hydrophilicity promoted by glycerol. In the samples containing cellulose (AMG05 and AMG10) and starch (ASG05 and ASG10) this effect was not noticeable, perhaps due to the interaction between glycerol and those components. In the specific case of sample AMG05, the surface micrograph shows the presence of cellulose fibers on the film surface, which is in agreement with the rough texture empirically observed for these films. The fact that the cellulose fibers are not observed in the micrograph of the sample AMG10 can be attributed to the higher content of glycerol of this sample and the plasticizing effect exerted by glycerol on cellulose fibers (Pang *et al.*, 2013). The surface of the samples containing starch (ASG05 and ASG10) presents some high relief structures, probably constituted of gelatinized starch.

#### 4.3.3.2. Thickness, moisture content and water soluble fraction and grammage

Table 4.2 shows the values of thickness, moisture content and water soluble fraction for each of the seven biobased film formulations. Thickness varied significantly among the films. By comparing the samples AC to AG (AG05 and AG10) and AMG05 to, AMG10 it is observed that an increase in the glycerol content decreased the film thickness. This result is opposite to those reported in the literature for films produced from binary protein/glycerol formulations (Kokoszka, Debeaufort, Lenart, *et al.*, 2010) and can be related to the changes promoted by glycerol on the state of dispersion of the oil phase (Figure 4.1). Additionally, the films containing MCC (AMG05 and AMG10) presented the highest values of thickness, probably due to the more heterogeneous nature of the system as a consequence of the presence of suspended fibrous material.

Regarding moisture content, it can be seen that in all cases the addition of glycerol caused an increase of moisture. This correlation between addition of glycerol and moisture has been observed for many other biobased film formulations (Yang e Paulson, 2000b; Kokoszka, Debeaufort, Lenart, *et al.*, 2010; Ramos *et al.*, 2013; Dick *et al.*, 2015). It is attributed to the hygroscopic nature of glycerol, which is a consequence of the hydroxyl

groups present in its structure. It is also remarkable that in the two formulations containing cassava starch (ASG05 and ASG10) the increase of moisture content with the addition of glycerol was lower than that observed when adding either only glycerol (AG05 and AG10) or MCC and glycerol (AMG05 and AMG10). This suggests that in the case of these formulations there must be some degree of interaction between glycerol and starch particles in such a way that the amount of glycerol available for moisture absorption is lower. On the other hand, the moisture content of the AMG and AG formulations are statically equal when compared at the same content of glycerol, indicating that MCC has no significant effect on the moisture of the films.

**Table 4.2** Thickness, moisture content, water soluble fraction and grammage of the avocado.

Film	Thickness (mm)	Moisture Content (%)	Water soluble fraction (%)	Grammage (g cm <sup>-2</sup> )
AC	0.0893 ± 0.0009 <sup>b</sup>	13.7 ± 0.6 <sup>a</sup>	45.8 ± 0.5 <sup>a</sup>	0.0081 ± 0.0002 <sup>a</sup>
AG05	0.0831 ± 0.0012 <sup>a</sup>	24.5 ± 1.2 <sup>b</sup>	46.1 ± 0.3 <sup>a</sup>	0.0089 ± 0.0004 <sup>a,b</sup>
AG10	0.0828 ± 0.0021 <sup>a</sup>	35.4 ± 1.4 <sup>c</sup>	46.8 ± 0.8 <sup>a</sup>	0.0093 ± 0.0006 <sup>a,b</sup>
ASG05	0.0838 ± 0.0021 <sup>a,b</sup>	16.3 ± 0.8 <sup>a</sup>	54.6 ± 0.8 <sup>b</sup>	0.0096 ± 0.0007 <sup>a,b,c</sup>
ASG10	0.0814 ± 0.0018 <sup>a</sup>	24.2 ± 1.6 <sup>b</sup>	56.9 ± 0.8 <sup>b</sup>	0.0108 ± 0.0004 <sup>b,c</sup>
AMG05	0.1259 ± 0.0025 <sup>d</sup>	22.9 ± 0.8 <sup>b</sup>	43.8 ± 0.8 <sup>a</sup>	0.0100 ± 0.0004 <sup>b,c</sup>
AMG10	0.1168 ± 0.0019 <sup>c</sup>	32.6 ± 0.7 <sup>c</sup>	44.9 ± 1.2 <sup>a</sup>	0.0115 ± 0.0006 <sup>c</sup>

The results are represented as the means ± standard error. Different letters in the same columns differ significantly ( $p < 0.05$ ) by Tukey test. Avocado films (A) without any additive (C → control sample) and with addition of 0.5 and 1 g of glycerol (G05 and G10), cassava starch (S) or microcrystalline cellulose (M).

Concerning the results for water soluble fraction it was observed that the films can be statistically divided in two groups, with the ASG films presenting higher solubility than all other formulations. This is a direct consequence of the fact that in the film-forming solution containing starch there is a decrease in the oil content in relation to the other formulations (Table 4.1). So, in the ASG films the ratio between hydrophilic and hydrophobic species increases, promoting higher water soluble fraction. Similar behavior has been reported by Pérez-Mateos *et al.* (2009) for cod gelatin films with sunflower oil. It is also interesting to observe that this effect is not observed in terms of moisture content of the samples, since there is not a correlation between moisture content and water soluble fraction values reported in Table 4.2. This is possibly a consequence of the interaction between glycerol and starch particles discussed in the previous paragraph and of the conditions used for the determination of water soluble fraction. While the moisture content of a sample is defined under limited availability of water, allowing direct interaction between glycerol and starch, the water

soluble fraction determination involves the contact of small piece of sample with a great volume of water, in such a way that each soluble species is directly in contact with water.

The grammage of the films did not vary significantly as a function of the amount of glycerol added. However, differences were observed with the addition of cassava starch and microcrystalline cellulose. These compounds led to increase on grammage, probably due to their high molecular weight and hydrophilic characteristics.

#### 4.3.3.3. Color and opacity index (*OI*)

Table 4.3 exhibits the optical properties found for the films produced. There were significant differences between samples especially regarding ASG films. Films with starch often have high luminosity. In the process of gelatinization, water is retained by the starch granules causing their swelling (Debet e Gidley, 2006). When gelatinized starch is added, a dilution of the original solution occurs, thereby leading to a lighter color spectrum, with decrease in the color intensity of the samples. This can be observed through the increase of  $L^*$  and the decrease of  $a^*$  values of ASG films or their lower values of  $\Delta E$ , when we compared to the other formulations.

**Table 4.3** Optical properties of avocado extraction residue films.

Film	$L^*$	$a^*$	$b^*$	$\Delta E$	<i>OI</i>
AC	$53.3 \pm 0.6^a$	$5.2 \pm 0.1^b$	$36.8 \pm 0.5^a$	$57.0 \pm 0.2^b$	$15.0 \pm 0.2^e$
AG05	$52.2 \pm 0.5^a$	$6.3 \pm 0.2^c$	$37.6 \pm 0.5^{a,b}$	$58.4 \pm 0.2^{b,c}$	$15.2 \pm 0.4^e$
AG10	$54.2 \pm 0.6^a$	$6.0 \pm 0.2^c$	$39.2 \pm 0.4^{b,c}$	$57.9 \pm 0.3^{b,c}$	$14.5 \pm 0.5^d$
ASG05	$59.3 \pm 0.6^b$	$3.5 \pm 0.2^a$	$39.0 \pm 0.2^{b,c}$	$53.8 \pm 0.5^a$	$12.0 \pm 0.4^c$
ASG10	$60.5 \pm 0.9^b$	$3.4 \pm 0.1^a$	$39.4 \pm 0.3^{b,c}$	$53.1 \pm 0.6^a$	$11.9 \pm 0.2^c$
AMG05	$53.2 \pm 1.6^a$	$5.7 \pm 0.4^{b,c}$	$37.9 \pm 0.9^{a,b,c}$	$57.9 \pm 0.8^{b,c}$	$10.5 \pm 0.2^a$
AMG10	$54.3 \pm 0.7^a$	$6.1 \pm 0.2^c$	$40.5 \pm 0.4^c$	$58.7 \pm 0.3^c$	$10.9 \pm 0.3^b$

The results are represented as the means  $\pm$  standard error. Different letters in the same columns differ significantly ( $p < 0.05$ ) by Tukey test. Avocado films (A) without any additive (C  $\rightarrow$  control sample) and with addition of 0.5 and 1 g of glycerol (G05 and G10), cassava starch (S) or microcrystalline cellulose (M).

The analysis of the opacity index data in Table 4.3 also enlightens the influence of the composition and related microstructural features on the final characteristics of the produced films. The AG films presented values of *OI* more similar to that of the control sample than the ASG and AMG films. Both ASG and AMG films presented a significant increase of transparency with relation to the control sample. In the case of the ASG films, this increase can be explained by considering the same aspects discussed in the previous paragraph

concerning the effect of the addition of the gelatinized starch and also by the lower effective content of avocado residue of the ASG films. In turn, the interpretation of the low values of *OI* presented by the AMG films is not so straightforward. However, some insight can be gained by looking at these results in the light of those of thickness and microscopy. The fact that the AMG films presented the highest values of thickness and that irregularities were observed in some of their micrographs, as in Figure 4.1e, suggest the presence of microvoids in these films, which would explain their higher transparency. Additionally, it is observed that the samples with the highest presence of dark areas in the micrographies (AC and AG05, Figure 4.1 a-b) also present the highest *OI* values. This fact indicates that the opacity is also affected by the dispersed oil phase, which is in agreement with the results reported by Ma *et al.* (2012) for gelatin-based films.

Still regarding the *OI* data, it is worthy to mention the differences observed among formulations in terms of glycerol content influence. The AG films presented significant decrease of opacity with the increase of glycerol content, which is in agreement with results presented by Dick *et al.* (2015) for chia mucilage films and is due to the transparent nature of glycerol. For the ASG films, no significant change of the opacity index with the content of glycerol was observed, probably due to the interaction between glycerol and starch gelatinized particles, which reduces the effective amount of glycerol available for direct interaction with the avocado residue. Finally, the AMG films presented an inverted behavior, with increase of opacity with the increase of the glycerol content. This can be attributed to the plasticizing effect of glycerol on cellulose fibers and a consequent densification of the film.

#### 4.3.3.4. Water vapor permeability (WVP)

The values of WVP of the produced films were in the range from 0.064 to 0.446 g·mm·m<sup>-2</sup>·kPa<sup>-1</sup>·h<sup>-1</sup> (Table 4.4). These values are far below those reported in the literature for other biobased films of similar composition, such as values between 2.7 and 1.38 g·mm·m<sup>-2</sup>·kPa<sup>-1</sup>·h<sup>-1</sup> for gelatin-glycerol-olive oil films (62.5: 25: 12.5) (Ma *et al.*, 2012), and between 4.37 and 5.25 (g mm m<sup>-2</sup> kPa<sup>-1</sup> h<sup>-1</sup>) for alginate–apple puree-essential oils films (Rojas-Graü *et al.*, 2007). On the other hand, the WVP values of the avocado films were much higher than those of synthetic films as LDPE (0.0032 g mm m<sup>-2</sup> kPa<sup>-1</sup> h<sup>-1</sup>, 0/90% RH)(García *et al.*, 2009; Wihodo e Moraru, 2013) HDPE (0.0008 g mm m<sup>-2</sup> kPa<sup>-1</sup> h<sup>-1</sup>, 0/90% RH)(García *et al.*, 2009; Wihodo e Moraru, 2013) and PVCD (0.0008 g mm m<sup>-2</sup> kPa<sup>-1</sup> h<sup>-1</sup>, 0/90% RH)(García *et al.*, 2009; Wihodo e Moraru, 2013), being more similar to that of

cellophane ( $0.293 \text{ g mm m}^{-2} \text{ kPa}^{-1} \text{ h}^{-1}$  0/90% RH)(García *et al.*, 2009; Wihodo e Moraru, 2013).

AC film presented the lowest WVP, which is in agreement with its higher oil content and finer dispersion of the oil phase (Figure 4.1a) taking into consideration that WVP depends on the quantity of water in the film (Han, 2014b) and on the particle size distribution of the lipid phase (Pérez-Gago e Rhim, 2014). This later effect is related to the fact that, under a fixed volume fraction, smaller lipid particles lead to higher contact surface between the lipid phase and the diffusing water vapor, increasing the resistance to this transport.

The addition of plasticizer increased the WVP of the films for all formulations. This probably occurs because glycerol, that has a hydrophilic and hygroscopic nature, attracts water molecules forming a hydrodynamic plasticizer-water complex. According to Wang *et al.* (2011), such effect may increase the distance between polymer molecules, promoting the creation of free volume on the film matrix and increasing the WVP. This interpretation also agrees with the aforementioned decrease of opacity index from sample AG05 to AG10.

**Table 4.4** Mechanical and barrier properties of avocado oil extraction residue film.

Film	WVP ( $\text{g}\cdot\text{mm}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{kPa}^{-1}\cdot\text{h}^{-1}$ )	$\sigma$ (MPa)	$\epsilon$ (%)	E (MPa)
AC	$0.064 \pm 0.003^a$	$4.20 \pm 0.24^f$	$1.4 \pm 0.2^a$	$418.2 \pm 13.3^f$
AG05	$0.262 \pm 0.008^c$	$0.90 \pm 0.04^d$	$9.4 \pm 0.5^{c,d}$	$37.8 \pm 1.8^d$
AG10	$0.383 \pm 0.006^e$	$0.56 \pm 0.02^b$	$13.9 \pm 0.4^e$	$13.2 \pm 0.5^a$
ASG05	$0.155 \pm 0.004^b$	$2.70 \pm 0.04^e$	$13.8 \pm 0.4^e$	$98.7 \pm 2.2^e$
ASG10	$0.243 \pm 0.007^c$	$0.34 \pm 0.01^a$	$10.4 \pm 0.3^d$	$24.1 \pm 1.2^b$
AMG05	$0.322 \pm 0.013^d$	$0.76 \pm 0.03^c$	$7.2 \pm 0.5^b$	$35.9 \pm 1.4^d$
AMG10	$0.446 \pm 0.016^f$	$0.32 \pm 0.01^a$	$8.7 \pm 0.3^{b,c}$	$13.8 \pm 0.5^a$

The results are represented as the means  $\pm$  standard error. Different letters in the same columns differ significantly ( $p < 0.05$ ) by Tukey test. Avocado films (A) without any additive (C  $\rightarrow$  control sample) and with addition of 0.5 and 1 g of glycerol (G05 and G10), cassava starch (S) or microcrystalline cellulose (M).

The increase of WVP in relation to the control sample was smaller for the ASG films. Similar behavior has been reported by Zhong e Xia (2008) and Mali *et al.* (2006). This can be understood as a result of the more compact structure and stronger intermolecular interaction in the gelatinized starch particles compared to the other two systems. In AG and AMG films, as discussed before, the plasticizing effect of glycerol was more intense, which would lead to higher free volume and facilitate the passage of water vapor. It is worth mentioning that these results are in qualitative agreement with those found for moisture content (Table 4.2).

Nevertheless, the fact that the AMG samples presented the highest values of WVP can be taken as support for the discussion presented in the previous section about the possibility of occurrence of microvoids in the AMG samples.

#### 4.3.3.5. Mechanical properties

Tensile strength ( $\sigma$ ), elongation at break ( $\epsilon$ ) and Young's Modulus (E) of the films are shown in Table 4.4. AC film presented a brittle response, with low values of  $\sigma$  and  $\epsilon$  but a high E, probably on account of oil presence (Pérez-Gago e Rhim, 2014). The addition of glycerol decreased tensile strength and elastic modulus, confirming the plasticizing effect of this component. AMG and AG films presented similar values of tensile strength and elastic modulus, indicating that the addition of MCC was not effective as reinforcement. This latter result is in agreement with the morphological aspects discussed in the previous section.

The ASG films presented significant differences in relation to the AG and AMG formulations. The addition of starch together with glycerol led to reduction of brittleness in relation to the control sample, but with a much lower reduction of tensile strength and modulus when compared to the AG and AMG films. Besides, for the ASG samples the elongation at break decreased with the increase in glycerol content, contrarily to what occurred for the AG and AMG formulations and some reports in the literature (Psomiadou *et al.*, 1996; Mali *et al.*, 2006). Additionally the reduction of tensile strength with the increase of the glycerol content was much more intense (nearly 9 times) for the ASG films. This could be explained in terms of a non-homogeneous plasticizing effect for the highest content of glycerol, with the excess of glycerol causing the matrix to deform much more easily than the gelatinized starch particles. Ramos *et al.* (2013) found similar response for glycerol-whey protein films and attributed this behavior to the saturation of the film matrix by glycerol.

Finally, it is worthy to mention that the values of mechanical properties reported in Table 4.4 are in the same order of magnitude as those reported in the literature for other types of biobased films, such as those obtained from açai puree-pectin-thyme oil ( $\sigma$ : 0.59 to 2.74 MPa,  $\epsilon$ : 27.58 to 114 %, E: 3.17 to 13.36 MPa)(Espitia, Paula J. P. *et al.*, 2014), carrot puree ( $\sigma$ : 2.46 to 18.08 MPa,  $\epsilon$ : 4.36 to 21.94 %)(Wang *et al.*, 2011), alginate-apple puree-essential ( $\sigma$ : 2.47 to 2.90 MPa,  $\epsilon$ : 51.06 to 58.33 %, E: 5.75 to 7.07 MPa)(Rojas-Graü *et al.*, 2007), alginate-acerola-cellulose whiskers ( $\sigma$ : 3.16 to 6.10 MPa,  $\epsilon$ : 16.60 to 28.26 %, E: 15.35 to 50.16 MPa)(Azeredo *et al.*, 2012), and cassava starch-yerba mate extract-mango pulp ( $\sigma$ : 1.36

---

to 4.03 MPa,  $\epsilon$ : 55.15 to 69.36 %)(Reis *et al.*, 2015). In comparison to synthetic plastics such as HDPE ( $\sigma$ : 17.3 to 34.6 MPa,  $\epsilon$ : 150 to 300 %)(García *et al.*, 2009; Wihodo e Moraru, 2013; Teck Kim *et al.*, 2014a), LDPE ( $\sigma$ : 8.27 to 31.71 MPa,  $\epsilon$ : 68.7 to 500 %)(García *et al.*, 2009; Wihodo e Moraru, 2013; Teck Kim *et al.*, 2014a), and PVC ( $\sigma$ : 48.4 to 138 MPa,  $\epsilon$ : 20 to 40 %)(Wihodo e Moraru, 2013) the avocado films presented lower values of tensile strength and elongation at break.

#### 4.3.3.6. Thermogravimetric behavior

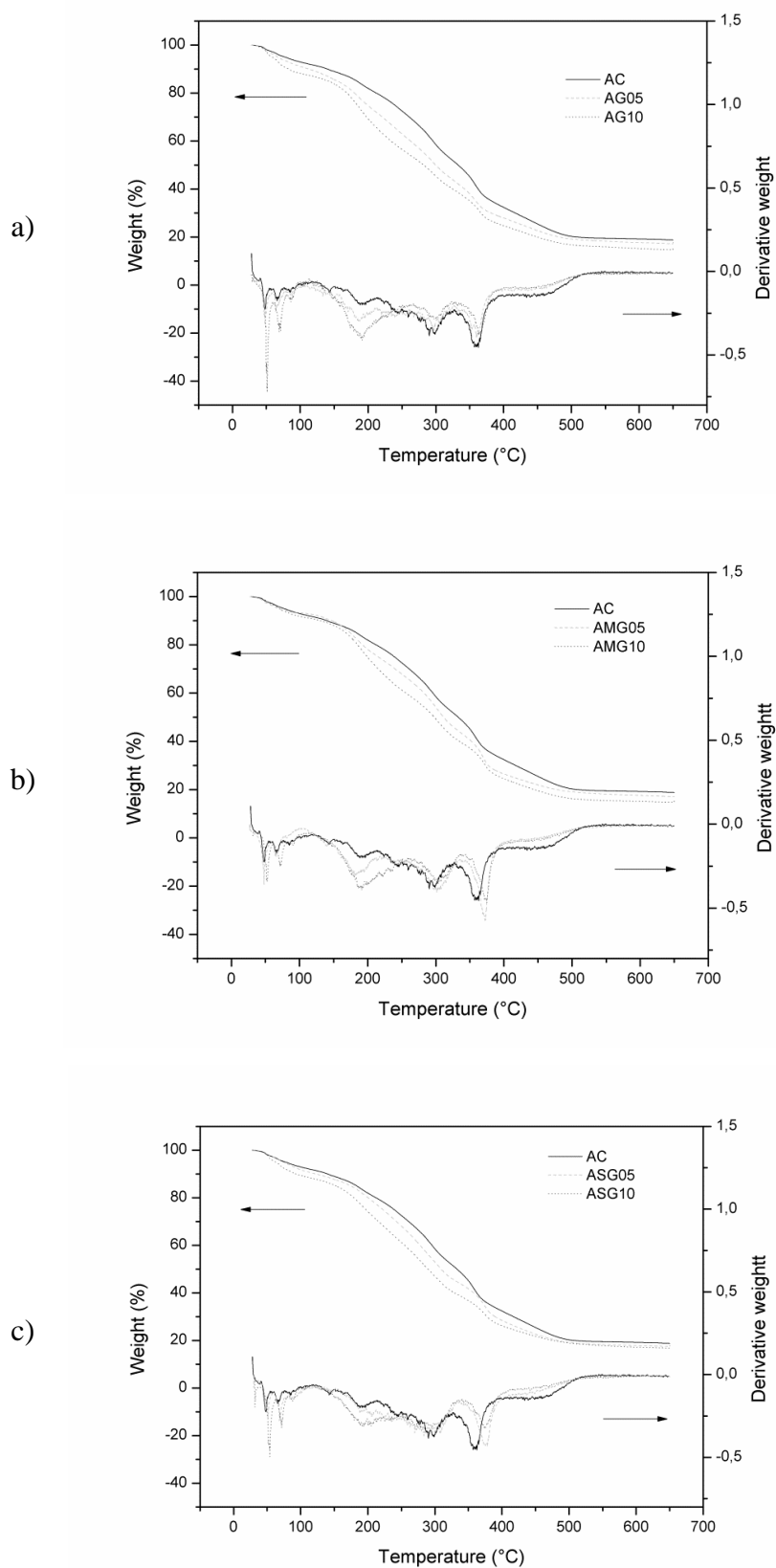
Figure 4.2 shows the TGA (thermogravimetric analyses) and DTG (derivative thermogravimetry) curves of the produced films. It can be seen in all samples the presence of three peaks in the temperature range of 50 – 120 °C. These weight losses are related in the literature as associated with the loss of free and bound water present in the film (Espitia, Paula J. P. *et al.*, 2014; Ahmad, Nirmal, *et al.*, 2015; Torabi *et al.*, 2016). This hypothesis is confirmed by the area increase of these peaks with increasing glycerol content, which results in increased moisture content of the sample (Table 4.2).

The mass loss stage between 160 and 230 °C shows the contribution of the glycerol degradation (Kiangkitiwan e Srikulkit, 2013), which occurs in this temperature range. The increase of this peak with the increase of glycerol content supports this statement. However, this peak must also contain the contribution of simple polysaccharides degradation and lower molar weigh peptides decomposition that occur in this region (Ahmad, Nirmal, *et al.*, 2015), as it can be observed in the AC TGA curve.

The peak of degradation that occurs around 300 °C appears to be related only to components of the oil extraction residue, because its area does not present relevant variation when comparing all formulations. Considering literature data, this peak may be associated with larger-size or higher interacted protein fractions degradation (Hoque *et al.*, 2011; Ahmad, Hani, *et al.*, 2015).



**Figure 4.2.** TGA and DTG curves of samples: (a) AG, (b) AMG, (c) ASG. Results for sample AC are also presented, in all cases, as basis of comparison.



---

The last mass loss stage occurs between 320 and 400 °C. It is probably related to degradation of more complex and high weight components, like fibers and complex polysaccharides (Ahmad, Nirmal, *et al.*, 2015), and evaporation of oleic (360 °C) and palmitic (352°C) acids, which are the main fatty acids present in avocado oil. In addition, in this temperature range it also occurs the degradation of cassava starch and cellulose (Kudo *et al.*, 2013; Perazzo *et al.*, 2014). For the AG films (Figure 4.2a) the area of this peak decreased with the increase in glycerol content, as a result of the dilution of the components present in the pulp. For AMG and ASG films, this peak was shifted by about 15 °C, indicating that the interaction between the components of oil extraction residue and MCC or starch are strong enough to promote a light increase of the thermal stability of the formulation. This interaction is probably due to the residual oil present in the raw material, since the literature reports increased stability in cassava starch or gellan films additivated with oil (Pelissari *et al.*, 2009; Hoque *et al.*, 2011; Ahmad, Hani, *et al.*, 2015).

#### 4.4. Conclusion

The residue of the avocado oil extraction has properties of a film-forming solution and it can be used to produce biobased plastic films. Although it was possible to obtain films from the pure residue, these films were brittle in nature. Glycerol was an efficient plasticizer for the films produced from the residue of avocado oil extraction, increasing significantly the elongation at break of the formulations. Despite that some of the results indicated some level of interaction between MCC and the other components of the pure residue, this additive was not effective in improving the mechanical properties of the formulations, presenting the poorest mechanical behavior among the additivated films. Cassava starch, on the other hand, showed higher interaction with the other components of the formulation and improved the mechanical response of the produced films, resulting in films with mechanical properties in the range typically found for biobased films presented in the literature. It is also relevant the fact that for ASG films elongation at break decreased with the increase of the glycerol content, indicating that saturation of the film matrix by glycerol can occur in the presence of cassava starch. The avocado films show good WVP properties when compared to other biobased films of similar composition and cellophane, presenting WVP values much higher than those of some widely used synthetic plastics. Therefore, the residue of the avocado oil extraction can be pointed as an alternative raw material to produce biobased packaging films for food industry.

#### **4.5. Acknowledgements**

The authors are grateful to Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES, Brazil) for the financial support and to the Electronic Microscope Center (CME) of Federal University of Rio Grande do Sul (UFRGS) for technical assistance. We also acknowledge AvocadoBR Essential Oils for the donation of the avocado pulp used in this research.



---

## **Capítulo 5 – Artigo II – *Avocado-cassava starch films: influence of organic acids on properties, antibacterial and antioxidant activity***

Cassandra Dalle Mulle Santos<sup>1</sup>, Cheila Minéia Daniel de Paula<sup>3</sup>, Débora Jung Luvizetto Faccin<sup>1</sup>, Simone Hickmann Flôres<sup>2</sup>, Nilo Sérgio Medeiros Cardozo<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Polymer Processing Technology Laboratory, Chemical Engineering Department, Federal University of Rio Grande do Sul (UFRGS), Rua Engenheiro Luiz Englert, s/n. Campus Central, ZC: 90040-040, Porto Alegre, RS, Brazil

<sup>2</sup>Bioactive Compounds Laboratory, Food Science and Technology Institute, Federal University of Rio Grande do Sul, Av. Bento Gonçalves n. 9500, PO Box 15059, 91501-970 Porto Alegre, RS, Brazil

<sup>3</sup>Nutrition Department, Federal University of Health Sciences of Porto Alegre (UFCSPA), Rua Sarmento Leite n. 245, 90050-170, Porto Alegre, RS, Brazil

### **Abstract**

Nine film-forming solutions were prepared using an aqueous oil extraction residue as matrix, cassava starch and glycerol as secondary components, and citric and ascorbic acid as additives. The addition of these acids promoted a decrease in water vapor permeability (0.084 to 0.370 g mm m<sup>-2</sup> kPa<sup>-1</sup> h<sup>-1</sup>) and water soluble fraction (30-40%). Besides, changes in coloration were detected probably due to pulp protection (citric acid) and occurrence of ascorbic acid degradation reaction. Plasticizing effect (citric acid) and cross-linking between the matrix components was observed, mainly for films containing ascorbic acid. All biobased films presented antioxidant (DDPH radical method) and antibacterial activity (*S. Enteritidis* and *S. aureus*). These results indicate the potential use of these films as active packaging.

### **5.1. Introduction**

The interest on the development of biobased polymer films as an alternative to conventional plastic films has grown remarkably in the last years due to several aspects, including concerns about the decline of non-renewable resources, environmental aspects, and potential to be produced from waste or by-products from agriculture processes (Han, 2014a; Shah *et al.*, 2016; Versino *et al.*, 2016; Flôres *et al.*, 2017). Fruits and their processing by-products like mature fruits, seeds and peel are among the materials whose use as raw material

---

for biobased polymer films has received increasing attention in the literature (Flôres *et al.*, 2017). The fruits contain several biopolymers such as proteins and polysaccharides and, consequently, have intrinsic potential for this application.

Considering these aspects and the fact that avocado is an extensively cultivated fruit all over the world, Santos *et al.* (2016) have recently produced biobased polymer films from avocado oil aqueous extraction residue, which consists basically of hydrated and partially defatted pulp. Films containing extraction residue as single feedstock presented brittle behavior, similarly to what is observed for other films composed only of fruit pulp (Martelli *et al.*, 2014; Fai *et al.*, 2016). However, the combination of glycerol and native cassava – a root originally from South America and cultivated in tropical and subtropical regions of the globe (Zhu, 2015) – starch as additives allowed the production of films with mechanical properties in the range typically reported in the literature for other biobased films (Rojas-Graü *et al.*, 2007; Wang *et al.*, 2011; Azeredo *et al.*, 2012; Ma *et al.*, 2012; Espitia, Paula J. P. *et al.*, 2014; Reis *et al.*, 2015). These results were attributed to the plasticizing effect of glycerol and the capacity of starch to form continuous matrices.

On the other hand, chemical and/or physical modification of starch have been studied in the literature as alternative to improve processability and physicochemical and mechanical properties of starch and starch-modified materials (Averous e Boquillon, 2004; Ačkar *et al.*, 2015; Shah *et al.*, 2016; Zia Ud *et al.*, 2017). Addition of organic acids is among the chemical methods that have been shown to effectively improve some properties of starch. Citric acid, which is naturally present in citric fruits and largely used in the industry as an anti-browning agent, presents hydroxyl and carboxyl groups (Ortega-Toro *et al.*, 2016) that can interact with hydroxyl groups existent in starch. Decrease of the hydrophilic character, prevention of recrystallization and retrogradation, and cross-linking action are some of the reported effects of citric acid on starch, generally leading to improved mechanical and water barrier properties (Ghanbarzadeh *et al.*, 2011). Ascorbic acid has also been used as an additive for starch-based formulations, mainly as a plasticizer and antioxidant agent for films and coatings (Yoon, 2014; Kowalczyk, 2016; Sartori e Menegalli, 2016).

In this context, this paper aims to improve the functional properties of avocado oil aqueous extraction residue/cassava starch films by the addition of citric and ascorbic acids as additives. The influence of these additives on tensile properties, water vapor permeability,

antioxidant and antibacterial activity, moisture content, water-soluble fraction, opacity, and thermal degradation was evaluated.

## 5.2. Material and methods

### 5.2.1. Materials

Hydrated and partially defatted avocado pulp from oil aqueous extraction process was provided by a local producer (AvocadoBR Óleos Essenciais, Venâncio Aires, Brazil). Cassava starch (amylose: 18%, amylopectin: 82%; Yoki, Brazil) was acquired on local market. Glycerol PA (Dinâmica, Brazil), citric acid (CA) (Vetec, Brazil) and ascorbic acid (AA) (Vetec, Brazil) were used as additives.

The avocado pulp (95.63 % moisture content and, on dry basis, 10.45 % protein, 36.53 % fat, 10.70 % soluble dietary fiber, 15.27 % insoluble dietary fiber, 7.60 % ash, and 19.44 % carbohydrates) was collected directly at the production plant and divided into three equal parts. The first part was used as collected, without any additive, while 0.6 % of citric acid (w/w) and 0.6 % ascorbic acid (w/w) on wet basis, respectively, were added to the second and third parts. The samples were poured into PET bottles, nitrogen (100 %) was injected for eliminating oxygen from headspace and frozen by rapid freezing with dry ice. Afterwards, all bottles were stored at -18 °C and maintained under these conditions until their use.

### 5.2.2. Film preparation

Films containing avocado pulp as the main component were prepared from nine film-forming solutions whose compositions are shown in Table 5.1. Cassava starch (CS) solution was prepared in a proportion of 5 g per 100 g of distilled water, heated up to 75 °C, and kept under continuous agitation (450 rpm) until the gelatinization of starch (30 min). The components were then mixed using an overhead stirrer (EduTec, EEQ9034 model, Brazil) at 25 °C during 5 min, in the proportions defined in Table 5.1, and 0.25 g cm<sup>-2</sup> of the resulting solutions were then spilled in acrylic Petry dishes. The samples were dried in a laboratory oven (DeLeo, model B5AFD, Brazil) during 16 h at 40 °C under forced air circulation. Twelve samples of each formulation were produced.

The dried samples were acclimatized in a desiccator with saturated sodium bromide solution at 50 ± 5 % of relative humidity (RH) and 25 ± 2 °C for at least 48 h before the analyses.

**Table 5.1** Composition of the film-forming solutions employed.

Film-forming solution	Avocado pulp employed*	Film-forming solution composition (w/w)		
		Avocado pulp with or without organic acid (as indicated in the first column)	Cassava starch	Glycerol
1	Pure	100	0	0
2	Additived with 0.6 % w/w of CA	100	0	0
3	Additived with 0.6 % w/w of AA	100	0	0
4	Pure	96	2	2
5	Additived with 0.6 % w/w of CA	96	2	2
6	Additived with 0.6 % w/w of AA	96	2	2
7	Pure	95	3	2
8	Additived with 0.6 % w/w of CA	95	3	2
9	Additived with 0.6 % w/w of AA	95	3	2

\* CA = citric acid; AA = ascorbic acid

### 5.2.3. Characterization

The prepared films were characterized in terms of thickness, moisture content, water-soluble fraction (WSF), water vapor permeability (WVP), optical (color and opacity) and mechanical (tensile strength, elongation at break and Young's modulus) properties, antioxidant and antibacterial activity, thermal behavior (thermogravimetric analysis), and infrared absorption (Fourier transform infrared spectroscopy).

Thickness (mm) was determined with a digital micrometer (Digimess, IP40 model, Brazil)(accuracy of 0.001 mm). The values reported for each formulation were calculated as the average value obtained from 20 samples using the local thicknesses measured at 5 points per sample.

Moisture content was evaluated by gravimetry after drying (DeLeo, model B5AFD, Brazil) disc samples (2 cm diameter) at 105 °C for 24 h, in triplicate (Analysis, 2008). Water soluble fraction was measured based on Gotard *et al.* (Gontard *et al.*, 1992). The dried disc samples obtained at the end of the moisture content analyses were immersed in 30 mL of distilled water and agitated at 25 °C for 24 h. Then, these discs were dried at 105 °C for 24 h, and the water-soluble fraction of the films was obtained as the difference of the weights measured before and after the immersion. All analyses were performed in triplicate.



Water vapor permeability (WVP) was determined according to ASTM E96/E96 (Astm, 2015) modified as proposed by Dick *et al.* (Dick *et al.*, 2015). The films were placed in permeation cells at 25 °C and exposed to a relative humidity gradient of 0-75 %. The analysis was performed in triplicate. WVP was calculated according to Equation (1):

$$WVP = (W \times L) / (A \times t \times \Delta p) \quad (1)$$

where W is the weight of the water permeated through the film (g), L is the film thickness (mm), A is the permeation area (0.0032 m<sup>2</sup>), t is the time of permeation (h), and  $\Delta p$  is the water vapor pressure difference between the two sides of the film (2.376 kPa, 25 °C).

A colorimeter was used to perform color analysis (Minolta, CR400, Japan) using D65 at daylight, angle of 10°. The parameters  $L^*$  (luminosity),  $a^*$  (green - red), and  $b^*$  (blue - yellow) were measured, CIELAB range, with the aid of a white disk ( $L_0$ : 97.67;  $a_0$ : 50.13, and  $b_0$ : 51.57) (García *et al.*, 2009). Three measurements were performed on different regions of ten different samples for each film. Chroma ( $C^*_{ab}$ ) and Hue ( $h_{ab}$ ) values were also calculated, using the following equations:

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

$$h_{ab} = \arctan \frac{b^*}{a^*} \quad (3)$$

where  $h_{ab}$ , express in degrees, is in the intervals  $[0, \pi]$ , when  $b^* \geq 0$ , or  $[-\pi, 0]$ , when  $b^* < 0$ .

The opacity of the films was measured using a UV spectrophotometer (Varian, Cary 100 model, USA) at 600 nm (Shiku *et al.*, 2004). Rectangular film samples (1 mm × 5 mm) were cut and placed in an empty test cell and then in the spectrophotometer. The results were calculated according to Equation (4) (Han e Floros, 1997):

$$Opacity = (-\log T_{600}) / x \quad (4)$$

where  $T_{600}$  is the transmittance at 600 nm, and  $x$  is the film thickness. Seven samples of each formulation were measured.

A texture analyzer (TA.XT2i, Stable Micro Systems, UK) was used to determined tensile strength ( $\sigma$ ), elongation at break ( $\epsilon$ ), and Young's modulus (E) of the films (Astm, 2012b). The films were cut into strips (100 mm × 25 mm) whose thickness was measured at four random positions. Measurements were performed for at least fifteen samples of each formulation, using a speed of 10 mm min<sup>-1</sup> and an initial grip separation of 50 mm.

Thermogravimetric analysis (TGA) (TA Instruments, SDT-Q600, USA) was carried out under nitrogen flow (100 mL min<sup>-1</sup>) at a heating rate of 10 °C min<sup>-1</sup>, from room temperature up to 650 °C, using 10 ± 1 mg of sample.

Fourier transform infrared spectroscopy (FTIR) spectra were recorded using the universal attenuated total reflectance (UATR) method in an IR spectrometer (Perkin Elmer, Frontier model, USA). Spectra were collected using 20 scans at 4 cm<sup>-1</sup> resolution in the range of 650 to 4000 cm<sup>-1</sup> (Li *et al.*, 2014).

1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH) (Sigma Aldrich, USA) radical scavenging activity was measured as described by Iahnke *et al.* (2015). Three samples of 1 cm<sup>2</sup> were cut for each formulation and then placed in 3.9 mL of methanolic DPPH solution. A pure DPPH solution was used as a blank sample. The absorbance of the solutions with samples was measured at 517 nm (Shimadzu, UV-1800, Japan) after 100 min. The antioxidant activity (I<sub>100</sub>) was determined as the inhibition of DPPH radical (%) and calculated as follows:

$$I_{100} = [(A_0 - A_{100}) / A_0] \times 100 \quad (3)$$

where A<sub>0</sub> is the absorbance of the blank sample and A<sub>100</sub> is the absorbance of the film sample.

For the analysis of antibacterial activity by the agar diffusion method, two microorganisms were chosen: one Gram positive (*Staphylococcus aureus*) and another Gram-negative (*Salmonella Enteritidis*). Strains from outbreaks of these microorganisms were inoculated in Brain Heart Infusion. Sterile film discs of 15 mm of diameter were cut and put on Trypticase Soy Agar (Oxoid, UK) plates seeded with 0.1 mL of inoculums (10<sup>7</sup> CFU mL<sup>-1</sup>). Plates were incubated for 24 h at 37 °C (Marconi, MA33 model, Brazil). The external diameter of the inhibition zone was measured with a caliper. The inhibition zone diameter (mm) was calculated subtracting the diameter, calculated based on the external diameter of the inhibition zone, from the film disc diameter (15 mm). The contact area was also inspected visually to evaluate growth inhibition between the film disc and the agar plate (Pagno *et al.*, 2016).

#### 5.2.4. Statistical analysis

Statistical comparison between means was carried out by Analysis of Variance (ANOVA) and the Tukey's test, using the Statistica 12.0 software (STATSOFT Inc., São Paulo, Brazil).

### 5.3. Results and discussion

#### 5.3.1. Thickness, moisture content, and water-soluble fraction

Table 5.2 presents the data of thickness, moisture content, water-soluble fraction and WVP of the avocado films. For the films prepared without addition of acid (WA), thickness increased with the addition of cassava starch and glycerol. This effect may be related to the fact that the presence of gelatinized starch causes an increase in the water retention during the drying. Besides, the addition of acid, both citric and ascorbic, caused an increase of thickness for all compositions (comparison along the lines of Table 5.2- Thickness). This probably occurred due to an increase of total solids in the filmogenic solution. Another aspect that emerges from Table 5.2 is that the relation between thickness and composition is quite complex in the system under study since a clear interaction between the effects of the different additives is observed. This statement is based on the fact that both the addition of acid and glycerol/starch lead to increase of thickness when considered separately, as described before, while the addition of glycerol/starch tended to promote a decrease of thickness under the presence of acid. This may indicate that bonds have been formed between pulp, acids, glycerol, and starch resulting in a more compact matrix.

The data in Table 5.2 also show that addition of cassava starch and glycerol has initially increased the moisture content of the films. This was expected since cassava starch was gelatinized and glycerol is a hygroscopic agent. However, the comparison between the formulations 96:2:2 and 95:3:2 indicates that a subsequent increase in cassava starch content led to a decrease of moisture content occurs. The same result was found by Santos *et al.* (2016) for avocado films and suggests the existence of an interaction between glycerol and starch molecules, diminishing the possible connections with water molecules. Compared to the non-additived film, the moisture content of the films containing starch decreased with the addition of acid, probably due to an interaction between carbonyl and carboxyl groups and starch (Ghanbarzadeh *et al.*, 2011; De'nobili *et al.*, 2013; Seligra *et al.*, 2016). It is also noticed that moisture content of the films with starch and ascorbic acid was greater than that of the films with citric acid, probably due to the higher amount of hydroxyl groups of ascorbic acid (Fennema *et al.*, 2010). The behavior of the water-soluble fraction (WSF) as a function of the film composition follows, in general, similar tendencies observed for the moisture content, which is agreement with the fact that both properties depend intrinsically on the

affinity of the components with water and the formation of hydrogen bonds (Seligra *et al.*, 2016).

**Table 5.2** Thickness, moisture content, water-soluble fraction and WVP of avocado biobased films with and without acids.

Composition [Avocado Pulp: Starch: Glycerol]	Property	Additive		
		Without Acid (WA)	Citric Acid (CA)	Ascorbic Acid (AA)
100:0:0	<b>Thickness</b> (mm)	0.099 ± 0.001 <sup>b,C</sup>	0.138 ± 0.001 <sup>b,B</sup>	0.166 ± 0.002 <sup>a,A</sup>
96:2:2		0.120 ± 0.002 <sup>a,C</sup>	0.146 ± 0.002 <sup>a,B</sup>	0.161 ± 0.001 <sup>b,A</sup>
95:3:2		0.119 ± 0.002 <sup>a,C</sup>	0.132 ± 0.002 <sup>c,B</sup>	0.152 ± 0.001 <sup>c,A</sup>
100:0:0	<b>Moisture Content</b> (%)	13.7 ± 0.7 <sup>c,A</sup>	14.1 ± 1.0 <sup>b,A</sup>	11.5 ± 0.3 <sup>c,B</sup>
96:2:2		26.5 ± 0.2 <sup>a,A</sup>	19.4 ± 0.2 <sup>a,C</sup>	21.8 ± 0.3 <sup>a,B</sup>
95:3:2		21.3 ± 0.4 <sup>b,A</sup>	16.1 ± 1.0 <sup>ab,B</sup>	18.7 ± 0.4 <sup>b,AB</sup>
100:0:0	<b>Water Soluble Fraction</b> (%)	49.6 ± 0.4 <sup>b,A</sup>	46.4 ± 1.5 <sup>a,A</sup>	38.9 ± 0.1 <sup>ab,B</sup>
96:2:2		64.0 ± 0.6 <sup>a,A</sup>	29.9 ± 0.1 <sup>b,C</sup>	42.6 ± 1.8 <sup>a,B</sup>
95:3:2		65.6 ± 1.1 <sup>a,A</sup>	30.5 ± 2.2 <sup>b,B</sup>	34.6 ± 1.7 <sup>b,B</sup>
100:0:0	<b>WVP</b> (g mm m <sup>-2</sup> kPa <sup>-1</sup> h <sup>-1</sup> )	0.137 ± 0.010 <sup>c,A</sup>	0.084 ± 0.010 <sup>c,B</sup>	0.085 ± 0.006 <sup>c,B</sup>
96:2:2		0.578 ± 0.052 <sup>a,A</sup>	0.438 ± 0.016 <sup>a,B</sup>	0.418 ± 0.009 <sup>a,B</sup>
95:3:2		0.461 ± 0.013 <sup>b,A</sup>	0.368 ± 0.018 <sup>b,B</sup>	0.370 ± 0.014 <sup>b,B</sup>

All results are expressed as mean value ± standard error.

<sup>abc</sup> Different lowercase letters in the same column for a given property indicate statistical difference ( $p < 0.05$ ) by Tukey's test.

<sup>ABC</sup> Different capital letters in the same line indicate statistical difference ( $p < 0.05$ ) by Tukey's test.

WA (without acid), CA (citric acid), AA (ascorbic acid)

### 5.3.2. Water Vapor Permeability (WVP)

The data obtained for WVP of avocado biobased films are shown in Table 5.2. By observing the different proposed formulations (columns) can be noticed that films without starch and glycerol (100:0:0) have the lowest values of WVP. These films have higher oil content in their composition, which may explain the values obtained. It is also observed that although the formulation 96:2:2 presents less gelatinized starch and more oil than 95: 3: 2, it presented higher values of WVP. This is probably occurs due to improved starch-glycerol compatibility in the matrix, causing more interaction between these molecules, and consequently fewer hydrophilic molecules available or unbound. These results are consistent with the previous ones, when it was observed that the values of moisture content have the same tendency (Santos *et al.*, 2016).

The samples with acids (AA and CA) presented a decrease of WVP in comparison to the respective formulations without these additives (WA). Nevertheless, the intensity of this decrease was independent on the specific acid used, since no significant difference was

observed between the values of WVP in the AA and CA columns at fixed lines. These results can be explained on the basis that acids may cause starch to form a tight structure after crosslinking, preventing swelling and restricting the movement of molecules (Reddy e Yang, 2010; Shah *et al.*, 2016).

Additionally, it must be remarked that all the avocado films prepared in this work presented low WVP values if compared with other biobased films reported in the literature (Rojas-Graü *et al.*, 2007; Ma *et al.*, 2012). This fact can be a good aspect in terms of applications, although these WVP values are still higher than the films made from polymeric matrixes derived from petroleum (García *et al.*, 2009; Wihodo e Moraru, 2013).

### **5.3.3. Optical properties: Color and Opacity**

The data of color and opacity of the prepared avocado biobased films are shown in Table 5.3. The hue angles ranged between 0° and 90°, representing a color between red and yellow, respectively. The addition of starch and glycerol (comparison between lines) resulted in slightly yellowish films due to the intrinsic color of starch. The addition of citric acid to the matrix increased the Hue values, probably because the addition of CA protected the avocado pulp during the drying process, avoiding browning. On the other hand, the addition of ascorbic acid to the formulation led to films with more reddish coloration, probably because of the ascorbic acid degradation reaction which produces brownish components, such as furfural (Guzmán-Gerónimo *et al.*, 2008; Fennema *et al.*, 2010).

The luminosity values ( $L^*$ ) increased with the addition of glycerol and starch. This can be attributed to the dilution of the original matrix (avocado pulp) by the addition of gelatinized starch and glycerol, since the granules of the former contain absorbed water and the later is a translucent material.

Data of Table 5.3 also indicate that the addition of starch/glycerol and acids decreased the opacity of the films with relation to the film without additives (WA - 100:0:0) and increased the  $C^*_{ab}$  values, leading to brighter films with more vivid and chromatic colors. Regarding the effect of starch/glycerol on the opacity, similar behavior was observed by Santos *et al.* (2016) for avocado films with different contents of starch and glycerol, and can be attributed to the addition of more transparent materials to the matrix and to the decrease in the amount of oil in the formulation. The decrease of opacity with the addition of acids was also reported by Ortega-Toro *et al.* (2014) for citric acid-methylcellulose-starch films. This

decrease is probably related to the fact that the acids can form bonds with the other film components, decreasing the crystallinity of the material.

**Table 5.3** Color and opacity of avocado biobased films with and without acids.

Composition [Avocado Pulp: Starch: Glycerol]	Property	Additive		
		Without Acid (WA)	Citric Acid (CA)	Ascorbic Acid (AA)
100:0:0	<b>Color - <math>L^*</math></b>	49.3 ± 0.5 <sup>c,B</sup>	64.7 ± 0.3 <sup>b,A</sup>	42.1 ± 0.3 <sup>c,B</sup>
96:2:2		61.4 ± 0.8 <sup>b,B</sup>	70.6 ± 0.4 <sup>a,A</sup>	53.8 ± 0.7 <sup>b,C</sup>
95:3:2		65.6 ± 0.7 <sup>a,B</sup>	73.9 ± 0.4 <sup>a,A</sup>	58.5 ± 0.6 <sup>a,C</sup>
100:0:0	<b>Chroma <math>C^*_{ab}</math></b>	36.3 ± 0.3 <sup>b,C</sup>	54.0 ± 0.1 <sup>a,A</sup>	37.8 ± 0.4 <sup>b,B</sup>
96:2:2		41.2 ± 0.6 <sup>a,C</sup>	52.9 ± 0.2 <sup>b,A</sup>	50.6 ± 0.9 <sup>a,B</sup>
95:3:2		41.2 ± 0.4 <sup>a,B</sup>	51.2 ± 0.13 <sup>c,A</sup>	53.3 ± 1.0 <sup>a,A</sup>
100:0:0	<b>Hue - <math>h_{ab}</math> (degrees)</b>	77.8 ± 0.4 <sup>c,B</sup>	84.4 ± 0.2 <sup>c,A</sup>	55.6 ± 0.5 <sup>c,C</sup>
96:2:2		84.2 ± 0.3 <sup>b,B</sup>	87.8 ± 0.1 <sup>b,A</sup>	69.8 ± 0.6 <sup>b,C</sup>
95:3:2		86.3 ± 0.3 <sup>a,B</sup>	89.1 ± 0.2 <sup>a,A</sup>	74.6 ± 0.5 <sup>a,C</sup>
100:0:0	<b>Opacity (Abs . mm<sup>-1</sup>)</b>	14.1 ± 0.3 <sup>a,A</sup>	10.6 ± 0.3 <sup>a,B</sup>	10.5 ± 0.3 <sup>a,B</sup>
96:2:2		11.4 ± 0.5 <sup>b,A</sup>	8.7 ± 0.6 <sup>b,B</sup>	10.9 ± 0.4 <sup>a,A</sup>
95:3:2		10.3 ± 0.5 <sup>b,A</sup>	9.0 ± 0.4 <sup>ab,A</sup>	9.4 ± 0.2 <sup>b,A</sup>

All results are expressed as mean value ± standard error.

<sup>abc</sup> Different lowercase letters in the same column for a given property indicate statistical difference ( $p < 0.05$ ) by Tukey's test.

<sup>ABC</sup> Different capital letters in the same line indicate statistical difference ( $p < 0.05$ ) by Tukey's test.

WA (without acid), CA (citric acid), AA (ascorbic acid)

#### 5.3.4. Tensile properties

The mechanical properties of the films are shown in Table 5.4. The films with composition 100: 0: 0, with or without acid, presented brittle characteristics, as reflected in high tensile strength ( $\sigma$ ), low elongation at break ( $\epsilon$ ) and high Young's Modulus (E). These are typical characteristics of films obtained from fruit pulps (Martelli *et al.*, 2014; Pérez-Gago e Rhim, 2014), which is due to the high intensity intermolecular forces among biopolymers chains (Wang *et al.*, 2011).

The addition of citric acid increased the elongation at break of the material, decreasing  $\sigma$  and E, which reflects a plasticizing effect exerted by the citric acid. This effect is apparently inconsistent with the results of WVP (Section 5.3.2) which suggest that the addition of acids promoted a certain degree of crosslink in the films. However, it has already been reported in the literature that citric acid can act both as a plasticizer and as a cross-linking agent (Ghanbarzadeh *et al.*, 2011). In this case the predominant effect is expected to be dependent on the specific property under consideration. On the other hand, the films produced with ascorbic acid presented similar elongation at break and higher rigidity in comparison to pure

avocado pulp film (WA - 100:0:0), indicating that this acid has no plasticizing effect, acting only as a cross-linking agent.

The addition of glycerol and starch (columns) increased the elongation at break of the films, corroborating the plasticizer effect of glycerol (Han, 2014b). Besides, the 95: 3: 2 avocado films can be considered a more suitable formulation for this matrix, since they presented the highest values for all three properties analyzed.

**Table 5.4** Mechanical properties of avocado biobased films with and without acids.

Composition [Avocado Pulp: Starch: Glycerol]	Property	Additive		
		Without Acid (WA)	Citric Acid (CA)	Ascorbic Acid (AA)
100:0:0	<b>Tensile strength</b> $\sigma$ (MPa)	4.39 $\pm$ 0.19 <sup>a,B</sup>	3.77 $\pm$ 0.09 <sup>a,C</sup>	6.11 $\pm$ 0.21 <sup>a,A</sup>
96:2:2		0.34 $\pm$ 0.02 <sup>b,B</sup>	1.07 $\pm$ 0.03 <sup>c,A</sup>	1.02 $\pm$ 0.02 <sup>c,A</sup>
95:3:2		0.71 $\pm$ 0.03 <sup>b,B</sup>	2.05 $\pm$ 0.05 <sup>b,A</sup>	1.89 $\pm$ 0.08 <sup>b,A</sup>
100:0:0	<b>Elongation at break</b> $\epsilon$ (%)	2.0 $\pm$ 0.1 <sup>c,B</sup>	6.3 $\pm$ 0.2 <sup>b,A</sup>	1.7 $\pm$ 0.1 <sup>c,B</sup>
96:2:2		14.5 $\pm$ 0.7 <sup>b,B</sup>	24.6 $\pm$ 0.6 <sup>a,A</sup>	15.7 $\pm$ 0.3 <sup>b,B</sup>
95:3:2		17.9 $\pm$ 0.7 <sup>a,B</sup>	24.9 $\pm$ 0.5 <sup>a,A</sup>	18.4 $\pm$ 0.5 <sup>a,B</sup>
100:0:0	<b>Young's modulus</b> <b>E</b> (MPa)	295.2 $\pm$ 12.7 <sup>a,B</sup>	174.5 $\pm$ 4.3 <sup>a,C</sup>	449.3 $\pm$ 11.5 <sup>a,A</sup>
96:2:2		8.4 $\pm$ 0.6 <sup>c,C</sup>	18.8 $\pm$ 0.8 <sup>c,B</sup>	35.8 $\pm$ 1.4 <sup>b,A</sup>
95:3:2		22.6 $\pm$ 1.7 <sup>b,C</sup>	36.6 $\pm$ 1.7 <sup>b,B</sup>	45.9 $\pm$ 3.0 <sup>b,A</sup>

All results are expressed as mean value  $\pm$  standard error.

<sup>abc</sup> Different lowercase letters in the same column for a given property indicate statistical difference ( $p < 0.05$ ) by Tukey's test.

<sup>ABC</sup> Different capital letters in the same line indicate statistical difference ( $p < 0.05$ ) by Tukey's test.

WA (without acid), CA (citric acid), AA (ascorbic acid)

### 5.3.5. Thermogravimetric analysis and Fourier transform infrared spectroscopy

Figure 5.1 presents the DTG curves for the produced films. Two peaks were found in the temperature range between 20 to 100 °C, characteristic of water evaporation associated with free and bound water (Ahmad, Nirmal, *et al.*, 2015; Torabi *et al.*, 2016). The area of these peaks increased with the addition of glycerol and starch, which are hydrophilic components, for the samples WA and AA. Contrarily, the area of these peaks decreased with the addition of starch and glycerol for samples CA, showing a more complex interaction among the components in the presence of citric acid, as it has also been observed in the tensile properties in the previous section.

The mass loss stages between 140 °C and 250 °C are associated with mass losses by degradation of glycerol, simple polysaccharides, low molar weight peptides, citric acid and ascorbic acid (Liu *et al.*, 2011; Juhász *et al.*, 2012; Kiangkitiwan e Srikulkit, 2013; Ahmad, Nirmal, *et al.*, 2015). In this way, for the samples without acid (Figure 5.1a), the significant

---

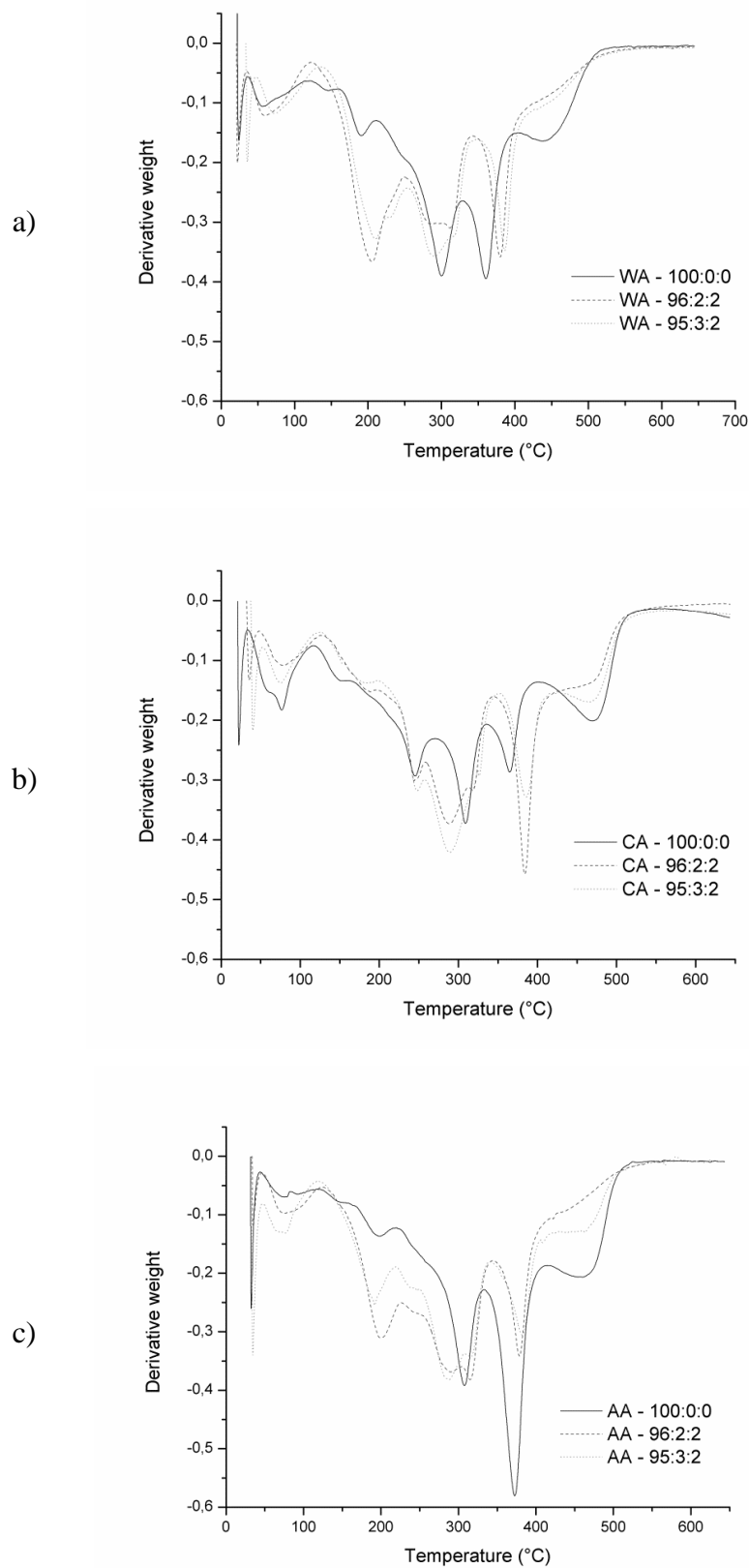
increase of the main peak in this region can be attributed to the addition of glycerol. Similarly, in the samples CA (Figure 5.1b), the peak around 240 °C is related to presence of citric acid (Liu *et al.*, 2011). Finally, ascorbic acid degrades in a range of temperature (190 °C – 220 °C) (Juhász *et al.*, 2012) similar to that of glycerol, as can be seen for the samples AA (Figure 5.1c).

The region between 280-320 °C presents one or two peaks depending on the samples. Sample WA - 100:0:0 (Figure 5.1a) presents a single peak around 300 °C, which is characteristic of avocado pulp (Santos *et al.*, 2016) and is related to larger-size or higher interacted protein fractions degradation (Hoque *et al.*, 2011; Ahmad, Hani, *et al.*, 2015). A single peak is also observed for samples CA - 100:0:0 and AA - 100:0:0 (Figures 5.1 b and c, respectively), but shifted to 308 °C, probably due to the interaction between the acids and avocado pulp. For the samples containing starch and glycerol, two peaks are superposed in this region, the first around 290 °C and the second around 320 °C. The latter was attributed to the degradation of starch (Ramírez *et al.*, 2010). The peak at 290 °C reflects probably a shift of the avocado pulp due to interactions with glycerol and starch.

The peaks started between 360 °C and 400 °C are probably related to oleic and palmitic oils, the main fatty acids present in avocado oil, and others complex and high molecular weight components (Ahmad, Nirmal, *et al.*, 2015). For the WA samples occurs a peak shift for 360 °C to 380 °C (WA - 96:2:2) and to 387 °C (WA - 95:3:2) when starch and glycerol are added to the formulation. For the ascorbic acid samples (AA), the peak displacement also occurs and a considerable decrease of the degradation area. This could indicate the formation of compounds with lower molecular weight on the interaction between residue and acid. For the samples with citric acid, in addition to the displacement, the area of these peaks increases considerably when compared to sample CA - 100:0:0, indicating the formation of components with higher molecular weight and complexity in the interaction between matrix components.



**Figure 5.7.** DTG curves of biobased avocado films: (a) without addition of acids (WA), (b) with addition of citric acid (CA), (c) with addition of ascorbic acid (AA).



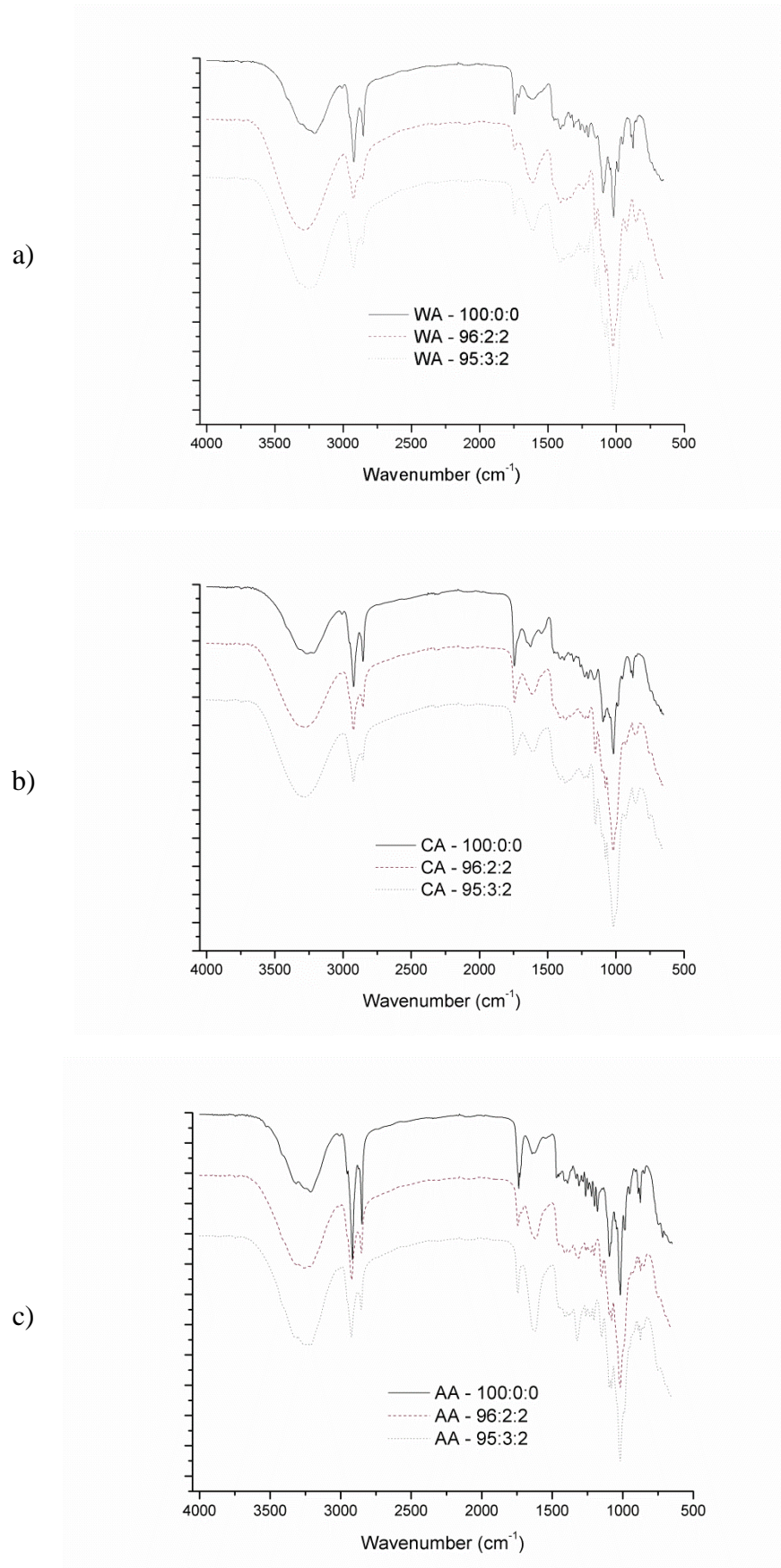
---

### 5.3.6. *Fourier transform infrared spectroscopy*

FTIR spectra of avocado films are shown in Figure 5.2. The broad band ranging between 3100-3500  $\text{cm}^{-1}$  was due to hydrogen-bonded hydroxyl groups. These bands are associated to the presence of hydrogen bonding in the polymer (Yoon, 2014). The asymmetric (2923-2921  $\text{cm}^{-1}$ ) and symmetric (2853-2850  $\text{cm}^{-1}$ ) CH/CH<sub>2</sub> stretching vibration also can be observed (Andrade *et al.*, 2016; Kumar e Cumbal, 2016). The peak at 1737-1744  $\text{cm}^{-1}$  corresponds to C=O stretching vibration of ketones and aldehydes of esters groups founded in triglycerides and polyphenols (Andrade *et al.*, 2016; Kumar e Cumbal, 2016). Moreover, it can be observed the presence of peaks between 1500  $\text{cm}^{-1}$  and 1650  $\text{cm}^{-1}$  relating to stretching vibration of C=O bands and N-H bonds of amide groups of proteins (Zhong e Xia, 2008; Li *et al.*, 2014; Andrade *et al.*, 2016; Kumar e Cumbal, 2016). The absorbance bands range at 1096-1095  $\text{cm}^{-1}$  e 1019-1017  $\text{cm}^{-1}$  arise from C-O stretching vibrations of ester (Kumar e Cumbal, 2016). The bands between 1100 to 800  $\text{cm}^{-1}$  also can be considered characteristic of saccharides (stretching of C—C and C—O bonds and contribution from C—H bonds) (Miranda e Carvalho, 2011; Andrade *et al.*, 2016).

In the comparison with the 100:0:0 samples (with and without acids), the main difference promoted in the FTIR spectra (Figure 5.2) by the addition of starch is observed in the regions between 1147-1152  $\text{cm}^{-1}$ , 1017-1023  $\text{cm}^{-1}$ , and 985-990  $\text{cm}^{-1}$  characteristic of anhydroglucose ring (Miranda e Carvalho, 2011; Yoon, 2014). This modification is probably related to interactions between the hydrogen atoms present in the acids and the hydroxyl groups of the starch anhydroglucose ring.

**Figure 5.2.** FTIR spectra of avocado biobased films; (a) without the addition of acids (WA), (b) with the addition of citric acid (CA), (c) with the addition of ascorbic acid (AA).



---

### 5.3.7. Antioxidant and Antibacterial Activity

Table 5.5 presents the data obtained for the antioxidant and antibacterial activity of films. The formulation WA-100:0:0, composed only by avocado pulp, as well as the formulations containing acids (CA and AA), presented antioxidant activity after 100 min (68%). This antioxidant activity can be attributed to the remaining content of avocado oil (36% d.b.), which is rich in tocopherols and aromatic compounds (Prescha *et al.*, 2014), and to the presence of phenolic compounds in the pulp. These results are in qualitative agreement with those presented by Wang *et al.* (2010) and Rodríguez-Carpena *et al.* (2011), who have reported antioxidant activity for avocado pulp, suggesting that this behavior occurs due to the presence of phenolic content and procyanidins present in the pulp, respectively. Additionally, Prescha *et al.* (2014) and Abaide *et al.* (2017) have found antioxidant activity for cold-pressed extracted avocado oil and avocado oils obtained by CO<sub>2</sub> supercritical extraction, respectively.

The addition of citric and ascorbic acids increased the antioxidant activity, as a result of the combination of the effects of the components found in avocado pulp and the acids present in the matrix. It is also observed that ascorbic acid has a higher capacity to neutralize DDPH than citric acid, probably due to its capacity to donate hydrogen to the medium (Fennema *et al.*, 2010). Furthermore, the addition of starch and glycerol led to a significant decrease of antioxidant activity for the samples WA - 96:2:2, WA - 95:3:2 and CA - 95:3:2, which may be ascribed to the minor presence of avocado pulp in these formulations.

For all samples and both microorganisms, there was no bacterial growth on the contact surface between the agar and the film. In addition, for all films the inhibition zone produced by the film (Table 5.5) was partial, since satellite colonies were found in the formed halo. The presence of a second halo and satellite colonies indicate that could have occurred hydrolysis in the first few hours of incubation. This phenomenon promotes the reproduction of microorganisms before the inhibition by the antibacterial agent. In other words, the rate of antibacterial agent diffusion is lower than the rate of growth of the microorganism. It is also important to emphasize that the incubated microorganisms were obtained from outbreaks, increasing the probability of existing resistant microorganisms in the strain used.

The presence of an inhibition zone in the sample WA - 100:0:0 could indicate that part of the antibacterial activity found in the samples probably occurs due to the presence of the remaining content of avocado oil, which is rich in sesquiterpene, hydroperoxides, alkaloids

and other terpenes (Raymond Chia e Dykes, 2010). These compounds enter in the microbial cell by osmosis and perform the dehydration thereof. Rodríguez-Carpena *et al.* (2011) have also found antibacterial activity from Fuerte avocado pulp extract for the following bacterias: *Bacillus cereus* (5.07 mm) *Staphylococcus aureus* (3.93 mm) *Listeria monocytogenes* (6.00 mm) and *Escherichia coli* (4.67 mm). They suggest that this antibacterial activity could be occurring due to presence of p-coumaric acid derivatives and the fat content present.

It is important to remark that antibacterial activity was found both for the Gram-negative *S. Enteritidis* and the Gram-positive *S. aureus*, despite their differences in terms of cellular wall. This has also been observed by Nedd *et al.* (2015) and Chia and Dykes (2010), working, respectively with methanolic and ethanolic avocado pulp extracts.

**Table 5.5** Antioxidant and antibacterial activity of avocado biobased films with and without acids.

Composition [Avocado Pulp: Starch: Glycerol]	Property	Additive		
		Without Acid (WA)	Citric Acid (CA)	Ascorbic Acid (AA)
100:0:0	<b>DPPH Activity</b> <b>I<sub>100</sub> (%)</b>	68.3 ± 2.8 <sup>a,B</sup>	89.9 ± 2.8 <sup>a,A</sup>	92.7 ± 0.2 <sup>a,A</sup>
96:2:2		41.5 ± 2.1 <sup>b,C</sup>	85.5 ± 1.5 <sup>a,B</sup>	94.2 ± 1.2 <sup>a,A</sup>
95:3:2		38.3 ± 0.7 <sup>b,C</sup>	64.7 ± 2.4 <sup>b,B</sup>	92.3 ± 1.5 <sup>a,A</sup>
100:0:0	<b>Innibition zone</b>	6.7	7.7	8.7
96:2:2	<b><i>S. Enteritidis</i></b>	10.7	10.2	7.4
95:3:2	<b>(mm) Gram -</b>	11.0	10.7	9.3
100:0:0	<b>Innibition zone</b>	9.8	6.0	12.2
96:2:2	<b><i>S. aureus</i></b>	5.2	9.3	6.0
95:3:2	<b>(mm) Gram +</b>	3.5	8.0	6.0

All results are expressed as mean value ± standard error.

<sup>abc</sup> Different lowercase letters in the same column for a given property indicate statistical difference ( $p < 0.05$ ) by Tukey's test.

<sup>ABC</sup> Different capital letters in the same line indicate statistical difference ( $p < 0.05$ ) by Tukey's test.

WA (without acid), CA (citric acid), AA (ascorbic acid)

## 5.4. Conclusion

Biobased films composed by aqueous extraction avocado oil residue and cassava starch were successful produced. Cassava starch and glycerol improved the mechanical response of the produced films and their water related properties (WVP, moisture content, water-soluble fraction). Both ascorbic and citric acids presented good compatibility with the other elements of the matrix and effectively modified the biobased films properties. Citric and ascorbic acids addition produced films with less moisture content and water vapour permeability. For films containing citric acid it was observed an increase in the elongation at break data and a decrease of water-soluble fraction values indicating that it acts as a

plasticizer and cross-linker in the matrix. Ascorbic acid increased significantly Young's Modulus and tensile strength indicating cross-linking reaction between the acid and the other matrix elements. Thermogravimetric analysis and Fourier transform infrared spectroscopy indicated likely compatibility among the film components. Besides, all the formulations tested presented antioxidant and antibacterial activity, both for *S. Enteritidis* and *S. aureus*.

### **5.5. Acknowledgements**

The authors are grateful to Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES, Brazil) for the financial support and AvocadoBR Essential Oils for the donation of the avocado pulp used in this research.

---

## Capítulo 6 - Artigo III - Desenvolvimento de filmes biodegradáveis baseados no resíduo da extração de óleo de abacate e gelatina bovina.

Cassandra Dalle Mulle Santos<sup>1</sup>, Débora Jung Luvizetto Faccin<sup>1</sup>, Simone Hickmann Flôres<sup>2</sup>, Nilo Sérgio Medeiros Cardozo<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Polymer Processing Technology Laboratory, Chemical Engineering Department, Federal University of Rio Grande do Sul (UFRGS), Rua Engenheiro Luiz Englert, s/n. Campus Central, ZC: 90040-040, Porto Alegre, RS, Brazil

<sup>2</sup>Bioactive Compounds Laboratory, Food Science and Technology Institute, Federal University of Rio Grande do Sul, Av. Bento Gonçalves n. 9500, PO Box 15059, 91501-970 Porto Alegre, RS, Brazil

### 6.1. Introdução

Filmes à base de biopolímeros, em geral, podem ser produzidos a partir de três diferentes hidrocolóides ou mistura destes: proteínas, polissacarídeos e lipídeos (Han, 2014b). Por possuírem naturalmente em sua composição estes componentes, frutas e vegetais têm sido investigados como materiais formadores de filme nos últimos anos (Otoni *et al.*, 2017). Durante o processo de formulação da solução filmogênica, diversas formas destes materiais podem ser utilizados: purês (Sothornvit e Rodsamran, 2008; Du, Olsen, Avena-Bustillos, Mchugh, Levin, Mandrell, *et al.*, 2009; Azeredo *et al.*, 2012), extratos (Park e Zhao, 2006; Deng e Zhao, 2011; Eça Kaliana *et al.*, 2015), farinhas (Nascimento *et al.*, 2012; Andrade *et al.*, 2016), componentes isolados (Santos *et al.*, 2015), resíduos e subprodutos da indústria alimentícia (Fai *et al.*, 2016; Santos *et al.*, 2016).

Neste contexto, o uso de resíduos agro-industriais para compor as soluções filmogênicas tem sido cada vez mais investigado (Flôres *et al.*, 2017) para produção de filmes biodegradáveis. Isto se deve às diversas aplicabilidades desses materiais, tanto em relação a fatores ambientais, industriais e econômicos, quanto em relação a fatores sociais, de saúde e

---

segurança alimentar. Entre as diferentes aplicações e fatores encontrados para o desenvolvimento desses materiais pode-se citar: substituição de filmes plásticos advindos de fontes fósseis não biodegradáveis (Arvanitoyannis, 2008; Zhang *et al.*, 2008); busca por materiais produzidos a partir de fontes renováveis (Flieger *et al.*, 2003; Babu *et al.*, 2013); diminuição de resíduos ou subprodutos da indústria empregando-os no desenvolvimento de novos produtos (Leceta *et al.*, 2014; Flôres *et al.*, 2017); impacto do acúmulo dos plásticos nos mares e nas cidades (Green *et al.*, 2015; Jambeck *et al.*, 2015); utilização de filmes na indústria farmacêutica e biomédica (Kalia e Avérous, 2011; Croisier e Jérôme, 2013); emprego destes como embalagens ativas e inteligentes em alimentos (Biji *et al.*, 2015; Ribeiro-Santos *et al.*, 2017).

O abacate e seus subprodutos, que são largamente produzidos e comercializados no mundo (Hakizimana e May, 2018; Rincon-Patino *et al.*, 2018), estão entre os materiais com potencial para aplicação na produção de filmes biodegradáveis. O resíduo produzido a partir da extração aquosa do óleo de abacate trata-se de uma polpa parcialmente desengordurada e hidratada, sendo esta o componente majoritário do resíduo nesse tipo de processo (Bizimana *et al.*, 1993; Rosenthal *et al.*, 1996; Qin e Zhong, 2016). Com foco no potencial de aplicação deste tipo de resíduo e considerando os aspectos mencionados anteriormente, Santos *et al.* (2016) desenvolveram filmes à base do resíduo da extração do óleo de abacate e amido de mandioca, obtendo filmes com baixos valores de permeabilidade ao vapor d'água, fração solúvel em água em torno de 50% e propriedades mecânicas comparáveis a filmes de celofane.

No entanto, deve-se levar em consideração que diferentes compostos podem ser adicionados nas formulações de filmes baseados em frutas e vegetais para modificar e/ou melhorar as propriedades destes, levando em consideração sua estabilidade e aplicação. Assim, juntamente com o amido, pectina, celulose e gelatina estão entre os biopolímeros mais utilizados nessas composições (Otoni *et al.*, 2017), sendo que cada um destes compostos afeta de maneira diferente as propriedades finais dos filmes obtidos. Por exemplo, o uso da gelatina, composto de interesse no presente trabalho, tende a gerar filmes mais flexíveis e maleáveis do que aqueles obtidos com o uso de amido (Bourtoom, 2009; Otoni *et al.*, 2017).

A gelatina é um material obtido a partir da desnaturação parcial do colágeno de diferentes fontes animais que possui propriedades estabilizantes, espessantes e de formação de géis em alimentos. Trata-se de um material de baixo custo e largamente produzido



industrialmente. Filmes à base de gelatina costumam apresentar boas propriedades mecânicas e barreira a gases quando comparados com outros filmes biodegradáveis (Bourtoom, 2009; Lacroix e Vu, 2014), porém apresentam alta afinidade com água, podendo ter alta solubilidade em água e altos valores de permeabilidade ao vapor d'água (Lacroix e Vu, 2014).

Adicionalmente, um dos problemas observados em filmes biodegradáveis feitos a partir de frutas e vegetais é a ocorrência de escurecimento enzimático. Alguns compostos tais como ácido cítrico e ácido ascórbico têm sido utilizados para prevenir estas reações (Du *et al.*, 2011; Ravishankar *et al.*, 2012; Espitia, Paula J. Pérez *et al.*, 2014; Martelli *et al.*, 2014).

Levando em consideração os aspectos discutidos, este trabalho tem como objetivo produzir filmes a partir do resíduo da extração aquosa do óleo de abacate e gelatina bovina. Além disso, investigou-se como a adição dos ácidos ascórbico e cítrico (usados como conservantes) influenciaram as propriedades dos filmes em suas diferentes propriedades mecânicas, de barreira e óticas. E por fim, foi testada a potencial atividade antioxidante dos filmes desenvolvidos.

## **6.2. Materiais e métodos**

### **6.2.1. Materiais**

A polpa de abacate hidratada e parcialmente desengordurada oriunda do processo de extração aquosa do óleo de abacate, utilizada neste trabalho, foi fornecida por um produtor local (AvocadoBR Óleos Essenciais, Venâncio Aires, Brasil). Gelatina bovina em pó foi adquirida em mercado local (Porto Alegre, RS, Brasil). Glicerol (Dinâmica, Brasil) foi utilizado como plastificante nas formulações dos filmes e ácido cítrico (CA) (Vetec, Brasil) e ácido ascórbico (AA) (Vetec, Brasil) como aditivos.

A polpa de abacate empregada foi caracterizada em trabalhos anteriores e sua composição centesimal é composta por 95,6 % de água, 10,4 % de proteína, 36,5 % de gordura, 10,7 % de fibras solúveis, 15,2 % de fibras insolúveis, 7,6 % de cinza e 19,4 % de carboidratos em base seca (Santos *et al.*, 2016). A polpa, resíduo da extração do óleo, foi coletada diretamente da produção e dividida igualmente em 3 partes. Na primeira parte não foi adicionada nenhum aditivo, na segunda parte foi adicionado 0,6 % de ácido cítrico (m/m) e na terceira parte, 0,6 % de ácido ascórbico (p/p). Após a coleta, o resíduo foi colocado em garrafas PET sob atmosfera de nitrogênio e lacradas. As garrafas contendo a polpa foram

---

congeladas rapidamente com gelo seco e então armazenadas em freezer doméstico à  $-18\text{ }^{\circ}\text{C}$ , sendo mantidas nessa condição até a utilização nos experimentos.

### 6.2.2. Preparação dos filmes

A polpa de abacate hidratada e parcialmente desengordurada foi utilizada como principal componente nas soluções filmogênicas elaboradas e. Que estão apresentadas na Tabela 6.1. Entre as nove soluções filmogênicas desenvolvidas para este trabalho, três delas foram formuladas com o objetivo de serem filmes controle: filmes contendo somente a polpa de abacate (WA 100:0:0), filmes contendo a polpa de abacate adicionado de 0,6 % (p/p) de ácido cítrico (CA 100:0:0) e filmes contendo a polpa de abacate adicionado de 0,6 % (p/p) de ácido ascórbico (AA 100:0:0). Estas três formulações já foram discutidas em artigo anterior (Artigo II) e são aqui apresentadas para melhor compreensão e discussão dos fenômenos que ocorrem nos filmes contendo gelatina e a presença ou não destes ácidos.

Para as outras seis soluções filmogênicas elaboradas foram adicionadas às polpas, contendo ou não ácido ascórbico ou cítrico, diferentes proporções de gelatina bovina e glicerol como descrito na Tabela 6.1. Primeiramente, foi preparada uma solução de gelatina bovina (BG) a partir de uma suspensão de 10 g de gelatina em pó em 100 g de água destilada. Essa solução foi agitada (200 rpm) durante 20 min à temperatura ambiente ( $25\text{ }^{\circ}\text{C}$ ). Posteriormente, a solução de gelatina foi aquecida até  $70\text{ }^{\circ}\text{C}$  e permaneceu em agitação a essa temperatura por 10 min. Sendo mantida em banho controlado a esta mesma temperatura até a sua utilização no preparo das soluções filmogênicas.

Os componentes da formulação foram, então, misturados com o auxílio de um agitador suspenso (EduTec, EEQ9034 model, Brasil), durante 5 min, nas proporções já apresentadas, e a solução filmogênica resultante foi vertida em placas de petri de acrílico na quantidade de  $0,25\text{ g cm}^{-2}$ . Após, as amostras foram secas (*casting*) com circulação de ar (DeLeo, model B5AFD, Brasil) durante 16 h à  $40\text{ }^{\circ}\text{C}$ .

Os filmes produzidos foram climatizados em um dessecador com umidade relativa de  $50 \pm 5\%$  e à temperatura de  $25 \pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$  (usando solução saturada de brometo de sódio) por pelo menos 48 h antes das análises. Todas as análises, quando aplicável, foram realizadas com o lado do filme exposto ao ar durante o processo de secagem.

**Tabela 6.1.** Composição dos filmes de abacate com o resíduo puro, ácido cítrico e ácido ascórbico, e gelatina bovina.

Filme	Polpa de abacate utilizada	Composição da solução filmogênica (m/m)		
		Polpa de abacate (com ou sem ácido)	Gelatina Bovina	Glicerol
<b>WA - 100:0:0</b>	Pura	100	0	0
<b>CA - 100:0:0</b>	Com 0,6 % de CA	100	0	0
<b>AA - 100:0:0</b>	Com 0,6 % de AA	100	0	0
<b>WA - 97:2:1</b>	Pura	97	2	1
<b>CA - 97:2:1</b>	Com 0,6 % de CA	97	2	1
<b>AA - 97:2:1</b>	Com 0,6 % de AA	97	2	1
<b>WA - 96:2:2</b>	Pura	96	2	2
<b>CA - 96:2:2</b>	Com 0,6 % de CA	96	2	2
<b>AA - 96:2:2</b>	Com 0,6 % de AA	96	2	2

Filmes de abacate sem nenhum aditivo (WA) e com adição de ácido cítrico (CA) ou com ácido ascórbico (AA).

### 6.2.3. Caracterização dos filmes

A espessura dos filmes, para cada formulação desenvolvida, foi obtida utilizando um micrômetro digital (Digimess, modelo IP40, Brasil) com precisão de 0,001 mm. Vinte amostras por formulação foram utilizadas nesta análise, sendo medida a espessura em cinco pontos distintos por amostra.

O teste de umidade foi realizado pelo método gravimétrico (Analysis, 2008). Três discos de 2 cm de diâmetro foram recortados, colocados em cadinhos metálicos, pesados e levados para secar em estufa (DeLeo, model B5AFD, Brasil) por 24 h à 105 °C. Após esse período, os cadinhos foram pesados e a umidade foi calculada pela diferença de massa do cadinho antes e depois da secagem.

A solubilidade foi determinada utilizando os discos previamente secos na análise de umidade (Gontard *et al.*, 1992). Os filmes foram imersos em 30 mL de água destilada e colocados em banho-maria com agitação (80 rpm) (Novatecnica, modelo NT145, Brasil) à 25°C por 24 h. Após, foi retirada a água dos recipientes contendo as amostras e estas foram novamente secas em estufa nas mesmas condições. A solubilidade foi determinada como a percentagem de matéria seca solubilizada após 24 h de imersão.

Permeabilidade ao vapor d'água (PVA) foi medida de acordo com a norma ASTM E96/E96M – 15 (Astm, 2015) com modificações (Dick *et al.*, 2015; Pagno *et al.*, 2015). Os filmes foram fixados em células de permeação (diâmetro interno: 63 mm; altura: 25 mm)

contendo cloreto de cálcio anidro granulado desumidificado (0 % UR). As células, hermeticamente fechadas, foram armazenadas a 25 °C em uma cuba de vidro contendo solução saturada de cloreto de sódio (75 % UR), onde permaneceram por 24 horas. As células foram pesadas em uma balança analítica (Shimadzu, AY 220 model, Japan) antes e depois do armazenamento. A permeabilidade ao vapor d'água foi calculada utilizando a seguinte equação (1):

$$PVA = (W \times L) / (A \times t \times \Delta p) \quad (1)$$

onde  $W$  é a massa de água que permeou através do filme (g),  $L$  é a espessura do filme (mm),  $A$  é a área de permeação (0,0032 m<sup>2</sup>),  $t$  é o tempo de permeação (h), e  $\Delta p$  é a diferença de pressão de vapor entre os dois lados do filme (2,376 kPa, 25 °C). Os testes foram realizados em triplicata.

As análises mecânicas foram realizadas a partir da determinação dos valores de tensão de ruptura ( $\sigma$ ), percentagem de alongação na ruptura ( $\epsilon$ ) e Módulo de Young ( $E$ ) utilizando-se um texturômetro (TA.XT2i, Stable Micro Systems, UK) (Astm, 2012b). Vinte amostras para cada formulação foram cortadas em retângulos de 100 mm  $\times$  25 mm e a espessura foi medida com um micrômetro digital. Os testes foram realizados com separação entre as garras de 50 mm a uma velocidade de 10 mm min<sup>-1</sup>.

A cor dos filmes foi medida à luz do dia com D65, ângulo de 10°, com o auxílio de um colorímetro (Minolta, CR400, Japão). Foram medidos os parâmetros  $L^*$  (luminosidade),  $a^*$  (verde – vermelho) e  $b^*$  (azul – amarelo) da escala CIELAB (García e Sobral, 2005; García *et al.*, 2009) sobre um disco branco ( $L_o$ : 97.67;  $a_o$ : 50.13 e  $b_o$ : 51.57) em vinte amostras para cada formulação. A partir dos valores obtidos para os parâmetros  $L^*$ ,  $a^*$  e  $b^*$  foram calculadas a intensidade de cor (*Chroma* –  $C^*_{ab}$ ) e a matiz da cor (*hue* –  $h_{ab}$ ), utilizando as equações descritas a seguir:

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

$$h_{ab} = \arctan \frac{b^*}{a^*} \quad (3)$$

onde  $h_{ab}$  varia de  $[0, \pi]$  quando  $b^* \geq 0$  e  $(-\pi, 0)$  quando  $b^* < 0$ , expresso em graus

A opacidade dos filmes foi medida usando um espectrofotômetro UV/VIS (Varian, modelo Cary 100, EUA) no comprimento de onda de 600 nm (Shiku *et al.*, 2004). Sete amostras dos filmes (1 mm  $\times$  5 mm) foram colocadas no espectrofotômetro para a medida de

transmitância, utilizando a célula vazia como branco. A opacidade foi calculados de acordo com a equação de (Han e Floros, 1997):

$$\text{Opacidade} = (-\log T_{600}) / x \quad (4)$$

onde  $T_{600}$  é a transmitância à 600 nm e  $x$  é a espessura do filme (mm).

O método de captura do radical 2,2-difenil-1-picrilhidrazil (DPPH) foi realizado como indicativo da provável capacidade antioxidante dos filmes desenvolvidos (Iahnke *et al.*, 2015). Foram cortadas amostras de 1 cm<sup>2</sup> para cada uma das formulações e estas foram colocadas em solução de DPPH metanólico (3,9 mL, 0,06 mmol L<sup>-1</sup>). Uma solução pura de DPPH foi utilizada como branco. A absorvância das soluções foi medida utilizando um espectrofotômetro UV/VIS (Shimadzu, UV-1800, Japão) a 517 nm após 100 min. Todas as análises foram realizadas em quintuplicata. A porcentagem de inibição ( $I_{100}$ ) do radical DPPH foi calculada como descrito a seguir:

$$I_{100} = [(A_0 - A_{100}) \div A_0] \times 100 \quad (5)$$

onde  $A_0$  é a absorvância da amostra em branco e  $A_{100}$  é a absorvância da amostra contendo o filme.

### 6.2.3. Análise estatística

A comparação de valores médios foi realizada o software Statistica 12.0 (Statsoft Inc., Tulsa, EUA) utilizando Análise de Variância (ANOVA) e Teste de Tukey, com um nível de significância de 0,05. Foram realizadas comparações separando-se as formulações em dois grupos distintos. O primeiro grupo realiza comparação entre os filmes em relação às formulações desenvolvidas (100:0:0; 97:2:1; 96:2:2 – comparação entre linhas na Tabela 6.2) e o segundo grupo, a comparação em relação à presença de ácido ou não no filme (WA, CA, AA – comparação entre colunas na Tabela 6.2). Os resultados foram expressos utilizando letras diferentes para grupos de médias estatisticamente diferentes.

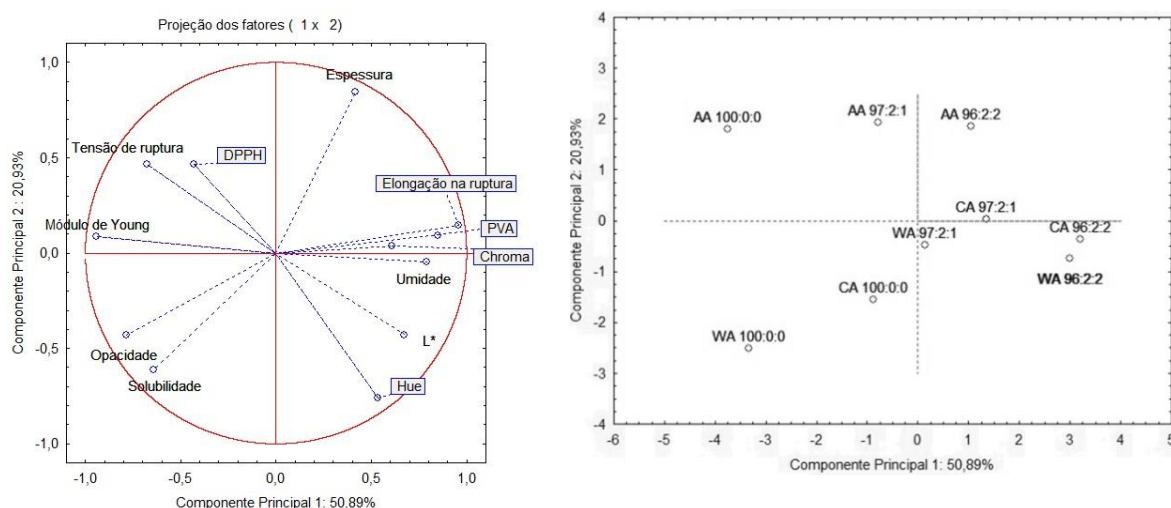
Além disso, as nove formulações desenvolvidas foram avaliadas em doze parâmetros utilizando-se a Análise dos Componentes Principais (ACP) com os dados obtidos, no software Statistica 12.0 (Statsoft Inc., Tulsa, EUA). A Análise de Componentes Principais (ACP) é uma técnica estatística multivariada que objetiva transformar um conjunto de variáveis originais contendo muitos dados em outro conjunto de variáveis de mesma dimensão denominadas de componentes principais, correlacionando-as. Esses componentes principais

são independentes entre si e estimados pra retenham o máximo de informação em termos da variação presente nos dados originais. A ACP agrupa os indivíduos de acordo com seu comportamento dentro da população de dados (variâncias), ou seja, segundo a variação de suas características.

### 6.3. Resultados e Discussão

A seguir são apresentados os resultados obtidos para cada uma das análises executadas (Tabela 6.2) e ACP realizada (Figura 6.1). Os resultados de caracterização dos filmes foram analisados e discutidos baseados na ACP e na análise das diferenças significativas.

**Figura 6.18.** Análise de componentes principais para as nove formulações desenvolvidas para filmes contendo polpa de abacate, gelatina e ácido cítrico e ascórbico.



**Tabela 6.2.** Propriedades dos filmes à base de polpa de abacate e gelatina contendo ou não ácidos orgânicos: espessura, umidade, solubilidade, permeabilidade ao vapor d'água (PVA), tensão de ruptura, alongação na ruptura, módulo de Young, opacidade, luminosidade, Chroma, Hue, atividade antioxidante (DPPH).

Composição		Aditivo											
[Polpa de abacate: Gelatina: Glicerol]	Propriedade	Sem ácidos (WA)			Ácido Cítrico (CA)			Ácido Ascórbico(AA)					
		100:0:0	0,099	±	0,001	c,C	0,138	±	0,001	c,B	0,166	±	0,002
97:2:1	Espessura (mm)	0,133	±	0,001	b,C	0,165	±	0,002	b,B	0,177	±	0,002	b,A
96:2:2		0,146	±	0,001	a,C	0,177	±	0,002	a,B	0,185	±	0,002	a,A
100:0:0	Umidade (%)	13,7	±	0,7	b,A	14,1	±	1,0	b,A	11,5	±	0,3	c,B
97:2:1		14,4	±	0,1	b,A	14,2	±	0,4	b,A	14,1	±	0,3	b,A
96:2:2		26,3	±	1,3	a,A	20,2	±	0,9	a,B	20,7	±	0,8	a,B
100:0:0	Solubilidade (%)	49,6	±	0,4	a,A	46,4	±	1,6	a,A	38,9	±	0,1	a,B
97:2:1		31,4	±	1,6	b,A	33,5	±	0,6	b,A	31,6	±	0,5	b,A
96:2:2		30,7	±	0,2	b,B	35,1	±	0,7	b,A	32,2	±	0,7	b,B
100:0:0	PVA	0,137	±	0,010	c,A	0,084	±	0,010	c,B	0,085	±	0,006	c,B
97:2:1		0,372	±	0,005	b,A	0,230	±	0,007	b,C	0,301	±	0,008	b,B
96:2:2		0,658	±	0,029	a,A	0,516	±	0,023	a,B	0,441	±	0,022	a,C
100:0:0	Tensão de ruptura (MPa)	4,39	±	0,19	b,B	3,77	±	0,09	b,C	6,11	±	0,21	a,A
97:2:1		5,89	±	0,12	a,A	4,64	±	0,09	a,B	6,23	±	0,10	a,A
96:2:2		2,45	±	0,05	c,B	2,35	±	0,03	c,B	4,12	±	0,06	b,A
100:0:0	Alongação na ruptura (%)	2,0	±	0,1	c,B	6,3	±	0,2	c,A	1,7	±	0,1	c,B
97:2:1		18,5	±	0,5	b,B	21,1	±	0,7	b,A	13,6	±	0,4	b,C
96:2:2		29,2	±	0,6	a,B	35,3	±	0,6	a,A	26,9	±	0,7	a,C
100:0:0	Módulo de Young (MPa)	295,2	±	12,7	a,B	174,5	±	4,3	a,C	449,3	±	11,5	a,A
97:2:1		142,2	±	4,7	b,B	103,0	±	1,8	b,C	168,8	±	4,3	b,A
96:2:2		34,1	±	1,2	c,B	27,5	±	0,8	c,C	64,7	±	1,9	c,A
100:0:0	L* (Luminosidade)	49,3	±	0,5	b,B	64,7	±	0,3	b,A	42,1	±	0,3	b,C
97:2:1		57,6	±	0,8	a,B	69,0	±	0,4	a,A	49,9	±	0,7	a,C
96:2:2		57,1	±	0,7	a,B	68,5	±	0,4	a,A	49,5	±	0,6	a,C
100:0:0	Chroma	36,3	±	0,3	b,C	54,0	±	0,1	a,A	37,8	±	0,4	b,B
97:2:1		43,0	±	0,6	a,C	52,9	±	0,3	b,A	47,5	±	0,8	a,B
96:2:2		43,2	±	0,6	a,C	52,8	±	0,2	b,A	47,1	±	0,7	a,B
100:0:0	Hue	77,8	±	0,4	b,B	84,4	±	0,2	b,A	55,6	±	0,5	b,C
97:2:1		80,8	±	0,4	a,B	86,5	±	0,2	a,A	63,2	±	0,7	a,C
96:2:2		80,8	±	0,3	a,B	86,5	±	0,2	a,A	63,3	±	0,6	a,C

Tabela 6.1 Continuação da Tabela 6.1.

Composição		Aditivo											
		Sem ácidos (WA)				Ácido Cítrico (CA)				Ácido Ascórbico(AA)			
[Polpa de abacate: Gelatina: Glicerol]	Propriedade												
100:0:0	Opacidade (Abs mm <sup>-1</sup> )	13,9	±	0,3	a,A	10,6	±	0,3	a,B	10,5	±	0,3	a,B
97:2:1		9,7	±	0,5	b,A	7,4	±	0,3	b,B	9,8	±	0,3	ab,A
96:2:2		8,8	±	0,3	b,A	8,4	±	0,3	b,A	9,2	±	0,3	b,A
100:0:0	Atividade Antioxidante DPPH (%)	68,3	±	2,8	a,B	89,9	±	0,6	a,A	92,7	±	0,2	a,A
97:2:1		47,2	±	2,1	b,B	76,6	±	1,5	b,A	83,5	±	1,2	b,A
96:2:2		43,2	±	0,7	b,C	72,2	±	2,4	b,B	89,6	±	1,5	a,A

Filmes de abacate sem nenhum aditivo (WA) e com adição de ácido cítrico (CA) ou ácido ascórbico (AA).

Resultados expressos como média ± erro padrão.

<sup>abc</sup> Letras minúsculas diferentes na mesma coluna, para a respectiva propriedade, apresentaram diferença significativa ( $p < 0.05$ ) pelo teste de Tukey.

<sup>ABC</sup> Letras maiúsculas na mesma linha possuem diferença significativa ( $p < 0.05$ ) pelo teste de Tukey.

O Componente Principal 1 (PC1) está relacionado com os parâmetros umidade, solubilidade, permeabilidade ao vapor d'água (PVA), tensão na ruptura ( $\sigma$ ), alongação na ruptura ( $\epsilon$ ), Módulo de Young (E), luminosidade ( $L^*$ ) e opacidade. Já, o Componente Principal 2 (PC2) está relacionado com os parâmetros de espessura e Hue ( $h_{ab}$ ), enquanto que as variáveis Chroma ( $C^*_{ab}$ ) e atividade antioxidante (DPPH) são representados pelo Componente Principal 3 (PC3) (dados não-mostrados). A variação total dos dados analisados foi de 89,01 %, com contribuição significativa de 50,88 %, 20,92 % e 17,20 % em relação aos parâmetros PC1, PC2, PC3, respectivamente. Os autovetores gerados podem ser consultados no Apêndice (Tabela A.1).

Os filmes desenvolvidos com a formulação 96:2:2 apresentaram os maiores resultados para umidade e PVA (Tabela 6.2 e Figura 2.1). Estes filmes são aqueles que possuem o maior conteúdo de gelatina e glicerol proporcionalmente em suas formulações, possuindo maior caráter hidrofílico. Isto faz com que estes filmes apresentem uma maior afinidade com a água, podendo explicar os valores encontrados para estas propriedades (Thomazine *et al.*, 2006; Iahnke *et al.*, 2016). Já os filmes contendo somente a polpa de abacate com e sem a adição de ácidos (formulação 100:0:0) apresentaram os menores valores para estas propriedades. Estes filmes possuem a maior quantidade de óleo em sua composição, o qual é um composto hidrofóbico, fazendo com que apresentem maior barreira à água do que as outras composições. Também é importante ressaltar que a presença de ácidos orgânicos nos filmes



(Tabela 6.2 – comparação entre colunas) diminui a PVA dos filmes, indicando que ocorre interação entre esses ácidos e os outros componentes presentes (gelatina, polpa e glicerol). Uranga *et al.* (2016) e Santos *et al.* (2018) ao estudarem filmes compostos de gelatina de peixe e gelatina de pele de tilápia e carpa, respectivamente, demonstraram que ocorre reticulação entre a gelatina e ácido cítrico.

Os resultados de PVA encontrados para os filmes à base de polpa de abacate parcialmente desengordurada e hidratada foram entre 0,084 a 0,658 g mm m<sup>2</sup> kPa<sup>-2</sup> h<sup>-1</sup>. Estes valores encontram-se na ordem de magnitude dos relatados na literatura para filmes à base de frutas com composição similar, tais como: filmes de gelatina-glicerol-óleo de oliva (1,4 - 2,7 g mm m<sup>2</sup> kPa<sup>-2</sup> h<sup>-1</sup>)(Ma *et al.*, 2012), maçã-alginato-óleos essenciais (4,37 - 5,25 g mm m<sup>2</sup> kPa<sup>-2</sup> h<sup>-1</sup>, 65/0 % UR)(Rojas-Graü *et al.*, 2006), beterraba-gelatina-glicerol (0,43 - 0,46 g mm m<sup>2</sup> kPa<sup>-2</sup> h<sup>-1</sup>, 70/0 % UR)(Iahnke *et al.*, 2016), mamão-gelatina-glicerol (1,64 - 1,75 g mm m<sup>2</sup> kPa<sup>-2</sup> h<sup>-1</sup>, 70/0 % UR)(De Moraes Crizel *et al.*, 2018b), mirtilo-gelatina-glicerol (0,57 - 0,99 g mm m<sup>2</sup> kPa<sup>-2</sup> h<sup>-1</sup>, 70/0 % UR)(De Moraes Crizel *et al.*, 2016). Porém, quando comparado com filmes de fonte fóssil comerciais, os filmes desenvolvidos possuem valores de PVA maiores do que estes (PEBD - 0,003 g mm m<sup>2</sup> kPa<sup>-2</sup> h<sup>-1</sup>, 90/0 % UR, PEAD - 0,0008 g mm m<sup>2</sup> kPa<sup>-2</sup> h<sup>-1</sup>, 90/0 % UR)(Wihodo e Moraru, 2013), mas similares aos valores encontrados para celofane (0,293 g mm m<sup>2</sup> kPa<sup>-2</sup> h<sup>-1</sup>, 90/0 % UR)(Wihodo e Moraru, 2013).

Pode-se observar na Figura 6.1 que os filmes contendo gelatina e glicerol são os que apresentam os menores valores de opacidade e solubilidade. Em relação à opacidade, constatou-se que a presença desses materiais na matriz diminuiu a cristalinidade do material, aumentando a transparência dos filmes (Tabela 6.2). Quanto à solubilidade, a adição de gelatina e glicerol também diminuiu a solubilidade dos filmes, demonstrando que ocorre uma interação entre esses componentes e a polpa de abacate. Provavelmente, está ocorrendo a formação de pontes de hidrogênio entre as partes polares da gelatina e da polpa, tornando o filme mais denso e havendo menos disponibilidade de grupos polares a serem solubilizados (Iahnke *et al.*, 2016). Adicionalmente, a presença dos ácidos cítrico e ascórbico não resultaram em diferença significativa para a maioria das formulações contendo gelatina e glicerol tanto para a solubilidade quanto para a opacidade.

A espessura dos filmes aumentou com a adição de gelatina em pó e ácidos orgânicos às formulações (Tabela 6.2 e Figura 2.1). Este comportamento deve-se principalmente ao aumento da quantidade de sólidos totais nas soluções filmogênicas. Os valores encontrados para as propriedades mecânicas (Tabela 6.2) demonstram que ocorrem modificações nas

---

propriedades dos filmes tanto com a adição de gelatina e glicerol, quanto com a adição de ácidos nas formulações. A observação dos valores de alongação na ruptura demonstra que com a adição de glicerol ocorre um aumento dos valores dessa propriedade, indicando o efeito plastificante do glicerol na composição. Isso ocorre por que se trata de uma molécula pequena que se liga à matriz aumentando a mobilidade das cadeias devido ao aumento do espaço livre entre elas (Psomiadou *et al.*, 1996; Mali *et al.*, 2006). Além disso, percebe-se que a adição de gelatina e glicerol na proporção de 2:1 aumenta os valores de tensão e alongação, demonstrando uma boa interação entre esses materiais e os outros componentes da matriz, tornando os filmes menos rígidos quando comparados com aqueles compostos somente pela polpa de abacate parcialmente desengordurada e hidratada (Formulação 100:0:0). Porém quando se aumenta o conteúdo de glicerol (96:2:2), ocorre uma diminuição dos valores de tensão e Módulo de Young e aumento dos valores de alongação, resultado do efeito plastificante comentado anteriormente.

Quanto ao efeito dos ácidos na matriz percebe-se que a adição de ácido cítrico apresentou os maiores valores para alongação na ruptura quando comparado com os filmes contendo ácido ascórbico (AA) e sem ácido (WA), com diminuição dos valores de tensão de ruptura e Módulo de Young. Esse resultado demonstra que pode estar ocorrendo interação entre o ácido cítrico e os outros componentes da matriz, resultando em um efeito plastificante. Uranga *et al.* (2016) para filmes contendo gelatina de peixe e ácido cítrico, obtiveram aumento da alongação e tensão de ruptura com o aumento do teor de ácido cítrico à formulação, e justificam esse comportamento devido a um excesso desse ácido no meio, com isso parte do ácido atua como reticulante juntamente com a gelatina e a outra parte como plastificante. Já para os filmes contendo ácido ascórbico, observa-se um pequeno aumento dos valores de tensão de ruptura e módulo de Young e uma leve diminuição da alongação, quando comparamos essas películas com aquelas que não contêm ácido (WA), indicando que pode estar havendo interação entre todos os componentes da mistura (polpa, ácido e gelatina), resultado esse corroborado pelos valores encontrados para PVA (Tabela 6.2). É importante destacar que os valores obtidos para os filmes desenvolvidos estão na mesma ordem de magnitude daqueles encontrados para filmes à base de frutas e vegetais reportados na literatura. Pode-se citar os filmes compostos por maçã-alginato-óleos essenciais ( $\sigma$ : 8,3 MPa;  $\epsilon$ : 10,8 %; E: 244 MPa) (Rojas-Graü *et al.*, 2006), beterraba-gelatina-glicerol ( $\sigma$ : 2,4 MPa;  $\epsilon$ : 117-229 %; E: 365-731 MPa) (Iahnke *et al.*, 2016), mamão-gelatina-glicerol ( $\sigma$ : 1 -1,8 MPa;  $\epsilon$ : 59 -132 %; E: 664-856 MPa)(De Moraes Crizel *et al.*, 2018b), mirtilo-gelatina-glicerol( $\sigma$ :

2,8 – 1,3 MPa;  $\epsilon$ : 86 - 300 %; E: 196 - 735 MPa)(De Moraes Crizel *et al.*, 2016), cenoura-gelatina-glicerol ( $\sigma$ : 1,2-2,5 MPa;  $\epsilon$ : 61-213 %) (Iahnke *et al.*, 2015).

**Figura 6.2.** Filmes biodegradáveis à base do resíduo do óleo de abacate e gelatina. Da esquerda para a direita: sem adição de ácidos (WA), com ácido cítrico (CA) e com ácido ascórbico (AA).



Na Tabela 6.2 estão apresentados também os valores encontrados para Luminosidade, Chroma e Hue. Como se pode perceber pelos valores apresentados na Tabela 6.2 e na Figura 6.2 ocorreu modificação da cor dos filmes tanto com a adição dos ácidos quanto com a incorporação de gelatina/glicerol à polpa. A presença de gelatina/glicerol aumentou a luminosidade dos filmes, devido à diluição da matriz original (polpa de abacate). A observação dos valores de Hue e Chroma demonstram que ocorre uma mudança de cor com a adição dos ácidos à matriz, porém essa influência não é dependente das quantidades de glicerol ou gelatina adicionadas na formulação, para as quantidades testadas. A adição do ácido cítrico diminuiu significativamente o ângulo de Hue e aumenta o valor de Chroma indicando filmes com maior intensidade de cor e com aspecto mais amarelado (valores de  $b^*$  maiores). Isso provavelmente está ocorrendo devido à proteção do ácido cítrico à polpa de abacate evitando o escurecimento enzimático da mesma durante o processo de secagem. Já ao observarmos os filmes contendo ácido ascórbico (AA) ocorre uma diminuição significativa do valor de Hue e leve aumento da intensidade da cor (Chroma) quando comparado com os filmes sem adição de ácidos (WA). A mudança do ângulo (Hue) demonstra que os filmes contendo AA possuem um aspecto mais vermelho-amarronzado, provavelmente devido à ocorrência de reações não-enzimáticas de escurecimento. Entre as reações não-enzimáticas que podem ocorrer em alimentos, pode-se citar a reação de degradação do ácido ascórbico, a qual ocorre em meio ácido e produz substâncias escuras no alimento, como o furfural, a qual

---

provavelmente está ocorrendo no caso dos filmes AA durante o processo de secagem (Guzmán-Gerónimo *et al.*, 2008).

Por fim, através da análise de sequestro do radical livre DPPH, obteve-se o sequestro deste radical para todas as formulações desenvolvidas (Tabela 6.2). Percebe-se que o filme composto somente pelo resíduo da extração do óleo de abacate (WA 100:0:0) apresentou atividade de 68 % após 100 min de reação, indicando que existem compostos presentes no resíduo que possuem potencial antioxidante. Provavelmente esta inibição pode estar ocorrendo devido à presença de compostos fenólicos e óleo remanescente, ainda presentes no resíduo da extração do óleo. Prescha *et al.* (2014) realizaram ensaio com óleo de abacate obtido por extração a frio e observaram sequestro do radical DPPH, devido à presença de tocoferóis e compostos aromáticos em sua composição. Já, Abaide *et al.* (2017) também realizaram este ensaio, obtendo uma inibição de 17 a 82 % após 30 min para óleo de abacate obtido através de extração supercrítica (CO<sub>2</sub>). Além disso, Wang *et al.* (2010) e Rodríguez-Carpena *et al.* (2011), observaram atividade antioxidante (DPPH) na aplicação de extratos da polpa de abacate da variedade Hass, e atribuíram esse comportamento devido à presença de compostos fenólicos e procianidinas nas polpas investigadas.

Com a adição de glicerol e gelatina às formulações ocorre uma pequena diminuição desta atividade, provavelmente devido a menor proporção de resíduo na formulação. Além disso, percebe-se que a adição dos ácidos orgânicos à matriz, promove uma maior atividade quando comparado com a formulação sem ácido (WA). Este fenômeno provavelmente está ocorrendo devido à proteção dos componentes da polpa pelos ácidos, os quais atuam como inibidores de reações enzimáticas que podem degradar compostos ativos no resíduo. Também é importante salientar que a análise de sequestro do radical livre DPPH, não só demonstra a presença de componentes com possível capacidade antioxidante, mas também a capacidade de difusão destes compostos através da matriz o qual é uma característica importante para a aplicação dos filmes em embalagens para alimentos.

## 6.4. Conclusão

Filmes compostos pelo resíduo da extração do óleo de abacate e gelatina bovina foram possíveis de serem produzidos e apresentaram boa compatibilidade. A utilização do ácido cítrico e ascórbico na matriz modificou as propriedades investigadas nos filmes onde foram

aplicados. Gelatina bovina e glicerol apresentaram boa interação com os outros elementos da matriz, aumentando a elongação na ruptura e tensão de ruptura nas formulações desenvolvidas. A adição desses dois componentes à polpa de abacate (resíduo) também produziu filmes com maior afinidade com a água, refletido no aumento dos valores de PVA e solubilidade. A adição dos ácidos cítrico e ascórbico diminuiu os valores de PVA. Há indicação de que ocorre interação entre os ácidos e a gelatina, devido aos valores observados para PVA e para as propriedades mecânicas. Quanto às propriedades ópticas, a adição de gelatina e glicerol à polpa tornou os filmes mais transparentes e a adição dos ácidos não influenciou significativamente esta propriedade. Todos os filmes produzidos apresentaram atividade antioxidante, sendo esta mais acentuada para aqueles que continham ácido ascórbico e cítrico em suas formulações.



## Considerações Finais e Sugestões para trabalhos futuros

Ao longo dos três artigos apresentados pôde-se demonstrar que o resíduo apresentou compatibilidade com a maioria das outras matérias-primas utilizadas (amido de mandioca, gelatina bovina, ácido cítrico e ascórbico e glicerol). Este fato demonstra a versatilidade do resíduo como base para a produção de filmes biodegradáveis.

Os filmes produzidos à base do resíduo da extração do óleo de abacate (polpa hidratada e parcialmente desengordurada) apresentaram características adequadas quando comparadas com outros filmes de composição similar, tendo sido demonstrados que este é um material potencial para o desenvolvimento de filmes biodegradáveis.

Quando comparado com filmes comerciais os valores obtidos de permeabilidade à vapor d'água e propriedades mecânicas situam-se no mesmo intervalo que os encontrados para o celfone, mas maiores do que quando comparados com matérias como polietileno de baixa densidade, policloreto de vinila e polipropileno.

Ao mesmo tempo, a partir dos resultados obtidos para permeabilidade a vapor d'água, tais películas apresentam potencial como embalagem de alimentos, principalmente aqueles que devem ser conservados em ambientes como baixa umidade, tais como massas, bolachas, *snacks* e sementes. Também é interessante ressaltar os baixos valores obtidos de solubilidade, principalmente quando se refere aos filmes contendo gelatina e ácidos orgânicos (em torno de 30%), o que pode sugerir a aplicação destes em ambientes mais úmidos sem que haja a deterioração da embalagem. Outra característica obtida foi a mudança de coloração quando na

---

presença de ácidos na composição, o que pode ser utilizado para chamar a atenção do consumidor para o produto que está sendo embalado.

É importante também destacar que a adição de ácidos à matriz (ácido cítrico e ascórbico) modificou as propriedades dos filmes produzidos, além de aumentar a atividade antioxidante e antimicrobiana dos mesmos. Dado que as embalagens desenvolvidas neste trabalho apresentaram atividade antioxidante pela sequestro do radical DPPH e apresentaram halo de inibição, acredita-se que estas possuam potencial de serem utilizados como embalagens ativas. Mais testes e aplicações em alimentos devem ser realizados para que se possa confirmar esta hipótese.

Além das aplicações em alimentos, estes filmes biodegráveis podem ser utilizados para a produção de embalagens que possuem consumo rápido, como sacos para mudas de plantas.

Por fim, de maneira geral, pôde-se concluir que foi possível a obtenção de filmes com a utilização do resíduo da extração do óleo de abacate (polpa hidratada e parcialmente desengordurada) como componente principal. Além disso, a utilização de glicerol como agente plastificante na matriz se mostrou efetiva para todas as composições desenvolvidas.

A partir do trabalho desenvolvido até o momento, apresenta-se como sugestão de trabalhos futuros os seguintes tópicos:

- i. Aplicação dos filmes à base do resíduo do óleo de abacate em alimentos como sementes, queijos, massas e vegetais.
- ii. Aplicação dessas películas como substituto de algas em sushis, cobertura de tortas e base para canapés salgados, juntamente com avaliação de análise sensorial destas preparações.
- iii. Utilização da casca e do caroço, também resíduo do processo de extração, na elaboração e produção de filmes biodegradáveis.
- iv. Investigar se os filmes produzidos possuem potencial antifúngico
- v. Estudar a vida útil dos filmes desenvolvidos.

Além disso, sugere-se que sejam explorados outros aspectos relacionados ao reaproveitamento do resíduo (polpa parcialmente desengordurada e hidratada) utilizado nesse trabalho:



- 
- i. Investigação de outras alternativas para o aumento da eficiência da extração do óleo de abacate por centrifugação.
  - ii. Elaboração e desenvolvimento de outros produtos a partir do resíduo da extração do óleo de abacate como: sabonetes, cremes, geleias, farinhas e iogurtes.



---

## Referências Bibliográficas

ABAIDE, E. R. et al. Yield, composition, and antioxidant activity of avocado pulp oil extracted by pressurized fluids. **Food and Bioproducts Processing**, v. 102, p. 289-298, 2017/03/01/ 2017. ISSN 0960-3085. Disponível em: < <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0960308517300081> >.

ABNT. **Norma ABNT NBR 15448-1. Embalagens plásticas degradáveis e/ou de fontes renováveis. Parte 1: Terminologia.** Rio de Janeiro, Brasil: Associação Brasileira de Normas Técnicas 2008.

AGUILÓ-AGUAYO, I. et al. Impact of pulsed light treatments on quality characteristics and oxidative stability of fresh-cut avocado. **LWT - Food Science and Technology**, v. 59, n. 1, p. 320-326, 2014/11/01/ 2014. ISSN 0023-6438. Disponível em: < <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0023643814002540> >.

AHMAD, M. et al. Optical and thermo-mechanical properties of composite films based on fish gelatin/rice flour fabricated by casting technique. **Progress in Organic Coatings**, v. 84, p. 115-127, 7// 2015. ISSN 0300-9440. Disponível em: < <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0300944015000648> >.

AHMAD, M.; NIRMAL, N. P.; CHUPROM, J. Blend film based on fish gelatine/curdlan for packaging applications: spectral, microstructural and thermal characteristics. **RSC Advances**, v. 5, n. 120, p. 99044-99057, 2015. Disponível em: < <http://dx.doi.org/10.1039/C5RA20925K> >.

AL-HASSAN, A. A.; NORZIAH, M. H. Starch–gelatin edible films: Water vapor permeability and mechanical properties as affected by plasticizers. **Food Hydrocolloids**, v. 26, n. 1, p. 108-117, 2012/01/01/ 2012. ISSN 0268-005X. Disponível em: < <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0268005X11001275> >.

ALFARO, A. D. T. et al. Fish Gelatin: Characteristics, Functional Properties, Applications and Future Potentials. **Food Engineering Reviews**, v. 7, n. 1, p. 33-44, 2015/03/01 2015. ISSN 1866-7929. Disponível em: < <https://doi.org/10.1007/s12393-014-9096-5> >.

ANALYSIS, A. I. A. M. O. **AACCI Method 44-15.02. Moisture Air Oven Method.** St. Paul, MN, USA: AACC International 2008.

AND, Z. L.; HAN, J. H. Film-forming Characteristics of Starches. **Journal of Food Science**, v. 70, n. 1, p. E31-E36, 2006. ISSN 0022-1147. Disponível em: < <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.2005.tb09034.x> >. Acesso em: 2018/04/16.

ANDRADE, R. M. S.; FERREIRA, M. S. L.; GONÇALVES, É. C. B. A. Development and Characterization of Edible Films Based on Fruit and Vegetable Residues. **Journal of Food Science**, v. 81, n. 2, p. E412-E418, 2016. ISSN 1750-3841. Disponível em: < <http://dx.doi.org/10.1111/1750-3841.13192> >.

---

AOAC. **Official methods of analysis of AOAC International**. Washington DC, USA: AOAC International 2012.

APPENDINI, P.; HOTCHKISS, J. H. Review of antimicrobial food packaging. **Innovative Food Science & Emerging Technologies**, v. 3, n. 2, p. 113-126, 2002/06/01/ 2002. ISSN 1466-8564. Disponível em: <  
<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1466856402000127> >.

ARAUJO-FARRO, P. C. et al. Development of films based on quinoa (*Chenopodium quinoa*, Willdenow) starch. **Carbohydrate Polymers**, v. 81, n. 4, p. 839-848, 2010/07/23/ 2010. ISSN 0144-8617. Disponível em: <  
<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0144861710002316> >.

ARVANITOYANNIS, I. S. 6 - The use of chitin and chitosan for food packaging applications. In: CHIELLINI, E. (Ed.). **Environmentally Compatible Food Packaging**: Woodhead Publishing, 2008. p.137-158. ISBN 978-1-84569-194-3.

ASTM. **Designation 6400-12. Standart Specification for Labeling of Plastics designed to be Aerobically composted on municipal or industrial facilities**. West Conshohocken, PA, USA: ASTM International 2012a.

\_\_\_\_\_. **Designation D882-12. Standard test method for tensile properties of thin plastic sheeting**. West Conshohocken, PA, USA: ASTM International 2012b.

\_\_\_\_\_. **Designation D883-12. Standard Terminology Relating to Plastics**. West Conshohocken, PA, USA: ASTM International 2012c.

\_\_\_\_\_. **Designation E96/E96M. Standard test method for water vapor transmission of materials**. West Conshohocken, PA, USA: ASTM International 2015.

ATARÉS, L.; CHIRALT, A. Essential oils as additives in biodegradable films and coatings for active food packaging. **Trends in Food Science & Technology**, v. 48, p. 51-62, 2016/02/01/ 2016. ISSN 0924-2244. Disponível em: <  
<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0924224415300960> >.

ATARÉS, L.; PÉREZ-MASIÁ, R.; CHIRALT, A. The role of some antioxidants in the HPMC film properties and lipid protection in coated toasted almonds. **Journal of Food Engineering**, v. 104, n. 4, p. 649-656, 2011/06/01/ 2011. ISSN 0260-8774. Disponível em: <  
<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0260877411000586> >.

AVENA-BUSTILLOS, R. D. J.; MCHUGH, T. H. Role of edible film and coating additives. In: HAGENMAIER, R.; BALDWIN, E. A., *et al* (Ed.). **Edible Coatings and Films to Improve Food Quality**. Second. Boca Raton: CRC Press, 2012. cap. 6, p.157-184. ISBN 13: 978-1-4200-5966-3.

AVEROUS, L.; BOQUILLON, N. Biocomposites based on plasticized starch: thermal and mechanical behaviours. **Carbohydrate Polymers**, v. 56, n. 2, p. 111-122, 6/4/ 2004. ISSN 0144-8617. Disponível em: <  
<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0144861704000517> >.

---

AVÉROUS, L. Biodegradable Multiphase Systems Based on Plasticized Starch: A Review. **Journal of Macromolecular Science, Part C**, v. 44, n. 3, p. 231-274, 2004/12/30 2004. ISSN 1532-1797. Disponível em: < <http://dx.doi.org/10.1081/MC-200029326> >.

AVÉROUS, L.; FRINGANT, C.; MORO, L. Plasticized starch–cellulose interactions in polysaccharide composites. **Polymer**, v. 42, n. 15, p. 6565-6572, 2001/07/01/ 2001. ISSN 0032-3861. Disponível em: < <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0032386101001252> >.

AZEREDO HENRIETTE, M. C. et al. Nanocomposite Edible Films from Mango Puree Reinforced with Cellulose Nanofibers. **Journal of Food Science**, v. 74, n. 5, p. N31-N35, 2009/06/01 2009. ISSN 0022-1147. Disponível em: < <https://doi.org/10.1111/j.1750-3841.2009.01186.x> >. Acesso em: 2018/07/16.

AZEREDO, H. M. C. et al. Nanocellulose Reinforced Chitosan Composite Films as Affected by Nanofiller Loading and Plasticizer Content. **Journal of Food Science**, v. 75, n. 1, p. N1-N7, 2010/01/01 2010. ISSN 0022-1147. Disponível em: < <https://doi.org/10.1111/j.1750-3841.2009.01386.x> >. Acesso em: 2018/11/22.

\_\_\_\_\_. Nanocomposite Edible Films from Mango Puree Reinforced with Cellulose Nanofibers. **Journal of Food Science**, v. 74, n. 5, p. N31-N35, 2009. ISSN 1750-3841. Disponível em: < <http://dx.doi.org/10.1111/j.1750-3841.2009.01186.x> >.

\_\_\_\_\_. Edible films from alginate-acerola puree reinforced with cellulose whiskers. **LWT - Food Science and Technology**, v. 46, n. 1, p. 294-297, 4// 2012. ISSN 0023-6438. Disponível em: < <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0023643811003057> >.

\_\_\_\_\_. Development of pectin films with pomegranate juice and citric acid. **Food Chemistry**, v. 198, p. 101-106, 2016/05/01/ 2016. ISSN 0308-8146. Disponível em: < <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0308814615301138> >.

AČKAR, Đ. et al. Starch Modification by Organic Acids and Their Derivatives: A Review. **Molecules**, v. 20, n. 10, p. 19554-19570, 2015.

BABU, R. P.; O'CONNOR, K.; SEERAM, R. Current progress on bio-based polymers and their future trends. **Progress in Biomaterials**, v. 2, n. 1, p. 8, 2013/03/18 2013. ISSN 2194-0517. Disponível em: < <https://doi.org/10.1186/2194-0517-2-8> >.

BALDWIN, E. A. et al. **Use of lipids in coatings for food products**. 1997. 56-64.

BASIAK, E.; DEBEAUFORT, F.; LENART, A. Effect of oil lamination between plasticized starch layers on film properties. **Food Chemistry**, v. 195, p. 56-63, 2016/03/15/ 2016. ISSN 0308-8146. Disponível em: < <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0308814615006445> >.

BASTARRACHEA, L.; DHAWAN, S.; SABLANI, S. S. Engineering Properties of Polymeric-Based Antimicrobial Films for Food Packaging: A Review. **Food Engineering Reviews**, v. 3, n. 2, p. 79-93, 2011/06/01 2011. ISSN 1866-7929. Disponível em: < <https://doi.org/10.1007/s12393-011-9034-8> >.

BELYAMANI, I.; PROCHAZKA, F.; ASSEZAT, G. Production and characterization of sodium caseinate edible films made by blown-film extrusion. **Journal of Food Engineering**, v. 121, p. 39-47, 1// 2014. ISSN 0260-8774. Disponível em: < <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0260877413004329> >.

BEN-ET, G.; DOLEV, A.; TATARSKY, D. COMPOUNDS CONTRIBUTING TO HEAT-INDUCED BITTER OFF-FLAVOR IN AVOCADO. **Journal of Food Science**, v. 38, n. 3, p. 546-547, 1973/03/01 1973. ISSN 0022-1147. Disponível em: < <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.1973.tb01479.x> >. Acesso em: 2018/07/12.

BHARGAVA, K. et al. Application of an oregano oil nanoemulsion to the control of foodborne bacteria on fresh lettuce. **Food Microbiology**, v. 47, p. 69-73, 2015/05/01/ 2015. ISSN 0740-0020. Disponível em: < <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0740002014002676> >.

BI, X. et al. The effect of ultrasound on particle size, color, viscosity and polyphenol oxidase activity of diluted avocado puree. **Ultrasonics Sonochemistry**, v. 27, p. 567-575, 2015/11/01/ 2015. ISSN 1350-4177. Disponível em: < <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1350417715000917> >.

BIJI, K. B. et al. Smart packaging systems for food applications: a review. **Journal of Food Science and Technology**, v. 52, n. 10, p. 6125-6135, 2015/10/01 2015. ISSN 0975-8402. Disponível em: < <https://doi.org/10.1007/s13197-015-1766-7> >.

BIZIMANA, V.; BREENE, W. M.; CSALLANY, A. S. Avocado oil extraction with appropriate technology for developing countries. **Journal of the American Oil Chemists' Society**, v. 70, n. 8, p. 821-822, 1993/08/01 1993. ISSN 0003-021X. Disponível em: < <http://dx.doi.org/10.1007/BF02542610> >.

BLEINROTH, E. W.; DE CASTRO, J. V. Matéria-prima. In: (Ed.). **Abacate: cultura, matéria-prima, processamento e aspectos econômicos**. Campinas, SP: ITAL, 1992. cap. II, p.58-147.

BODAGHI, H. et al. Evaluation of the photocatalytic antimicrobial effects of a TiO<sub>2</sub> nanocomposite food packaging film by in vitro and in vivo tests. **LWT - Food Science and Technology**, v. 50, n. 2, p. 702-706, 3// 2013. ISSN 0023-6438. Disponível em: < <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0023643812003118> >.

BOLUMAR, T.; ANDERSEN, M. L.; ORLIEN, V. Antioxidant active packaging for chicken meat processed by high pressure treatment. **Food Chemistry**, v. 129, n. 4, p. 1406-1412, 2011/12/15/ 2011. ISSN 0308-8146. Disponível em: < <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0308814611007850> >.

BONILLA, J. et al. Edible films and coatings to prevent the detrimental effect of oxygen on food quality: Possibilities and limitations. **Journal of Food Engineering**, v. 110, n. 2, p. 208-213, 2012/05/01/ 2012. ISSN 0260-8774. Disponível em: < <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0260877411002901> >.

BORGES, F. **Azeite de abacate é a nova aposta nas lavouras** 2015.

---

BOURTOOM, T. Edible films and coatings: characteristics and properties. **International Food Research Journal**, v. 15, n. 3, p. 237-248, 2008.

\_\_\_\_\_. Review Article Edible protein films: properties enhancement **International Food Research Journal**, v. 16, n. 1, p. 1-9, 2009. Disponível em: < [http://www.ifrj.upm.edu.my/16%20\(1\)%202009/01%20IFRJ-2008-15%20Thawien%20Thailand%20FINAL.pdf](http://www.ifrj.upm.edu.my/16%20(1)%202009/01%20IFRJ-2008-15%20Thawien%20Thailand%20FINAL.pdf) >.

BRAULT, D.; D'APRANO, G.; LACROIX, M. Formation of Free-Standing Sterilized Edible Films from Irradiated Caseinates. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 45, n. 8, p. 2964-2969, 1997/08/01 1997. ISSN 0021-8561. Disponível em: < <http://dx.doi.org/10.1021/jf960955u> >.

BYUN, Y.; KIM, Y. T. Chapter 14 - Bioplastics for Food Packaging: Chemistry and Physics. In: HAN, J. H. (Ed.). **Innovations in Food Packaging (Second Edition)**. San Diego: Academic Press, 2014a. p.353-368. ISBN 978-0-12-394601-0.

\_\_\_\_\_. Chapter 15 - Utilization of Bioplastics for Food Packaging Industry. In: HAN, J. H. (Ed.). **Innovations in Food Packaging (Second Edition)**. San Diego: Academic Press, 2014b. p.369-390. ISBN 978-0-12-394601-0.

BYUN, Y.; ZHANG, Y.; GENG, X. Chapter 5 - Plasticization and Polymer Morphology. In: (Ed.). **Innovations in Food Packaging (Second Edition)**. San Diego: Academic Press, 2014. p.87-108. ISBN 978-0-12-394601-0.

CAETANO, K. D. S. et al. Application of active cassava starch films incorporated with oregano essential oil and pumpkin residue extract on ground beef. **Journal of Food Safety**, v. 37, n. 4, p. e12355, 2017/11/01 2017. ISSN 0149-6085. Disponível em: < <https://doi.org/10.1111/jfs.12355> >. Acesso em: 2018/08/06.

CANO, A. et al. Effect of amylose:amylopectin ratio and rice bran addition on starch films properties. **Carbohydrate Polymers**, v. 111, p. 543-555, 2014/10/13/ 2014. ISSN 0144-8617. Disponível em: < <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0144861714004329> >.

CARNEIRO-DA-CUNHA, M. G. et al. Physical properties of edible coatings and films made with a polysaccharide from *Anacardium occidentale* L. **Journal of Food Engineering**, v. 95, n. 3, p. 379-385, 12// 2009. ISSN 0260-8774. Disponível em: < <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0260877409002672> >.

CORRALES, M.; FERNÁNDEZ, A.; HAN, J. H. Chapter 7 - Antimicrobial Packaging Systems. In: (Ed.). **Innovations in Food Packaging (Second Edition)**. San Diego: Academic Press, 2014. p.133-170. ISBN 978-0-12-394601-0.

COZZOLINO, C. A. et al. Microfibrillated cellulose (MFC): pullulan bionanocomposite films. **Cellulose**, v. 21, n. 6, p. 4323-4335, 2014// 2014. ISSN 1572-882X. Disponível em: < <http://dx.doi.org/10.1007/s10570-014-0433-x> >.

CROISIER, F.; JÉRÔME, C. Chitosan-based biomaterials for tissue engineering. **European Polymer Journal**, v. 49, n. 4, p. 780-792, 2013/04/01/ 2013. ISSN 0014-3057. Disponível em: < <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0014305712004181> >.

DA SILVA BASTOS, D.; DE LIMA ARAÚJO, K. G.; DA ROCHA LEÃO, M. H. M. Ascorbic acid retaining using a new calcium alginate-Capsul based edible film. **Journal of Microencapsulation**, v. 26, n. 2, p. 97-103, 2009/03/01 2009. ISSN 0265-2048. Disponível em: < <https://doi.org/10.1080/02652040802175805> >.

DAINELLI, D. et al. Active and intelligent food packaging: legal aspects and safety concerns. **Trends in Food Science & Technology**, v. 19, p. S103-S112, 2008/11/01/ 2008. ISSN 0924-2244. Disponível em: < <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0924224408002355> >.

DAIUTO, É. R.; VIEITES, R. L. Atividade da peroxidase e polifenoloxidase em abacate da variedade Hass, submetidos ao tratamento térmico. **Revista Iberoamericana Tecnología Postcosecha**, v. 9, n. 2, p. 106-112, 2008.

DANTAS, E. A. et al. Caracterização e avaliação das propriedades antioxidantes de filmes biodegradáveis incorporados com polpas de frutas tropicais. **Ciência Rural**, v. 45, p. 142-148, 2015. ISSN 0103-8478.

DARABA, A. Future trends in packaging: edible, biodegradable coats and films. **Journal of Environmental and Ecology**, v. 9, n. 3, p. 652-664, 2008. Disponível em: < <https://docs.google.com/a/jepe-journal.info/viewer?a=v&pid=sites&srcid=amVwZS1qb3VybmFsLmluZm98amVwZS1qb3VybmFsfGd4OjM5NTc1NjE3NWVmZmI2MGQ> >.

DE MORAES CRIZEL, T. et al. Active food packaging prepared with chitosan and olive pomace. **Food Hydrocolloids**, v. 74, p. 139-150, 2018/01/01/ 2018a. ISSN 0268-005X. Disponível em: < <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0268005X17309840> >.

\_\_\_\_\_. Biodegradable Films Based on Gelatin and Papaya Peel Microparticles with Antioxidant Properties. **Food and Bioprocess Technology**, v. 11, n. 3, p. 536-550, 2018/03/01 2018b. ISSN 1935-5149. Disponível em: < <https://doi.org/10.1007/s11947-017-2030-0> >.

\_\_\_\_\_. Valorization of food-grade industrial waste in the obtaining active biodegradable films for packaging. **Industrial Crops and Products**, v. 87, p. 218-228, 2016/09/01/ 2016. ISSN 0926-6690. Disponível em: < <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0926669016302679> >.

DE SOUZA, B. W. S.; TEIXEIRA, J. A. C.; VICENTE, A. A. **Characterisation of new hydrocolloids to be used as food coatings and integration of their application with ohmic heating**. 2010. 154 (Doutoramento em Engenharia Química e Biológica). Escola de Engenharia, Universidade do Minho, Minho, Portugal.

DE'NOBILI, M. D. et al. Stability of L-(+)-ascorbic acid in alginate edible films loaded with citric acid for antioxidant food preservation. **Journal of Food Engineering**, v. 175, p. 1-7,



---

2016/04/01/ 2016. ISSN 0260-8774. Disponível em: <  
<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0260877415300625>>.

DEBET, M. R.; GIDLEY, M. J. Three classes of starch granule swelling: Influence of surface proteins and lipids. **Carbohydrate Polymers**, v. 64, n. 3, p. 452-465, 5/30/ 2006. ISSN 0144-8617. Disponível em: <  
<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0144861705006363>>.

DENG, Q.; ZHAO, Y. Physicochemical, Nutritional, and Antimicrobial Properties of Wine Grape (cv. Merlot) Pomace Extract-Based Films. **Journal of Food Science**, v. 76, n. 3, p. E309-E317, 2011/04/01 2011. ISSN 0022-1147. Disponível em: <  
<https://doi.org/10.1111/j.1750-3841.2011.02090.x>>. Acesso em: 2018/07/16.

DE'NOBILI, M. D. et al. Hydrolytic Stability of L-(+)-Ascorbic Acid in Low Methoxyl Pectin Films with Potential Antioxidant Activity at Food Interfaces. **Food and Bioprocess Technology**, v. 6, n. 1, p. 186-197, 2013/01/01 2013. ISSN 1935-5149. Disponível em: <  
<https://doi.org/10.1007/s11947-011-0684-6>>.

DHALL, R. K. Advances in Edible Coatings for Fresh Fruits and Vegetables: A Review. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v. 53, n. 5, p. 435-450, 2013/01/01 2013. ISSN 1040-8398. Disponível em: <  
<https://doi.org/10.1080/10408398.2010.541568>>.

DIAS, A. B. et al. Biodegradable films based on rice starch and rice flour. **Journal of Cereal Science**, v. 51, n. 2, p. 213-219, 2010/03/01/ 2010. ISSN 0733-5210. Disponível em: <  
<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0733521009001817>>.

DICK, M. et al. Edible film production from chia seed mucilage: Effect of glycerol concentration on its physicochemical and mechanical properties. **Carbohydrate Polymers**, v. 130, p. 198-205, 10/5/ 2015. ISSN 0144-8617. Disponível em: <  
<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0144861715004464>>.

DING, H. et al. Chemopreventive characteristics of avocado fruit. **Seminars in Cancer Biology**, v. 17, n. 5, p. 386-394, 2007/10/01/ 2007. ISSN 1044-579X. Disponível em: <  
<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1044579X07000272>>.

DOS SANTOS CAETANO, K. et al. Characterization of active biodegradable films based on cassava starch and natural compounds. **Food Packaging and Shelf Life**, v. 16, p. 138-147, 2018/06/01/ 2018. ISSN 2214-2894. Disponível em: <  
<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S2214289417303927>>.

DOS SANTOS, M. A. Z. et al. Profile of Bioactive Compounds in Avocado Pulp Oil: Influence of the Drying Processes and Extraction Methods. **Journal of the American Oil Chemists' Society**, v. 91, n. 1, p. 19-27, 2014/01/01 2014. ISSN 1558-9331. Disponível em: <  
<https://doi.org/10.1007/s11746-013-2289-x>>.

DREHER, M. L.; DAVENPORT, A. J. Hass Avocado Composition and Potential Health Effects. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v. 53, n. 7, p. 738-750, 2013/01/01 2012. ISSN 1040-8398. Disponível em: <  
<http://dx.doi.org/10.1080/10408398.2011.556759>>. Acesso em: 2015/10/09.

DU, W.-X. et al. Storage Stability and Antibacterial Activity against *Escherichia coli* O157:H7 of Carvacrol in Edible Apple Films Made by Two Different Casting Methods. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 56, n. 9, p. 3082-3088, 2008/05/01 2008. ISSN 0021-8561. Disponível em: < <https://doi.org/10.1021/jf703629s> >.

DU, W. X. et al. Physical and Antibacterial Properties of Edible Films Formulated with Apple Skin Polyphenols. **Journal of Food Science**, v. 76, n. 2, p. M149-M155, 2011/03/01 2011. ISSN 0022-1147. Disponível em: < <https://doi.org/10.1111/j.1750-3841.2010.02012.x> >. Acesso em: 2018/07/16.

\_\_\_\_\_. Antibacterial Activity against *E. coli* O157:H7, Physical Properties, and Storage Stability of Novel Carvacrol-Containing Edible Tomato Films. **Journal of Food Science**, v. 73, n. 7, p. M378-M383, 2008/09/01 2008. ISSN 0022-1147. Disponível em: < <https://doi.org/10.1111/j.1750-3841.2008.00892.x> >. Acesso em: 2018/07/16.

\_\_\_\_\_. Effects of Allspice, Cinnamon, and Clove Bud Essential Oils in Edible Apple Films on Physical Properties and Antimicrobial Activities. **Journal of Food Science**, v. 74, n. 7, p. M372-M378, 2009/09/01 2009. ISSN 0022-1147. Disponível em: < <https://doi.org/10.1111/j.1750-3841.2009.01282.x> >. Acesso em: 2018/07/17.

\_\_\_\_\_. Antibacterial Effects of Allspice, Garlic, and Oregano Essential Oils in Tomato Films Determined by Overlay and Vapor-Phase Methods. **Journal of Food Science**, v. 74, n. 7, p. M390-M397, 2009/09/01 2009. ISSN 0022-1147. Disponível em: < <https://doi.org/10.1111/j.1750-3841.2009.01289.x> >. Acesso em: 2018/07/17.

DUBA, K. S.; FIORI, L. Extraction of bioactives from food processing residues using techniques performed at high pressures. **Current Opinion in Food Science**, v. 5, p. 14-22, 10// 2015. ISSN 2214-7993. Disponível em: < <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S2214799315000909> >.

DUFRESNE, A.; DUPEYRE, D.; VIGNON, M. R. Cellulose microfibrils from potato tuber cells: Processing and characterization of starch–cellulose microfibril composites. **Journal of Applied Polymer Science**, v. 76, n. 14, p. 2080-2092, 2000. ISSN 1097-4628. Disponível em: < [http://dx.doi.org/10.1002/\(SICD1097-4628\(20000628\)76:14<2080::AID-APP12>3.0.CO](http://dx.doi.org/10.1002/(SICD1097-4628(20000628)76:14<2080::AID-APP12>3.0.CO) >.

EBNESAJJAD, S., Ed. **Handbook of Biopolymers and Biodegradable Plastics**. Plastics Design Library Boston: William Andrew Publishing, p.446, Plastics Design Library 1st Edition ed. 2013.

ELEZ-MARTÍNEZ, P.; SOLIVA-FORTUNY, R.; MARTÍN-BELLOSO, O. Oxidative rancidity in avocado purée as affected by  $\alpha$ -tocopherol, sorbic acid and storage atmosphere. **European Food Research and Technology**, v. 226, n. 1, p. 295, 2006/12/21 2006. ISSN 1438-2385. Disponível em: < <https://doi.org/10.1007/s00217-006-0539-y> >.

ELIZABETH, A. B.; ROBERT, D. H. Introduction. In: (Ed.). **Edible Coatings and Films to Improve Food Quality**: CRC Press, 2011. p.1-12. ISBN 978-1-4200-5962-5.

ELIZABETH, A. B.; ROBERT, D. H.; BAI, J., Eds. **Edible Coatings and Films to Improve Food Quality**: CRC Press, p.448, 2nd ed. 2012.

---

ESPITIA, P. J. P. et al. Physical and Antibacterial Properties of Açaí Edible Films Formulated with Thyme Essential Oil and Apple Skin Polyphenols. **Journal of Food Science**, v. 79, n. 5, p. M903-M910, 2014. ISSN 1750-3841. Disponível em: < <http://dx.doi.org/10.1111/1750-3841.12432> >.

\_\_\_\_\_. Optimal antimicrobial formulation and physical–mechanical properties of edible films based on açaí and pectin for food preservation. **Food Packaging and Shelf Life**, v. 2, n. 1, p. 38-49, 9// 2014. ISSN 2214-2894. Disponível em: < <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S2214289414000477> >.

EÇA KALIANA, S. et al. Development of Active Films From Pectin and Fruit Extracts: Light Protection, Antioxidant Capacity, and Compounds Stability. **Journal of Food Science**, v. 80, n. 11, p. C2389-C2396, 2015/11/01 2015. ISSN 0022-1147. Disponível em: < <https://doi.org/10.1111/1750-3841.13074> >. Acesso em: 2018/07/17.

EÇA, K. S.; SARTORI, T.; MENEGALLI, F. C. Films and edible coatings containing antioxidants - a review. **Brazilian Journal of Food Technology**, v. 17, p. 98-112, 2014. ISSN 1981-6723.

FABRA, M. J. et al. Effect of ferulic acid and  $\alpha$ -tocopherol antioxidants on properties of sodium caseinate edible films. **Food Hydrocolloids**, v. 25, n. 6, p. 1441-1447, 2011/08/01/ 2011. ISSN 0268-005X. Disponível em: < <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0268005X11000294> >.

FAI, A. E. C. et al. Development and evaluation of biodegradable films and coatings obtained from fruit and vegetable residues applied to fresh-cut carrot (*Daucus carota* L.). **Postharvest Biology and Technology**, v. 112, p. 194-204, 2016/02/01/ 2016. ISSN 0925-5214. Disponível em: < <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0925521415301265> >.

FAKHOURI, F. M. et al. Comparative study of processing methods for starch/gelatin films. **Carbohydrate Polymers**, v. 95, n. 2, p. 681-689, 2013/06/20/ 2013. ISSN 0144-8617. Disponível em: < <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0144861713002658> >.

FALGUERA, V. et al. Edible films and coatings: Structures, active functions and trends in their use. **Trends in Food Science & Technology**, v. 22, n. 6, p. 292-303, 2011/06/01/ 2011. ISSN 0924-2244. Disponível em: < <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0924224411000318> >.

FAO, F. A. A. O. O. T. U. N.-. **FAOSTAT - Commodities by country: top production world**. Rome 2016.

FARIAS, M. G. et al. Caracterização físico-química de filmes comestíveis de amido adicionado de acerola (*Malpighia emarginata* D.C.). **Química Nova**, v. 35, p. 546-552, 2012. ISSN 0100-4042.

FENNEMA, O. R.; PARKIN, K. L.; DAMODARAN, S. **Química de alimentos de Fennema**. 4 Ed. 2010. 900.

FERRARI, R. A. Nota Científica: Caracterização físico-química do óleo de abacate extraído por centrifugação e dos subprodutos do processamento. **Brazilian Journal of Food Technology**, v. 18, p. 79-84, 2015. ISSN 1981-6723.

FERREIRA, M. P. F. **Embalagens ativas para alimentos: caracterização e propriedades**. 2012. 123 Programa de Pós Graduação em Ciências dos Materiais, Universidade Federal do Rio Grande do Sul

FLIEGER, M. et al. Biodegradable plastics from renewable sources. **Folia Microbiologica**, v. 48, n. 1, p. 27, 2003/01/01 2003. ISSN 1874-9356. Disponível em: < <https://doi.org/10.1007/BF02931273> >.

FLÔRES, S. H. et al. Films for Food From Ingredient Waste. In: (Ed.). **Reference Module in Food Science**: Elsevier, 2017. ISBN 978-0-08-100596-5.

GALUS, S.; KADZIŃSKA, J. Food applications of emulsion-based edible films and coatings. **Trends in Food Science & Technology**, v. 45, n. 2, p. 273-283, 10// 2015. ISSN 0924-2244. Disponível em: < <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0924224415001788> >.

GARCÍA, F. T.; SOBRAL, P. J. D. A. Effect of the thermal treatment of the filmogenic solution on the mechanical properties, color and opacity of films based on muscle proteins of two varieties of Tilapia. **LWT - Food Science and Technology**, v. 38, n. 3, p. 289-296, 5// 2005. ISSN 0023-6438. Disponível em: < <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0023643804001380> >.

GARCÍA, M. A. et al. Characterization of Starch and Composite Edible Films and Coatings. In: HUBER, K. C. e EMBUSCADO, M. E. (Ed.). **Edible Films and Coatings for Food Applications**. New York, NY: Springer New York, 2009. p.169-209. ISBN 978-0-387-92824-1.

GHANBARZADEH, B.; ALMASI, H.; ENTEZAMI, A. A. Improving the barrier and mechanical properties of corn starch-based edible films: Effect of citric acid and carboxymethyl cellulose. **Industrial Crops and Products**, v. 33, n. 1, p. 229-235, 1// 2011. ISSN 0926-6690. Disponível em: < <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S092666901000261X> >.

GHASEMLOU, M. et al. Physical, mechanical and barrier properties of corn starch films incorporated with plant essential oils. **Carbohydrate Polymers**, v. 98, n. 1, p. 1117-1126, 2013/10/15/ 2013. ISSN 0144-8617. Disponível em: < <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0144861713007108> >.

GONTARD, N.; GUILBERT, S.; CUQ, J.-L. Edible Wheat Gluten Films: Influence of the Main Process Variables on Film Properties using Response Surface Methodology. **Journal of Food Science**, v. 57, n. 1, p. 190-195, 1992. ISSN 1750-3841. Disponível em: < <http://dx.doi.org/10.1111/j.1365-2621.1992.tb05453.x> >.

GONTARD, N.; GUILBERT, S.; CUQ, J. L. Water and Glycerol as Plasticizers Affect Mechanical and Water Vapor Barrier Properties of an Edible Wheat Gluten Film. **Journal of Food Science**, v. 58, n. 1, p. 206-211, 2006. ISSN 0022-1147. Disponível em: < <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.1993.tb03246.x> >. Acesso em: 2018/04/22.

---

GONTARD, N. et al. Water vapour permeability of edible bilayer films of wheat gluten and lipids. **International Journal of Food Science & Technology**, v. 30, n. 1, p. 49-56, 2007. ISSN 0950-5423. Disponível em: < <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.1995.tb01945.x> >. Acesso em: 2018/04/22.

GREEN, D. S. et al. Impacts of Discarded Plastic Bags on Marine Assemblages and Ecosystem Functioning. **Environmental Science & Technology**, v. 49, n. 9, p. 5380-5389, 2015/05/05 2015. ISSN 0013-936X. Disponível em: < <https://doi.org/10.1021/acs.est.5b00277> >.

GUZMÁN, G. R. et al. Effect of zinc and copper chloride on the color of avocado puree heated with microwaves. **Innovative Food Science & Emerging Technologies**, v. 3, n. 1, p. 47-53, 2002/04/01/ 2002. ISSN 1466-8564. Disponível em: < <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1466856401000534> >.

GUZMÁN-GERÓNIMO, R. I.; LÓPEZ, M. G.; DORANTES-ALVAREZ, L. Microwave processing of avocado: Volatile flavor profiling and olfactometry. **Innovative Food Science & Emerging Technologies**, v. 9, n. 4, p. 501-506, 2008/10/01/ 2008. ISSN 1466-8564. Disponível em: < <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1466856408000507> >.

GÓMEZ-ESTACA, J. et al. Development, properties, and stability of antioxidant shrimp muscle protein films incorporating carotenoid-containing extracts from food by-products. **LWT - Food Science and Technology**, v. 64, n. 1, p. 189-196, 11// 2015. ISSN 0023-6438. Disponível em: < <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0023643815004156> >.

\_\_\_\_\_. Biodegradable gelatin–chitosan films incorporated with essential oils as antimicrobial agents for fish preservation. **Food Microbiology**, v. 27, n. 7, p. 889-896, 2010/10/01/ 2010. ISSN 0740-0020. Disponível em: < <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0740002010001036> >.

\_\_\_\_\_. Advances in antioxidant active food packaging. **Trends in Food Science & Technology**, v. 35, n. 1, p. 42-51, 1// 2014. ISSN 0924-2244. Disponível em: < <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0924224413002288> >.

GÓMEZ-LÓPEZ, V. M. Some biochemical properties of polyphenol oxidase from two varieties of avocado. **Food Chemistry**, v. 77, n. 2, p. 163-169, 2002/05/01/ 2002. ISSN 0308-8146. Disponível em: < <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0308814601003314> >.

HAKIZIMANA, C.; MAY, J. Can smallholder avocado production reduce poverty and improve food security through internal markets? The case of Giheta, Burundi. **Forests, Trees and Livelihoods**, p. 1-14, 2018. ISSN 1472-8028. Disponível em: < <https://doi.org/10.1080/14728028.2018.1515041> >.

HAN, J. H. 4 - Antimicrobial food packaging. In: AHVENAINEN, R. (Ed.). **Novel Food Packaging Techniques**: Woodhead Publishing, 2003. p.50-70. ISBN 978-1-85573-675-7.

---

\_\_\_\_\_. Chapter 1 - A Review of Food Packaging Technologies and Innovations. In: HAN, J. H. (Ed.). **Innovations in Food Packaging (Second Edition)**. San Diego: Academic Press, 2014a. p.3-12. ISBN 978-0-12-394601-0.

\_\_\_\_\_. Chapter 9 - Edible Films and Coatings: A Review. In: HAN, J. H. (Ed.). **Innovations in Food Packaging (Second Edition)**. San Diego: Academic Press, 2014b. p.213-255. ISBN 978-0-12-394601-0.

\_\_\_\_\_, Ed. **Innovations in Food Packaging**. San Diego: Academic Press, p.603, 2nd ed. 2014c.

HAN, J. H.; FLOROS, J. D. Casting Antimicrobial Packaging Films and Measuring Their Physical Properties and Antimicrobial Activity. **Journal of Plastic Film and Sheeting**, v. 13, n. 4, p. 287-298, 1997. Disponível em: < <http://jpf.sagepub.com/content/13/4/287.abstract> >.

HERNANDEZ-IZQUIERDO, V. M.; KROCHTA, J. M. Thermoplastic Processing of Proteins for Film Formation—A Review. **Journal of Food Science**, v. 73, n. 2, p. R30-R39, 2008/03/01 2008. ISSN 0022-1147. Disponível em: < <https://doi.org/10.1111/j.1750-3841.2007.00636.x> >. Acesso em: 2018/05/07.

HOQUE, M. S. et al. Properties of blend film based on cuttlefish (*Sepia pharaonis*) skin gelatin and mungbean protein isolate. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 49, n. 4, p. 663-673, 11/1/ 2011. ISSN 0141-8130. Disponível em: < <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0141813011002753> >.

HUBER, C. K.; EMBUSCADO, E. M., Eds. **Edible Films and Coatings for Food Applications**. New York, NY: Springer New Yorked. 2009.

IAHNKE, A. O. E. S. et al. Antioxidant films based on gelatin capsules and minimally processed beet root (*Beta vulgaris* L. var. *Conditiva*) residues. **Journal of Applied Polymer Science**, v. 133, n. 10, p. n/a-n/a, 2016. ISSN 1097-4628. Disponível em: < <http://dx.doi.org/10.1002/app.43094> >.

\_\_\_\_\_. Residues of minimally processed carrot and gelatin capsules: Potential materials for packaging films. **Industrial Crops and Products**, v. 76, p. 1071-1078, 12/15/ 2015. ISSN 0926-6690. Disponível em: < <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0926669015303277> >.

IBGE, I. B. D. G. E. E.-. **Produção agrícola municipal**. Brasília 2016.

JACOBO-VELÁZQUEZ, D. A.; HERNÁNDEZ-BRENES, C. Biochemical Changes during the Storage of High Hydrostatic Pressure Processed Avocado Paste. **Journal of Food Science**, v. 75, n. 6, p. S264-S270, 2010. ISSN 1750-3841. Disponível em: < <http://dx.doi.org/10.1111/j.1750-3841.2010.01654.x> >.

JAMBECK, J. R. et al. Plastic waste inputs from land into the ocean. **Science**, v. 347, n. 6223, p. 768, 2015. Disponível em: < <http://science.sciencemag.org/content/347/6223/768.abstract> >.

---

JIMÉNEZ, A. et al. Edible and Biodegradable Starch Films: A Review. **Food and Bioprocess Technology**, v. 5, n. 6, p. 2058-2076, 2012/08/01 2012. ISSN 1935-5149. Disponível em: < <https://doi.org/10.1007/s11947-012-0835-4> >.

JOOYANDEH, H. Whey Protein Films and Coatings: A Review. **Pakistan Journal of Nutrition**, v. 10, n. 3, p. 296-301, 2011.

JORGE, M. F. C. **Caracterização de filmes nanocompósitos biodegradáveis a base de gelatina produzidos com um aplicador automático de filmes**. 2012. 136 (PhD). Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos, Universidade Federal de São Paulo, Pirassununga, SP.

JOUKI, M. et al. Quince seed mucilage films incorporated with oregano essential oil: Physical, thermal, barrier, antioxidant and antibacterial properties. **Food Hydrocolloids**, v. 36, p. 9-19, 2014/05/01/ 2014. ISSN 0268-005X. Disponível em: < <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0268005X13002762> >.

JUHÁSZ, M. et al. Thermal stability of vitamin C: Thermogravimetric analysis and use of total ion monitoring chromatograms. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, v. 59, n. Supplement C, p. 190-193, 2012/02/05/ 2012. ISSN 0731-7085. Disponível em: < <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0731708511005875> >.

KADAM, S. S.; SALUNKHE, D. K. Avocado. In: KADAM, S. S. e SALUNKHE, D. K. (Ed.). **Handbook of Fruit Science and Technology**. Boca Raton: CRC Press, 1995. cap. 14, p.363-374.

KALIA, S.; AVÉROUS, L. **Biopolymers: Biomedical and Environmental Applications**. Wiley, 2011. 642 ISBN 978-0-470-63923-8.

KARBOWIAK, T.; DEBEAUFORT, F.; VOILLEY, A. Influence of thermal process on structure and functional properties of emulsion-based edible films. **Food Hydrocolloids**, v. 21, n. 5, p. 879-888, 2007/07/01/ 2007. ISSN 0268-005X. Disponível em: < <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0268005X06001676> >.

KAYSERILIOĞLU, B. Ş. et al. Drying Temperature and Relative Humidity Effects on Wheat Gluten Film Properties. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 51, n. 4, p. 964-968, 2003/02/01 2003. ISSN 0021-8561. Disponível em: < <https://doi.org/10.1021/jf0205817> >.

KIANGKITIWAN, N.; SRIKULKIT, K. Poly(Lactic Acid) Filled with Cassava Starch-g-Soybean Oil Maleate. **The Scientific World Journal**, v. 2013, p. 1-7, 2013. Disponível em: < <http://www.hindawi.com/journals/tswj/2013/860487/cta/> >.

KOKOSZKA, S. et al. Protein and glycerol contents affect physico-chemical properties of soy protein isolate-based edible films. **Innovative Food Science & Emerging Technologies**, v. 11, n. 3, p. 503-510, 7// 2010. ISSN 1466-8564. Disponível em: < <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1466856410000081> >.

\_\_\_\_\_. Water vapour permeability, thermal and wetting properties of whey protein isolate based edible films. **International Dairy Journal**, v. 20, n. 1, p. 53-60, 1// 2010. ISSN 0958-

6946. Disponível em: <  
<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S095869460900137X>>.
- KOWALCZYK, D. Biopolymer/candelilla wax emulsion films as carriers of ascorbic acid – A comparative study. **Food Hydrocolloids**, v. 52, p. 543-553, 2016/01/01/ 2016. ISSN 0268-005X. Disponível em: <  
<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0268005X15300448>>.
- KRISHNA, M.; NINDO, C. I.; MIN, S. C. Development of fish gelatin edible films using extrusion and compression molding. **Journal of Food Engineering**, v. 108, n. 2, p. 337-344, 1// 2012. ISSN 0260-8774. Disponível em: <  
<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0260877411004286>>.
- KROCHTA, J. M. Chapter 1 -Proteins as raw materials for films and coatings: Definitions, Current Status, and Opportunities. In: GENNADIOS, A. (Ed.). **Protein-Based Films and Coatings**. 1st. Boca Raton: CRC Press, 2002. cap. 1, p.1-41.
- KROCHTA, J. M.; MULDER-JOHNSTON, C. D. Edible and biodegradable polymer films: challenges and opportunities. **Food Technology**, v. 51, n. 2, p. 61-74, 1997. Disponível em: <  
<http://agris.fao.org/agris-search/search.do?recordID=US9729236>>.
- KUDO, S. et al. Sulfonate Ionic Liquid as a Stable and Active Catalyst for Levoglucosenone Production from Saccharides via Catalytic Pyrolysis. **Catalysts**, v. 3, n. 4, p. 757-773, 2013. Disponível em: <  
<http://www.mdpi.com/2073-4344/3/4/757>>.
- KUMAR, A. P.; SINGH, R. P. Biocomposites of cellulose reinforced starch: Improvement of properties by photo-induced crosslinking. **Bioresource Technology**, v. 99, n. 18, p. 8803-8809, 2008/12/01/ 2008. ISSN 0960-8524. Disponível em: <  
<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0960852408003660>>.
- KUMAR, B.; CUMBAL, L. UV-Vis, FTIR and antioxidant study of Persea americana (Avocado) leaf and fruit: A comparison. **Revista de la facultad de ciencias químicas**, v. 14, p. 13-20, 2016.
- LACROIX, M. Mechanical and Permeability Properties of Edible Films and Coatings for Food and Pharmaceutical Applications. In: HUBER, K. C. e EMBUSCADO, M. E. (Ed.). **Edible Films and Coatings for Food Applications**. New York, NY: Springer New York, 2009. p.347-366. ISBN 978-0-387-92824-1.
- LACROIX, M.; VU, K. D. Chapter 11 - Edible Coating and Film Materials: Proteins. In: HAN, J. H. (Ed.). **Innovations in Food Packaging (Second Edition)**. San Diego: Academic Press, 2014. p.277-304. ISBN 978-0-12-394601-0.
- LECETA, I. et al. Bio-based films prepared with by-products and wastes: environmental assessment. **Journal of Cleaner Production**, v. 64, p. 218-227, 2014/02/01/ 2014. ISSN 0959-6526. Disponível em: <  
<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0959652613005155>>.



---

LEE, D. S. Chapter 6 - Antioxidative Packaging System A2 - Han, Jung H. In: (Ed.). **Innovations in Food Packaging (Second Edition)**. San Diego: Academic Press, 2014. p.111-131. ISBN 978-0-12-394601-0.

LI, J.-H. et al. Preparation and characterization of active gelatin-based films incorporated with natural antioxidants. **Food Hydrocolloids**, v. 37, p. 166-173, 2014/06/01/ 2014. ISSN 0268-005X. Disponível em: < <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0268005X13003329> >.

LI, M. et al. Extrusion processing and characterization of edible starch films with different amylose contents. **Journal of Food Engineering**, v. 106, n. 1, p. 95-101, 9// 2011. ISSN 0260-8774. Disponível em: < <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0260877411002196> >.

LIANG, T.; WANG, L. Preparation and characterization of a novel edible film based on *Artemisia sphaerocephala* Krasch. gum: Effects of type and concentration of plasticizers. **Food Hydrocolloids**, v. 77, p. 502-508, 2018/04/01/ 2018. ISSN 0268-005X. Disponível em: < <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0268005X17314340> >.

LIU, L. et al. Ordered mesoporous carbons: citric acid-catalyzed synthesis, nitrogen doping and CO<sub>2</sub> capture. **Journal of Materials Chemistry**, v. 21, n. 40, p. 16001-16009, 2011. ISSN 0959-9428. Disponível em: < <http://dx.doi.org/10.1039/C1JM12887F> >.

LU, Q.-Y. et al. Inhibition of prostate cancer cell growth by an avocado extract: role of lipid-soluble bioactive substances. **The Journal of Nutritional Biochemistry**, v. 16, n. 1, p. 23-30, 2005/01/01/ 2005. ISSN 0955-2863. Disponível em: < <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0955286304001597> >.

LÓPEZ-DE-DICASTILLO, C. et al. Active antioxidant packaging films: Development and effect on lipid stability of brined sardines. **Food Chemistry**, v. 131, n. 4, p. 1376-1384, 4/15/ 2012. ISSN 0308-8146. Disponível em: < <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0308814611014178> >.

MA, W. et al. Effect of homogenization conditions on properties of gelatin–olive oil composite films. **Journal of Food Engineering**, v. 113, n. 1, p. 136-142, 11// 2012. ISSN 0260-8774. Disponível em: < <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0260877412002282> >.

MA, X.; CHANG, P. R.; YU, J. Properties of biodegradable thermoplastic pea starch/carboxymethyl cellulose and pea starch/microcrystalline cellulose composites. **Carbohydrate Polymers**, v. 72, n. 3, p. 369-375, 2008/05/16/ 2008. ISSN 0144-8617. Disponível em: < <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0144861707004444> >.

MAHECHA , M. M. A.; TAPIA-BLÁCIDO , D. R.; MENEGALLI, F. C. Filmes Biodegradáveis: Incorporação de Microfibras e Nanofibras de Celulose Obtidas de Fontes Vegetais. **Revista Especializada en Ingeniería de Procesos en Alimentos y Biomateriales**, v. 5, p. 11-28, 2011.

---

MALI, S. et al. Effects of controlled storage on thermal, mechanical and barrier properties of plasticized films from different starch sources. **Journal of Food Engineering**, v. 75, n. 4, p. 453-460, 8// 2006. ISSN 0260-8774. Disponível em: < <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0260877405002888> >.

MALI, S.; GROSSMANN, M. V. E.; YAMASHITA, F. Filmes de amido: produção, propriedades e potencial de utilização. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 31, n. 1, p. 137-56, 2010.

MARTELLI, M. D. R.; BARROS, T. T. D.; ASSIS, O. B. G. Filmes de polpa de banana produzidos por batelada: propriedades mecânicas e coloração. **Polímeros**, v. 24, p. 137-142, 2014. ISSN 0104-1428.

MARTELLI MILENA, R. et al. Effect of Chitosan Nanoparticles and Pectin Content on Mechanical Properties and Water Vapor Permeability of Banana Puree Films. **Journal of Food Science**, v. 78, n. 1, p. N98-N104, 2013/01/01 2012. ISSN 0022-1147. Disponível em: < <https://doi.org/10.1111/j.1750-3841.2012.03006.x> >. Acesso em: 2018/07/16.

MARTÍN-BELLOSO, O.; ROJAS-GRAÜ, M. A.; SOLIVA-FORTUNY, R. Delivery of Flavor and Active Ingredients Using Edible Films and Coatings. In: HUBER, K. C. e EMBUSCADO, M. E. (Ed.). **Edible Films and Coatings for Food Applications**. New York, NY: Springer New York, 2009. p.295-313. ISBN 978-0-387-92824-1.

MATTA JR, M. D. D. et al. Propriedades de barreira e solubilidade de filmes de amido de ervilha associado com goma xantana e glicerol. **Polímeros**, v. 21, p. 67-72, 2011. ISSN 0104-1428.

MAUER, L. J.; SMITH, D. E.; LABUZA, T. P. Water vapor permeability, mechanical, and structural properties of edible  $\beta$ -casein films. **International Dairy Journal**, v. 10, n. 5, p. 353-358, 2000/01/01/ 2000. ISSN 0958-6946. Disponível em: < <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0958694600000613> >.

MCGLASHAN STEWART, A.; HALLEY PETER, J. Preparation and characterisation of biodegradable starch-based nanocomposite materials. **Polymer International**, v. 52, n. 11, p. 1767-1773, 2003/11/01 2003. ISSN 0959-8103. Disponível em: < <https://doi.org/10.1002/pi.1287> >. Acesso em: 2018/05/07.

MCHUGH, T. H.; HUXSOLL, C. C.; KROCHTA, J. M. Permeability Properties of Fruit Puree Edible Films. **Journal of Food Science**, v. 61, n. 1, p. 88-91, 1996. ISSN 0022-1147. Disponível em: < <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.1996.tb14732.x> >.

MEHDIZADEH, T. et al. Antibacterial, antioxidant and optical properties of edible starch-chitosan composite film containing *Thymus kotschyanus* essential oil. **Veterinary research forum : an international quarterly journal**, v. 3, n. 3, p. 167-173, Summer 2012. ISSN 2008-8140

2322-3618. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25610564> >. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/PMC4299978/> >.

MELLINAS, C. et al. Active edible films: Current state and future trends. **Journal of Applied Polymer Science**, v. 133, n. 2, 2015. ISSN 0021-8995. Disponível em: < <https://doi.org/10.1002/app.42631> >. Acesso em: 2018/04/19.

MIRANDA, V. R.; CARVALHO, A. J. F. Blendas compatíveis de amido termoplástico e polietileno de baixa densidade compatibilizadas com ácido cítrico. **Polímeros**, v. 21, p. 353-360, 2011. ISSN 0104-1428.

MOHANASRINIVASAN, V. et al. Studies on heavy metal removal efficiency and antibacterial activity of chitosan prepared from shrimp shell waste. **3 Biotech**, v. 4, n. 2, p. 167-175, 2014/04/01 2014. ISSN 2190-572X. Disponível em: < <http://dx.doi.org/10.1007/s13205-013-0140-6> >.

MORENO, A. O. et al. Effect of Different Extraction Methods on Fatty Acids, Volatile Compounds, and Physical and Chemical Properties of Avocado (*Persea americana* Mill.) Oil. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 51, n. 8, p. 2216-2221, 2003/04/01 2003. ISSN 0021-8561. Disponível em: < <https://doi.org/10.1021/jf0207934> >.

MUSCAT, D. et al. Comparative study of film forming behaviour of low and high amylose starches using glycerol and xylitol as plasticizers. **Journal of Food Engineering**, v. 109, n. 2, p. 189-201, 2012/03/01/ 2012. ISSN 0260-8774. Disponível em: < <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0260877411005589> >.

MÜLLER, C. M. O.; YAMASHITA, F.; LAURINDO, J. B. Evaluation of the 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, n. 1, p. 82-87, 2008/04/03/ 2008. ISSN 0144-8617. Disponível em: < <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0144861707003736> >.

NAKAJIMA, H.; DIJKSTRA, P.; LOOS, K. The Recent Developments in Biobased Polymers toward General and Engineering Applications: Polymers that are Upgraded from Biodegradable Polymers, Analogous to Petroleum-Derived Polymers, and Newly Developed. **Polymers**, v. 9, n. 10, 2017. ISSN 2073-4360.

NASCIMENTO, T. A.; CALADO, V.; CARVALHO, C. W. P. Development and characterization of flexible film based on starch and passion fruit mesocarp flour with nanoparticles. **Food Research International**, v. 49, n. 1, p. 588-595, 2012/11/01/ 2012. ISSN 0963-9969. Disponível em: < <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0963996912002955> >.

NEDD, G. et al. Antimicrobial properties of the fruit pulp of three local fruits: *Morinda citrifolia*, *Persea americana* and *Musa sapientum* in Guyana. **Journal of Biology and Nature**, v. 3, n. 3, p. 87-93, 2015.

NUR HANANI, A. Z. et al. Development and Characterization of Biodegradable Composite Films Based on Gelatin Derived from Beef, Pork and Fish Sources. **Foods**, v. 2, n. 1, 2013. ISSN 2304-8158.

NUR HANANI, Z. A.; ROOS, Y. H.; KERRY, J. P. Use and application of gelatin as potential biodegradable packaging materials for food products. **International Journal of**

---

**Biological Macromolecules**, v. 71, p. 94-102, 2014/11/01/ 2014. ISSN 0141-8130. Disponível em: < <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0141813014002542> >.

ORTEGA-TORO, R. et al. Influence of citric acid on the properties and stability of starch-polycaprolactone based films. **Journal of Applied Polymer Science**, v. 133, n. 2, p. n/a-n/a, 2016. ISSN 1097-4628. Disponível em: < <http://dx.doi.org/10.1002/app.42220> >.

\_\_\_\_\_. Properties of starch–hydroxypropyl methylcellulose based films obtained by compression molding. **Carbohydrate Polymers**, v. 109, p. 155-165, 8/30/ 2014. ISSN 0144-8617. Disponível em: < <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0144861714003002> >.

ORTIZ-AVILA, O. et al. Dietary avocado oil supplementation attenuates the alterations induced by type I diabetes and oxidative stress in electron transfer at the complex II-complex III segment of the electron transport chain in rat kidney mitochondria. **Journal of Bioenergetics and Biomembranes**, v. 45, n. 3, p. 271-287, 2013/06/01 2013. ISSN 1573-6881. Disponível em: < <https://doi.org/10.1007/s10863-013-9502-3> >.

OTONI, C. G. et al. Recent Advances on Edible Films Based on Fruits and Vegetables—A Review. **Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety**, v. 16, n. 5, p. 1151-1169, 2017/09/01 2017. ISSN 1541-4337. Disponível em: < <https://doi.org/10.1111/1541-4337.12281> >. Acesso em: 2018/07/13.

PAGNO, C. H. et al. Development of active biofilms of quinoa (*Chenopodium quinoa* W.) starch containing gold nanoparticles and evaluation of antimicrobial activity. **Food Chemistry**, v. 173, p. 755-762, 4/15/ 2015. ISSN 0308-8146. Disponível em: < <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0308814614016306> >.

\_\_\_\_\_. Physical and antimicrobial properties of quinoa flour-based films incorporated with essential oil. **Journal of Applied Polymer Science**, v. 133, n. 16, p. n/a-n/a, 2016. ISSN 1097-4628. Disponível em: < <http://dx.doi.org/10.1002/app.43311> >.

PANG, J. et al. Fabrication of Cellulose Film with Enhanced Mechanical Properties in Ionic Liquid 1-Allyl-3-methylimidazolium Chloride (AmimCl). **Materials**, v. 6, n. 4, p. 1270-1284, 2013.

PARK, H. J. et al. Chapter 10 - Processes and Applications for Edible Coating and Film Materials from Agropolymers A2 - Han, Jung H. In: (Ed.). **Innovations in Food Packaging (Second Edition)**. San Diego: Academic Press, 2014. p.257-275. ISBN 978-0-12-394601-0.

PARK, S.-I.; ZHAO, Y. Development and Characterization of Edible Films from Cranberry Pomace Extracts. **Journal of Food Science**, v. 71, n. 2, p. E95-E101, 2006/03/01 2006. ISSN 0022-1147. Disponível em: < <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.2006.tb08902.x> >. Acesso em: 2018/07/13.

PARK, S. K.; HETTIARACHCHY, N. S.; WERE, L. Degradation Behavior of Soy Protein–Wheat Gluten Films in Simulated Soil Conditions. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 48, n. 7, p. 3027-3031, 2000/07/01 2000. ISSN 0021-8561. Disponível em: < <http://dx.doi.org/10.1021/jf0000272> >.

---

PASTOR, C. et al. Physical and antioxidant properties of chitosan and methylcellulose based films containing resveratrol. **Food Hydrocolloids**, v. 30, n. 1, p. 272-280, 2013/01/01/ 2013. ISSN 0268-005X. Disponível em: < <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0268005X12001361> >.

PELLISSARI, F. M. et al. Antimicrobial, Mechanical, and Barrier Properties of Cassava Starch–Chitosan Films Incorporated with Oregano Essential Oil. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 57, n. 16, p. 7499-7504, 2009/08/26 2009. ISSN 0021-8561. Disponível em: < <http://dx.doi.org/10.1021/jf9002363> >.

PERAZZO, K. K. N. C. L. et al. Properties and Antioxidant Action of Actives Cassava Starch Films Incorporated with Green Tea and Palm Oil Extracts. **PLoS ONE**, San Francisco, USA, v. 9, n. 9, p. e105199, 09/24 12/10/received 07/21/accepted 2014. ISSN 1932-6203. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4174503/> >.

PEREIRA, P. A. **Evolução da produção mundial e nacional de abacate**. 2015. 55 (Trabalho de conclusão de curso). Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária, Universidade de Brasília, Brasília.

PEREZ-GAGO, M. B.; KROCHTA, J. M. Denaturation Time and Temperature Effects on Solubility, Tensile Properties, and Oxygen Permeability of Whey Protein Edible Films. **Journal of Food Science**, v. 66, n. 5, p. 705-710, 2001. ISSN 1750-3841. Disponível em: < <http://dx.doi.org/10.1111/j.1365-2621.2001.tb04625.x> >.

PICCINNO, F. et al. Life Cycle Assessment of a New Technology To Extract, Functionalize and Orient Cellulose Nanofibers from Food Waste. **ACS Sustainable Chemistry & Engineering**, v. 3, n. 6, p. 1047-1055, 2015/06/01 2015. Disponível em: < <http://dx.doi.org/10.1021/acssuschemeng.5b00209> >.

PRESCHA, A. et al. The Antioxidant Activity and Oxidative Stability of Cold-Pressed Oils. **Journal of the American Oil Chemists' Society**, v. 91, n. 8, p. 1291-1301, 2014// 2014. ISSN 1558-9331. Disponível em: < <http://dx.doi.org/10.1007/s11746-014-2479-1> >.

PRIME, R. B. et al. Thermogravimetric Analysis (TGA). In: MENCZEL, J. D. e PRIME, R. B. (Ed.). **Thermal Analysis of Polymers**: Wiley, 2008. cap. 3, p.241-317.

PSOMIADOU, E.; ARVANITTOYANNIS, I.; YAMAMOTO, N. Edible films made from natural resources; microcrystalline cellulose (MCC), methylcellulose (MC) and corn starch and polyols—Part 2. **Carbohydrate Polymers**, v. 31, n. 4, p. 193-204, 12// 1996. ISSN 0144-8617. Disponível em: < <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S014486179600077X> >.

PÉREZ, C. D. et al. Hydrolytic and Oxidative Stability of l-(+)-Ascorbic Acid Supported in Pectin Films: Influence of the Macromolecular Structure and Calcium Presence. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 60, n. 21, p. 5414-5422, 2012/05/30 2012. ISSN 0021-8561. Disponível em: < <https://doi.org/10.1021/jf205132m> >.

---

PÉREZ-GAGO, M. B.; RHIM, J.-W. Chapter 13 - Edible Coating and Film Materials: Lipid Bilayers and Lipid Emulsions. In: HAN, J. H. (Ed.). **Innovations in Food Packaging (Second Edition)**. San Diego: Academic Press, 2014. p.325-350. ISBN 978-0-12-394601-0.

PÉREZ-MATEOS, M.; MONTERO, P.; GÓMEZ-GUILLÉN, M. C. Formulation and stability of biodegradable films made from cod gelatin and sunflower oil blends. **Food Hydrocolloids**, v. 23, n. 1, p. 53-61, 1// 2009. ISSN 0268-005X. Disponível em: < <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0268005X07002445> >.

QIN, X.; ZHONG, J. A Review of Extraction Techniques for Avocado Oil. **Journal of Oleo Science**, v. 65, n. 11, p. 881-888, 2016.

RAMOS, M. et al. Gelatin-based films and coatings for food packaging applications. **Coatings**, v. 6, n. 4, 2016.

RAMOS, Ó. L. et al. Edible Films and Coatings from Whey Proteins: A Review on Formulation, and on Mechanical and Bioactive Properties. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v. 52, n. 6, p. 533-552, 2012/06/01 2012. ISSN 1040-8398. Disponível em: < <http://dx.doi.org/10.1080/10408398.2010.500528> >.

\_\_\_\_\_. Effect of whey protein purity and glycerol content upon physical properties of edible films manufactured therefrom. **Food Hydrocolloids**, v. 30, n. 1, p. 110-122, 1// 2013. ISSN 0268-005X. Disponível em: < <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0268005X12001014> >.

RAMOS, Ó. L. D. S. **Development and characterization of bioactive, edible whey protein films and coatings to improve quality and safety of food products**. 2011. 274 (Ph.D). Instituto de tecnologia Química e Biológica, Universidade Nova de Lisboa, Lisboa, Portugal.

RAMOS-VILLARROEL ANA, Y.; MARTÍN-BELLOSO, O.; SOLIVA-FORTUNY, R. Using Antibrowning Agents to Enhance Quality and Safety of Fresh-Cut Avocado Treated with Intense Light Pulses. **Journal of Food Science**, v. 76, n. 9, p. S528-S534, 2011/11/01 2011. ISSN 0022-1147. Disponível em: < <https://doi.org/10.1111/j.1750-3841.2011.02410.x> >. Acesso em: 2018/07/12.

RAMÍREZ, M. G. L. et al. Preparation and characterization of biodegradable composites based on Brazilian cassava starch, corn starch and green coconut fibers. **Matéria (Rio de Janeiro)**, v. 15, p. 330-337, 2010. ISSN 1517-7076.

RAVISHANKAR, S. et al. Inactivation of *Listeria monocytogenes* on Ham and Bologna Using Pectin-Based Apple, Carrot, and Hibiscus Edible Films Containing Carvacrol and Cinnamaldehyde. **Journal of Food Science**, v. 77, n. 7, p. M377-M382, 2012/07/01 2012. ISSN 0022-1147. Disponível em: < <https://doi.org/10.1111/j.1750-3841.2012.02751.x> >. Acesso em: 2018/10/15.

RAYMOND CHIA, T. W.; DYKES, G. A. Antimicrobial activity of crude epicarp and seed extracts from mature avocado fruit (*Persea americana*) of three cultivars. **Pharmaceutical Biology**, v. 48, n. 7, p. 753-756, 2010/07/01 2010. ISSN 1388-0209. Disponível em: < <http://dx.doi.org/10.3109/13880200903273922> >.

---

REBOLLO, A. J. G. et al. Effects of consumption of meat product rich in monounsaturated fatty acids (the ham from the Iberian pig) on plasma lipids. **Nutrition Research**, v. 18, n. 4, p. 743-750, 1998/04/01/ 1998. ISSN 0271-5317. Disponível em: < <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0271531798000608> >.

REDDY, N.; YANG, Y. Citric acid cross-linking of starch films. **Food Chemistry**, v. 118, n. 3, p. 702-711, 2/1/ 2010. ISSN 0308-8146. Disponível em: < <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0308814609007067> >.

REIS, L. C. B. et al. Active biocomposites of cassava starch: The effect of yerba mate extract and mango pulp as antioxidant additives on the properties and the stability of a packaged product. **Food and Bioprocess Processing**, v. 94, p. 382-391, 4// 2015. ISSN 0960-3085. Disponível em: < <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0960308514000558> >.

RIBEIRO-SANTOS, R. et al. Use of essential oils in active food packaging: Recent advances and future trends. **Trends in Food Science & Technology**, v. 61, p. 132-140, 2017/03/01/ 2017. ISSN 0924-2244. Disponível em: < <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0924224416303521> >.

RINCON-PATINO, J.; LASSO, E.; CORRALES, J. Estimating Avocado Sales Using Machine Learning Algorithms and Weather Data. **Sustainability**, v. 10, n. 10, 2018. ISSN 2071-1050.

ROBERTSON, G. L. **Food Packaging - Principles and Practice (3rd Edition)**: Taylor & Francis.

\_\_\_\_\_. **Food Packaging - Principles and Practice**. 3rd Edition. Taylor & Francis, 2013. 704 ISBN 978-1-4398-6242-1. Disponível em: < <http://app.knovel.com/hotlink/toc/id:kpFPPPE001/food-packaging-principles/food-packaging-principles> >.

ROBLES-SÁNCHEZ, R. M. et al. Influence of alginate-based edible coating as carrier of antibrowning agents on bioactive compounds and antioxidant activity in fresh-cut Kent mangoes. **LWT - Food Science and Technology**, v. 50, n. 1, p. 240-246, 2013/01/01/ 2013. ISSN 0023-6438. Disponível em: < <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0023643812002381> >.

RODRÍGUEZ-CARPENA, J.-G. et al. Avocado (*Persea americana* Mill.) Phenolics, In Vitro Antioxidant and Antimicrobial Activities, and Inhibition of Lipid and Protein Oxidation in Porcine Patties. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 59, n. 10, p. 5625-5635, 2011/05/25 2011. ISSN 0021-8561. Disponível em: < <https://doi.org/10.1021/jf1048832> >.

ROJAS-GRAÜ, M. A. et al. Mechanical, Barrier, and Antimicrobial Properties of Apple Puree Edible Films Containing Plant Essential Oils. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 54, n. 24, p. 9262-9267, 2006/11/01 2006. ISSN 0021-8561. Disponível em: < <https://doi.org/10.1021/jf061717u> >.

\_\_\_\_\_. Effects of plant essential oils and oil compounds on mechanical, barrier and antimicrobial properties of alginate–apple puree edible films. **Journal of Food Engineering**,

v. 81, n. 3, p. 634-641, 8// 2007. ISSN 0260-8774. Disponível em: < <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0260877407000453> >.

ROJAS-REYES JOSÉ, O. et al. Purification and characterization of peroxidase from avocado (Persea americana Mill, cv. Hass). **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 94, n. 9, p. 1844-1853, 2014/07/01 2013. ISSN 0022-5142. Disponível em: < <https://doi.org/10.1002/jsfa.6503> >. Acesso em: 2018/07/12.

ROKKA, J.; UUSITALO, L. Preference for green packaging in consumer product choices – Do consumers care? **International Journal of Consumer Studies**, v. 32, n. 5, p. 516-525, 2008. ISSN 1470-6431. Disponível em: < <http://dx.doi.org/10.1111/j.1470-6431.2008.00710.x> >.

ROSENTHAL, A.; PYLE, D. L.; NIRANJAN, K. Aqueous and enzymatic processes for edible oil extraction. **Enzyme and Microbial Technology**, v. 19, n. 6, p. 402-420, 11/1/ 1996. ISSN 0141-0229. Disponível em: < <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S014102299680004F> >.

S ARAÚJO, C. et al. **Optimizing process parameters to obtain a bioplastic using proteins from fish byproducts through the response surface methodology**. 2018.

SALAZAR, M. J. et al. Effect of an avocado oil-rich diet over an angiotensin II-induced blood pressure response. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 98, n. 3, p. 335-338, 2005/04/26/ 2005. ISSN 0378-8741. Disponível em: < <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0378874105001121> >.

SANGAJ, N. S.; MALSHE, V. C. Permeability of polymers in protective organic coatings. **Progress in Organic Coatings**, v. 50, n. 1, p. 28-39, 2004/06/01/ 2004. ISSN 0300-9440. Disponível em: < <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0300944003002248> >.

SANTOS, C. D. M. et al. Biobased polymer films from avocado oil extraction residue: Production and characterization. **Journal of Applied Polymer Science**, p. n/a-n/a, 2016. ISSN 1097-4628. Disponível em: < <http://dx.doi.org/10.1002/app.43957> >.

SANTOS, J. P. et al. Crosslinking agents effect on gelatins from carp and tilapia skins and in their biopolymeric films. **Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects**, v. 539, p. 184-191, 2018/02/20/ 2018. ISSN 0927-7757. Disponível em: < <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0927775717311068> >.

SANTOS, T. A. et al. **Desenvolvimento e caracterização de bioplásticos a base de amido de jaca com incorporação de lisozima**. p.65. 2015

SARANTÓPOULOS, C. I.; REGO, R. A. **Brasil pack trends 2020**. 1, ed. Campinas, Brasil: ITAL, 2012. 231.

SARTORI, T.; MENEGALLI, F. C. Development and characterization of unripe banana starch films incorporated with solid lipid microparticles containing ascorbic acid. **Food Hydrocolloids**, v. 55, p. 210-219, 2016/04/01/ 2016. ISSN 0268-005X. Disponível em: < <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0268005X15301508> >.



---

SELIGRA, P. G. et al. Biodegradable and non-retrogradable eco-films based on starch-glycerol with citric acid as crosslinking agent. **Carbohydrate Polymers**, v. 138, p. 66-74, 2016/03/15/ 2016. ISSN 0144-8617. Disponível em: < <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0144861715011315> >.

SELKE, S. E. M.; HERNANDEZ, R. J. Packaging: Polymers in Flexible Packaging. In: (Ed.). **Reference Module in Materials Science and Materials Engineering**: Elsevier, 2016. ISBN 978-0-12-803581-8.

SHAH, A. A. et al. Biological degradation of plastics: A comprehensive review. **Biotechnology Advances**, v. 26, n. 3, p. 246-265, 5// 2008. ISSN 0734-9750. Disponível em: < <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0734975008000141> >. Acesso em: 2008/6//.

SHAH, U. et al. Art and Science behind Modified Starch Edible Films and Coatings: A Review. **Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety**, v. 15, n. 3, p. 568-580, 2016. ISSN 1541-4337. Disponível em: < <http://dx.doi.org/10.1111/1541-4337.12197> >.

SHEN, L.; HAUFE, J.; PATEL, M. K. **Product overview and market projection o emerging bio-based plastics**. Copernicus Institute for Sustainable Development and Innovation Utrecht University. Utrecht, The Netherlands, p.227. 2009

SHIKU, Y. et al. Effect of surimi quality on properties of edible films based on Alaska pollack. **Food Chemistry**, v. 86, n. 4, p. 493-499, 8// 2004. ISSN 0308-8146. Disponível em: < <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0308814603004874> >.

SHIT, S. C.; SHAH, P. M. Edible Polymers: Challenges and Opportunities. **Journal of Polymers**, v. 2014, 2014. Disponível em: < <http://dx.doi.org/10.1155/2014/427259> >.

SILVA-WEISS, A. et al. Natural Additives in Bioactive Edible Films and Coatings: Functionality and Applications in Foods. **Food Engineering Reviews**, v. 5, n. 4, p. 200-216, 2013/12/01 2013. ISSN 1866-7929. Disponível em: < <https://doi.org/10.1007/s12393-013-9072-5> >.

SILVENIUS, F. et al. The Role of Household Food Waste in Comparing Environmental Impacts of Packaging Alternatives. **Packaging Technology and Science**, v. 27, n. 4, p. 277-292, 2014. ISSN 1099-1522. Disponível em: < <http://dx.doi.org/10.1002/pts.2032> >.

SIRACUSA, V. et al. Biodegradable polymers for food packaging: a review. **Trends in Food Science & Technology**, v. 19, n. 12, p. 634-643, 2008/12/01/ 2008. ISSN 0924-2244. Disponível em: < <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0924224408002185> >.

SIRÓ, I.; PLACKETT, D. Microfibrillated cellulose and new nanocomposite materials: a review. **Cellulose**, v. 17, n. 3, p. 459-494, 2010/06/01 2010. ISSN 1572-882X. Disponível em: < <https://doi.org/10.1007/s10570-010-9405-y> >.

SOBRAL, P. J. D. O. A. Influência da espessura de biofilmes feitos à base de proteínas miofibrilares sobre suas propriedades funcionais. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 35, p. 1251-1259, 2000. ISSN 0100-204X.

---

SOLIVA, R. C. et al. Evaluation of browning effect on avocado purée preserved by combined methods. **Innovative Food Science & Emerging Technologies**, v. 1, n. 4, p. 261-268, 2000/12/01/ 2000. ISSN 1466-8564. Disponível em: < <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1466856400000333> >.

SOTHORNVIT, R.; PITAK, N. Oxygen permeability and mechanical properties of banana films. **Food Research International**, v. 40, n. 3, p. 365-370, 2007/04/01/ 2007. ISSN 0963-9969. Disponível em: < <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0963996906001785> >.

SOTHORNVIT, R.; RODSAMRAN, P. Effect of a mango film on quality of whole and minimally processed mangoes. **Postharvest Biology and Technology**, v. 47, n. 3, p. 407-415, 2008/03/01/ 2008. ISSN 0925-5214. Disponível em: < <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0925521407002608> >.

SOUZA, A. C. et al. Cassava starch biodegradable films: Influence of glycerol and clay nanoparticles content on tensile and barrier properties and glass transition temperature. **LWT - Food Science and Technology**, v. 46, n. 1, p. 110-117, 2012/04/01/ 2012. ISSN 0023-6438. Disponível em: < <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0023643811003458> >.

TANGO, J. S.; CARVALHO, C. R. L.; SOARES, N. B. Caracterização física e química de frutos de abacate visando a seu potencial para extração de óleo. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 26, p. 17-23, 2004. ISSN 0100-2945.

TANGO, J. S.; TURATTI, J. M. Oleo de abacate. In: (Ed.). **Abacate: cultura, matéria-prima, processamento e aspectos econômicos**. Campinas, SP: ITAL, 1992. cap. IV, p.162-192.

TAPPI/ANSI. **TAPPI/ANSI T410 om-13. Grammage of paper and paperboard (weight per unit area)**. Atlanta, GA: TAPPI Press 2013.

TECK KIM, Y.; MIN, B.; WON KIM, K. Chapter 2 - General Characteristics of Packaging Materials for Food System. In: (Ed.). **Innovations in Food Packaging (Second Edition)**. San Diego: Academic Press, 2014a. p.13-35. ISBN 978-0-12-394601-0.

\_\_\_\_\_. Chapter 2 - General Characteristics of Packaging Materials for Food System A2 - Han, Jung H. In: (Ed.). **Innovations in Food Packaging (Second Edition)**. San Diego: Academic Press, 2014b. p.13-35. ISBN 978-0-12-394601-0.

THARANATHAN, R. N. Biodegradable films and composite coatings: past, present and future. **Trends in Food Science & Technology**, v. 14, n. 3, p. 71-78, 3// 2003. ISSN 0924-2244. Disponível em: < <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0924224402002807> >.

THOMAZINE, M.; CARVALHO, R. A.; SOBRAL, P. J. A. Physical Properties of Gelatin Films Plasticized by Blends of Glycerol and Sorbitol. **Journal of Food Science**, v. 70, n. 3, p. E172-E176, 2005/04/01 2006. ISSN 0022-1147. Disponível em: < <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.2005.tb07132.x> >. Acesso em: 2018/10/18.

---

TORABI, S. et al. Chitosan and functionalized acrylic nanoparticles as the precursor of new generation of bio-based antibacterial films. **Materials Science and Engineering: C**, v. 59, p. 1-9, 2/1/ 2016. ISSN 0928-4931. Disponível em: < <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0928493115304227> >.

URANGA, J. et al. Cross-linking of fish gelatins to develop sustainable films with enhanced properties. **European Polymer Journal**, v. 78, p. 82-90, 2016/05/01/ 2016. ISSN 0014-3057. Disponível em: < <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0014305716301124> >.

VALDÉS, A. et al. State of the Art of Antimicrobial Edible Coatings for Food Packaging Applications. **Coatings**, v. 7, n. 4, 2017. ISSN 2079-6412.

VANIN, F. et al. **Effects of plasticizers and their concentrations on thermal and functional properties of gelatin-based films.** 2005. 899-907.

VARDANEGA, R.; PRADO, J. M.; MEIRELES, M. A. A. Adding value to agri-food residues by means of supercritical technology. **The Journal of Supercritical Fluids**, v. 96, p. 217-227, 1// 2015. ISSN 0896-8446. Disponível em: < <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0896844614003180> >.

VERSINO, F. et al. Starch-based films and food coatings: An overview. **Starch - Stärke**, p. n/a-n/a, 2016. ISSN 1521-379X. Disponível em: < <http://dx.doi.org/10.1002/star.201600095> >.

VERT, M. et al. Terminology for biorelated polymers and applications (IUPAC Recommendations 2012). **Pure Applied Chemistry**, v. 84, n. 2, p. 377-410, 2012. Disponível em: < <http://pac.iupac.org/publications/pac/pdf/2012/pdf/8402x0377.pdf> >.

VIEIRA, M. G. A. et al. Natural-based plasticizers and biopolymer films: A review. **European Polymer Journal**, v. 47, n. 3, p. 254-263, 3// 2011. ISSN 0014-3057. Disponível em: < <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0014305710004763> >.

WANG, W.; BOSTIC, T. R.; GU, L. Antioxidant capacities, procyanidins and pigments in avocados of different strains and cultivars. **Food Chemistry**, v. 122, n. 4, p. 1193-1198, 2010/10/15/ 2010. ISSN 0308-8146. Disponível em: < <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0308814610004127> >.

WANG, X. et al. Barrier and mechanical properties of carrot puree films. **Food and Bioproducts Processing**, v. 89, n. 2, p. 149-156, 4// 2011. ISSN 0960-3085. Disponível em: < <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0960308510000428> >.

WERMAN, M. J. et al. The effect of avocado oils on some liver characteristics in growing rats. **Food and Chemical Toxicology**, v. 27, n. 5, p. 279-282, 1989/01/01/ 1989. ISSN 0278-6915. Disponível em: < <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/0278691589901282> >.

WERMAN, M. J.; NEEMAN, I. Avocado oil production and chemical characteristics. **Journal of the American Oil Chemists' Society**, v. 64, n. 2, p. 229-232, 1987/02/01 1987. ISSN 0003-021X. Disponível em: < <http://dx.doi.org/10.1007/BF02542007> >.

---

WIHODO, M.; MORARU, C. I. Physical and chemical methods used to enhance the structure and mechanical properties of protein films: A review. **Journal of Food Engineering**, v. 114, n. 3, p. 292-302, 2// 2013. ISSN 0260-8774. Disponível em: < <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0260877412004049> >.

WITTAYA, T. Microcomposites of rice starch film reinforced with microcrystalline cellulose from palm pressed fiber. **International Food Research Journal**, v. 16, n. 4, p. 493-500, 2009.

WONG, M.; REQUEJO-JACKMAN, C.; WOOLF, A. **What is unrefined, extra virgin cold-pressed avocado oil?** <https://www.aocs.org/stay-informed/read-inform/featured-articles/what-is-unrefined-extra-virgin-cold-pressed-avocado-oil-april-2010>: AOCS - The American Oil Chemists' Society 2010.

WU, M. et al. Effect of flaxseed meal on the dynamic mechanical properties of starch-based films. **Journal of Food Engineering**, v. 118, n. 4, p. 365-370, 2013/10/01/ 2013. ISSN 0260-8774. Disponível em: < <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0260877413001969> >.

YANG, L.; PAULSON, A. T. Effects of lipids on mechanical and moisture barrier properties of edible gellan film. **Food Research International**, v. 33, n. 7, p. 571-578, 2000/08/01/ 2000a. ISSN 0963-9969. Disponível em: < <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0963996900000934> >.

\_\_\_\_\_. Mechanical and water vapour barrier properties of edible gellan films. **Food Research International**, v. 33, n. 7, p. 563-570, 8// 2000b. ISSN 0963-9969. Disponível em: < <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0963996900000922> >.

YOON, S.-D. Cross-Linked Potato Starch-Based Blend Films Using Ascorbic Acid as a Plasticizer. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 62, n. 8, p. 1755-1764, 2014/02/26 2014. ISSN 0021-8561. Disponível em: < <http://dx.doi.org/10.1021/jf4024855> >.

ZHANG, J.; MUNGARA, P.; JANE, J. Mechanical and thermal properties of extruded soy protein sheets. **Polymer**, v. 42, n. 6, p. 2569-2578, 3// 2001. ISSN 0032-3861. Disponível em: < <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0032386100006248> >.

ZHANG, Y.; LIU, Z.; HAN, J. 5 - Starch-based edible films. In: CHIELLINI, E. (Ed.). **Environmentally Compatible Food Packaging**: Woodhead Publishing, 2008. p.108-136. ISBN 978-1-84569-194-3.

ZHANG, Y.; REMPEL, C.; MCLAREN, D. Chapter 16 - Thermoplastic Starch. In: (Ed.). **Innovations in Food Packaging (Second Edition)**. San Diego: Academic Press, 2014. p.391-412. ISBN 978-0-12-394601-0.

ZHONG, Q.-P.; XIA, W.-S. Physicochemical Properties of Edible and Preservative Films from Chitosan/Cassava Starch/Gelatin Blend Plasticized with Glycerol **Food Technology and Biotechnology**, v. 46, n. 3, p. 262-269, 2008. Disponível em: < <http://www.ftb.com.hr/index.php/archives/68-volume-46-issue-no-3/261> >.

---

ZHU, F. Composition, structure, physicochemical properties, and modifications of cassava starch. **Carbohydrate Polymers**, v. 122, p. 456-480, 5/20/ 2015. ISSN 0144-8617. Disponível em: < <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S014486171401087X> >.

ZIA UD, D.; XIONG, H.; FEI, P. Physical and chemical modification of starches: A review. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v. 57, n. 12, p. 2691-2705, 2017/08/13 2017. ISSN 1040-8398. Disponível em: < <https://doi.org/10.1080/10408398.2015.1087379> >.

ZIANI, K. et al. Effect of the presence of glycerol and Tween 20 on the chemical and physical properties of films based on chitosan with different degree of deacetylation. **LWT - Food Science and Technology**, v. 41, n. 10, p. 2159-2165, 2008/12/01/ 2008. ISSN 0023-6438. Disponível em: < <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S002364380700391X> >.



---

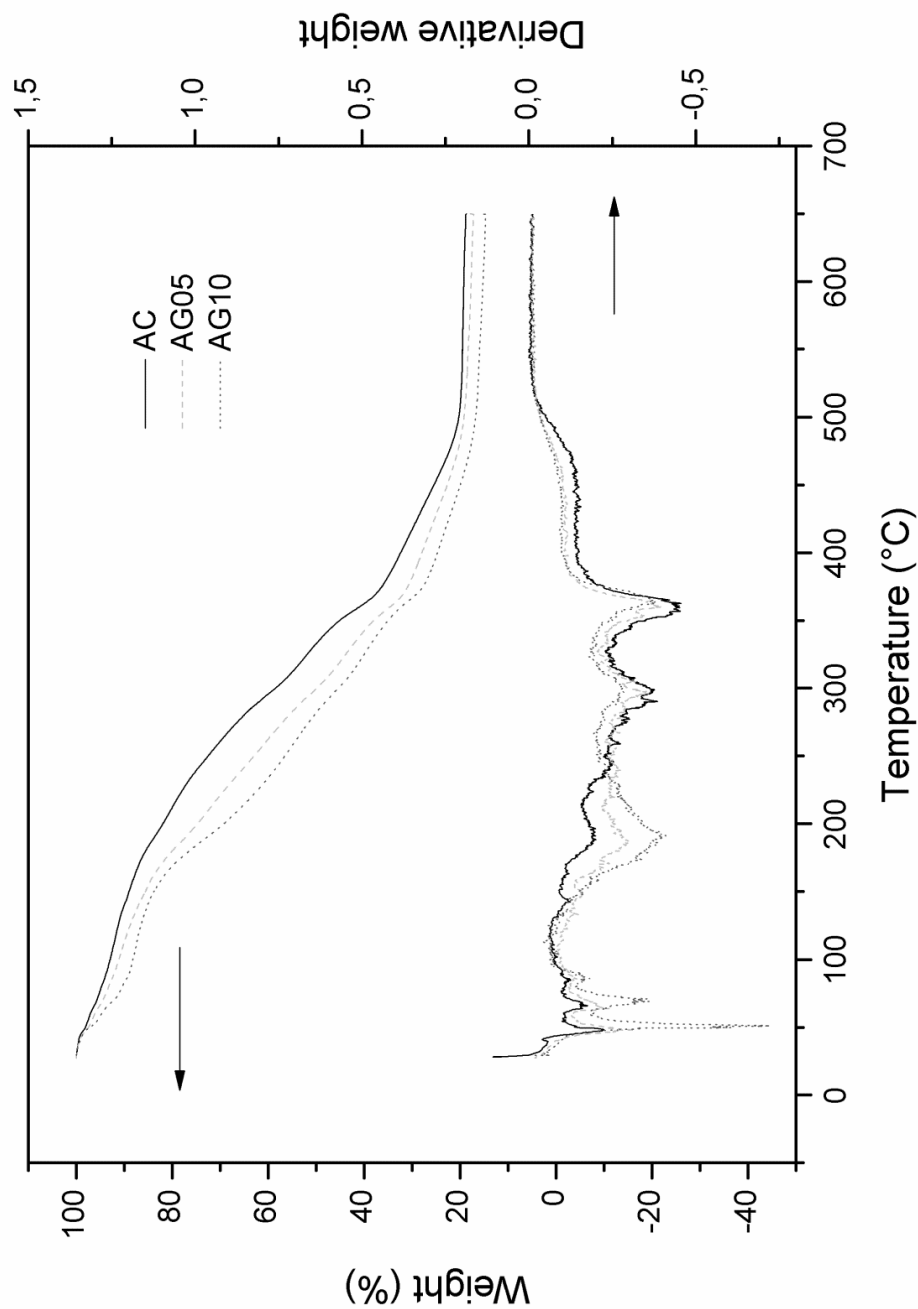
## Apêndice

**Tabela A.1** Autovetores obtidos na Análise de Componentes Principais apresentada no Artigo III.

<b>Variáveis</b>	<b>Fator 1</b>	<b>Fator 2</b>	<b>Fator 3</b>	<b>Fator 4</b>	<b>Fator 5</b>	<b>Fator 6</b>	<b>Fator 7</b>	<b>Fator 8</b>
<b>Espessura</b>	0,4148	0,8467	0,2636	0,1604	-0,0703	-0,0838	0,0579	0,0227
<b>Umidade</b>	0,7905	-0,0450	-0,4591	0,3723	-0,0175	0,1525	-0,0153	-0,0029
<b>Solubilidade</b>	-0,6438	-0,6145	0,2531	0,3761	-0,0168	-0,0461	0,0023	-0,0073
<b>PVA</b>	0,8491	0,0941	-0,5052	0,0549	0,0513	-0,0565	0,0783	0,0008
<b>Tensão</b>	-0,6749	0,4650	0,0277	-0,5464	0,1694	-0,0017	-0,0136	-0,0060
<b>Elongação</b>	0,9596	0,1441	-0,1175	0,0486	0,0065	-0,1964	-0,0533	-0,0262
<b>Módulo de Young</b>	-0,9433	0,0858	-0,0318	-0,0157	-0,3088	-0,0224	0,0734	-0,0169
<b>L*</b>	0,6720	-0,4273	0,5695	-0,1828	-0,0782	-0,0393	0,0210	0,0052
<b>Chroma</b>	0,6078	0,0381	0,7653	0,0346	0,1611	0,0940	0,0835	-0,0205
<b>Hue</b>	0,5353	-0,7605	0,2910	-0,2140	-0,0475	-0,0414	-0,0193	0,0149
<b>Opacidade</b>	-0,7840	-0,4288	-0,2673	0,2319	0,2485	-0,1030	0,0620	0,0066
<b>DPPH</b>	-0,4306	0,4639	0,6185	0,4583	0,0458	-0,0219	-0,0655	0,0026

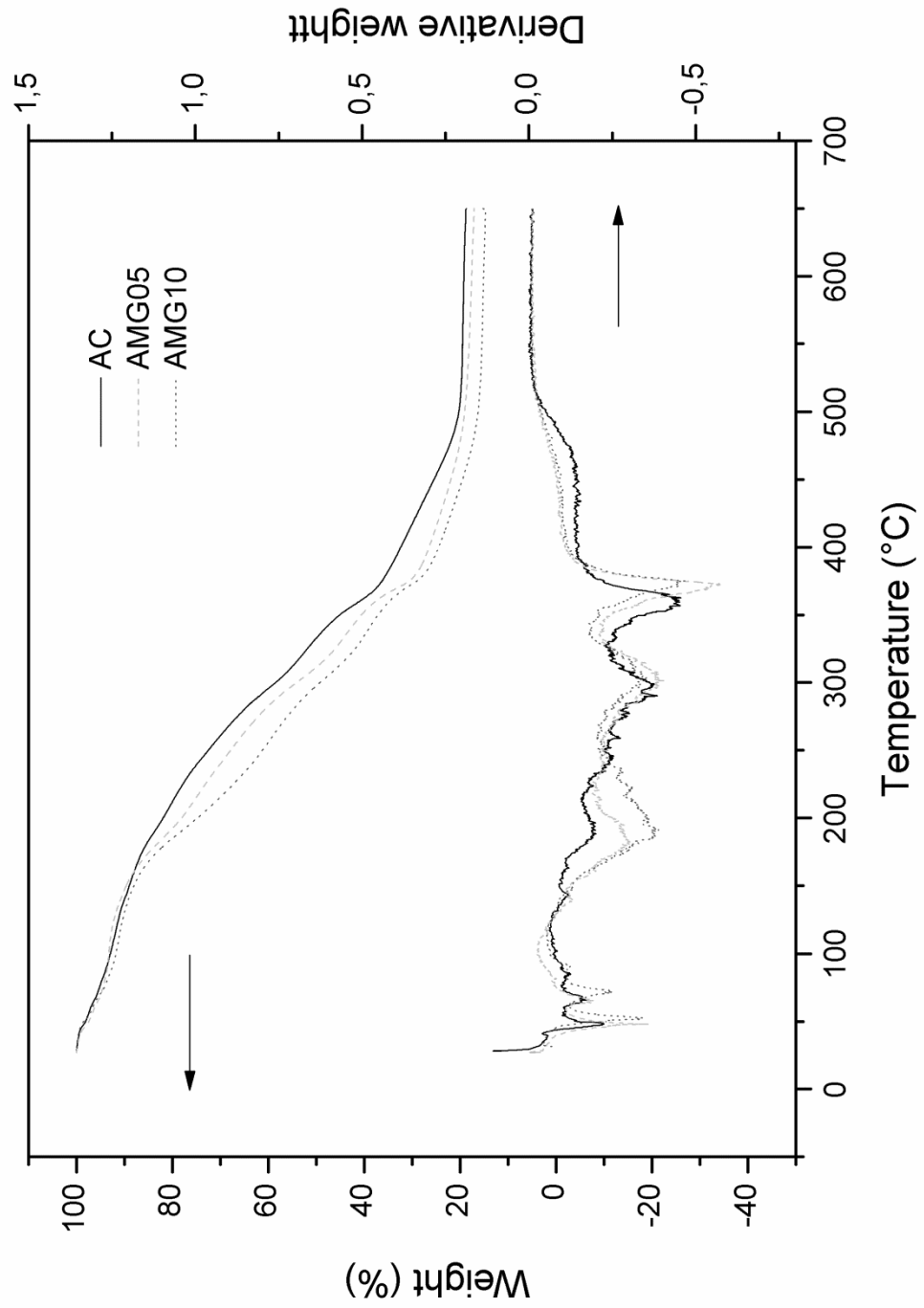
A seguir são apresentadas as figuras ampliadas referentes as análises termogravimétricas realizadas para os filmes discutidos nos Artigos I e II.

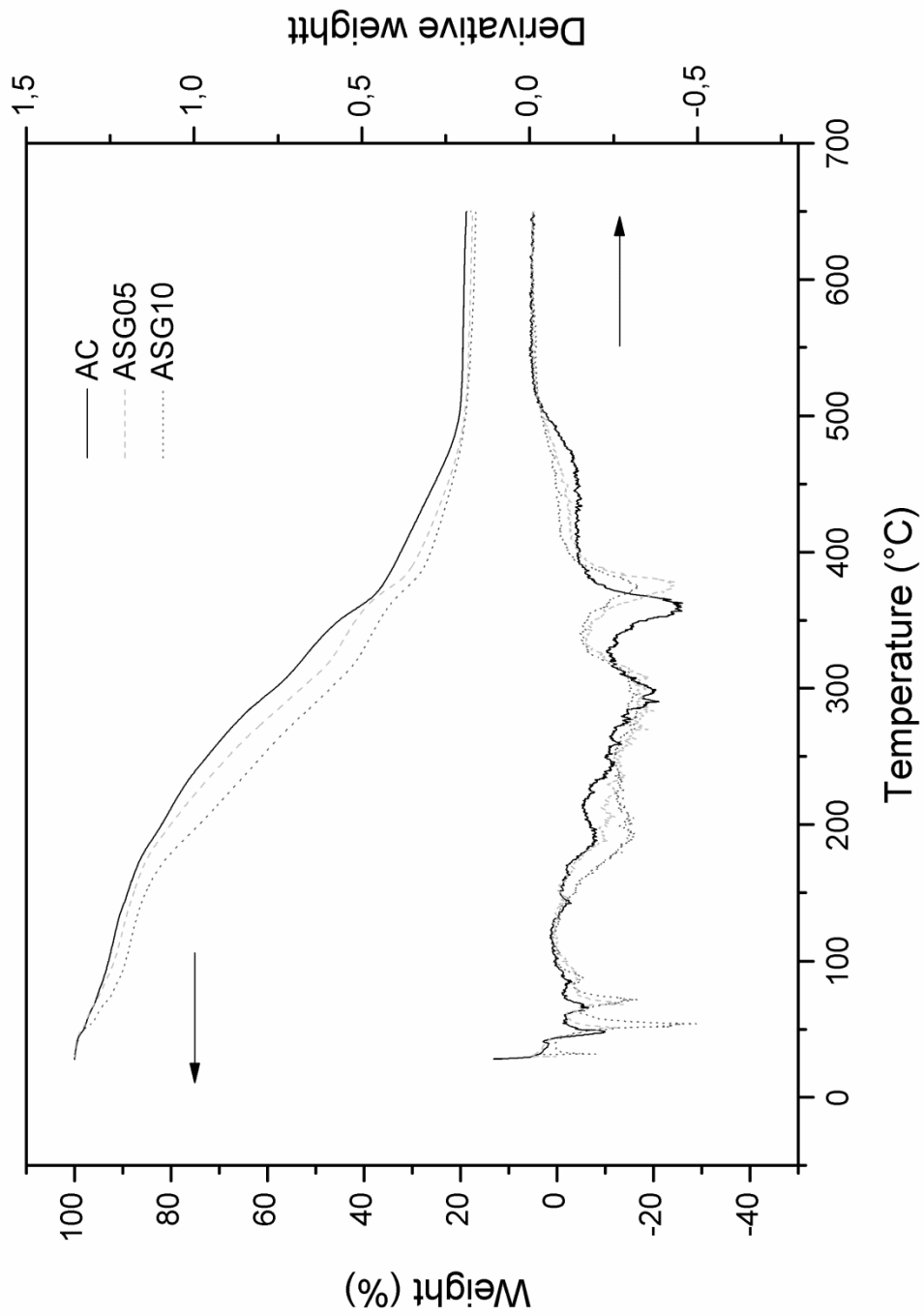
**Figura A.1.** Larger version of the TGA and DTG curves presented in Figure 4.2 for AG samples.



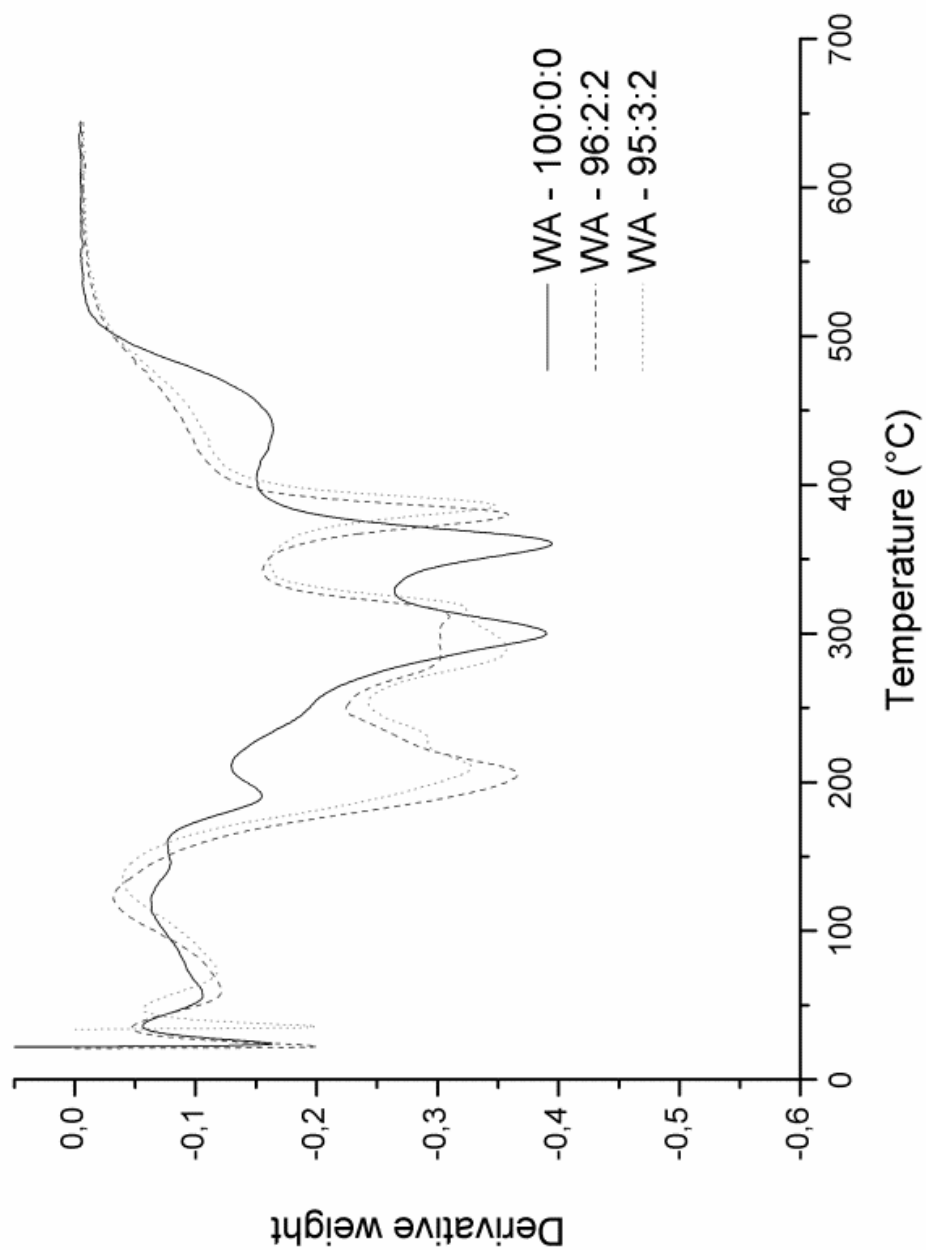


**Figura A.2.** Larger version of the TGA and DTG curves presented in Figure 4.2 for AMG samples

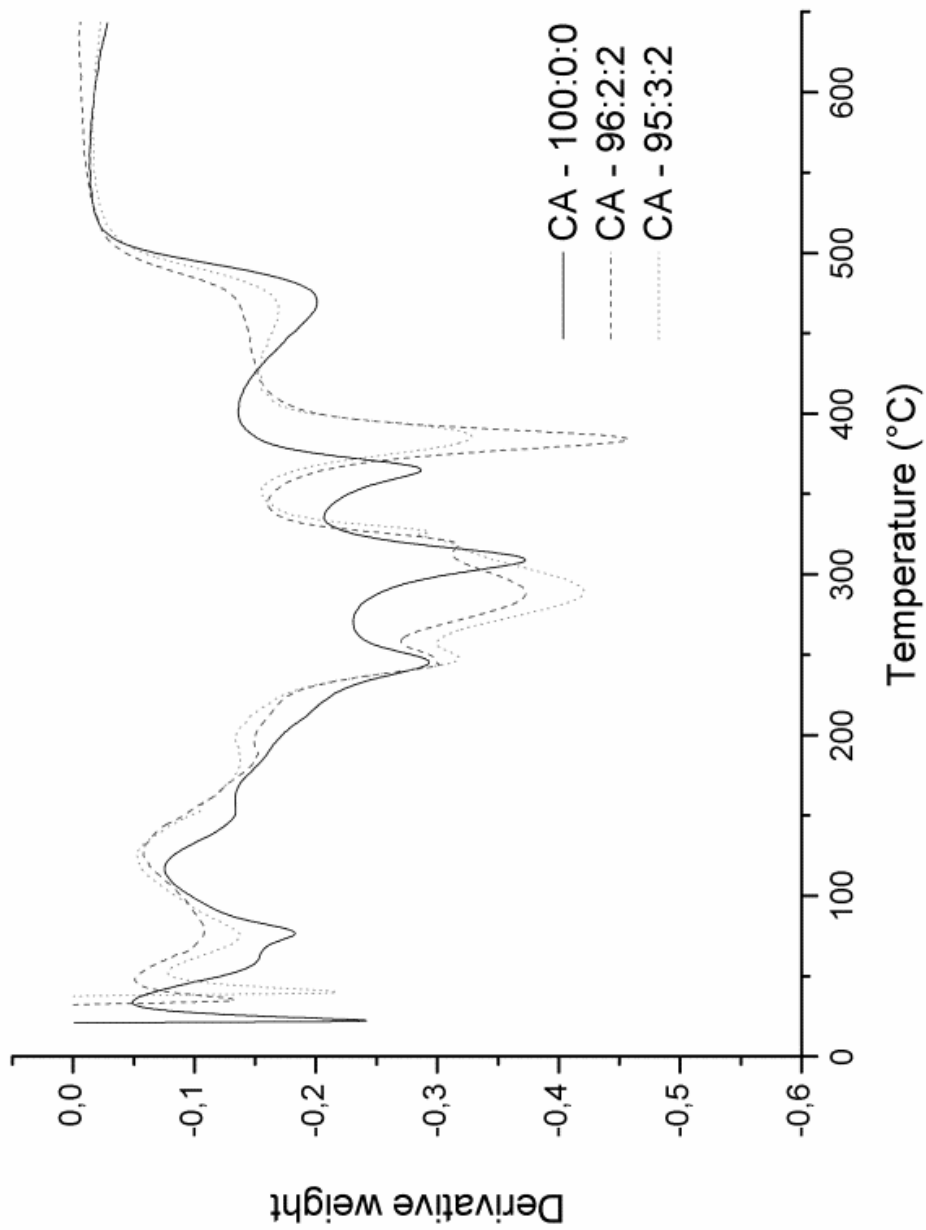


**Figura A.3.** Larger version of the TGA and DTG curves presented in Figure 4.2 for AG samples

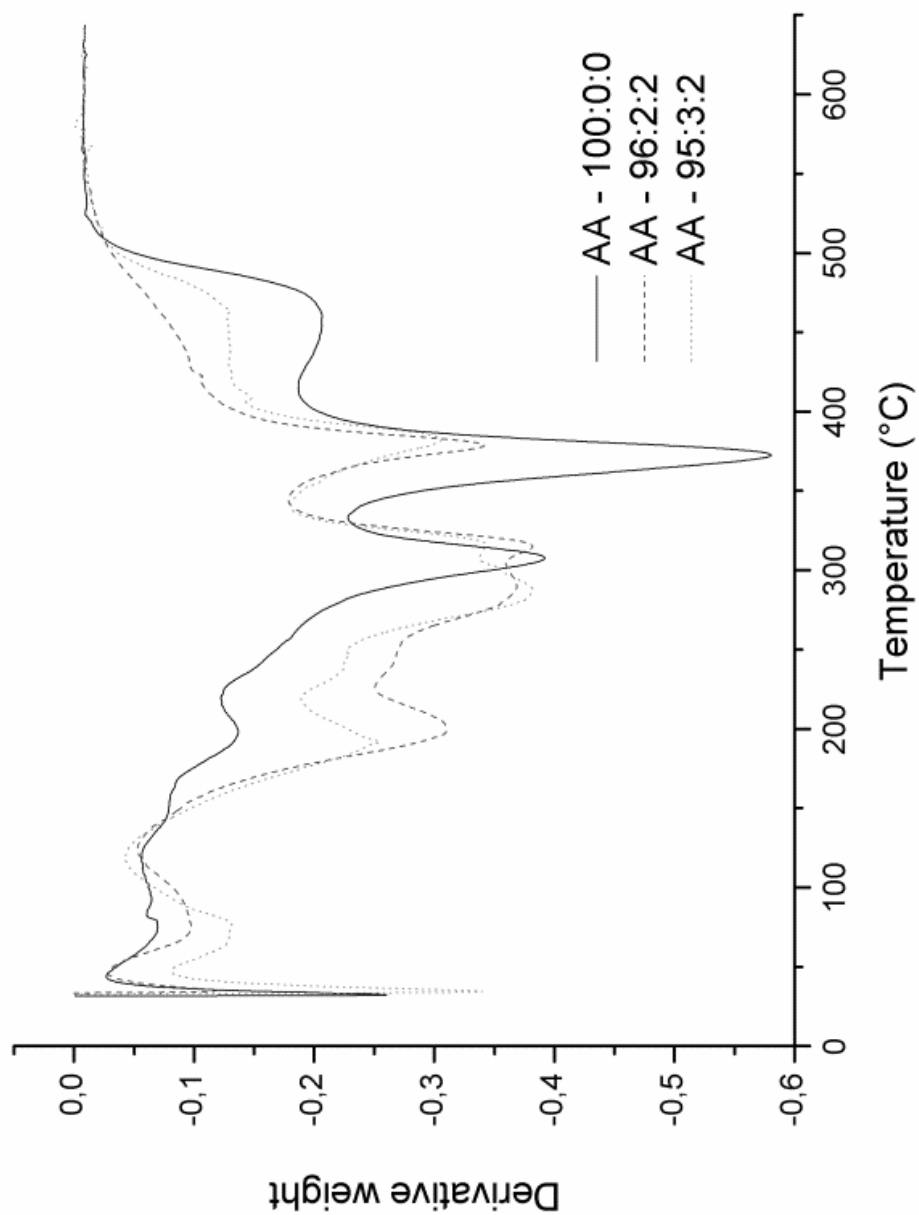
**Figura A.4.** Larger version of DTG curves presented in Figure 5.1 for biobased avocado films without addition of acids (WA)



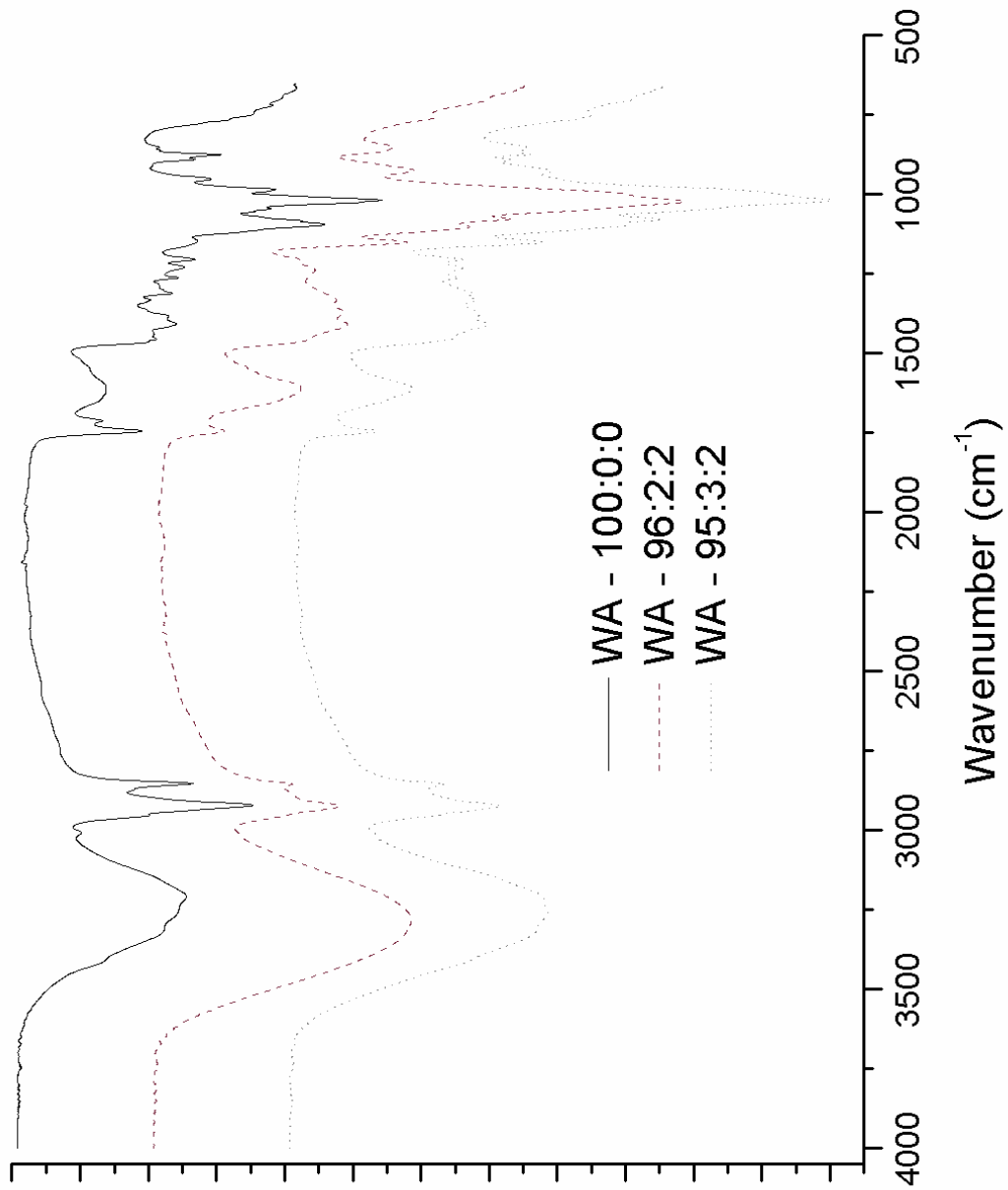
**Figura A.5.** Larger version of DTG curves presented in Figure 5.1 for biobased avocado films with addition of acitric acid (CA).



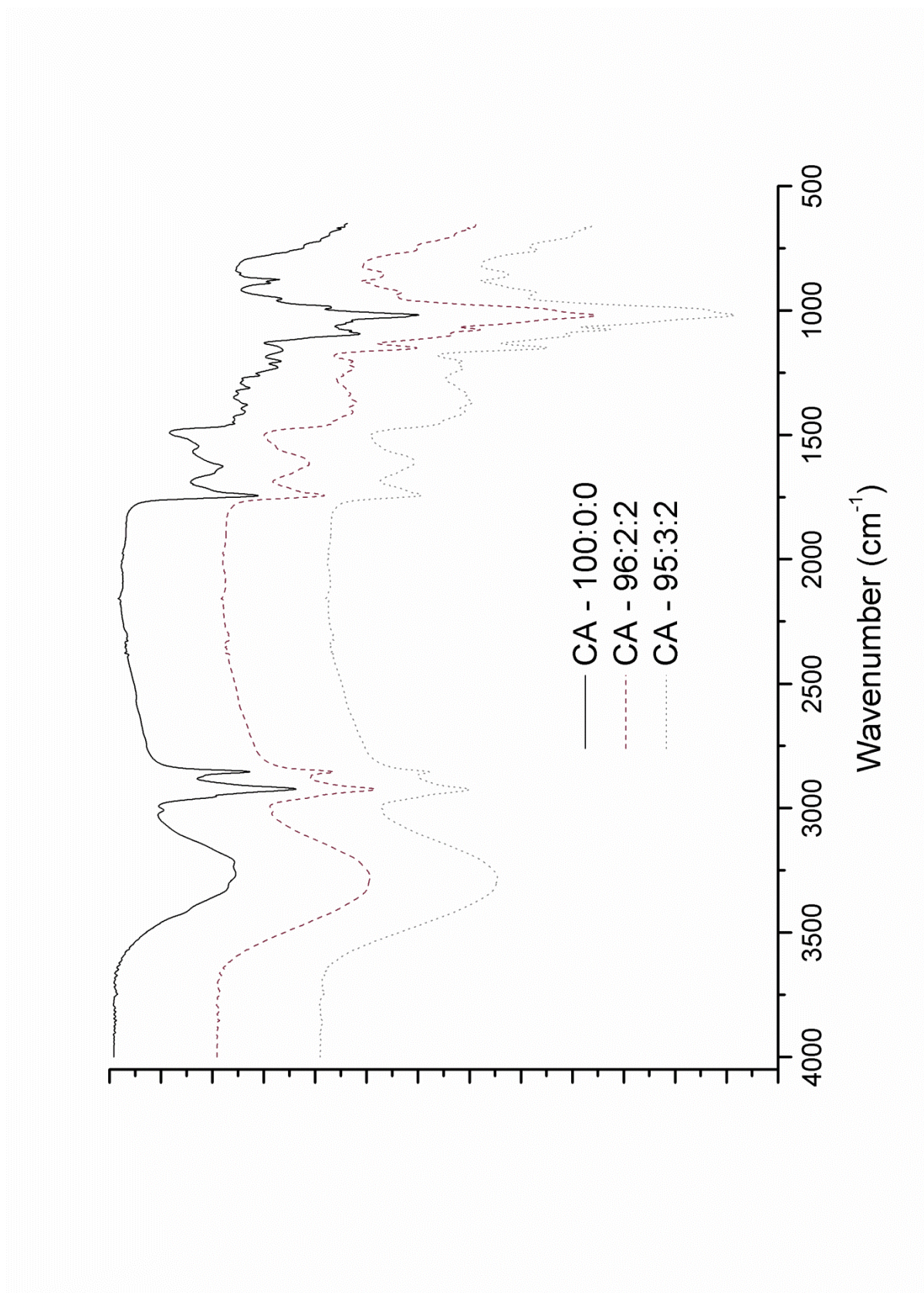
**Figura A.6.** Larger version of DTG curves presented in Figure 5.1 for biobased avocado films with addition of ascorbic acid (AA).



**Figura A.7.** Larger version of FTIR spectra of avocado biobased films without the addition of acids (WA)



**Figura A.8.** Larger version of FTIR spectra of avocado biobased films with the addition of citric acid (CA)



**Figura A.9.** Larger version of FTIR spectra of avocado biobased films with the addition of ascorbic acid (AA).

