



UNIVERSIDADE
ESTADUAL DE LONDRINA

MÔNICA OLIVEIRA REIS

**DESENVOLVIMENTO DE BANDEJAS BIODEGRADÁVEIS
DE AMIDO E POLI (ÁCIDO LÁTICO) PARA EMBALAGEM DE
ALIMENTOS**

Londrina
2017

MÔNICA OLIVEIRA REIS

**DESENVOLVIMENTO DE BANDEJAS BIODEGRADÁVEIS
DE AMIDO E POLI (ÁCIDO LÁTICO) PARA EMBALAGEM DE
ALIMENTOS**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciência de Alimentos, nível Doutorado, da Universidade Estadual de Londrina, como requisito parcial à obtenção do título de Doutor em Ciência de Alimentos.

Orientador: Prof. Dr. Fábio Yamashita

Co-orientadora: Dra. Ana Paula Bilck

Londrina
2017

Ficha de identificação da obra elaborada pelo autor, através do Programa de Geração Automática do Sistema de Bibliotecas da UEL

Reis, Mônica Oliveira.

Desenvolvimento de bandejas biodegradáveis de amido e poli (ácido láctico) para embalagem de alimentos / Mônica Oliveira Reis. - Londrina, 2017.
109 f. : il.

Orientador: Fabio Yamashita.

Coorientador: Ana Paula Bilck.

Tese (Doutorado em Ciência de Alimentos) - Universidade Estadual de Londrina, Centro de Ciências Agrárias, Programa de Pós-Graduação em Ciência de Alimentos, 2017.
Inclui bibliografia.

1. Alimentos - Tese. 2. Embalagem Biodegradável - Tese. 3. Revestimento - Tese. 4. Raman Confocal - Tese. I. Yamashita, Fabio. II. Bilck, Ana Paula. III. Universidade Estadual de Londrina. Centro de Ciências Agrárias. Programa de Pós-Graduação em Ciência de Alimentos. IV. Título.

MÔNICA OLIVEIRA REIS

**DESENVOLVIMENTO DE BANDEJAS BIODEGRADÁVEIS DE AMIDO
E POLI (ÁCIDO LÁTICO) PARA EMBALAGEM DE ALIMENTOS**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciência de Alimentos, nível Doutorado, da Universidade Estadual de Londrina, como requisito parcial à obtenção do título de Doutor em Ciência de Alimentos.

BANCA EXAMINADORA

Orientador: Prof. Dr. Fabio Yamashita
Universidade Estadual de Londrina – UEL

Profa. Dra. Gizilene Maria de Carvalho
Universidade Estadual de Londrina – UEL

Prof. Dr. Marianne Ayumi Shirai
Universidade Tecnológica Federal do Paraná –
UTFPR

Prof. Dra. Mônica Regina da Silva Scapim
Universidade Estadual de Maringá – UEM

Profa. Dra. Suzana Mali de Oliveira
Universidade Estadual de Londrina – UEL

Londrina, 11 de agosto de 2017.

*Dedico este trabalho aos meus pais,
Elena e Valdir, pelo apoio
incondicional. Ao meu noivo João Vitor,
pelo amor e paciência. E ao meu
sobrinho e afilhado Arthur, que chegou
para trazer mais alegria.*

AGRADECIMENTOS

Agradeço ao meu orientador Prof. Dr. Fabio Yamashita pela constante orientação, paciência, sabedoria, confiança e sobretudo pela sua amizade. A prof^a. Dra. Maria Victória Eiras Grossmann pelo conhecimento compartilhado, pelo carinho, preocupação e amizade.

Agradeço a minha co-orientadora e amiga Dra. Ana Paula Bilck pelo apoio, amizade, parceria, carinho, e por sempre estar presente me auxiliando. Sem a sua ajuda não teria conseguido fazer todo o trabalho. Agradeço também ao Nelson Heitor Fuzinato, pela sua competência, bom humor, apoio e, sobretudo pela amizade e carinho. A todos do grupo POLIBIOTEC, em especial Adriana Passos, Camila Felix, Fabíola Carvalho, Juliana Olivato, Juliano Zanela e Thamires Peixoto pela ajuda incondicional no laboratório e pela amizade.

A CAPES (Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal em Nível Superior), pela concessão da bolsa.

A todos os meus amigos que estiveram presentes durante o doutorado, Cintia Handa, Fernanda Mendonça, Fernando Sanches, Talita Kato, pela paciência, ajuda, compreensão, alegrias e tristezas compartilhadas e grande amizade. E em especial minha querida amiga Juliana Almeida, sempre presente, me ajudando, apoiando e compartilhando momentos.

Aos docentes do Programa de Mestrado e Doutorado em Ciência de Alimentos pelos conhecimentos transmitidos. Aos funcionários dos laboratórios do Departamento de Ciência e Tecnologia de Alimentos. E todo o pessoal que convivi no laboratório.

Agradeço ao Laboratório de Espectroscopia – LABSPEC, pela realização da análise térmica e FT-IR, e em especial ao prof. Dr. Henrique Santana pelos ensinamentos e auxílio na análise de espectroscopia Raman, ao Laboratório de Análises por Raio X – LARX, em especial ao prof. Dr. Alexandre Urbano pela disponibilidade e ajuda na análise de DRX, e ao Laboratório de Microscopia Eletrônica e Microanálise – LMEM, em especial ao técnico Osvaldo Capelo pela análise de MEV.

Gostaria de deixar registrado o meu reconhecimento a minha família, meus pais Elena e Valdir, por sempre me apoiarem e não medirem esforços para garantir minha formação, ao Bernardo, Eloísa e meu sobrinho Arthur pois sem o

apoio deles seria difícil vencer essa etapa. Ao meu amor João Vitor, por sua paciência com meu estresse e minha ausência, pela compreensão e pelo seu amor. Aos meus amigos de longa data pela amizade, companheirismo e apoio nos momentos difíceis durante o doutorado.

E por último nem por isso menos importante agradeço a Deus e Nossa Senhora, pois sem Eles nada disso seria possível.

“Talvez não tenha conseguido fazer o melhor, mas lutei para que o melhor fosse feito. Não sou o que deveria ser, mas Graças a Deus, não sou o que era antes”.

(Martin Luther King)

REIS, Mônica Oliveira. **Desenvolvimento de bandejas biodegradáveis de amido e poli (ácido lático) para embalagem de alimentos.** 2017. 109 f. Tese (Doutorado em Ciência de Alimentos) – Universidade Estadual de Londrina, Londrina, 2017.

RESUMO

O trabalho teve como objetivo desenvolver bandejas biodegradáveis de amido e poli (ácido lático) (PLA) com características adequadas para embalagem de alimentos. As bandejas foram produzidas por extrusão plana, calandragem e termoprensagem, seguida do recobrimento por imersão com emulsão de cera de abelha (1, 2 e 3 g de cera/ 100 g de solução de álcool etílico + Tween 80). As bandejas foram caracterizadas quanto a suas propriedades mecânicas, térmicas, ópticas, morfológicas, de barreira e estruturais. As bandejas recobertas com solução de 1% de cera apresentaram maior resistência à tração ($11,5 \pm 1,0$ MPa) e menor perda de massa em água ($22,8 \pm 0,8\%$) e as bandejas recobertas com 2 e 3% apresentaram menor resistência à tração, rigidez e permeabilidade ao vapor de água ($7,9 \times 10^{-11}$ a $0,2 \times 10^{-11}$ g/m.s.Pa). As imagens de MEV mostraram baixa interação entre amido e PLA, no entanto, o recobrimento tornou a superfície mais homogênea. As propriedades estruturais das bandejas foram caracterizadas através das espectroscopias Raman Confocal e Infravermelho para verificar as interações entre bandeja-recobrimento e amido-PLA. A caracterização revelou que, apesar da baixa interação entre amido (hidrofílico) e PLA (hidrofóbico), houve interação por ligação de hidrogênio entre as hidroxilas do amido e carbonila do PLA, caracterizando-as como uma mistura imiscível. A cera de abelha mostrou interação fraca com o PLA, mas esta interação foi suficiente para proporcionar uma boa adesão da cera na superfície das bandejas, reduzindo sua higroscopicidade e possibilitando a produção em escala comercial deste tipo de bandeja biodegradável. As bandejas com as melhores características mecânicas e de processabilidade foram utilizadas para embalagem de tomates-cereja provenientes de sistema de produção orgânica. Foram estudadas as características físico-químicas e microbiológica dos frutos revestidos com goma arábica e contendo natamicina como antimicrobiano durante o armazenamento a 20 °C por 30 dias. Foram determinadas a perda de massa, cor, firmeza, teor sólidos solúveis, acidez titulável, pH e contagem de bolores e leveduras dos tomates-cerejas e as propriedades mecânicas das bandejas. O revestimento não ficou uniformemente distribuído sobre a superfície dos tomates-cerejas e não foi eficaz na redução de contagem de bolores e leveduras. O revestimento comestível retardou a perda de firmeza, redução da acidez titulável e alteração da cor de tomates-cereja em comparação com os frutos sem revestimento até o 8º dia de armazenamento. Entretanto do 8º ao 30º dia de armazenamento não foi observada diferença entre os frutos com e sem revestimento. O revestimento tem potencial para estender a vida de prateleira de tomates-cerejas, porém são necessários estudos adicionais para melhorar a distribuição do revestimento no fruto. As bandejas apresentaram propriedades mecânicas adequadas durante todo o período de armazenagem, sendo possível substituir as embalagens à base de petróleo por biodegradáveis sem prejudicar a qualidade do produto embalado.

Palavras chave: Extrusão. Biodegradável. Cera de abelha. Revestimento. Raman confocal.

REIS, Mônica Oliveira. **Development of biodegradable trays of starch and poly (lactic acid) for food packaging.** 2017. 109 p. Thesis (Doctorate Degree in Food Science) – Universidade Estadual de Londrina, Londrina, 2017.

ABSTRACT

The objective of the work was to develop biodegradable trays of starch and poly (lactic acid) (PLA) with adequate characteristics for food packaging. The trays were produced by flat extrusion, calendaring and thermopressing, followed by dip coating with beeswax emulsion (1, 2 and 3 g of wax / 100 g of ethyl alcohol solution + Tween 80). The trays were characterized for their mechanical, thermal, optical, morphological, barrier and structural properties. The trays coated with 1% wax solution had the higher tensile strength (11.5 ± 1.0 MPa), and lower mass loss in water ($22.8 \pm 0.8\%$) and trays coated with 2 and 3% had lower tensile strength, rigidity, and water vapor permeability. The SEM images showed the low interaction between starch and PLA. However, the coating made the surface more homogeneous. The structural properties of the trays were characterized by Confocal and Infrared Raman spectroscopies to verify the interactions between tray-coating and starch-PLA. The characterization revealed that, despite the low interaction between starch (hydrophilic) and PLA (hydrophobic), there was interaction by hydrogen bonding between the hydroxyl of the starch and carbonyl of the PLA, characterizing them as an immiscible mixture. Beeswax showed poor interaction with PLA, but this interaction was sufficient to provide an excellent adhesion of the wax to the surface of the trays, reducing their hygroscopicity and enabling the commercial scale production of this type of biodegradable tray. The trays with the best mechanical and processability characteristics were used to package cherry tomatoes from the organic production system. The physicochemical and microbiological characteristics of fruits coated with gum arabic and containing natamycin as antimicrobial were studied during storage at 20 °C for 30 days. Mass loss, color, firmness, soluble solids content, titratable acidity, pH and yeast and mold counts of cherry tomatoes and the mechanical properties of the trays were determined. The coating was not uniformly distributed over the surface of the cherry tomatoes and was not effective in reducing mold and yeast counts. The edible coating delayed the firmness loss, reduction of the titratable acidity and alteration of the color of cherry tomatoes compared to the uncoated fruits until the 8th day of storage. However, from the 8th to the 30th day of storage, no difference was observed between the fruits with and without coating. The coating has potential to extend the shelf life of cherry tomatoes; however further studies are needed to improve the distribution of the coating on the fruit. The trays had adequate mechanical properties throughout the storage period, and it is possible to replace the petroleum-based packaging with biodegradable ones without compromising the quality of the packaged product.

Keywords: Extrusion. Biodegradable. Beeswax. Coating. Confocal raman.

LISTA DE FIGURAS

CAPÍTULO I – Revisão Bibliográfica

Figura 1 –	Estrutura química da amilose (a) e amilopectina (b).....	21
Figura 2 –	Estrutura do PLA.....	25
Figura 3 –	Estrutura química da Natamicina	35

CAPÍTULO II – Biodegradable trays of thermoplastic starch/poly (lactic acid) coated with beeswax

Figure 1 –	WVP and WLW of the trays	56
Figure 2 –	Sorption isotherms for the TPS/PLA trays coated and non-coated	57
Figure 3 –	TG and DTG curves for the coated and non-coated TPS/PLA trays	59
Figure 4 –	SEM micrographs of fractures (1) and surfaces (2) of samples (a) BC0, (b) BC1, (c) BC2 and (d) BC3.....	60
Figure 5 –	X-ray diffractograms of BC0, BC1, BC2 and BC3 trays	61

CAPÍTULO III – Characterization of coated biodegradable trays by spectroscopic techniques

Figure 1 –	Raman spectra of beeswax (a), PLA (b) and starch (c)	73
Figure 2 –	Raman spectra of BC0 tray.....	74
Figure 3 –	Raman spectra associated with the image in different thickness of the BC1 tray	75
Figure 4 –	Raman spectra associated with the image in different thickness of the BC2 tray	76
Figure 5 –	Raman spectra associated with the image in different thickness of the BC3 tray	77
Figure 6 –	FTIR spectra of BC0, BC1, BC2 and BC3 trays.....	78

CAPÍTULO IV – Efeito do revestimento comestível e da embalagem biodegradável sobre as características físico-químicas e microbiológica de tomate-cereja (*Solanum lycopersicum* var. *cerasiforme*) provenientes de produção orgânica

Figura 1 –	Efeito do revestimento de goma arábica e natamicina e da embalagem sobre a perda de massa de tomates-cereja durante o armazenamento.....	90
Figura 2 –	Efeito do revestimento de goma arábica e natamicina e da embalagem sobre a cor de tomates-cereja durante o armazenamento.....	92
Figura 3 –	Efeito do revestimento de goma arábica e natamicina e da embalagem sobre a firmeza de tomates-cereja durante o armazenamento.....	94
Figura 4 –	Efeito do revestimento de goma arábica e natamicina e da embalagem sobre (a) teor de sólidos solúveis e (b) índice de maturidade de tomatescereja durante o armazenamento.....	95
Figura 5 –	Efeito do revestimento de goma arábica e natamicina e da embalagem sobre (a) acidez titulável e (b) pH de tomates-cereja durante o armazenamento.....	96
Figura 6 –	Efeito do revestimento de goma arábica e natamicina e da embalagem sobre a contagem de bolores e leveduras de tomates-cereja durante o armazenamento.....	98
Figura 7 –	Propriedades mecânicas das bandejas durante o período de armazenamento.....	99

APÊNDICE

Figura 1 –	Chapas planas de TPS/PLA. (Capítulo II).....	107
Figura 2 –	Bandejas de TPS/PLA revestidas com cera de abelha, (a) BC0; (b) BC1; (c) BC2; (d) BC3. (Capítulo II)	107
Figura 3 –	Tomates-cerejas embalados e armazenados a 20 °C (início do experimento). (Capítulo IV).....	108
Figura 4 –	4 dias de armazenamento, (a) e (b) tomates sem revestimento; (c) e (d) tomates revestidos. (Capítulo IV).....	108
Figura 5 –	17 dias de armazenamento, (a) e (b) tomates revestidos; (c) e (d) tomates sem revestimento. (Capítulo IV)	109
Figura 6 –	30 dias de armazenamento, (a) e (b) tomates sem revestimento; (c) e (d) tomates revestidos. (Capítulo IV).....	109

LISTA DE TABELAS

CAPÍTULO I – Revisão Bibliográfica

Tabela 1 – Evolução das embalagens de alimentos.....30

CAPÍTULO II – Biodegradable trays of thermoplastic starch/poly (lactic acid) coated with beeswax

Table 1 – Mechanical properties, thickness, and density of the coated and noncoated TPS/PLA trays.....55

Table 2 – Parameters of GAB model for the sorption fitted data of the trays58

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ABIEF	Associação Brasileira da Indústria de Embalagens Plásticas Flexíveis
ANOVA	Análise de Variância
ANVISA	Agência Nacional de Vigilância Sanitária
ASTM	American Society for Testing and Material
BW	Cera de Abelha
FDA	Food and Drug Administration
FAEP	Federação da Agricultura do Estado do Paraná
FAO	Food and Agriculture Organization
FT-IR	Espectroscopia de Infravermelho com Transformada de Fourier
GA	Goma Arábica
GRAS	Generally Regarded As Safe
IBGE	Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística
LDPE	Polietileno de baixa densidade
MPa	Mega Pascal
NA	Natamicina
PBAT	Poli (adipato co-tereftalato de butileno)
PBSA	Poli (adipato co-succinato de butileno)
PCL	Policaprolactona
PE	Polietileno
PEA	Poliesteramida
PET	Poli (tereftalato de etileno)
PHA	Polihidroxialcanoatos
PHB	Polihidroxibutirato
PHBV	Poli (hidroxibutirato-co-valerato)
PLA	Poli (ácido láctico)
PP	Polipropileno
PVC	Policloreto de vinila
PVA	Poli (vinil álcool)
RH	Umidade relativa
SEM	Microscopia Eletrônica de Varredura
Tg	Temperatura de transição vítrea
TGA	Análise Termogravimétrica

TPS	Amido Termoplástico
WLW	Perda de Massa em Água
WVP	Permeabilidade ao Vapor de Água
XRD	Difração de Raio-X

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	17
	CAPÍTULO I	19
2	REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	19
2.1	EMBALAGENS BIODEGRADÁVEIS.....	19
2.1.1	Amido.....	20
2.1.2	Poli (Ácido Lático)	23
2.2	BLENDAS DE AMIDO/PLA	25
2.3	PRODUÇÃO DE EMBALAGENS BIODEGRADÁVEIS	27
2.4	CARACTERIZAÇÃO DE EMBALAGENS BIODEGRADÁVEIS.....	28
2.4.1	Espectroscopia de Infravermelho com Transformada de Fourier.....	28
2.4.2	Espectroscopia Raman	29
2.5	EMBALAGENS ATIVAS.....	30
2.6	EMBALAGENS ATIVAS PARA FRUTAS E HORTALIÇAS <i>IN</i> <i>NATURA</i>	31
2.6.1	Antimicrobianos.....	33
2.6.1.1	Natamicina	34
2.7	CERAS ALIMENTÍCIAS	35
	REFERÊNCIAS	37
	CAPÍTULO II	49
3	BIODEGRADABLE TRAYS OF THERMOPLASTIC STARCH/POLY (LACTIC ACID) COATED WITH BEESWAX	49
	Abstract	49
3.1	INTRODUCTION.....	49
3.2	EXPERIMENTAL	50
3.2.1	Materials.....	50
3.2.2	Trays Production	50
3.2.2.1	Coating.....	51
3.2.3	Characterization of the Trays	51
3.2.3.1	Thickness and density.....	51
3.2.3.2	Mechanical properties	52

3.2.3.3	Weight loss in water	52
3.2.3.4	Water vapor permeability (WVP)	52
3.2.3.5	Sorption isotherms	52
3.2.3.6	Thermogravimetric analysis (TGA).....	53
3.2.3.7	Scanning electron microscopy (SEM)	53
3.2.3.8	X-ray diffraction (XRD)	53
3.2.3.9	Statistical analysis	53
3.3	RESULTS AND DISCUSSION	54
3.3.1	Trays Production	54
3.3.2	Mechanical Properties, Thickness, and Density.....	54
3.3.3	Water Vapor Permeability (WVP) and Weight Loss in Water (WLW)	55
3.3.4	Sorption Isotherms	57
3.3.5	Thermogravimetric Analysis (TGA)	58
3.3.6	Scanning Electron Microscopy (SEM)	59
3.3.7	X-Ray Diffraction (XRD)	61
3.4	CONCLUSION	62
	Acknowledgments	62
	References	63
	CAPÍTULO III	69
4	CHARACTERIZATION OF COATED BIODEGRADABLE TRAYS BY SPECTROSCOPIC TECHNIQUES	69
	Abstract	69
4.1	INTRODUCTION	69
4.2	EXPERIMENTAL	70
4.2.1	Materials.....	70
4.2.2	Trays Production	70
4.2.2.1	Coating.....	71
4.2.3	Characterization of the Trays	71
4.2.3.1	Confocal raman spectroscopy.....	71
4.2.3.2	Fourier transform infrared spectroscopy (FT-IR)	72
4.3	RESULTS AND DISCUSSION	72

4.3.1	Confocal Raman Spectroscopy.....	72
4.3.2	Fourier Transform Infrared Spectroscopy (FT-IR)	77
4.4	CONCLUSION	79
	Acknowledgments	79
	References	80
	CAPÍTULO IV	84
5	EFEITO DO REVESTIMENTO COMESTÍVEL E DA EMBALAGEM BIODEGRADÁVEL SOBRE AS CARACTERÍSTICAS FÍSICO-QUÍMICAS E MICROBIOLÓGICA DE TOMATE-CEREJA (<i>Solanum lycopersicum</i> var <i>cerasiforme</i>) PROVENIENTES DE PRODUÇÃO ORGÂNICA	84
	Resumo	84
5.1	INTRODUÇÃO	84
5.2	MATERIAL E MÉTODOS.....	86
5.2.1	Preparação, Tratamento e Armazenamento das Amostras	86
5.2.2	Perda de Massa	88
5.2.3	Cor	88
5.2.4	Firmeza	88
5.2.5	Teor de Sólidos Solúveis (TSS), Acidez Titulável (AT) e pH.....	88
5.2.6	Análise Microbiológica.....	89
5.2.7	Propriedades Mecânicas.....	89
5.2.8	Análise Estatística	89
5.3	RESULTADOS E DISCUSSÃO	90
5.3.1	Perda de Massa	90
5.3.2	Cor	91
5.3.3	Firmeza	93
5.3.4	Teor de Sólidos Solúveis (TSS), Acidez Titulável (AT) e pH.....	94
5.3.5	Análise Microbiológica.....	97
5.3.6	Propriedades Mecânicas.....	98
5.4	CONCLUSÃO	100

	Agradecimentos	100
	Referências	100
	CAPÍTULO V	105
6	CONSIDERAÇÕES FINAIS	105
	APÊNDICES	106

1 INTRODUÇÃO

As embalagens plásticas convencionais geram resíduos que causam grandes problemas ambientais, pois são altamente resistentes à degradação, demorando anos para decomporem no meio ambiente. No Brasil, do total de plásticos rígidos e flexíveis produzidos, apenas 16,5% é reciclado, equivalente a 200 mil toneladas por ano, sendo que a maior limitação para a reciclagem é a diversidade das resinas, o que pode criar um problema na hora do reaproveitamento industrial (ABIEF, 2014).

Uma alternativa é a utilização de poliésteres biodegradáveis comerciais, como o poli (ácido láctico) (PLA), que pode substituir polímeros derivados do petróleo, pois possui um desempenho mecânico similar ao polietileno (PE) e ao poli (tereftalato de etileno) (PET). Entretanto o custo deste polímero é alto quando comparado com os convencionais como o PE e o PET e para reduzir o custo uma solução é produzir blendas com biopolímeros, como o amido, pois é barato, totalmente biodegradável e amplamente disponível comercialmente (MARTIN; AVÉROUS, 2001; REN et al., 2009; SHIRAI et al., 2015; SHIRAI et al., 2016; ZHANG et al., 2013). Dentre os amidos, o de mandioca é uma boa opção, uma vez que o Brasil é o quarto maior produtor mundial, produzindo em média 25 milhões de toneladas por ano (FAEP, 2015).

Entretanto, os materiais produzidos com amido apresentam alta permeabilidade ao vapor de água, devido à sua característica hidrofílica. Deste modo, a incorporação de revestimentos hidrofóbicos, como a cera de abelha, pode diminuir a hidrofiliabilidade do material e permitir sua aplicação para embalagem de alimentos de alta umidade, como frutas e hortaliças *in natura*. Dados da Organização das Nações Unidas para Agricultura e Alimentação (FAO, 2014) mostram que 1,3 bilhões de toneladas de alimentos são perdidas ou desperdiçadas por ano no mundo, o que corresponde a 30% do total produzido, principalmente frutas e hortaliças *in natura*.

O tomate-cereja (*Solanum lycopersicum* var. *cerasiforme*) é um fruto climatérico e com uma vida de prateleira curta, variando de cinco a sete dias, limitando a sua comercialização (GUERREIRO et al., 2016), no entanto sua produção e comercialização no Brasil vem aumentando, por ser um produto diferenciado em termos de tamanho e sabor, que agrega valor ao produto.

Revestimentos comestíveis podem estender a vida útil de frutas e hortaliças, reduzindo a perda de umidade e taxa de respiração, impedindo danos físicos e melhorando a aparência do produto (ALI et al., 2010, FAGUNDES et al., 2014). Esses revestimentos podem ser usados como veículo para incorporação de ingredientes funcionais, como antioxidantes, pigmentos, sabores e antifúngicos (DIAB et al., 2001).

O trabalho teve como objetivo desenvolver bandejas biodegradáveis de amido e poli (ácido lático) (PLA) revestidas com cera de abelha com propriedades mecânicas e de barreira adequadas para embalagem de alimentos.

Este trabalho está subdividido em capítulos, sendo que os capítulos II e III encontram-se na forma de artigo e em inglês, pois resultam de artigos enviados para publicação em revistas internacionais. Assim, a tese está organizada da seguinte forma:

Capítulo I – Revisão bibliográfica;

Capítulo II – Biodegradable trays of thermoplastic starch/poly (lactic acid) coated with beeswax;

Capítulo III – Characterization of coated biodegradable trays by spectroscopic techniques;

Capítulo IV – Efeito do revestimento comestível e da embalagem biodegradável sobre as características físico-químicas e microbiológica de tomate-cereja (*Solanum lycopersicum* var. cerasiforme) provenientes de produção orgânica.

Capítulo V – Considerações finais.

Apêndice – Imagens complementares das amostras obtidas nas diferentes etapas do trabalho.

CAPÍTULO I

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 EMBALAGENS BIODEGRADÁVEIS

Plásticos derivados do petróleo podem gerar problemas ambientais após o descarte. A preocupação com o meio ambiente em conjunto com a dificuldade em reciclar tais materiais tem promovido o desenvolvimento de materiais biodegradáveis para substituir resinas poliméricas não degradáveis convencionais (ARAUJO-FARRO et al., 2010; BANG; KIM, 2012; BRANDELERO; YAMASHITA; GROSSMANN, 2010; JIANG; WOLCOTT; ZHANG, 2006; LILICHENKO et al., 2008). O celofane (obtido a partir do xantato de celulose) foi um dos primeiros filmes plásticos biodegradáveis utilizados, caracterizado por sua flexibilidade, transparência, boas propriedades mecânicas e sensibilidade à umidade (JENKINS; HARRINGTON, 1991).

Embalagens biodegradáveis estão associadas com matérias-primas renováveis, como os polissacarídeos. Estes materiais podem ser degradados no meio ambiente, através da exposição com o solo úmido, microrganismos e oxigênio em substâncias simples (água e dióxido de carbono) e biomassa (GONZÁLEZ; IGARZABAL, 2013).

Avérous e Boquillon (2004) apresentam uma classificação de polímeros biodegradáveis em quatro grupos: (1) agropolímeros, obtidos a partir da biomassa, subdivididos em polissacarídeos (amido, fibras, pectina), proteínas (gelatina, glúten) e lipídeos (ceras); (2) poliésteres, obtidos por fermentação microbiana (extração), como os polihidroxialcanoatos (PHA), polihidroxibutirato (PHB) e o poli (hidroxibutirato-co-valerato) (PHBV); (3) poliésteres, produzidos por via biotecnológica que necessitam da síntese de monômeros obtidos a partir da biomassa, como por exemplo, o poli (ácido lático) (PLA); (4) poliésteres, totalmente sintetizados pelo processo petroquímico (síntese convencional a partir de monômeros sintéticos), pertencem a este grupo policaprolactona (PCL), poliesteramida (PEA) e os co-poliésteres alifáticos (poli (adipato-co-succinato de butileno) - PBSA) e aromáticos (poli (adipato co-teraftalato de butileno) - PBAT).

O custo elevado dos polímeros biodegradáveis, quando comparado aos polímeros convencionais (p.ex. o polietileno e o polipropileno), é um obstáculo para sua comercialização (BRANDELERO; YAMASHITA; GROSSMANN, 2010).

O amido tem sido utilizado como material termoplástico para aplicação em embalagens, pois o mesmo é biodegradável, renovável, além de custo relativamente baixo (DA ROZ, 2003), porém apresenta algumas limitações, tais como propriedades mecânicas inadequadas para utilização comercial e alta sensibilidade à umidade (CORRADINI et al., 2007).

Desta forma, a utilização de blends de amido termoplástico e poliésteres biodegradáveis comerciais, tais como poli (ácido lático) (PLA), poli (adipato-co-tereftalato de butileno) (PBAT), poli (adipato-co-succinato de butileno) (PBSA) ou poli (vinil álcool) (PVA), produzem materiais com maior resistência mecânica, processabilidade e menor permeabilidade em relação ao amido termoplástico, podendo reduzir o custo de produção que irá torná-los mais competitivos (BOCCHINI; BATTEGAZZORE; FRACHE, 2010; BRANDELERO; YAMASHITA; GROSSMANN, 2010; REN et al., 2009; TANG; ALAVI, 2011). Dentre os polímeros biodegradáveis o PLA é promissor, pois possui boas propriedades mecânicas, biodegradabilidade e biocompatibilidade (LI; HUNEAULT, 2007; MARTIN; AVÉROUS, 2001).

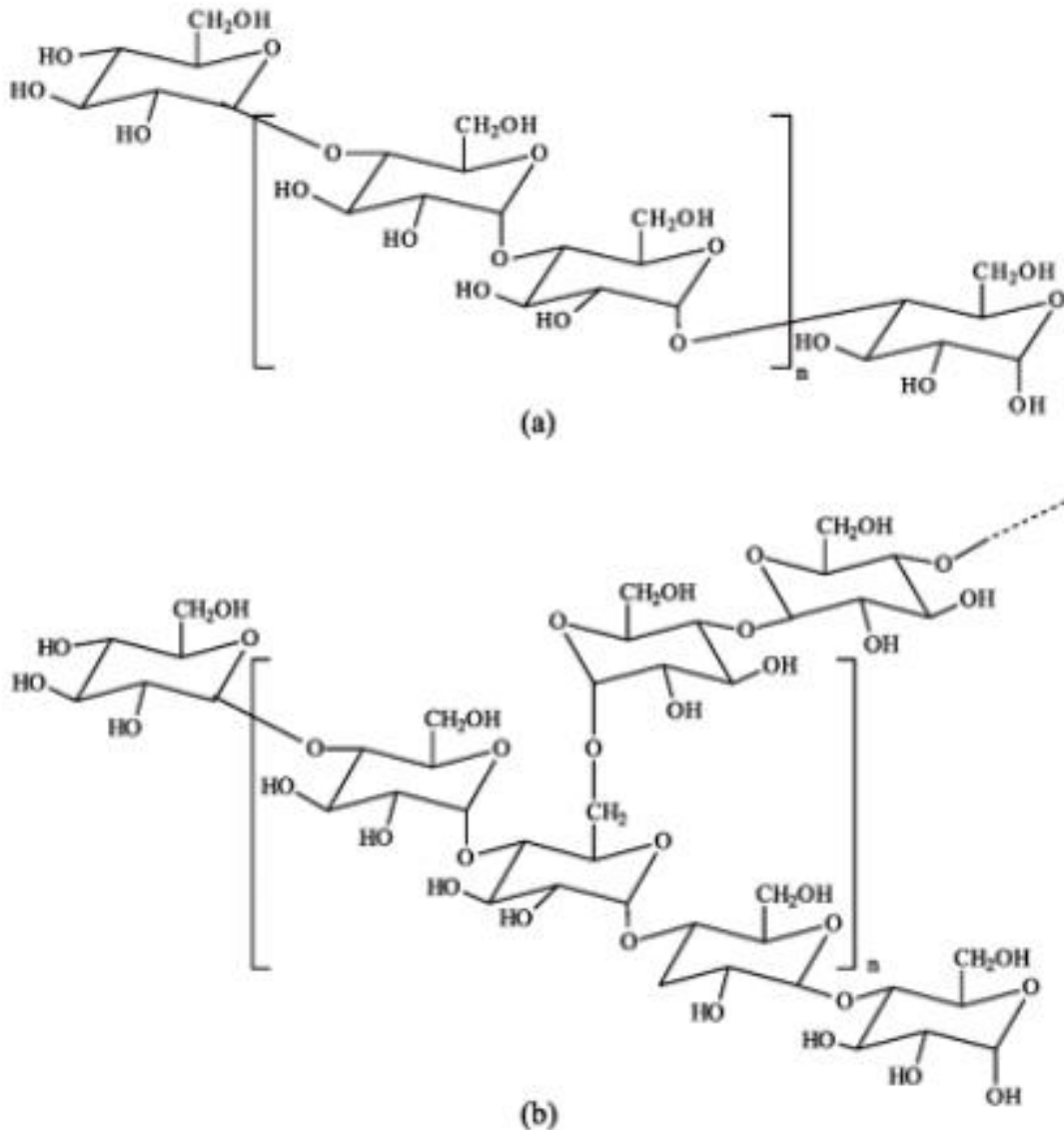
As aplicações das embalagens biodegradáveis para alimentos são amplas, tais como para frutas e hortaliças minimamente processadas, embutidos cárneos, queijo fatiado, produtos de panificação, frutas secas, entre outros. Além das pesquisas voltadas para a produção de embalagens biodegradáveis, outra via que tem sido muito estudada é o uso de embalagens biodegradáveis ativas.

2.1.1 Amido

O amido é uma das mais abundantes fontes de carboidrato e está presente em cereais, tubérculos e raízes, e também leguminosas e frutas na forma de grânulos. Caracteriza-se por ser um homopolissacarídeo neutro constituído por 2 frações: amilose e amilopectina. A amilose (Figura 1a) é formada por unidades de glicose unidas por ligações glicosídicas α -1,4, apresenta uma estrutura essencialmente linear com massa molar na faixa de 10^5 e 10^6 g/mol e a amilopectina (Figura 1b) é composta por unidades de glicose unidas em α -1,4 e cadeias de

glicose em α -1,6, apresenta estrutura altamente ramificada e massa molar ao redor de 10^8 g/mol. A relação entre amilose e amilopectina depende da fonte do amido, sendo que a amilose tipicamente é o menor componente do amido natural.

Figura 1 – Estrutura química da amilose (a) e amilopectina (b).



Fonte: Corradini et al. (2005).

O amido ocorre na natureza na forma de grânulos, e os grânulos apresentam birrefringência quando observados em microscópio sob luz polarizada. A refração pelas suas regiões cristalinas resulta no modelo de “Cruz de Malta”, o qual caracteriza a orientação radial das macromoléculas. O centro ou “hilum” é

encontrado no centro da cruz e é o ponto original do crescimento do grânulo, e a amilose e a amilopectina são orientadas de acordo com o eixo radial. O grânulo contém regiões cristalinas e amorfas. A zona amorfa do grânulo é formada pelas cadeias de amilose e regiões ramificadas da amilopectina, enquanto que a região cristalina é composta pela parte linear das moléculas de amilopectina organizadas em dupla hélice empacotada, estabilizadas por ligações de hidrogênio entre grupamentos hidroxilas formando pequenas lamelas cristalinas (DENARDIN; SILVA, 2009; ELIASSON, 2004; SOUZA; ANDRADE, 2000).

O amido nativo possui estrutura semicristalina, o tipo de cristalinidade denominadas de A, B ou C depende da fonte do amido (VAN SOEST et al., 1996). A cristalinidade tipo A ocorre na maioria dos cereais, como milho, trigo e aveia, a cristalinidade tipo B é característica de tubérculos, como a batata e a cristalinidade tipo C é um intermediário entre os tipos A e B, encontrado em tubérculos, leguminosas e sementes (DENARDIN; SILVA, 2009; ELIASSON, 2004; ZOBEL, 1964).

O amido é um excelente material para o uso industrial em aplicações não alimentícias e tem sido muito estudado para o desenvolvimento de amidos termoplásticos (AVÉROUS, 2004; MALI; GROSSMANN; YAMASHITA, 2010; SOUZA; ANDRADE, 2000). O amido granular não possui característica termoplástica, porém quando submetido a temperaturas superiores a 70-90 °C, na presença de plastificantes, pressão e cisalhamento, o amido funde e o material resultante é conhecido como amido termoplástico (TPS – *thermoplastic starch*) permitindo seu uso em extrusão (HUNEULT; LI, 2007; TANG; ALAVI, 2011; TEIXEIRA et al., 2009). Neste material fundido, as cadeias de amilose e amilopectina estão intercaladas e, assim, a estrutura semicristalina original do grânulo é completamente ou parcialmente destruída, dando origem a uma matriz polimérica homogênea, o que resulta em aumento da flexibilidade, porém redução da resistência mecânica devido às suas características hidrofílicas (AVÉROUS, 2004; CHEN; LAI, 2008; VAN SOEST et al., 1996).

Os plastificantes são moléculas pequenas e pouco voláteis que podem aumentar a capacidade de processamento do amido termoplástico, pois reduzem as forças intermoleculares e aumentam a mobilidade molecular das cadeias do amido e, conseqüentemente, resulta em materiais com menores temperaturas de transição vítrea (T_g).

De acordo com Mali, Grossmann e Yamashita (2010) os plastificantes mais utilizados em filmes de amido são os polióis, tais como o glicerol e o sorbitol, outros aditivos podem ser empregados, como os agentes antimicrobianos, pigmentos, antioxidantes e aromatizantes.

Uma das matérias-primas mais estudadas para a produção de materiais biodegradáveis é o amido termoplástico, devido a seu baixo custo, biodegradabilidade e disponibilidade, entretanto, o amido termoplástico como único polímero não é viável, pois este possui propriedades mecânicas inadequadas para produção em escala industrial e alta hidrofiliabilidade. Para superar as desvantagens do amido termoplástico e tornar viável o seu uso, uma opção é a utilização de blendas de TPS e poliésteres biodegradáveis comerciais (BILCK et al., 2015; GARCIA et al., 2014; OLIVATO et al., 2015; REIS et al., 2014; SHIRAI et al., 2016; ZANELA et al., 2015).

Os poliésteres biodegradáveis comercialmente disponíveis geralmente têm caráter mais hidrofóbico, menor permeabilidade à água e melhores propriedades mecânicas quando comparados ao amido termoplástico (BOCCHINI; BATTEGAZZORE; FRACHE, 2010). Apesar do alto custo dos poliésteres biodegradáveis em relação aos polímeros convencionais, blendas de polímeros biodegradáveis com TPS podem reduzir o custo das embalagens.

Uma opção bastante promissora são blendas de PLA e amido termoplástico, pois ambos são biodegradáveis e derivados a partir de fontes renováveis (SHIRAI et al., 2013).

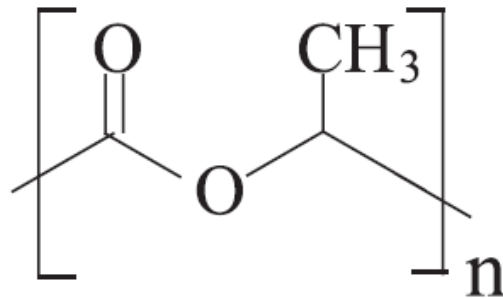
2.1.2 Poli (Ácido Láctico)

O poli (ácido láctico) – PLA é conhecido desde 1845, no entanto só foi comercializado a partir de 1990. Caracteriza-se por ser um poliéster biodegradável, versátil, com monômeros alifáticos lineares, polimerizados a partir da abertura do anel de lactídeos que são dímeros cíclicos de ácido láctico obtido por fermentação microbiana do amido de milho ou açúcares obtidos por meio de recursos renováveis. O milho tem a vantagem de proporcionar uma fermentação de alta qualidade, resultando em ácido láctico de elevado grau de pureza, a qual é necessária para um processo de síntese eficiente (BABU; O'CONNOR; SEERAM, 2013; DARDER; ARANDA; RUIZ-HITZKY, 2007; SODERGARD; STOLT, 2002).

O PLA produzido em escala comercial é obtido via polimerização da abertura de anel (*ring opening polymerization*) do lactídeo que foi patenteado pela Cargil Dow em 1992 (VINK et al., 2003). Este método consiste em 3 etapas: condensação do ácido láctico para produzir PLA de baixa massa molar (pré-polímero) (1.000 a 5.000 Da), em uma segunda etapa o pré-polímero é convertido em uma mistura de estereoisômeros de dímeros de lactídeos, usando catalisadores (octanato de estanho) para melhorar a taxa e seletividade da reação de ciclização intramolecular e a mistura de lactídeos é purificada por destilação a vácuo. Na terceira etapa, é produzido o PLA de alta massa molar (>100.000 Da) via polimerização por abertura do anel na presença de catalisadores adequados (AURAS; HARTE; SELKE, 2004; KIM et al., 2009).

A polimerização de lactídeos leva a formação de polímeros de PLA semicristalinos. Polímeros com elevados níveis de L-lactídeos tendem a ser mais cristalinos enquanto que os polímeros mais amorfos possuem maior quantidade de D-lactídeos (VINK et al., 2003). O PLA possui 3 estruturas diferentes: poli (ácido L-láctico) (PLLA), poli (ácido D-láctico) (PDLA) e poli (ácido D,L-láctico) (TANG et al., 2004). O PLLA possui cristalinidade ao redor de 37%, temperatura de transição vítrea entre 50-80 °C, e temperatura de fusão entre 173-178 °C, sendo que com a redução do conteúdo de L-lactídeos, as temperaturas de fusão e de transição vítrea e a cristalinidade tendem a diminuir (DORGAN; JANSEN; CLAYTON, 2005; TSUJI; IKADA, 1996; URAYAMA; MOON; KIMURA, 2003). Nas aplicações de embalagens, o poli (ácido D,L-láctico) com 90% de L-lactídeo tem sido muito utilizado (HAN, 2014). O controle da proporção L:D é uma característica importante do PLA, pois possui grande efeito sobre as propriedades do material e no tempo de degradação (OLIVEIRA et al., 2004). De acordo com Janorkar, Metters e Hirt (2004) o PLA é degradado por meio da hidrólise de grupos éster, e a taxa de degradação depende de alguns fatores como cristalinidade do PLA, massa molar, morfologia, entre outros.

O PLA (Figura 2) é um polímero hidrofóbico feito a partir de matérias-primas renováveis e é completamente biodegradável, além disso, possui boa resistência mecânica, rigidez e excelentes propriedades de barreira à água e ao oxigênio (AURAS; HARTE; SELKE, 2004; FORTUNATI et al., 2012; GUPTA; REVAGADE; HILBORN, 2007; MATHEW; OKSMAN; SAIN, 2005). De acordo com Jiang, Wolcott e Zhang (2006) o PLA possui alto módulo de Young (3,4 GPa) e resistência à tração (63 MPa) comparável à de muitos plásticos à base de petróleo.

Figura 2 – Estrutura do PLA

Fonte: Franchetti e Marconato (2006).

O PLA possui potencial para a indústria de embalagens devido as suas características de rigidez e transparência, ademais pode ser processado por meio de tecnologias de produção já disponíveis (extrusão, termoformagem, moldagem por injeção e sopro) (FORTUNATI et al., 2012; PETERSEN; NIELSEN; OLSEN, 2001), podendo ser utilizado para produzir materiais descartáveis, tais como filmes, talheres, pratos, copos, canudos, bandejas e garrafas (AURAS; SINGH; SINGH, 2005).

A biodegradabilidade do PLA é lenta e seu preço é elevado comparado com outros polímeros biodegradáveis (KE; SUN, 2003; OHKITA; LEE, 2006). Devido a essas desvantagens blendas de PLA com outros polímeros biodegradáveis têm sido estudados (GONZÁLEZ; IGARZABAL, 2013; SHIRAI et al., 2013; SOARES et al., 2014; TEIXEIRA et al., 2012; WANG et al., 2008; XIONG et al., 2013).

Arrieta et al. (2014) desenvolveram filmes biodegradáveis de PLA/poli (hidroxibutirato) (PHB) plastificados com D-limoneno (LIM) utilizando um misturador Haake, seguido de moldagem em prensa hidráulica aquecida. Os filmes de PLA/LIM apresentaram um aumento no alongamento na ruptura ($151,7 \pm 0,6\%$) quando comparado com os filmes somente de PLA ($1,5 \pm 0,3\%$) e PLA/PHB/LIM ($8,0 \pm 0,2\%$), mostrando que o D-limoneno é eficaz como plastificante.

2.2 BLENDA DE AMIDO/PLA

Blendas de amido termoplástico (TPS) e poli (ácido lático) (PLA) constitui um sistema imiscível, o que provoca menor desempenho mecânico,

entretanto o TPS reduz o custo da blenda além de aumentar a velocidade de biodegradação (ACIOLE-MOURA; SUN, 2008; HUNEAULT; LI, 2007). Para superar as desvantagens das blendas de PLA/TPS, diversos estudos têm empregado o uso de compatibilizantes, plastificantes e/ou agentes ativos buscando uma melhor interação entre as fases.

Huneault e Li (2007) investigaram a modificação interfacial de blendas de TPS/PLA com anidrido maléico (AM) por extrusão. Através de MEV foi possível observar que as blendas de TPS/PLA sem modificação apresentaram tamanhos de partículas de TPS entre 5 e 30 μm , enquanto que nas blendas modificadas com AM o tamanho das partículas foram entre 1 e 3 μm . O alongamento na ruptura das blendas modificadas foi na faixa de 100 a 200% em comparação com 5 e 20% para as blendas não modificadas e PLA puro devido à melhor adesão entre as fases de TPS e PLA, ocasionando blendas mais homogêneas com tamanho menor de partículas de TPS.

Xiong et al. (2013) produziram filmes de amido/PLA plastificado com anidrido de óleo de tungue (TOA) por extrusão. Através da microscopia eletrônica de varredura (MEV), os autores observaram que os filmes de amido/PLA/TOA na proporção de 65/30/5 apresentaram menos lacunas, indicando que a compatibilidade entre o amido e PLA melhorou. De acordo com os autores o grupo anidrido maléico do óleo de tungue reagiu com os grupos hidroxilas do amido, permitindo que as moléculas de TOA se acumulassem nos grânulos de amido na matriz de PLA.

Shirai et al. (2013) desenvolveram filmes flexíveis de TPS/PLA por extrusão plastificados com ésteres de citrato e de adipato, sendo que o éster de adipato foi mais eficaz, com os filmes apresentando maior alongamento (120-148%), menor resistência à tração (0,6-0,9 Mpa) e menor módulo de Young (1,6-3,8 MPa) do que os filmes plastificados com ésteres de citrato. Segundo os autores o éster de adipato interagiu melhor com o PLA devido à semelhança das suas estruturas químicas, obtendo assim melhores propriedades mecânicas.

Outro estudo foi desenvolvido por Soares et al. (2014), no qual estudou-se a influência do revestimento com quitosana reticulada sobre as propriedades físico-químicas de laminados de TPS/PLA produzidos por extrusão. O revestimento não melhorou de forma significativa a PVA dos laminados ($9,0 \pm 0,1 \times 10^{-5} \text{ (m.g.h}^{-1}.\text{Pa}^{-1}.\text{m}^{-2})$) quando comparado aos laminados revestidos ($9,4 \pm 0,3 \times 10^{-5}$

($\text{m.g.h}^{-1}.\text{Pa}^{-1}.\text{m}^{-2}$). Enquanto que a solubilidade em água diminuiu de $32,0 \pm 0,2 \%$ (laminados sem revestimento) para $16,9 \pm 0,7 \%$ (laminados revestidos). Segundo os autores a reticulação da quitosana formou uma barreira física, a qual é mais hidrofóbica do que a blenda (TPS/PLA), impedindo assim a passagem de água, e, portanto, reduzindo a solubilidade. Com relação às propriedades mecânicas, os laminados revestidos apresentaram maior resistência à tração ($4,5 \pm 0,9 \text{ MPa}$), maior módulo de Young ($380 \pm 82 \text{ MPa}$) e menor alongamento na ruptura ($2,1 \pm 0,5\%$) comparado aos laminados não revestido ($1,5 \pm 0,3 \text{ MPa}$, $50 \pm 18 \text{ MPa}$ e $14,1 \pm 4,2\%$, respectivamente). Os autores concluíram que a quitosana possui excelente compatibilidade com a superfície das blendas de TPS/PLA.

2.3 PRODUÇÃO DE EMBALAGENS BIODEGRADÁVEIS

Há várias técnicas empregadas para a produção de embalagens biodegradáveis, tais como, *casting*, extrusão e termoformagem.

No método por *casting* o polímero é dissolvido em solvente, aquecido e a solução é transferida para um suporte, onde seca até total evaporação (GENNADIOS et al., 2002). Este método é muito utilizado em pesquisas de produção de filmes biodegradáveis, entretanto, por envolver várias etapas, é difícil a sua utilização em escala comercial.

A extrusão é um processo que envolve altas temperaturas, pressão e cisalhamento e consiste no transporte de um material sobre uma rosca sem fim, forçando-o através de uma matriz, ocasionando modificações físicas e/ou químicas. A extrusão é um processo contínuo com alta velocidade de processamento, utilizado para produzir diversos tipos de materiais plásticos em escala comercial (HERALD et al., 2002; SAKANAKA, 2007). Os tipos de extrusoras mais comuns são as extrusoras mono e dupla-rosca.

As extrusoras dupla-rosca possuem sistema de mistura mais eficiente, flexibilidade de operação e melhor controle de fluxo, portanto, são mais utilizadas no preparo e na extrusão de blendas termoplásticas, enquanto que, as extrusoras mono-rosca são mais simples e de menor custo, geralmente são empregadas na obtenção do produto final (CRIPPA, 2006).

Há duas maneiras de se obter filmes por extrusão, sendo elas, extrusão-sopro em balão de filmes tubulares e extrusão plana seguida de

calandragem. Na extrusão-sopro é utilizada uma matriz anelar, sendo que, após o material ser fundido ocorre a injeção de ar, a qual é responsável por insuflar o polímero que sai da matriz até a forma de balão. No processo de extrusão plana, após sair da extrusora o material fundido é forçado através de uma matriz plana, e em seguida entra na calandra, a qual é composta por cilindros metálicos e tem a função de esfriar e determinar a espessura e a largura do filme. A extrusão plana pode formar filmes ou laminados e ainda com espessura superior aos filmes produzidos por extrusão-sopro.

O processo de termoformagem consiste na formação de bandejas, chapas/laminados ou filmes plásticos através de um molde para a utilização em embalagens (CRIPPA, 2006). Podem ser utilizadas várias metodologias para a produção de materiais termoformados, dentre elas, a mistura do material em pó, *pellets* ou laminados.

2.4 CARACTERIZAÇÃO DE EMBALAGENS BIODEGRADÁVEIS

As propriedades mecânicas, ópticas e de barreira de materiais realizados através da mistura de polímeros depende muito das interações entre eles e as técnicas espectroscópicas são bastante utilizadas para caracterizar as possíveis interações de blendas de materiais biodegradáveis (OLIVATO et al., 2012; REIS et al., 2014; ZANELA et al., 2015). Dentre as técnicas espectroscópicas, destaca-se as espectroscopias Raman e Infravermelho, ambas são baseadas em processos de interação entre radiação e matéria, entretanto, cada uma é fundamentada em um fenômeno físico diferente (RODRIGUES; GALZERANI, 2012).

2.4.1 Espectroscopia de Infravermelho com Transformada de Fourier

A espectroscopia de infravermelho é fundamentada em efeitos de absorção e radiação (RODRIGUES; GALZERANI, 2012). As moléculas absorvem frequências semelhantes à sua frequência natural de vibração, dessa forma, cada ligação absorve uma frequência diferente quando presente em moléculas diferentes, e não há duas moléculas com o mesmo espectro de absorção de infravermelho (PAVIA et al., 2010).

A Espectroscopia de Infravermelho com Transformada de Fourier

(FT-IR) é considerada uma técnica de grande importância, capaz de identificar e elucidar a estrutura das substâncias orgânicas (LOPES; FASCIO, 2004), e é uma técnica rápida, a qual requer um mínimo necessário de preparo das amostras. A FT-IR permite a análise qualitativa de compostos orgânicos, pois os modos de vibração característicos de cada grupo acarretam no aparecimento de bandas no espectro de infravermelho em frequências específicas (ROHMAN; MAN, 2010). E também pode ser uma excelente técnica para análise quantitativa, pois as intensidades de absorção nas bandas no espectro são proporcionais à concentração (HOLLER; SKOOG; CROUCH, 2009; SOUZA; POPPI, 2012).

2.4.2 Espectroscopia Raman

A espectroscopia Raman é uma das técnicas analíticas mais importantes disponíveis atualmente, é baseada na detecção de luz espalhada inelasticamente, e está relacionada com transições vibracionais e rotacionais de moléculas (SALA, 2008).

A espectroscopia Raman usa uma fonte monocromática de luz a qual, ao atingir um material, é espalhada por ele, gerando luz de mesma energia ou de energia diferente da incidente. No primeiro caso, o espalhamento (elástico) não é de interesse, mas no segundo, chamado de espalhamento inelástico, é possível obter muitas informações importantes sobre a composição química do material a partir dessa diferença de energia. Por essa razão, o espalhamento Raman é conhecido também como espalhamento inelástico da luz (ATKINS, 1999; FARIA, 2011; SKOOG; HOLLER; NIEMAN, 2002).

A espectroscopia Raman é uma técnica de análise rápida, não destrutiva, requer volumes pequenos de amostra e ocorre pouca interferência da água (Gelder et al., 2007), além disso as bandas no espectro de Raman são bem resolvidas comparado às técnicas espectroscópicas similares, como espectroscopia no infravermelho (Gelder et al., 2007). Portanto, a espectroscopia Raman pode ser utilizada em conjunto com a FTIR para caracterizar blends de materiais biodegradáveis.

2.5 EMBALAGENS ATIVAS

Quando se trata de embalagens de alimento, é necessário avaliar dois aspectos importantes: o tecnológico e o de saúde pública. No quesito tecnológico, é preciso avaliar a resistência mecânica e a permeabilidade ao vapor de água, seja durante o transporte, manuseio e/ou armazenagem. Em relação à saúde pública, o importante é a proteção do alimento contra insetos, roedores, sujidades e microrganismos, ou seja, a embalagem deve proporcionar uma barreira entre o alimento e o meio ambiente (FELLOWS, 2006). A Tabela 1 mostra a evolução da tecnologia de embalagens de alimentos no decorrer dos anos.

Tabela 1 – Evolução das embalagens de alimentos

Período	Funções
1960	Conveniência e comercialização.
1970	Leveza e economia de energia.
1980	Segurança, sinais de adulteração.
1990	Impacto ambiental (resíduos sólidos).
2000	Proteção e segurança.
2010	Redução da pegada de carbono.

Fonte: Adaptado de Han (2014).

Os materiais utilizados para a elaboração de embalagens de alimentos, geralmente, têm como função conter, proteger e informar, além de possuir menor interação com os mesmos. Porém, novos estudos têm surgido com a finalidade de desenvolver técnicas capazes de melhorar a preservação dos alimentos, baseada na interação da embalagem com o alimento, tal técnica é conhecida como embalagens ativas. Estas se caracterizam por alterarem alguma condição do ambiente que cerca o alimento embalado visando prolongar a sua vida de prateleira, mantendo e/ou melhorando as propriedades sensoriais, nutricionais e de segurança do produto (AHVENAINEN, 2003; GONZÁLEZ; IGARZABAL, 2013; KRUIJF et al., 2002; SANTANA, et al., 2012; YAM et al., 2005). O sistema de embalagens ativas é uma tecnologia desenvolvida para incorporar componentes na embalagem que vão liberar compostos, tais como agentes antimicrobianos, antioxidantes e aromas, os quais aumentam a vida útil do produto ou absorver oxigênio, etileno, umidade e odor, pois estes podem favorecer a deterioração dos alimentos embalados. Essa tecnologia oferece vantagem em relação à adição direta

destes componentes no produto, tais como, menor quantidade de substâncias ativas necessárias, a migração a partir da embalagem para a matriz alimentar e eliminação de processos tradicionais (AZEREDO; FARIA; AZEREDO, 2000; BOLUMAR; ANDERSEN; ORLIEN, 2011).

Segunda Sarantópoulos et al. (1996) as embalagens ativas devem ser seguras em termos de saúde pública, absorver/emitir vapor de interesse em velocidade apropriada, apresentar alta capacidade de absorção do gás ou vapor de interesse, não acarretar reações paralelas desfavoráveis, não causar alterações organolépticas no produto, manter estável durante a estocagem e apresentar custo compatível com a aplicação. Algumas aplicações de embalagens ativas, incluem, sistemas de atmosfera modificada, antioxidantes, agentes antimicrobianos, enzimas, absorvedores de etileno, oxigênio, dióxido de carbono, reguladores de umidade, entre outros (CHITARRA; CHITARRA, 2005; JAMSHIDIAN; TEHRANY; DESOBRY, 2012; SANDHYA, 2010). Também merece destaque, o uso de revestimento (filmes e coberturas) comestíveis como embalagens ativas (AZEREDO; FARIA; AZEREDO, 2000; JIANG et al., 2013; SOARES et al., 2009).

2.6 EMBALAGENS ATIVAS PARA FRUTAS E HORTALIÇAS *IN NATURA*

O tomate (*Solanum lycopersicum*) é uma das hortaliças mais populares em todo o mundo e no Brasil a sua produção em 2016 atingiu cerca de 3,7 milhões de toneladas (IBGE, 2017). Com relação ao tomate cereja, a sua produção e comercialização no Brasil têm crescido nos últimos anos, este se caracteriza por ter tamanho reduzido, sabor adocicado e atrativa coloração vermelha, devido ao elevado teor de licopeno (LENUCCI et al., 2006; SILVA et al., 2011). Entretanto, um dos grandes desafios na produção de frutas e hortaliças *in natura* é manter as condições adequadas de armazenamento, transporte e comercialização, evitando perdas e desperdícios.

Após a colheita de frutas e hortaliças o principal processo fisiológico que ocorre é a respiração, com decomposição oxidativa de materiais orgânicos de reserva. O tomate é um fruto climatérico e o aumento da taxa respiratória ocorre tanto no fruto preso à planta como após a colheita, no entanto, o amadurecimento é completado algum tempo após o pico climatérico (CHITARRA; CHITARRA, 2005).

Esse fruto é altamente perecível e são necessários métodos de conservação para prolongar a sua vida de prateleira.

Tratamentos pós-colheita podem ser utilizados para evitar perdas econômicas, sendo que uma das técnicas para preservar a qualidade e aumentar a vida útil de frutas e hortaliças é o uso de embalagens ativas (ADAY; CANER, 2013), como por exemplo, as embalagens com atmosfera modificada, absorvedoras de etileno, absorvedoras de umidade, embalagens antimicrobianas, e emissoras de dióxido de enxofre (AZEREDO; FARIA; AZEREDO, 2000; SARANTÓPOULOS; MORAES, 2009)

Rudra et al. (2013) estudaram o efeito de agentes antimicrobianos (sorbato de potássio e metabissulfito de potássio) e absorvedor de etileno (permanganato de potássio – KMnO_4) como material de revestimento sobre o papel de embrulho para embalagem individual de pêssego e ameixa. O papel foi revestido com uma combinação otimizada dos aditivos e então, estudou-se o efeito sobre as alterações físico-químicas dos frutos durante o armazenamento em temperatura ambiente (32 °C). As alterações foram mínimas nas frutas embaladas no papel com agentes ativos após seis dias de armazenamento comparados com as frutas não embaladas.

González e Igarzabal (2013) desenvolveram filmes biodegradáveis por *casting* bicamada de PLA e proteína isolada de soja (SPI) com adição de agente antifúngico (natamicina). A inclusão de 40% de PLA (SPI-PLA 60/40) aumentou a resistência à tração dos filmes ($8,57 \pm 1,61$ MPa) quando comparado ao filme SPI 100 ($1,08 \pm 0,34$ MPa), enquanto que o alongamento na ruptura diminuiu de $24,63 \pm 0,13\%$ (SPI 100) para $1,09 \pm 0,09\%$ (SPI-PLA 60/40). A adição de pequenas quantidades de natamicina (0,33%) apresentaram resultados positivos com relação ao aparecimento de bolores. Para a aplicação foram utilizados 3 diferentes materiais (embalagem de polipropileno comercial, filme SPI-PLA 60/40 sem agente ativo e filme SPI-PLA 60/40 contendo natamicina). Os resultados obtidos para o tomate mostraram que no 21º dia, os sinais de deterioração foram observados com o aparecimento de bolores no tomate embalado com o filme SPI-PLA sem agente ativo, e com o saco de polipropileno comercial. Estes sinais não foram observados nos filmes contendo natamicina. Nos dias 26 e 34, o aparecimento de bolores foi mais acentuado para todas as embalagens, com exceção para a embalagem contendo natamicina. Portanto, o filme com natamicina retardou o aparecimento de

bolores no tomate por mais de 13 dias em relação ao saco de polipropileno comercial.

2.6.1 Antimicrobianos

As embalagens com agentes antimicrobianos criam uma barreira de proteção para prevenir e retardar o crescimento microbiano, prolongando a vida útil, qualidade e segurança das frutas. Dentre os aditivos utilizados, os naturais além de oferecer características bioativas para as embalagens podem ser atraentes para os consumidores (HAN, 2014).

A incorporação de antimicrobianos nas embalagens podem alterar suas propriedades mecânicas e de barreira. Marcos et al. (2010) desenvolveram filmes de poli (vinil álcool) (PVA), de alginato e de zeína, todos contendo enterocinas como agente antimicrobiano. O filme de PVA com enterocina apresentou melhor desempenho, exibindo menor valor de permeabilidade ao vapor de água ($0,42 \text{ g.mm.m}^{-2}.\text{h}^{-1}.\text{kPa}^{-1}$), elevada resistência à tração (32,94 MPa) e alongamento na ruptura (2,74%) quando comparado com os filmes de zeína/enterocina ($1,0 \text{ g.mm.m}^{-2}.\text{h}^{-1}.\text{kPa}^{-1}$, 5,92 MPa, 2,26%, respectivamente) e de alginato/enterocina ($3,0 \text{ g.mm.m}^{-2}.\text{h}^{-1}.\text{kPa}^{-1}$, 1,72 MPa, 0,49%, respectivamente). A adição de enterocina nos filmes de PVA apresentou efeito plastificante, melhorando a flexibilidade dos filmes quando comparado com o filme sem enterocina. Já a presença do agente antimicrobiano nos filmes de zeína teve grande efeito nas propriedades mecânicas dos filmes, pois reduziu significativamente a fragilidade dos mesmos. Portanto, a adição de enterocina não provocou danos no desempenho físico dos polímeros.

Pranoto, Salokhe e Rakshit (2005) avaliaram as propriedades físicas e antibacterianas de filmes comestíveis à base de alginato incorporados com óleo de alho como agente antibacteriano (0, 0,1, 0,2, 0,3 e 0,4%). Entre as bactérias testadas, o filme comestível apresentou atividade antibacteriana contra *Staphylococcus aureus* e *B. cereus*. A resistência à tração foi significativamente alterada quando incorporado 0,3 e 0,4% de óleo de alho (49,09 e 38,67 MPa, respectivamente) em comparação com o filme sem agente antibacteriano (66,12 MPa). Houve aumento na PVA dos filmes com 0,4% de óleo de alho ($30,89 \text{ g.mm/m}^2.\text{dia.kPa}$) comparado ao filme controle ($20,32 \text{ g.mm/m}^2.\text{dia.kPa}$). O uso de

baixas concentrações de óleo de alho possui bom potencial para ser incorporado em filmes comestíveis de alginato.

Os principais agentes antimicrobianos empregados em embalagens de alimentos são os metais pesados na forma de sais, óxidos e coloides (prata, ouro, cobre, óxido de zinco, entre outros), enzimas, nisina, natamicina, extratos de plantas (sementes de uva, chá verde), óleos essenciais (terpenos, constituintes aromáticos) e quitosana (HAN, 2014).

2.6.1.1 Natamicina

A natamicina (Figura 3) (antibiótico com princípio ativo pimaricina) é um polieno macrolídeo antimicótico, o qual exibe amplo espectro de ação contra bolores e leveduras, porém não apresenta efetividade contra bactérias. Foi isolado pela primeira vez em 1955, a partir de amostras do solo coletadas na província de Natal na África do Sul, sendo a bactéria responsável por sua produção denominada *Streptomyces natalensis* (APARICIO et al., 2004; ARIMA, 2014; WELSCHER et al., 2007).

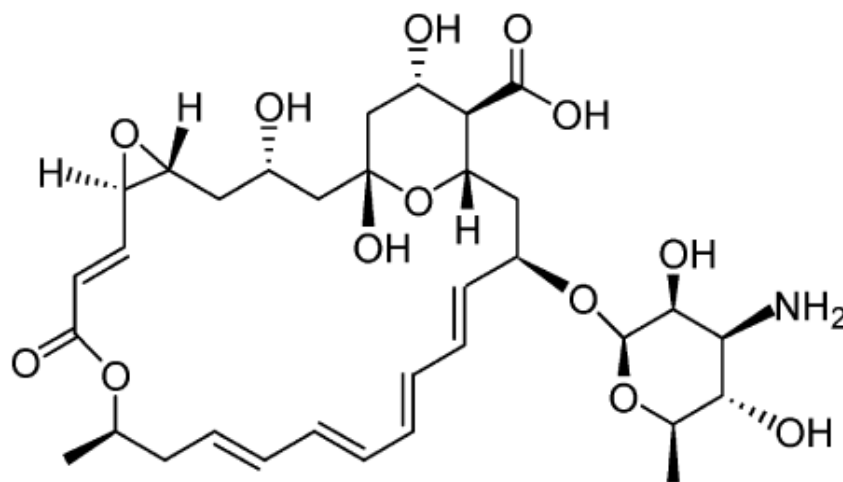
O mecanismo de ação da natamicina é resultante da sua ligação com moléculas de esteróis na membrana celular fúngica, causando distúrbios nos processos celulares (LINDSAY, 2010).

A natamicina é um dos poucos antifúngicos reconhecido pela FDA como um aditivo alimentar e classificado como um composto GRAS (*Generally Regarded As Safe*). É amplamente utilizada na indústria de alimentos como um conservante alimentar natural para a prevenção da contaminação de bolores em bebidas, queijos, frutas, carnes curadas e salsichas (CHEN; LU; DU, 2008; CONG; ZHANG; DONG, 2007; DELVES-BROUGHTON; THOMAS; WILLIAMS, 2006). No entanto, seu uso tem sido recomendado para alguns alimentos sólidos, onde a casca ou a película envolvente não é ingerida, como em queijos e embutidos cárneos (JECFA, 2002).

A resolução nº 04, de 24 de novembro de 1988 da ANVISA, permite o uso de natamicina em queijos no limite máximo de 2 mg/100 cm² na superfície, e não havendo migração (BRASIL, 1988). E a resolução nº 28 de 23 de fevereiro de 2001, aprovou o uso da natamicina na superfície de produtos cárneos embutidos, no limite de 1 mg/dm², ausente a 5 mm de profundidade (BRASIL, 2001).

A legislação não permite o uso de natamicina em frutas e hortaliças, porém são encontrados alguns trabalhos onde o antifúngico em conjunto com um revestimento é usado em frutas (CONG; ZHANG; DONG 2007). E deve-se levar em consideração o seu uso apenas na superfície de frutas, onde é realizada a lavagem das mesmas antes do seu consumo, e conseqüentemente, não ingerindo natamicina.

Figura 3 – Estrutura química da Natamicina



Fonte: Cheng, Lu e Du (2008).

Var et al. (2006) estudaram o efeito antimicrobiano da natamicina em conjunto com PVC (policloreto de vinila) avaliando as propriedades microbiológicas de queijo kashar. Os autores relataram que a natamicina preveniu o crescimento de mofos em queijos maturados por 2 meses.

Cong, Zhang e Dong (2007) utilizaram revestimento de superfície com natamicina para melhorar a armazenagem do melão Hami à temperatura ambiente. O tratamento com natamicina foi eficaz para controlar *Fusarium*, o principal patógeno causador da podridão em melão Hami.

2.7 CERAS ALIMENTÍCIAS

Existem na literatura diversos estudos sobre utilização de revestimentos comestíveis em alimentos (BLUM et al., 2008; FONSECA, 2012; OLIVEIRA; CEREDA, 2003; RIBEIRO et al., 2009; RUDRA et al., 2013) e apesar de

ser eficiente como revestimento em frutas, tem algumas limitações, como custo e efeito residual nos frutos (OLIVEIRA; CEREDA, 2003). Sendo assim, o uso de ceras alimentícias pode ser eficiente também como revestimento em embalagens de frutas, não deixando efeito residual nas mesmas. Dentre as ceras, a de abelha pode ser promissora para ser utilizada como revestimento.

A cera de abelha é um produto de consistência plástica, de cor amarelada, secretada pelas abelhas para formação dos favos nas colmeias (INSTRUÇÃO NORMATIVA, 2001). E, é, depois do mel, um dos principais produtos resultantes da produção apícola. É constituída por uma mistura de ésteres (67%), hidrocarbonetos (14%), ácidos graxos (12%), álcoois (1%) e outros (6%) (BARROS; NUNES; COSTA, 2009; BONVEHI; BERMEJO, 2012; POLAT et al., 2013; TULLOCH, 1980), e de acordo com Silva et al. (2003) a cera de abelha possui características físicas semelhantes às da parafina, como ponto de fusão e tempo de solidificação.

As ceras podem melhorar as propriedades de barreira ao vapor de água dos filmes, Cuq, Gontard e Guilbert (1995) relataram que a adição de cera de abelha nas películas formadas por proteínas de trigo, levou a redução na permeabilidade ao vapor de água de $69,7 \times 10^{-12} \text{ mol.mm}^{-2}.\text{s}^{-1}.\text{Pa}^{-1}$ para $0,0230 \times 10^{-12} \text{ mol.mm}^{-2}.\text{s}^{-1}.\text{Pa}^{-1}$.

Muscat et al. (2013) estudaram as características físico-químicas e a hidrofobicidade de filmes de amido com alto teor de amilose (HA) e glicerol (G) na presença de três ceras naturais (cera de abelha, de candelita e carnaúba) com e sem Tween 80. A relação HA/G foi mantida em 80/20 e a concentração de cera variou de 5 a 10%. A PVA diminuiu significativamente com a adição de 5% das ceras ($0,51, 0,36, 0,37$ e $0,35 \times 10^{-7} \text{ g.mm/m}^2.\text{s.Pa}$ para os filmes HAG, HAG + cera de abelha, HAG + cera de candelita e HAG + cera de carnaúba, respectivamente). Por outro lado, a adição de Tween 80 aos filmes HAG + cera aumentou a PVA dos filmes ($0,75, 2,07$ e $1,39 \times 10^{-7} \text{ g.mm/m}^2.\text{s.Pa}$ para os filmes HAG + cera de abelha, HAG + cera de candelita e HAG + cera de carnaúba, respectivamente). Foi observado que houve um aumento no ângulo de contato (AC) dos filmes com cera de carnaúba + Tween 80 ($> 80^\circ$), enquanto que, para os filmes com as outras duas ceras o AC reduziu (cera de candelita + Tween 80 - $20,7^\circ$ e cera de abelha + Tween 80 - $59,6^\circ$). Desta forma, a maior hidrofobicidade foi observada nos filmes com cera de carnaúba + Tween 80 em ambas as concentrações de cera utilizada. Os autores relataram que

tais valores elevados estão relacionados com a aspereza da superfície desses filmes.

Chiumarelli e Hubinger (2014) desenvolveram filmes/revestimento comestíveis de amido de mandioca, glicerol, cera de carnaúba e ácido esteárico. Os filmes foram avaliados com relação a propriedades mecânicas, térmicas, microestrutura e solubilidade e foram aplicados em maçãs para avaliar a taxa de respiração e resistência ao vapor de água. A formulação que continha maior teor de cera (0,40%) não promoveu barreira eficaz ao oxigênio ($9,13 \text{ mL CO}_2 \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$) e ao vapor de água ($25,95 \text{ s} \cdot \text{cm}^{-1}$) e resultou em filmes mais rígidos (0,504 MPa) quando comparado com o filme com menor teor de cera (0,10%) e maior teor de glicerol (2,82%) ($5,75 \text{ mL CO}_2 \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$, $36,91 \text{ s} \cdot \text{cm}^{-1}$ e 0,197 MPa, respectivamente), o qual promoveu filmes mais flexíveis com menor taxa de respiração nas maçãs fatiadas e boa resistência ao vapor de água. No entanto, apesar dos filmes com 0,20% de cera ter apresentado valores intermediários das propriedades analisadas, o mesmo promoveu filmes com uma superfície mais regular adequado para a utilização como revestimento, o que não foi verificado nos demais filmes.

REFERÊNCIAS

ABIEF. **Associação Brasileira da Indústria de Embalagens Plásticas Flexíveis.**

Disponível em: <www.abief.com.br/flex/flex0018.asp>. Acesso em: 08 abr. 2014.

ACIOLI-MOURA, R.; SUN, X. S. Thermal degradation and physical aging of poly (lactic acid) and its blends with starch. **Polymer Engineering and Science**, v. 48, p. 829-836, 2008.

ADAY, M. S.; CANER, C. The shelf life extension of fresh strawberries using an oxygen absorber in the biobased package. **LWT - Food Science and Technology**, v. 52, p. 102-109, 2013.

AHVENAINEN, R. **Active and intelligent packaging, an introduction.** In: **Ahvenainen, R.** (Ed.), *Novel Food Packaging techniques*. Woodhead Publishing, Cambridge, U.K, p. 5-21, 2003.

ALI, A.; MAQBOOL, M.; RAMACHANDRAN, S.; ALDERSON, P. G. Gum arabic as a novel edible coating for enhancing shelf-life and improving postharvest quality of tomato (*Solanum lycopersicum* L.) fruit. **Postharvest Biology and Technology**, v. 58, p. 42-47, 2010.

APARICIO, J. F.; MENDES, M. V.; ANTON, N.; RECIO, E.; MARTIN, J. F. Polyene macrolide antibiotic biosynthesis. **Current Medicinal Chemistry**, v. 11, p. 1645-1656, 2004.

ARAUJO-FARRO, P. C.; PODADERA, G.; SOBRAL, P. J. A.; MENEGALLI, F. C. Development of films based on quinoa (*Chenopodium quinoa*, Willdenow) starch. **Carbohydrate Polymers**, v. 81, p. 839-848, 2010.

ARIMA, A. A. **Estudo da interação da natamicina com membranas fosfolipídicas incorporadas de esteróis**. 2014. 177 f. Tese (Doutorado em Ciência e Tecnologia de Materiais) – Universidade Estadual Paulista. Faculdade de Ciências. Bauru, 2014.

ARRIETA, M. P.; LÓPEZ, J.; HERNÁNDEZ, A.; RAYÓN, E. Ternary PLA–PHB–Limonene blends intended for biodegradable food packaging applications. **European Polymer Journal**, v. 50, p. 255-270, 2014.

ATKINS, P.W. **Físico-Química**. 6. ed. Rio de Janeiro: Livros Técnicos e Científicos, 1999. v.2.

AURAS, R. A.; SINGH, S. P.; SINGH, J. J. Evaluation of oriented poly (lactide) polymers vs. existing PET and oriented PS for fresh food service containers. **Packaging Technology and Science**, v. 18, p. 207-216, 2005.

AURAS, R.; HARTE, B.; SELKE, S. An Overview of Polylactides as Packaging Materials. **Macromolecular Bioscience**, v. 4, p. 835-864, 2004.

AVÉROUS, L. Biodegradable multiphase systems based on plasticized starch: A review. **Journal of Macromolecular Science**, v. C44, n. 3, p. 231-274, 2004.

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

AZEREDO, H. M. C.; FARIA, J. A. F.; AZEREDO, A. M. C. Embalagens Ativas para alimentos. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 20, n. 3, p. 337-341, 2000.

BABU, R. P.; O'CONNOR, K.; SEERAM, R. Current progress on bio-based polymers and their future trends. **Progress in Biomaterials**, v. 2:8, p 1-16, 2013.

BANG, G.; KIM, S. W. Biodegradable poly (lactic acid)-based hybrid coating materials for food packaging films with gas barrier properties. **Journal of Industrial and Engineering Chemistry**, v. 18, p. 1063-1068, 2012.

BARROS, A. I. R. N. A.; NUNES, F. H. F. M.; COSTA, M. M. F. **Manual de boas práticas na produção de cera de abelha** – Princípios gerais. FNAP: Lisboa, 2009.

BILCK, A. P.; MÜLLER, C. M. O.; OLIVATO, J. B.; MALI, S.; GROSSMANN, M. V. E.; YAMASHITA, F. Using glycerol produced from biodiesel as a plasticiser in extruded biodegradable films. **Polímeros**, v. 25, p. 331-335, 2015.

- BLUM, J.; HOFFMANN, F. B.; AYUB, R. A.; JUNG, D. L.; MALGARIM, M. B. Uso de cera na conservação pós-colheita do caqui cv. Giombo. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 30, n. 3, p. 830-833, 2008.
- BOCCHINI, S.; BATTEGAZZORE, D.; FRACHE, A. Poly (butylensuccinate co-adipate)-thermoplastic starch nanocomposite blends. **Carbohydrate Polymers**, v. 82, p. 802-808, 2010.
- BOLUMAR, T.; ANDERSEN, M. L.; ORLIEN, V. Antioxidant active packaging for chicken meat processed by high pressure treatment. **Food Chemistry**, v. 129, p. 1406-1412, 2011.
- BONVEHI, J. S.; BERMEJO, F. J. O. Detection of adulterated commercial Spanish Beeswax. **Food Chemistry**, v. 132, n.1, p. 642–648, 2012.
- BRANDELERO, R. P. H.; YAMASHITA, F.; GROSSMANN, M. V. E. The effect of surfactant tween 80 on the hydrophilicity, water vapor permeation, and the mechanical properties of cassava starch and poly (butylenes adipate-co-terephthalate) (PBAT) blend films. **Carbohydrate Polymers**, v. 82, p. 1102-1109, 2010.
- BRASIL. ANVISA – Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução nº 04, de 24 de novembro de 1988. Aprovar a revisão das Tabelas I, III, IV e V referente a Aditivos Intencionais, bem como os Anexos I, II, III e VII, todas do Decreto n.º 55.871, de 26 de março de 1995. Disponível em: <http://bvsms.saude.gov.br/bvs/saudelegis/cns/1988/res0004_24_11_1988.html> . Acesso em: 26 ago. 2017.
- BRASIL. ANVISA – Agência Nacional de Vigilância Sanitária. RDC nº 28, de 23 de fevereiro de 2001. Aprova a extensão de uso da Natamicina (Pimaricina) (INS 235), como conservador, para tratamento de superfícies de produtos cárneos embutidos no limite máximo de 1mg/dm², ausente em 5mm de profundidade. Disponível em: <<http://portal.anvisa.gov.br/documents/33916/391619/Resolu%C3%A7%C3%A3o+RDC+n%C2%BA+28%C2%BA+de+23+de+fevereiro+de+2001.pdf/a9324be8-ca5a-4ea2-9df2-c9bc7f01d872>>. Acesso em: 26 ago. 2017.
- _____. Instrução Normativa nº 3, de 19 de janeiro de 2001. Aprova os Regulamentos Técnicos de Identidade e Qualidade de Apitoxina, Cera de Abelha, Geléia Real, Geléia Real Liofilizada, Pólen Apícola, Própolis e Extrato de Própolis, conforme consta dos Anexos desta Instrução Normativa. **Diário Oficial da União**, Brasília, DF, 23 jan. 2001.
- CHEN, C. H.; LAI, L. S. Mechanical and water vapor barrier properties of tapioca starch/decolorized hsian-tsoo leaf gum films in the presence of plasticizer. **Food Hydrocolloids**, v. 22, p. 1584-1595, 2008.
- CHEN, G. Q.; LU, F. P.; DU, L. X. Natamycin Production by *Streptomyces gilvosporeus* Based on Statistical Optimization. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, 56, p. 5057–5061, 2008.

CHITARRA, M. I. F.; CHITARRA, A. B. **Pós-colheita de frutas e hortaliças: fisiologia e manuseio**. 2 ed. rev. e ampl. Lavras: UFLA, 2005.

CHIUMARELLI, M.; HUBINGER, M. D. Evaluation of edible films and coatings formulated with cassava starch, glycerol, carnauba wax and stearic acid. **Food Hydrocolloids**, v. 38, p. 20-27, 2014.

CONG, F.; ZHANG, Y.; DONG, W. Use of surface coatings with natamycin to improve the storability of Hami melon at ambient temperature. **Postharvest Biology and Technology**, v. 46, p. 71–75, 2007.

CORRADINI, E.; LOTTI, C.; MEDEIROS, E. S.; CARVALHO, A. J. F.; CURVELO, A. A. S.; MATTOSO, L. H. C. Estudo Comparativo de Amidos Termoplásticos Derivados do Milho com Diferentes Teores de Amilose. **Polímeros: Ciência e Tecnologia**, v. 15, n. 4, p. 268-273, 2005.

CORRADINI, E.; TEIXEIRA, E. M.; AGNELLI, J. A. M.; MATTOSO, L. H. C. Amido Termoplástico. **Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária**. São Carlos: Embrapa Instrumentação Agropecuária, 2007.

CRIPPA, A. **Estudo do desempenho de filmes multicamadas em embalagens termoformadas**. 2006. 136 f. Dissertação (Programa de Pós-Graduação em Engenharia e Ciência de Materiais) – Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2006.

CUQ, B.; GONTARD, N.; GUILBERT, S. Edible films and coatings as active layers. In: ROONEY, M. L. (Ed.). **Active Food Packaging**. London (UK): Chapman & Hall, p. 111-142, 1995.

DARDER, M.; ARANDA, P.; RUIZ-HITZKY, E. Bionanocomposites: A new concept of ecological, bioinspired, and functional hybrid materials. **Advanced Materials**, v.19, p. 1300-1319, 2007.

DA RÓZ, A. L. Prepared biodegradable plastics from starch. San Carlos: **Polymers**, v. 13, p. 4, 2003.

DELVES-BROUGHTON, J.; THOMAS, L. V.; WILLIAMS, G. Natamycin as an antimycotic preservative on cheese and fermented sausages. **Food Australia**, v. 58, p. 19-21, 2006.

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

DIAB, T.; BILIADERIS, C. G.; GERASOPOULOS, D.; SFAKIOTAKIS, E. Physicochemical properties and application of pullulan edible films and coatings in fruit preservation. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 81, n. 10, p. 988-1000, 2001.

DORGAN, J. R.; JANSEN, J.; CLAYTON, M. P. Melt rheology of variable I-content

poly(lactic acid). **Journal of Rheology**, v. 49, p.607-619, 2005.

ELIASSON, A. C. **Starch in food – Structure, function and applications**. New York: Boca Raton, CRC, 2004. 605 p.

FAEP – Federação da Agricultura do Estado do Paraná. **Perspectivas da mandioca**. 2015. Disponível em: <<http://www.sistemafaep.org.br/perspectivas-da-mandioca.html>>. Acesso em: 17 abr. 2017.

FAGUNDES, C.; PALOU, L.; MONTEIRO, A. R.; PÉREZ-GAGO, M. B. Effect of antifungal hydroxypropyl methylcellulose-beeswax edible coatings on gray mold development and quality attributes of cold-stored cherry tomato fruit. **Postharvest Biology and Technology**, v. 92, p. 1-8, 2014.

FAO - Food and Agriculture Organization of the United Nations. **FAOSTAT**. Disponível em: <<http://faostat.fao.org/site/567/default.aspx#ancor>>. Acesso em: 11 ago. 2014.

FARIA, D. L. A. Entenda o que é espectroscopia Raman. **QuímicaViva – CRQ-IV**, São Paulo, 2011. Disponível em: <http://www.crq4.org.br/sms/files/file/Espectroscopia_Raman_4.pdf>. Acesso em: 02 ago. 2016.

FELLOWS, P. J. **Tecnologia do Processamento de Alimentos: Princípios e Práticas**. Porto Alegre: Artmed. 2006.

FONSECA, J. P. C. G. Q. **Revestimentos comestíveis à base de quitosano e cera de abelha: aplicação na conservação da uva de mesa**. 2012. 95 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Alimentar) – Universidade Técnica de Lisboa, Lisboa, 2012.

FORTUNATI, E.; ARMENTANO, I.; ZHOU, Q.; IANNONI, A.; SAINO, E.; VISAI, L.; BERGLUND, L. A.; KENNY, J. M. Multifunctional bionanocomposite films of poly (lactic acid), cellulose nanocrystals and silver nanoparticles. **Carbohydrate Polymers**, v. 87, p. 1596-1605, 2012.

FRANCHETTI, S. M. M.; MARCONATO, J. C. Polímeros biodegradáveis – uma solução parcial para diminuir a quantidade dos resíduos plásticos. **Química Nova**, v. 29, n. 4, p. 811-816, 2006.

GARCIA, P. S.; GROSSMANN, M. V. E.; SHIRAI, M. A.; LAZARETTI, M. M.; YAMASHITA, F.; MULLER, C. M. O.; MALI, S. Improving action of citric acid as compatibiliser in starch/polyesterblown films. **Industrial Crops and Products**, v. 52, p. 305-312, 2014.

GENNADIOS, A.; PARK, S. K.; JU, Z. Y.; HETTIARACHCHY, N. S. – "Protein – Based films and coatings", CRC Press, London, 2002.

GELDER, J.D., GUSSEM, K.D., VANDENABEELE, P., MOENS, L. Reference database of Raman spectra of biological molecules. **Journal of Raman Spectroscopy**, v. 38, p. 1133-1147, 2007.

GONZÁLEZ, A.; IGARZABAL, C. I. A. Soy protein e poly (lactic acid) bilayer films as biodegradable material for active food packaging. **Food Hydrocolloids**, v. 33, p. 289-296, 2013.

GUERREIRO, D.; MADUREIRA, J.; SILVA, T.; MELO, R.; SANTOS, P. M. P.; FERREIRA, A.; TRIGO, M. J.; FALCÃO, A. N.; MARGAÇA, F. M. A.; VERDE, S. C. Post-harvest treatment of cherry tomatoes by gamma radiation: Microbial and physicochemical parameters evaluation. **Innovative Food Science and Emerging Technologies**, v. 36, p. 1–9, 2016.

GUPTA, B.; REVAGADE, N.; HILBORN, J. Poly (lactic acid) fiber: An overview. **Progress in Polymer Science**, v. 32, p. 455-482, 2007.

HAN, J. H. **Innovations in Food Packaging**. 2. ed. USA: Elsevier Academic Press, 2014.

HERALD, T. J.; OBUZ, E.; TWOMBLY, W. W.; RAUSCH, K. D. Tensile properties of extruded corn protein low-density polyethylene films. **Cereal Chemistry**, v. 79, p. 261-264, 2002.

HOLLER, F. J.; SKOOG, D. A.; CROUCH, S. R. **Princípios de Análise Instrumental**, 6 ed. Bookman: Porto Alegre, 2009.

HUNEAULT, M. A.; LI, H. Morphology and properties of compatibilized polylactide/thermoplastic starch blends. **Polymer**, v. 48, p. 270-280, 2007.

IBGE – Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. **Levantamento Sistemático Da Produção Agrícola**. 2017. Disponível em: <[ftp://ftp.ibge.gov.br/Producao_Agricola/Levantamento_Sistematico_da_Producao_Agricola_\[mensal\]/Fasciculo/lspa_201702.pdf](ftp://ftp.ibge.gov.br/Producao_Agricola/Levantamento_Sistematico_da_Producao_Agricola_[mensal]/Fasciculo/lspa_201702.pdf)>. Acesso em: 18 abr. 2017.

JAMSHIDIAN, M.; TEHRANY, E. A.; DESOBRY, S. Release of synthetic phenolic antioxidants from extruded poly lactic acid (PLA) film. **Food Control**, v. 28, p. 445-455, 2012.

JANORKAR, A. V.; METTERS, A. T.; HIRT, D. E. Modification of poly (lactic acid) films: enhanced wettability from surface-confined photografting and increased degradation rate due to an artifact of the photografting process. **Macromolecules**, v. 37, p. 9151-9159, 2004.

JECFA. Safety evaluation of certain food additives and contaminants. Fifty-seventh report of the Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives. **WHO Food Additives Series**, n. 48, p. 49-76, 2002.

JENKINS, W. A.; HARRINGTON, J. P. **The chemistry and manufacture of polymers used in packaging**. In: _____. (Ed.). *Packaging foods with plastics*.

Lancaster (USA): Technomic Publishing Co., p. 35-36, 1991.

JIANG, T.; FENG, L.; ZHENG, X.; LI, J. Physicochemical responses and microbial characteristics of shiitake mushroom (*Lentinus edodes*) to gum arabic coating enriched with natamycin during storage. **Food Chemistry**, v. 138, p. 1992–1997, 2013.

JIANG, L.; WOLCOTT, M.P.; ZHANG, J. Study of biodegradable polylactide/poly(butylene adipate-co-terephthalate) blends. **Biomacromolecules**, v. 7, n. 1, p. 199-207, 2006.

KE, T.; SUN, X. Melting behavior and crystallization kinetics of starch and poly (lactic acid) composites. **Journal of Applied Polymer Science**, v. 89, p. 1203-1210, 2003.

KIM, E.; SHIN, W.; YOO, K.; CHUNG, S. Characteristics of heterogeneous titanium alkoxide catalysts for ringopening polymerization of lactide to produce polylactide. **Journal of Molecular Catalysis A: Chemical**, v. 298, p. 36-39, 2009.

KRUIJF, N.; VAN, B. M.; RIJK, R.; SIPILAINEN-MALM, T.; PASEIRO, L. P.; MEULENAER, B. Active and intelligent packaging: applications and regulatory aspects. **Food Additives & Contaminants**, v. 19, p. 144-162, 2002.

LENUCCI, M. S.; CADINU, D.; TAURINO, M.; PIRO, G.; DALESSANDRO, G. Antioxidant composition in cherry and high-pigment tomato cultivars. **Journal Agriculture and Food Chemistry**, v. 54, n. 7, p. 2606-2613, 2006.

LI, H.; HUNEULT, M. A. Effect of nucleation and plasticization on the crystallization of poly (lactic acid). **Polymer**, v. 48, p. 6855-6866, 2007.

LILICHENKO, N.; MARKSIMOV, R. D.; ZICANS, J.; MERI, R. M.; PLUME, E. A biodegradable polymer nanocomposite: mechanical and barrier properties **Mechanics of Composite Materials**, v. 44, p. 45-56, 2008.

LINDSAY, R. C. Aditivos Alimentares. In: DAMODARAN, S.; PARKIN, K. L., FENNEMA, O. R. **Química de alimentos de Fennema**. 4. ed. Porto Alegre: Artmed, 2010.

LOPES, W.A.; FASCIO, M.; Esquema para interpretação de espectros de substâncias orgânicas na região do infravermelho. **Química Nova**, v. 27, n. 4, p. 670-673, 2004.

MALI, S.; GROSSMANN, M. V. E.; YAMASHITA, F. Filmes de amido: produção, propriedades e potencial de utilização. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v. 31, n. 1, p. 137-156, 2010.

MARCOS, B.; AYMERICH, T.; MONFORT, J. M.; GARRIGA, M. Physical performance of biodegradable films intended for antimicrobial food packaging. **Journal Food Science**, v. 75, p. 502-507, 2010.

MARTIN, O.; AVÉROUS, L. Poly (lactic acid): plasticization and properties of biodegradable multiphase systems. **Polymer**, v. 42, p. 6209-6219, 2001.

MATHEW, A. P.; OKSMAN, K.; SAIN, M. Mechanical properties of biodegradable composites from Poly Lactic Acid (PLA) and Microcrystalline Cellulose (MCC). **Journal of Applied Polymer Science**, v. 97, p. 2014-2025, 2005.

MUSCAT, D.; ADHIKARI, R.; MCKNIGHT, S.; GUO, Q.; ADHIKARI, B. The physicochemical characteristics and hydrophobicity of high amylose starch–glycerol films in the presence of three natural waxes. **Journal of Food Engineering**, v. 119, p. 205-129, 2013.

OHKITA, T.; LEE, S. H. Thermal degradation and biodegradability of poly (lactic acid)/corn starch biocomposites. **Journal of Applied Polymer Science**, v. 100, p. 3009-3017, 2006.

OLIVATO, J. B.; GROSSMANN, M. V. E.; BILCK, A. P.; YAMASHITA, F. Effect of organic acids as additives on the performance of thermoplastic starch/polyester blown films. **Carbohydrate Polymers**, v. 90, p. 159-164, 2012.

OLIVATO, J. B, MARINI, J.; POLLET, E.; YAMASHITA, F.; GROSSMANN, M. V. E.; AVÉROUS, L. Elaboration, morphology and properties of starch/polyester nano-biocomposites based on sepiolite clay. **Carbohydrate Polymers**, v. 118, p. 250-256, 2015.

OLIVEIRA, M. A.; CEREDA, M. P. Pós-colheita de pêssegos (*Prunus pérsica L. Bastsch*) revestidos com filmes a base de amido como alternativa à cera comercial. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 23, p. 28-33, 2003.

OLIVEIRA, N. S.; OLIVEIRA, J.; GOMES, T.; FERREIRA, A.; DORGAN, J.; MARRUCHO, I. M. Gas sorption in poly (lactic acid) and packaging materials. **Fluid Phase Equilibria**, v. 222, p. 317–324, 2004.

PAVIA, D. L.; LAMPMAN, G. M.; KRIZ, G. S.; VYVYAN, J. R. **Introdução à espectroscopia**. 4 ed. Cengage Learning: São Paulo, 2010.

PETERSEN, K.; NIELSEN, P. V.; OLSEN, M. B. Physical and mechanical properties of biobased materials – starch, polylactate and polyhydroxybutyrate. **Starch/Stärke**, v. 53, p. 356–361, 2001.

POLAT, S.; USLU, M. K.; AYGÜN, A.; CERTEL, M. The effects of the addition of corn husk fibre, kaolin and beeswax on cross-linked corn starch foam. **Journal of Food Engineering**, v. 116, p. 267-276, 2013.

PRANOTO, Y.; SALOKHE, V. M.; RAKSHIT, S. K. Physical and antibacterial properties of alginate-based edible films incorporated with garlic oil. **Food Research International**, v. 38, p. 267-272, 2005.

REIS, M. O.; ZANELA, J.; OLIVATO, J.; GARCIA, P. S.; YAMASHITA, F.; GROSSMANN, M. V. E. Microcrystalline Cellulose as Reinforcement in

Thermoplastic Starch/Poly(butylene adipate-co-terephthalate) Films. **Journal of Polymers and Environment**, v. 22, p. 545-552, 2014.

REN, J.; FU, H.; REN, T.; YUAN, W. Preparation, characterization and properties of binary and ternary blends with thermoplastic starch, poly (lactic acid) and poly (butylene adipate-co-terephthalate). **Carbohydrate Polymers**, v. 77, p. 576-582, 2009.

RIBEIRO, T. P.; LIMA, M. A. C.; TRINDADE, D. C. G.; SANTOS, A. C. N.; AMARIZ, A. Uso de revestimentos à base de dextrina na conservação pós-colheita de manga 'Tommy Atkins'. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 31, n. 2, p. 343-351, 2009.

RODRIGUES, A. G.; GALZERANI, J. C. Espectroscopias de infravermelho, Raman e de fotoluminescência: potencialidades e complementaridades. **Revista Brasileira de Ensino de Física**, v. 34, n. 4, p 1-9, 2012.

ROHMAN, A.; MAN, Y. B. C. Fourier transform infrared (FTIR) spectroscopy for analysis of extra virgin olive oil adulterated with palm oil. **Food Research International**, v. 43 , p. 886-892, 2010.

RUDRA, S. G.; SINGH, V.; JYOTI, S. D.; SHIVHARE, U. S. Mechanical properties and antimicrobial efficacy of active wrapping paper for primary packaging of fruits. **Food Bioscience**, v. 3, p. 49-58, 2013.

SAKANAKA, L. S. **Filmes biodegradáveis de blendas de amido termoplástico e polibutileno adipato co-succinato (PBSA)**. 2007. 138p. Tese (Doutorado em Ciência de Alimentos) – Universidade Estadual de Londrina, Londrina, 2007.

SALA, O. **Fundamentos da Espectroscopia Raman e no Infravermelho**. 2 ed. São Paulo: Unesp, 2008.

SANDHYA. Review - Modified atmosphere packaging of fresh produce: Current status and future needs. **LWT - Food Science and Technology**, v. 43, p.381-392, 2010.

SANTANA, M. C. C. B.; MACHADO, B. A. S.; SILVA, T. N.; NUNES, I. L.; DRUZIAN, J. I. Incorporação de urucum como aditivo antioxidante em embalagens biodegradáveis a base de quitosana. **Ciência Rural, Santa Maria, Online**. 2012. Disponível em:<<http://www.scielo.br/pdf/cr/2013nahead/a7213CR2012-0010.pdf>>. Acesso em: 29 maio, 2014.

SARANTÓPOULOS, C. I. G. L.; ALVES, R. V.; OLIVEIRA, L. M.; GOMES, T. C. Embalagens com atmosfera modificada. **Campinas: CETEA/ITAL**, 1996. p. 99-114.

SARANTÓPOULOS, C. I. G. L.; MORAES, B. B. Embalagens ativas e inteligentes Para frutas e hortaliças. **Campinas: CETEA/ITAL**, v. 21, 2009.

SHIRAI, M. A.; GROSSMANN, M. V. E.; MALI, S.; YAMASHITA, F.; GARCIA, P. S.; MULLER, C. M. O. Development of biodegradable flexible films of starch and poly

(lactic acid) plasticized with adipate or citrate ester. **Carbohydrate Polymers**, v. 92, p. 19-22, 2013.

SHIRAI, M. A.; MÜLLER, C. M. O.; GROSSMANN, M. V. E.; YAMASHITA, F. Adipate and citrate esters as plasticizers for poly (lactic acid)/thermoplastic starch sheets. **Journal of Polymers and the Environment**, v. 23, p. 54-61, 2015.

SHIRAI, M. A.; ZANELA, J.; KUNITA, M. H.; PEREIRA, G. M.; RUBIRA, A. F.; MÜLLER, C. M. O.; GROSSMANN, M. V.; YAMASHITA, F. Influence of Carboxylic Acids on Poly(lactic acid)/Thermoplastic Starch Biodegradable Sheets Produced by Calendering–Extrusion. **Advances in Polymer Technology**, v. 0, n. 0, p. 1-7, 2016,

SILVA, A. C.; COSTA, C. A.; SAMPAIO, R. A.; MARTINS, E. R. Avaliação de linhagens de tomate cereja tolerantes ao calor sob sistema orgânico de produção. **Revista Caatinga**, Mossoro, v. 24, n. 3, p. 33-40, 2011.

SILVA, E. M. B.; SILVA, T. J. A.; OLIVEIRA, L. B.; MÉLO, R. F.; JACOMINE, P. K. T. Utilização de cera de abelhas na determinação da densidade do solo. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 27, p. 955-959, 2003.

SKOOG, D.A.; HOLLER, F.J.; NIEMAN, T.A. **Princípios de análise instrumental**. 5. ed. Porto Alegre: Bookman, 2002. p. 836.

SOARES, F. C.; YAMASHITA, F.; MULLER, C. M. O.; PIRES, A. T. N. Effect of cooling and coating on thermoplastic starch/ poly (lactic acid) blend sheets. **Polymer Testing**, v. 33, p. 34-39, 2014.

SOARES, N. F. F.; SILVA, W. A.; PIRES, A. C. S.; CAMILLOTO, G. P.; SILVA, P. S. Novos desenvolvimentos e aplicações em embalagens de alimentos. **Revista Ceres**, v. 56, n. 4, p. 370-378, 2009

SÖDERGÅRD, A.; STOLT, M. Properties of lactic acid based polymers and their correlation with compositions. **Progress in Polymer Science**, v. 27, p. 1123-1163, 2002.

SOUZA, A. M.; POPPI, R. J. Experimento didático de quimiometria para análise exploratória de óleos vegetais comestíveis por espectroscopia no infravermelho médio e análise de componentes principais: um tutorial, parte I. **Química Nova**, v. 35, n. 1, p. 223-229, 2012.

SOUZA, R. C. R.; ANDRADE, C. T. Investigação dos processos de gelatinização e extrusão de amido de milho. **Polímeros: Ciência e Tecnologia**, v. 10, n. 1, p. 24-30, 2000.

TANG, X.; ALAVI, S. Recent advances in starch, polyvinyl alcohol based polymer blends, nanocomposites and their biodegradability. **Carbohydrate Polymers**, v. 85, p. 7-16, 2011.

TANG, Z.; CHEN, X.; PANG, X.; YANG, Y.; ZHANG, X.; JING, X. Stereoselective polymerization of rac-lactide using a monoethylaluminum Schiff base complex. **Biomacromolecules**, v. 5, p. 965-970, 2004.

TEIXEIRA, E. M.; CURVELO, A. A. S.; CORRÊA, A. C.; MARCONCINI, J. M.; GLENN, G. M.; MATTOSO, L. H. C. Properties of thermoplastic starch from cassava bagasse and cassava starch and their blends with poly (lactic acid). **Industrial Crops and Products**, v. 37, p. 61-68, 2012.

TEIXEIRA, E. M.; PASQUINI, D.; CURVELO, A. A. S.; CORRADINI, E.; BELGACEM, M. N.; DUFRESNE, A. Cassava bagasse cellulose nanofibrils reinforced thermoplastic cassava starch. **Carbohydrate Polymers**, v. 78, p. 422-431, 2009.

TSUJI, H.; IKADA, Y. Crystallization from the melt of PLA with different optical purities and their blends. **Macromolecular Chemistry and Physics**, v. 197, p. 3483-3499, 1996.

TULLOCH, A. P. Beeswax-composition and analysis. **Bee World**, v. 61, n. 2, p. 47-62, 1980.

URAYAMA, H.; MOON, S. I.; KIMURA, Y. Microstructure and thermal properties of polylactides with different L- and D-unit sequences: importance of the helical nature of the l-sequenced segments. **Macromolecular Materials and Engineering**, v. 288, p.137-143, 2003

VAN SOEST, J. J. G.; HULLEMANA, S. H. D.; WITA, D.; VLIEGENTHARTB, J. F. G. Crystallinity in starch bioplastics. **Industrial Crops and Products**, v. 5, p. 11-22, 1996.

VAR, I.; ERGINKAYA, Z.; GUVEN, M.; KABAK, B. Effect of antifungal agent and packaging material on microflora of Kashar cheese during storage period. **Food Control**, v. 17, p. 132-136, 2006.

VINK, E. T. H.; RÁBAGO, K. R.; GLASSNER, D. A.; GRUBER, P. R. Applications of life cycle assessment to NatureWorks™ polylactide (PLA) production. **Polymer Degradation and Stability**, v. 80, p. 403-419, 2003.

WANG, N.; YU, J.; CHANG, P. R.; MA, X. Influence of formamide and water on the properties of thermoplastic starch/poly (lactic acid) blends. **Carbohydrate Polymers**, v. 71, p. 109-118, 2008.

WELSCHER, Y. M.; NAPEL, H. H.; BALAGUÉ, M. M.; SOUZA, C.; RIEZMAN, H., KRUIJFF, B.; BREUKINK, E. Natamycin blocks fungal growth by binding specifically to ergosterol without permeabilizing the membrane. **Journal Biological Chemistry**, v. 283, p. 6393-6401, 2007.

XIONG, Z.; LI, C.; MA, S.; FENG, J.; YANG, Y.; ZHANG, R.; ZHU, J. The properties of poly (lactic acid)/starch blends with a functionalized plant oil: Tung oil anhydride. **Carbohydrate Polymers**, v. 95, p. 77-84, 2013.

YAM, K.L.; TAKHISTOV, P.T.; MILTZ, J. Intelligent packaging: concepts and applications. **Journal of Food Science**, v. 70, p. 1-9, 2005.

ZANELA, J.; SHIRAI, M. A.; REIS, M. O.; MALI, S.; GROSSMANN, M. V. E.; YAMASHITA, F. Mixture design to develop biodegradable sheets with high levels of starch and polyvinyl alcohol. **Starke (Weinheim)**, v. 67, p. 1011-1019, 2015.

ZHANG, S.; FENG, X.; ZHU, S.; HUAN, Q.; HAN, K.; MA, Y.; YU, M. Novel toughening mechanism for poly lactic acid (PLA)/starch blends with layer-like microstructure via pressure-induced flow (PIF) processing. **Materials Letters**, v. 98, p. 238-241, 2013.

ZOBEL, W. Potato starch. In: WHISTLER R. L. **Methods in carbohydrate chemistry**. v. 4. Nova Iorque: Academic Press, 1964.

CAPÍTULO II

3 BIODEGRADABLE TRAYS OF THERMOPLASTIC STARCH/POLY (LACTIC ACID) COATED WITH BEESWAX

Abstract

Biodegradable trays of thermoplastic starch (TPS)/poly (lactic acid) (PLA) blends were produced by flat extrusion, calendering, and thermopressing. The trays were coated by immersion in beeswax (BW) emulsion (1, 2, and 3 g BW / 100 g ethyl alcohol + Tween 80 solution) to improve their barrier properties. The trays coated with 1% BW had the higher tensile strength (11.5 ± 1.0 MPa) and the lower weight loss in water ($22.8 \pm 0.8\%$) and trays coated with higher BW content emulsion decreased their tensile strength, stiffness, and water vapor permeability (from 7.9 to 0.2×10^{-11} g/m.s.Pa). It was possible to produce TPS/PLA biodegradable trays by flat extrusion, calendering and thermopressing, with adequate mechanical properties and processability to be produced in large scale. The coating with beeswax is an interesting technique for reducing the water vapor permeability of hygroscopic biodegradable materials.

Key-words: biodegradable material; extrusion; coating.

3.1 INTRODUCTION

Ecological concern and the difficulty to recycle packaging materials has promoted the development of biodegradable materials (Brandelero et al., 2010; Olivato et al., 2013a; Reis et al., 2014; Shirai et al., 2013a; Zanela et al., 2015). The high cost of the commercial biodegradable polymers such as poly (lactic acid) (PLA) compared to the conventional ones like low-density polyethylene (LDPE), and polypropylene (PP) is an obstacle to their popularization. Thermoplastic starch (TPS) materials are biodegradable and have relatively low cost, but they have some limitations as deficient mechanical properties and high hygroscopicity. An alternative in producing biodegradable materials with low cost and adequate mechanical and barrier properties is to blend TPS with biodegradable polyesters (as PLA) (Li and Huneault, 2007; Martin and Avérous, 2001; Ren et al., 2009; Shirai et al., 2015).

The beeswax coating can reduce the hygroscopicity of starch-based materials due to its hydrophobic characteristics and it is compatible for use in pharmaceutical, cosmetic and food contact applications (Cuq et al., 1995; Fabra et

al., 2008; Martínez-Abad et al., 2014; Polat et al., 2013; Velickova et al., 2013). Beeswax is a natural wax composed of a mixture of esters (67 wt%) hydrocarbons (14 wt%), fatty acids (12 wt%), alcohol (1 wt%) and others (6 wt%) (Bonvehi and Bermejo, 2012; Polat et al., 2013; Tulloch, 1980).

Lipid coatings are good moisture barrier but exhibit some disadvantages such as brittleness, and lack of homogeneity (Khwaldia et al., 2010). According to Zhang et al. (2014), the use of lipids coating is an effective barrier to water vapor, but it can reduce the mechanical strength of the materials. Cuq et al. (1995) reported that the addition of beeswax in wheat protein films reduced their water vapor permeability from 69.7 to $0.0230 \times 10^{-12} \text{ mol}\cdot\text{mm}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}\cdot\text{Pa}^{-1}$.

The goal of this study was to produce TPS/PLA biodegradable trays coated with beeswax emulsion with adequate mechanical and barrier properties, and processability.

3.2 EXPERIMENTAL

3.2.1 Materials

The trays were produced with native cassava starch (17 wt% amylose, 11 g.100g⁻¹ moisture) (Tereos Syral do Brasil, Brazil), poly (lactic acid) (PLA) (Ingeo 4043D, NatureWorks LLC, Cargill, USA) and glycerol (Dinamica, Brazil).

The coating was produced with beeswax (BW), courtesy of APOMEL (Associação dos produtores de mel de Ortigueira – PR, Brazil), ethyl alcohol P.A. (Exodo Científica, Brazil) and Tween 80 (CAAL, Brazil).

3.2.2 Trays Production

The ingredients (52.5 g.100g⁻¹ starch, 17.5 g.100g⁻¹ glycerol, and 30 g.100g⁻¹ PLA) were manually mixed, and extruded in a pilot single-screw extruder (BGM, EL-25 model, Brazil) to produce pellets. The extruder had a screw diameter (D) of 25 mm, screw length (L) of 750 mm (L/D ratio of 30), five heating zones and a matrix six 2-mm holes, and the barrel temperature profile was set at 90/180/180/140 °C with a screw speed of 30 rpm.

The pellets produced in the previous step were extruded in a pilot co-rotating twin-screw extruder (BGM, D-20 model, Brazil) with a screw diameter of 20 mm and L/D ratio 34, five heating zones, flat-die slot gap of 1.74 mm coupled with a calender (AX Plásticos, Brazil) to produce biodegradable sheets. The calender roll speed was set for each formulation to ensure continuous and cohesive sheets, with uniform thickness. The temperature profile was set at 90/170/170/170/170 °C, and the screw speed maintained at 100 rpm.

The sheets were thermopressed in a hydraulic thermopress machine (JOMAQ, Brazil) to produce the trays (82 x 70 x 23 mm). The sheets were placed in the heated mold (100 °C), and after 2 minutes, the trays were then mold released.

3.2.2.1 Coating

The trays were coated with beeswax (BW) emulsion prepared according to Velickova et al. (2013), with some modifications. The BW was melted in a water bath at 65 °C and then mixed with ethyl alcohol and Tween 80 (25% w/w to the wax content). The emulsion was produced with 1, 2 and 3 g wax / 100 g solution. The trays were coated by immersion in BW emulsion for 3 seconds and then dried at room temperature for 7 days.

The formulations were coded as BCX, where X corresponds to the concentration of beeswax in the coating emulsion.

3.2.3 Characterization of the Trays

3.2.3.1 Thickness and density

The trays thickness was measured with a micrometer (± 0.001 mm) (Digimess, Brazil) at fifteen different points. To determine the trays density, three samples from each formulation with 20 mm x 20 mm were kept in a desiccator with anhydrous calcium chloride (~0% RH) for 20 days and then weighed, according to the procedure described by Müller et al. (2011).

3.2.3.2 Mechanical properties

Tensile tests were performed according to ASTM method D-882-02 (2002) using a texture analyzer (model TA.XT2i Stable Micro Systems, England), ten samples from each formulation and a crosshead speed of 0.8 mm/s. The properties measured were tensile strength, elongation at break and Young's modulus.

3.2.3.3 Weight loss in water

Samples were previously dried for three days in a desiccator containing anhydrous CaCl_2 (~0% RH). After being weighed, the trays were immersed in distilled water (30:1 water/sample w/w) for 48 h at 25 °C. The samples were then removed and dried at 105 °C for 4 h. The weight of the conditioned specimen after treatment was used to determine the % weight loss in water. These tests were conducted in triplicate.

3.2.3.4 Water vapor permeability (WVP)

The water vapor permeability (WVP) of the trays was determined gravimetrically according to the ASTM E-96-00 (2000) under a relative humidity gradient of 33-64%. The tests were conducted in duplicate.

3.2.3.5 Sorption isotherms

The moisture sorption isotherms of the trays were determined through the static method, using saturated saline solutions (Bell and Labuza, 2000). The Guggenheim-Anderson-de Boer (GAB) model (Eq. 1) was used to fit the experimental data, where the M parameter is the equilibrium moisture content (g water/100 g dry solids) at a given water activity (a_w), m_0 is the monolayer water content, and C and K are GAB constants. The GAB model parameters were determined by nonlinear regression using the Origin 8.0 software (OriginLab, EUA). These tests were performed in triplicate.

$$M = \frac{m_0 \cdot C \cdot K \cdot a_w}{(1 - K \cdot a_w)(1 - K \cdot a_w + C \cdot K \cdot a_w)} \quad (1)$$

3.2.3.6 Thermogravimetric analysis (TGA)

The thermal stability of the materials was determined by TGA using a gravimetric thermal analyzer of high resolution (TGA 50, Shimadzu, Japan). The samples were heated from 25 °C to 600 °C at 10 °C/min under nitrogen flow (100 mL/min). DTG curves were obtained using the Software Origin 8.0 (OriginLab, EUA), to verify the maximum degradation temperatures.

3.2.3.7 Scanning electron microscopy (SEM)

The microstructure of the trays was analyzed with a scanning electron microscope (FEI, Quanta 200, USA). The trays were fractured after being immersed in liquid nitrogen and gold-coated using a Sputter Coater (BAL-TEC, SCD-050, USA). All the trays were examined using an accelerating voltage of 30 kV.

3.2.3.8 X-ray diffraction (XRD)

X-ray patterns of the samples were obtained using a X'Pert PRO (Panalytical, Philips, Netherlands) machine with Cu ($k\alpha$) radiation ($\lambda = 1.5406$ angstrom) operating at room temperature, 50 mA, and 40 kV. The scanned 2θ region ranged from 2.0° to 60.0° with a step size of 0.01° and dwell time of 4.0 s. The relative crystallinity index (CI) was estimated from the relative areas of crystalline and amorphous regions (Köksel et al., 1993; Müller et al., 2011).

3.2.3.9 Statistical analysis

The data were analyzed using STATISTICA 8.0 software (Statsoft, Oklahoma), with analysis of variance (ANOVA) and Tukey's test at a 5% significance level.

3.3 RESULTS AND DISCUSSION

3.3.1 Trays Production

All the trays produced were flexible and easy to handle, however with higher beeswax content in the coating (2 wt% and 3 wt%), they were more sticky when compared to BC0 (control) and BC1 (1 wt% BW) trays.

3.3.2 Mechanical Properties, Thickness, and Density

Table 1 presents the results of mechanical properties, thickness, and density of the trays. The BC1 tray had the higher tensile strength (11.5 ± 1.0 MPa), probably because of the better adherence of the coating with 1 wt% BW, that improved the strength of the material.

The trays coated with 2 and 3 wt% BW had significant lower tensile strength and Young's modulus than the control trays. According to others studies (Khwaldia et al., 2010; Velichova et al., 2013; Zhang et al., 2014), this change on mechanical properties was not expected because the beeswax was only on tray surface, and not as an ingredient of the TPS/PLA tray formulation (Muscat et al., 2013; Navarro-Tarazaga et al., 2011; Schmidt et al., 2013).

The coating did not change the elongation capacity of the trays that ranged from 21 to 27%, and the relative high elongations were beneficial because the trays presented some flexibility. Jalalvandi et al. (2016) reported values around 2% for PLA/TPS/montmorillonite nanocomposites, and Pizzoli et al. (2016) reported that elongation of PLA/TPS/gelatin sheets ranged from 3 to 7%.

The Young's modulus ranged from 185 to 294 MPa, the BC0 and BC1 trays presented similar values, and they were higher than the Y.M. of BC2 and BC3 trays, probably due to the lower tensile strength of these formulations, since there were no elongation differences between the trays. Soares et al. (2014) coated TPS/PLA sheets (70/30) with chitosan solution, which had the higher tensile strength (4.5 ± 0.9 MPa) and Young's modulus (380 ± 82 MPa) than the non-coated sheets (1.5 ± 0.3 MPa and 50 ± 18 MPa, respectively).

Table 1 - Mechanical properties, thickness, and density of the coated and non-coated TPS/PLA trays.

Formulation*	σ (MPa)	ϵ (%)	Y.M. (MPa)	Thickness (μm)	Density (g/cm^3)
BC0	10.3 ± 0.9^b	27 ± 19^a	294 ± 20^a	552 ± 53^c	1.29 ± 0.03^a
BC1	11.5 ± 1.0^a	22 ± 14^a	292 ± 17^a	543 ± 37^c	1.21 ± 0.05^{ab}
BC2	7.6 ± 0.5^c	21 ± 8^a	235 ± 23^b	625 ± 46^b	1.27 ± 0.02^{ab}
BC3	6.1 ± 0.6^d	23 ± 14^a	185 ± 17^c	755 ± 54^a	1.19 ± 0.03^b

σ : Tensile strength; ϵ : Elongation at break; Y.M: Young's modulus

*The numbers in the formulation codes concern to beeswax content in the coating emulsion.

Results expressed in (mean \pm standard deviation).

Different letters in the same column indicate significant differences ($p \leq 0.05$) according to Tukey's test.

Some variations in thickness were observed for the same formulation. Although the slot gap of the flat die has been standardized (1.74 mm) to produce the sheets, the thickness varied according to the calender rolls speed and the distance between them, which were adjusted for each formulation to improve the processability. The thickness of the trays ranged from $543 \pm 37 \mu\text{m}$ to $755 \pm 54 \mu\text{m}$, and the coating did not influence the thickness of the BC1 tray, but the thickness of BC2 and BC3 trays differed from the control trays (BC0). The thickness of the BC3 trays was 39% higher than BC0, probably because of the higher apparent viscosity of the coating emulsion with higher BW content (3 wt%) that increased the coating thickness. Velickova et al. (2013) also observed a slight increase in the thickness of edible chitosan films coated with beeswax.

The density of the BC1 and BC2 trays did not differ from control tray (BC0), and the density of BC3 trays ($1.19 \pm 0.03 \text{ g}/\text{cm}^3$) were lower than BC0 ($1.29 \pm 0.03 \text{ g}/\text{cm}^3$), probably due to the lower density of beeswax ($\sim 0.85 \text{ g}/\text{cm}^3$) (Velickova et al., 2013), and consequently the BW coating.

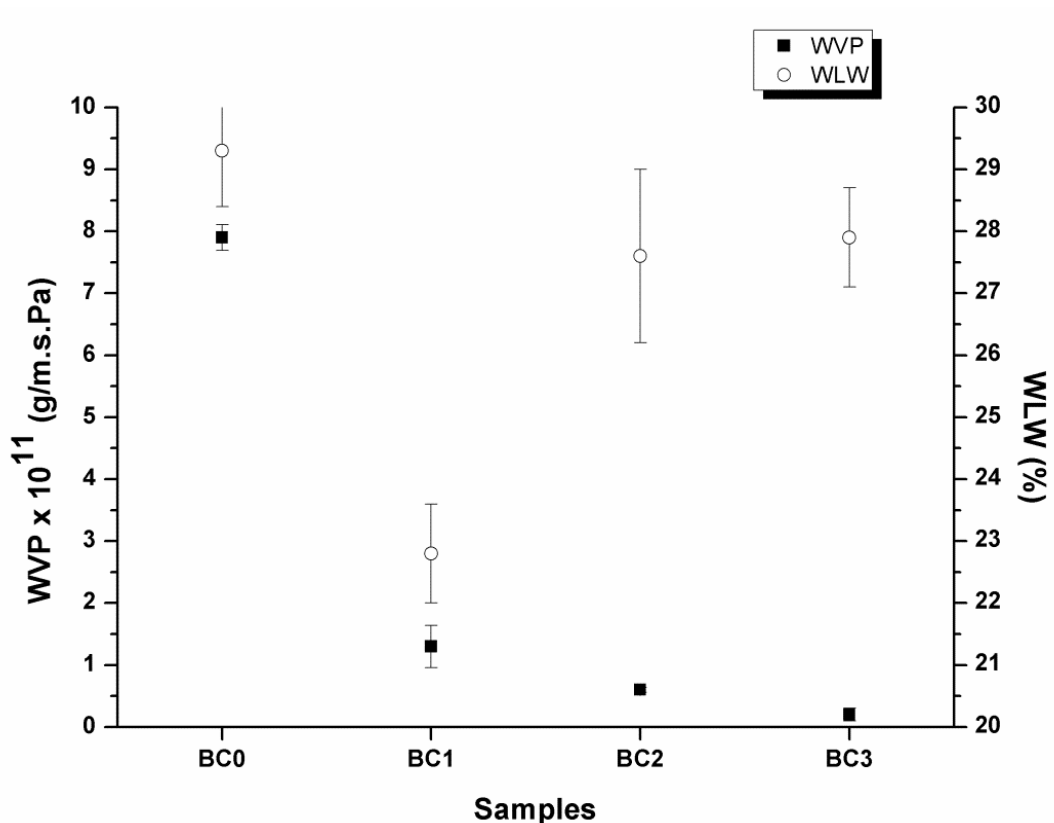
3.3.3 Water Vapor Permeability (WVP) and Weight Loss in Water (WLW)

The WVP of the trays decreased with increasing beeswax content in the coating, ranging from 7.9×10^{-11} to $0.2 \times 10^{-11} \text{ g}/\text{m.s.Pa}$ (Figure 1), because of the physical barrier promoted by beeswax, which is more hydrophobic than TPS/PLA blends. However, the WVP of the trays are higher when compared to conventional plastics such as LDPE ($\sim 4.8 \times 10^{-14} \text{ g}/\text{m.s.Pa}$) (Mali et al., 2010).

Several authors obtained similar results, i.e., materials WVP improvement by lipids incorporation. Velickova et al. (2013) reported a WVP

reduction from 4.15×10^{-11} to 2.66×10^{-11} mol.m/m².s.Pa adding beeswax in chitosan films. According to Martínez-Abad et al. (2014), the WVP of polylactide films coated with beeswax demonstrated a reduction of about 65% as compared with uncoated PLA films. According to Fabra et al. (2008), among lipids, beeswax is one of the most effective materials to reduce WVP, due to its high hydrophobicity and to be solid at room temperature.

Figure 1 - WVP and WLW of the trays

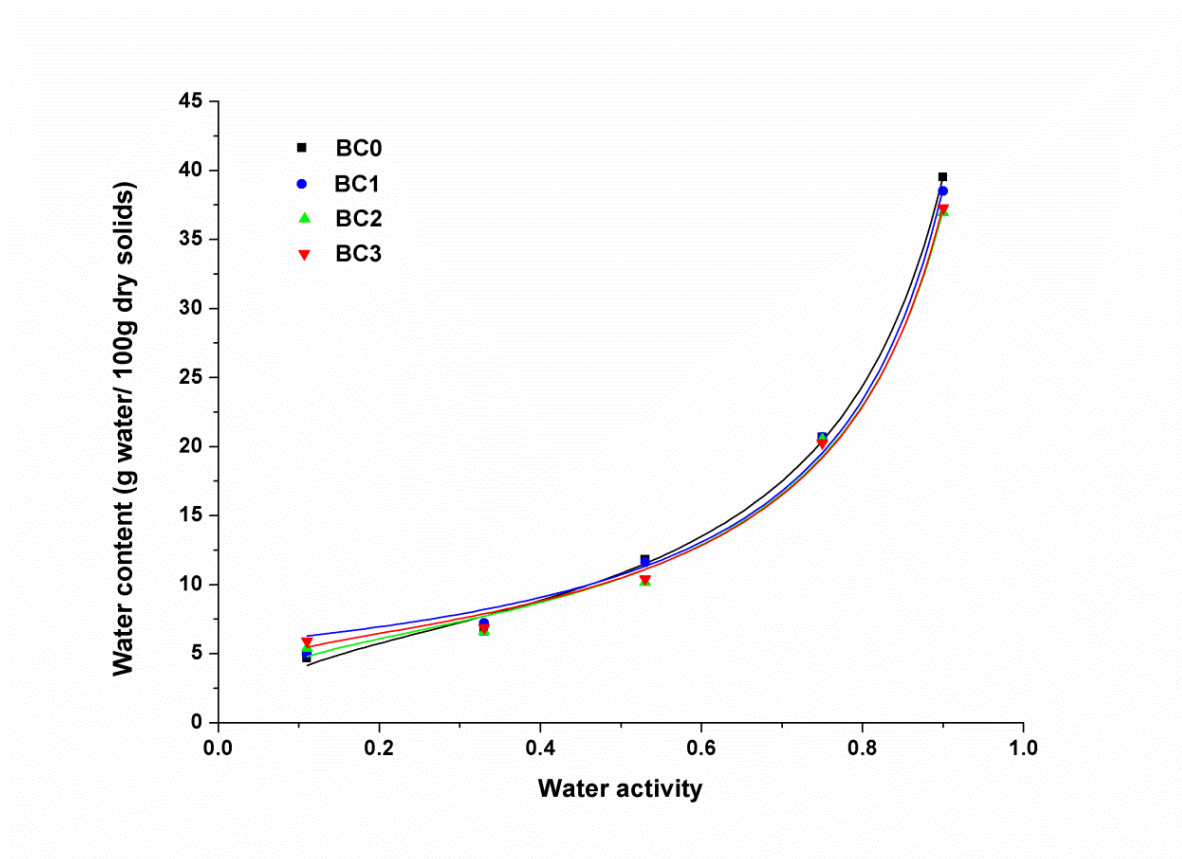


The trays had weight loss in water (WLW) that ranged from 22.8 to 29.3%. The BC1 trays presented the lowest weight loss in water (Figure 1), but increasing the BW content at coating emulsion (2 and 3 wt%) did not change the WLW when compared to the non-coated tray (BC0), probably because the coating with BW concentration above 1 wt% did not adhere properly to the trays, causing the coating delamination during the test. Soares et al. (2013) reported that the TPS/PLA sheets coated with cross-linked chitosan were less soluble in water when compared with non-coated sheets, ranging from 35.2 to 12.8%.

3.3.4 Sorption Isotherms

The sorption isotherms curves of the coated and non-coated TPS/PLA trays were shown in Figure 2, and the GAB model parameters (m_0 , C , and k) were presented in Table 2.

Figure 2 - Sorption isotherms for the TPS/PLA trays coated and non-coated



The isotherms of all trays had similar behavior and the GAB model adjusted well to the experimental data because all coefficients of determination were higher than 0.99. The GAB model was adequate to describe the water sorption isotherms of several TPS-based films (Mali et al., 2005; Müller et al., 2011; Müller et al., 2012; Shirai et al., 2013b; Shirai et al., 2015; Soares et al., 2014).

For all the formulations, the moisture content increased sharply at water activities between 0.8 and 0.9. This fact may be associated with the “water clustering” phenomenon, i.e., the water did not solubilize in the polymeric matrix and remained on the surface (Müller et al., 2012; Shirai et al., 2015). This phenomenon was less intense for the BC2 and BC3 trays because the surfaces of these samples were

smoother and with higher beeswax content than BC0 and BC1, preventing the "water clustering".

Table 2 - Parameters of GAB model for the sorption fitted data of the trays.

Formulation	m_0 (g water/100 g dry solids)	C	k
BC0	6.26	12.74	0.94
BC1	5.63	2.46	0.95
BC2	5.81	24.66	0.94
BC3	5.65	56.82	0.94

m_0 , C e K: parameters of GAB model
Coefficient of determination (r^2) > 0.99

The BC0 trays had the higher monolayer values (m_0) because they were not coated. The m_0 decreased about 10% with the coating application, but the beeswax concentration in the coating emulsion did not influence these values.

The C parameter is associated with the sorption heat of the monolayer, and the results were similar with those reported for starch-based materials (Mali et al., 2005; Müller et al., 2012; Müller et al., 2008). The K parameter is related to multilayer sorption heat, and their values were similar for all formulations.

3.3.5 Thermogravimetric Analysis (TGA)

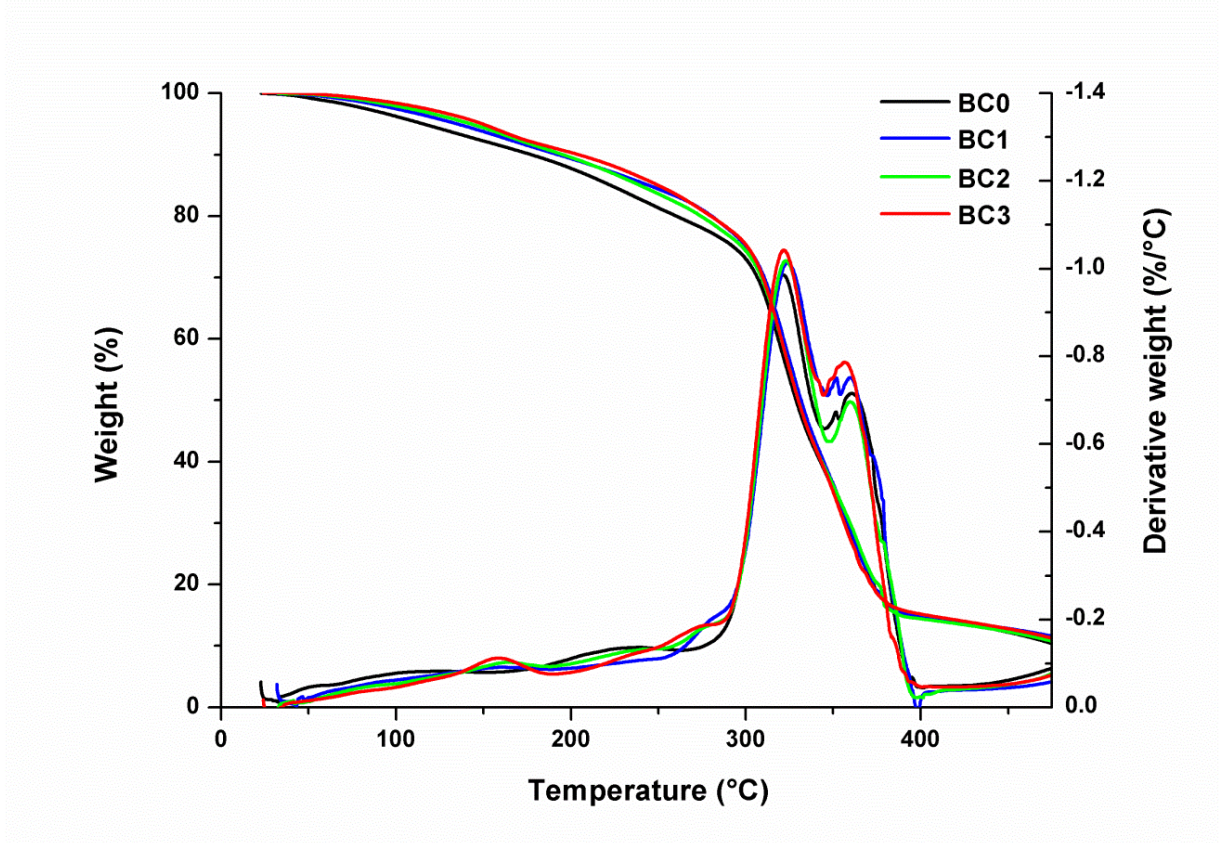
The thermal stability of the coated and non-coated TPS/PLA trays was measured by TGA, and all the samples had two weight loss steps (Figure 3). The first step was related to the starch and the second one corresponded to the thermal degradation of PLA. These results are in agreement with those found by Ohkita and Lee (2006) for PLA/corn starch biocomposites.

The BC0 trays had three steps of thermal degradation, the first peak (~230 °C) was attributed to the volatilization of glycerol (Schlemmer et al., 2010), the second one (~320 °C) was attributed to the thermal degradation of starch (Nayak, 2010; Wang et al., 2007) and the peak at 360 °C was related to the thermal degradation of PLA (Fortunatti et al., 2012).

The coated trays (BC1, BC2, and BC3) had three peaks of thermal degradation, similar to the BC0 trays, but the peak relative to the glycerol volatilization was shifted to a higher temperature (~280 °C), probably due to the interaction with the beeswax. The thermal degradation of pure beeswax occurred in

three steps (294 °C, 373 °C, and 440 °C – data not show) and they did not appear in the trays thermograms due to the low content of BW added to the trays.

Figure 3 - TG and DTG curves for the coated and non-coated TPS/PLA trays



The beeswax content (1, 2 and 3 wt%) affected the thermal stability of glycerol, although the thermal stability of starch and PLA remains unchanged in the coated samples, showing no interactions between the materials and different mechanisms of thermal degradation.

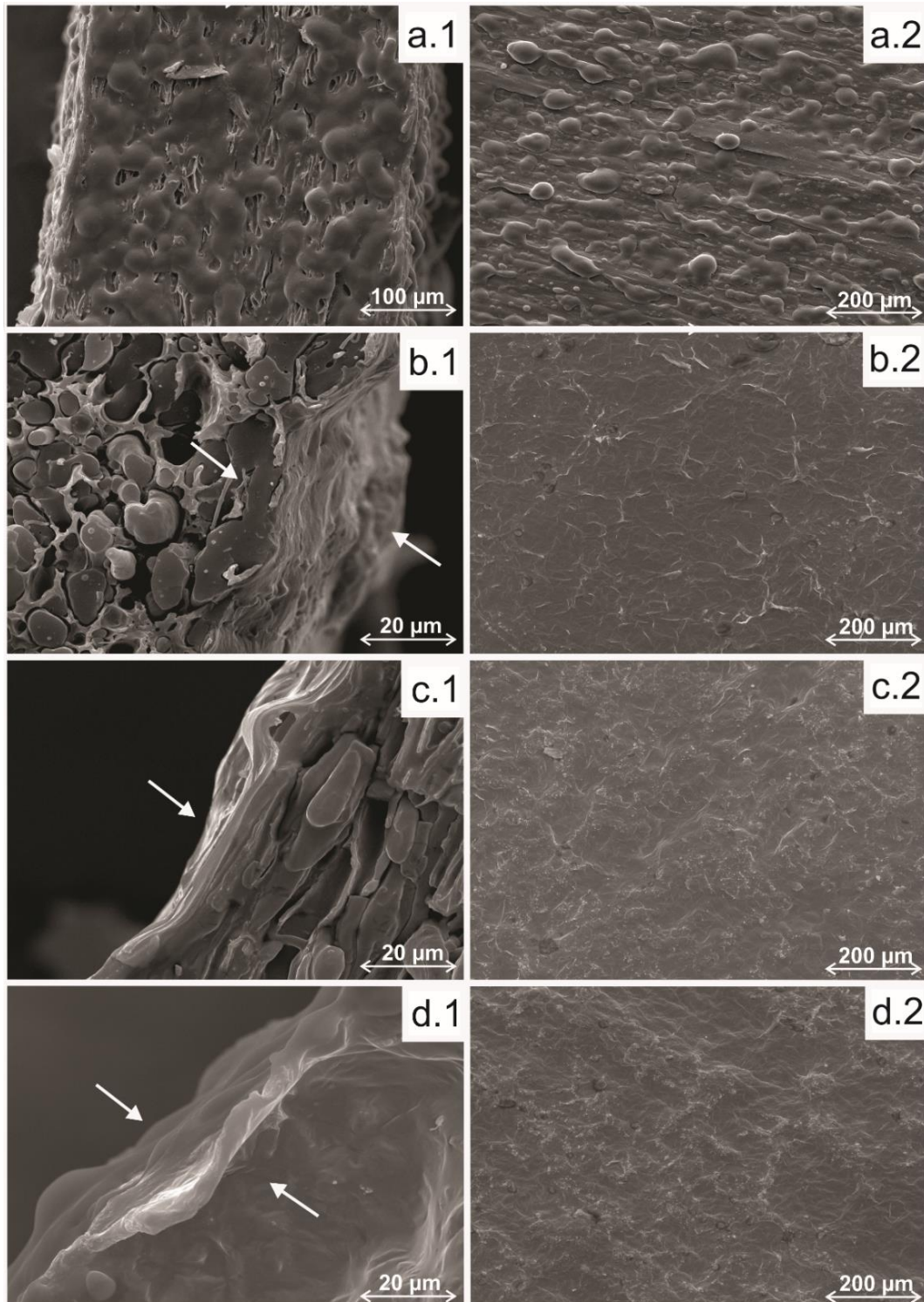
3.3.6 Scanning Electron Microscopy (SEM)

SEM micrographs of the fractures (600x magnification - BC0 and 3000x - BC1, BC2, and BC3) and surfaces (400x magnification) of the trays are shown in Figure 4.

The fracture images (Figure 4 – b.1 and c.1) show some voids and phase separation between PLA and TPS. Shirai et al. (2013b) also observed the presence of voids in TPS/PLA/PBAT films, reporting that the difference between

starch (hydrophilic) and PLA (hydrophobic) explains the presence of these spaces. Other researchers (Müller et al., 2012; Wang et al., 2007; Zhang and Sun, 2004) also reported the incompatibility between PLA and TPS.

Figure 4 - SEM micrographs of fractures (1) and surfaces (2) of samples: (a) BC0, (b) BC1, (c) BC2 and (d) BC3.



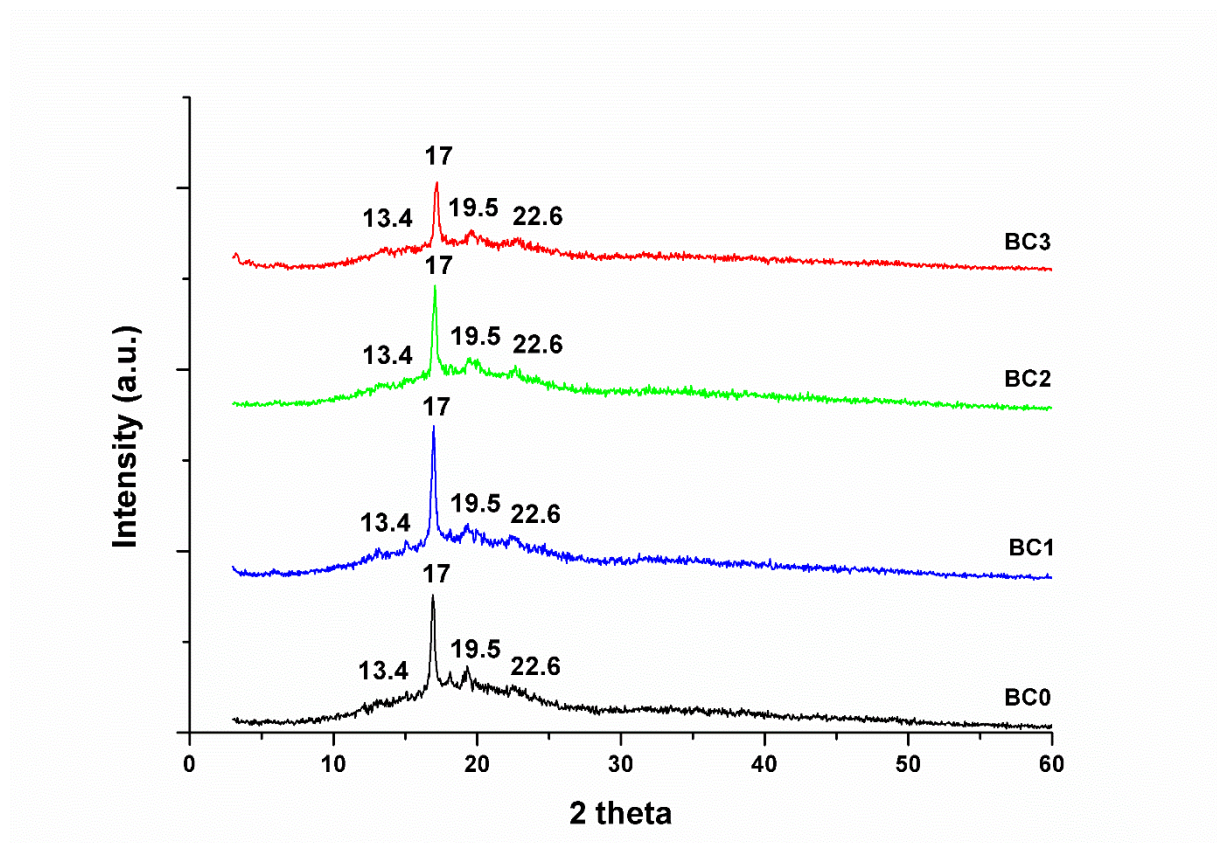
The BW coating layer can be observed in the BC1, BC2 and BC3 trays (Figure 4 - b.1, c.1 and d.1, respectively). The fracture images of these formulations corroborate the results obtained in WVP analysis, proving that BW provides an effective barrier against moisture (Figure 1).

The BC0 tray had an irregular surface (Figure 4 - a.2), due to the non-gelatinized starch granules, while the coated trays BC1, BC2 and BC3 (Figure 4 - b.2, c.2 and d.2, respectively) exhibited a more uniform surface, as a result of the application of the BW emulsion layer.

3.3.7 X-Ray Diffraction (XRD)

X-ray diffraction patterns of BC0, BC1, BC2 and BC3 trays were shown in Figure 5. All the samples presented the crystallinity peaks in the same angle, but with decreasing intensity when greater concentrations of BW were used in the coating.

Figure 5 - X-ray diffractograms of BC0, BC1, BC2 and BC3 trays.



The well-defined and intense peak at $2\theta = 17^\circ$ corresponds to PLA (Ho et al., 2015; Mansa et al., 2015; Soares et al., 2014). The peaks with less intensity at 13.4° , 19.5° and 22.6° are related to starch (Olivato et al., 2013b; Soares et al., 2014; Van Soest et al., 1996), and correspond to the V_H crystallinity type of amylose (Magalhães and Andrade, 2009; Van Soest et al., 1996). According to Van Soest et al. (1996), this type of structure appears when the crystallinity is induced by processing or aging of the materials. The residual crystallinity occurs when the processing is not enough to destroy the structure of the starch granule. The SEM images (Figure 4) showed some residual starch granules, which suggest the residual crystallinity in the trays.

The characteristic peaks of beeswax at $2\theta = 21.4^\circ$ and 23.8° (data not shown) (Attama and Müller-Goymann, 2008; Gaillard et al., 2011) may be overlapped with the starch. The relative crystallinity index (CI) was 16% for BC0, BC1 and BC3 trays and 17% for the BC2 tray, indicating that the beeswax content had no effect on the materials crystallinity because it is present only on the surface. Shirai et al. (2015) studied PLA/TPS sheets and reported a CI of 10.2%.

3.4. CONCLUSION

It was possible to produce TPS/PLA biodegradable trays by flat extrusion, calendering and thermopressing, and with adequate mechanical properties and processability to be produced in large scale. The coating with beeswax is an interesting technique for reducing the water vapor permeability of hygroscopic biodegradable materials.

Acknowledgments

The authors thank CAPES, CNPq and Fundação Araucária for the financial support provided.

References

American Society for Testing and Materials (ASTM), 2002. Standard Test Method for Tensile Properties of Thin Plastic Sheeting. In: D-882-02. Philadelphia: ASTM.

American Society for Testing and Materials (ASTM), 2000. Standard Test Methods for Water Transmission of Material. In: E-96-00. Philadelphia: ASTM.

Atamma, A.A., Müller-Goymann, C.C., 2008. Effect of beeswax modification on the lipid matrix and solid lipid nanoparticle crystallinity. *Colloid Surface A*. 315, 189–195.

Bell, L.N., Labuza, T.P., 2000. Moisture sorption: Practical aspects of isotherm measurement and use, second ed. AACC Egan Press: Egan, USA.

Bonvehi, J.S., Bermejo, F.J.O., 2012. Detection of adulterated commercial Spanish Beeswax. *Food Chem.* 132 (1), 642–648.

Brandelero, R.P.H., Yamashita, F., Grossmann, M.V.E., 2010. The effect of surfactant tween 80 on the hydrophilicity, water vapor permeation, and the mechanical properties of cassava starch and poly (butylenes adipate-co-terephthalate) (PBAT) blend films. *Carbohydr. Polym.* 82, 1102–1109.

Cuq, B., Gontard, N., Guilbert, S., 1995. Edible films and coatings as active layers, in: Rooney, M.L. (Ed.), *Active Food Packaging*. London (UK): Chapman & Hall, pp. 111–142.

Fabra, M.J., Talens, P., Chiralt, A., 2008. Tensile properties and water vapor permeability of sodium caseinate films containing oleic acid-beeswax mixtures. *J. Food Eng.* 85, 393–400.

Fortunati, E., Armentano, I., Zhou, Q., Iannoni, A., Saino, E., Visai, L., Berglund, L. A., Kenny, J.M., 2012. Multifunctional bionanocomposite films of poly (lactic acid), cellulose nanocrystals and silver nanoparticles. *Carbohydr. Polym.* 87, 1596–1605.

Gaillard, Y., Mija, A., Burr, A., Darque-Ceretti, E., Felder, E., Sbirrazzuoli, N., 2011. Green material composites from renewable resources: Polymorphic transitions and phase diagram of beeswax/rosin resin. *Thermochim. Acta*, 521, 90–97.

Ho, M.P., Lau, K.T., Wang, H., Hui, D., 2015. Improvement on the properties of polylactic acid (PLA) using bamboo charcoal particles. *Compos. Part B*. 81, 14–25.

Jalalvandi, E., Majid, R.A., Ghanbari, T., Ilbeygi, H., 2015. Effects of montmorillonite (MMT) on morphological, tensile, physical barrier properties and biodegradability of polylactic acid/starch/MMT nanocomposites. *J. Thermoplast. Compos.* 28 (4), 496–509.

Khawaldia, K., Arab-Tehrany, E., Desobry, S., 2010. Biopolymer Coatings on Paper Packaging Materials. *Compr. Rev. Food Sci. Food Saf.* 9, 82–91.

Köksel, H., Sahbaz, F., Özboy, Ö., 1993. Influence of wheat-drying temperatures on the birefringence and x-ray diffraction patterns of wet-harvested wheat starch. *Cereal Chem.* 70 (4), 481–483.

Li, H., Huneault, M.A., 2007. Effect of nucleation and plasticization on the crystallization of poly (lactic acid). *Polymer*. 48, 6855–6866.

Magalhães, N.F., Andrade, C.T., 2009. Thermoplastic corn starch/clay hybrids: effect of clay type and content on physical properties. *Carbohydr. Polym.* 75, 712–718.

Mali, S., Grossmann, M.V.E., Yamashita, F., 2010. Filmes de amido: produção, propriedades e potencial de utilização. *Semin. Cien. Agrar.* 31 (1), 137–156.

Mali, S., Sakanaka, L.S., Yamashita, F., Grossmann, M.V.E., 2005. Water sorption and mechanical properties of cassava starch films and their relation to plasticizing effect. *Carbohydr. Polym.* 60, 283–289.

Mansa, R., Huanga, C.T., Quintela, A., Rocha, F., Detellier, C., 2015. Preparation and characterization of novel clay/PLA nanocomposites. *Appl. Clay Sci.* 115, 87–96.

- Martínez-Abad, A., Lagarón, J.M., Ocio, M.J., 2014. Antimicrobial beeswax coated polylactide films with silver control release capacity. *Int. J. Food Microbiol.* 174, 39–46.
- Martin, O., Avérous, L., 2001. Poly (lactic acid): plasticization and properties of biodegradable multiphase systems. *Polymer.* 42, 6209–6219.
- Müller, C.M.O., Laurindo, J.B., Yamashita, F., 2011. Effect of nanoclay incorporation method on mechanical and water vapor barrier properties of starch-based films. *Ind. Crop. Prod.* 33, 605–610.
- Müller, C.M.O., Pires, A.T.N., Yamashita, F., 2012. Characterization of thermoplastic starch/poly (lactic acid) blends obtained by extrusion and thermopressing. *J. Brazil. Chem. Soc.* 23 (3), 426–434.
- Müller, C.M.O., Yamashita, F., Laurindo, J.B., 2008. 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. *Carbohydr. Polym.* 72, 82–87.
- Muscat, D., Adhikari, R., McKnight, S., Guo, Q., Adhikari, B., 2013. The physicochemical characteristics and hydrophobicity of high amylose starch–glycerol films in the presence of three natural waxes. *J. Food Eng.* 119, 205–219.
- Navarro-Tarazaga, M.L., Massa, A., Pérez-Gago, M.B., 2011. Effect of beeswax content on hydroxypropyl methylcellulose-based edible film properties and postharvest quality of coated plums (Cv. Angeleno). *LWT - Food Sci. Technol.* 44, 2328–2334.
- Nayak, S. K., 2010. Biodegradable PBAT/Starch nanocomposites. *Polym-Plast. Technol.* 49, 1406–1418.

Ohkita, T., Lee, S.H., 2006. Thermal degradation and biodegradability of poly (lactic acid)/corn starch biocomposites. *J. Appl. Polym. Sci.* 100, 3009–3017.

Olivato, J.B., Grossmann, M.V.E., Bilck, A.P., Yamashita, F., Oliveira, L.M., 2013a. Starch/Polyester films: simultaneous optimisation of the properties for the production of biodegradable plastic bags. *Polímeros*. 23 (2), 1–5.

Olivato, J.B., Nobrega, M.M., Müller, C.M.O., Shirai, M.A., Yamashita, F., Grossmann, M.V.E., 2013b. Mixture design applied for the study of the tartaric acid effect on starch/polyester films. *Carbohydr. Polym.* 92, 1705–1710.

Pizzoli, A.P.O., Marchiore, N.G., Souza, S.J., Santos, P.D.F., Gonçalves, O.H., Yamashita, F., Bracht, L., Shirai, M.A., Leimann, F.V., 2016. Antimicrobial PLA/TPS/gelatin sheets with enzymatically crosslinked surface containing silver nanoparticles. *J. Appl. Polym. Sci.* 133, 1–8.

Polat, S., Uslu, M.K., Aygün, A., Certel, M., 2013. The effects of the addition of corn husk fibre, kaolin and beeswax on cross-linked corn starch foam. *J. Food Eng.* 116, 267–276.

Reis, M.O., Zanela, J., Olivato, J., Garcia, P.S., Yamashita, F., Grossmann, M.V.E., 2014. Microcrystalline cellulose as reinforcement in thermoplastic starch/poly (butylene adipate-co-terephthalate) films. *J. Polym. Environ.* 22, 545–552.

Ren, J., Fu, H., Ren, T., Yuan, W., 2009. Preparation, characterization and properties of binary and ternary blends with thermoplastic starch, poly (lactic acid) and poly (butylene adipate-co-terephthalate). *Carbohydr. Polym.* 77, 576–582.

Schimidt, V.C., Porto, L.M., Laurindo, J.B., Menegalli, F.C., 2013. Water vapor barrier and mechanical properties of starch films containing stearic acid. *Ind. Crop. Prod.* 41, 227–234.

Schlemmer, D., Sales, M.J.A., Resck, I.S., 2010. Preparação, caracterização e degradação de blendas PS/TPS usando glicerol e óleo de buriti como plastificantes. *Polímeros*. 20 (1), 6–13.

Shirai, M.A., Grossmann, M.V.E., Mali, S., Yamashita, F., Garcia, P.S., Muller, C.M.O., 2013a. Development of biodegradable flexible films of starch and poly (lactic acid) plasticized with adipate or citrate ester. *Carbohydr. Polym.* 92, 19–22.

Shirai, M.A., Müller, C.M.O., Grossmann, M.V.E., Yamashita, F., 2015. Adipate and citrate esters as plasticizers for poly (lactic acid)/thermoplastic starch sheets. *J. Polym. Environ.* 23, 54–61.

Shirai, M.A., Olivato, J.B., Garcia, P.S., Müller, C.M.O., Grossmann, M.V.E., Yamashita F., 2013b. Thermoplastic starch/polyester films: Effects of extrusion process and poly (lactic acid) addition. *Mater. Sci. Eng., C*. 33, 4112–4117.

Soares, F.C., Yamashita, F., Müller, C.M.O., Pires, A.T.N., 2013. Thermoplastic starch/poly(lactic acid) sheets coated with cross-linked chitosan. *Polym. Test.* 32, 94–98.

Soares, F.C., Yamashita, F., Müller, C.M.O., Pires, A.T.N., 2014. Effect of cooling and coating on thermoplastic starch/poly (lactic acid) blend sheets. *Polym. Test.* 33, 34–39.

Tulloch, A. P., 1980. Beeswax-composition and analysis. *Bee World*, 61 (2), 47–62.

Van Soest, J.J.G., Hullemana, S.H.D., Wita, D., Vliegthartb, J.F.G., 1996. Crystallinity in starch bioplastics. *Ind. Crop. Prod.* 5, 11–22.

Velickova, E., Winkelhausen, E., Kuzmanova, S., Alves, V.D., Moldão-Martins, M., 2013. Impact of chitosan-beeswax edible coatings on the quality of fresh strawberries (*Fragaria ananassa* cv Camarosa) under commercial storage conditions. *LWT - Food Sci. Technol.* 52, 80–92.

Wang, N., Yu, J., Ma, X., 2007. Preparation and characterization of thermoplastic starch/PLA blends by one-step reactive extrusion. *Polym. Int.* 56, 1440–1447.

Zanela, J., Reis, M.O., Dias, A.P., Mali, S., Grossmann, M.V.E., Yamashita, F., 2015. Laminados biodegradáveis de blendas de amido de mandioca e poli (vinil álcool): efeito da formulação sobre a cor e opacidade. *Polímeros.* 25, 326–329.

Zhang, J.F., Sun, X., 2004. Mechanical properties of poly (lactic acid)/starch composites compatibilized by maleic anhydride. *Biomacromolecules.* 5, 1446–1451.

Zhang, W., Xiao, H., Qian, L., 2014. Beeswax–chitosan emulsion coated paper with enhanced water vapor barrier efficiency. *Appl. Surf. Sci.* 300, 80–85.

CAPÍTULO III

4 CHARACTERIZATION OF COATED BIODEGRADABLE TRAYS BY SPECTROSCOPIC TECHNIQUES

Abstract

Biodegradable trays of thermoplastic starch (TPS)/poly (lactic acid) (PLA) blends were produced by flat extrusion followed by thermopressing. The trays were coated by immersion in beeswax (BW) emulsion (1, 2, and 3 g BW/100 g ethyl alcohol + Tween 80 solution). The structural properties of the coated trays were characterized by Confocal Raman and Infrared spectroscopies to verify the coating-tray and TPS-PLA interactions. The characterization of the TPS/PLA biodegradable trays revealed that despite the low compatibility between starch (hydrophilic) and PLA (hydrophobic) there was interaction by hydrogen bonding between the starch and PLA carbonyl group, characterizing them as an immiscible blend. The BW showed weak interaction with PLA, but this interaction was sufficient to provide a good adhesion of the BW on the surface of the trays, reducing their hygroscopicity and enabling a commercial scale production of this biodegradable trays type.

Key-words: extrusion; vibrational spectroscopy; beeswax; starch.

4.1 INTRODUCTION

Starch-based trays are interesting due to their biodegradability and low cost, but they are highly hygroscopic and hydrophilic because of the thermoplastic starch (TPS) (Avérous et al., 2001; Huneault and Li, 2012). An alternative is to blend TPS with poly (lactic acid) (PLA) to produce less hygroscopic/hydrophilic materials and increased mechanical properties (Martin and Avérous, 2001; Ohkita and Lee, 2006; Shirai et al., 2013; Shirai et al., 2015; Soares et al., 2014; Teixeira et al., 2012; Wang et al., 2008; Xiong et al., 2013). Coating trays with food-grade waxes is also an option, such as beeswax (BW), which comprises a mixture of esters (67 wt%), hydrocarbons (14 wt%), fatty acids (12 wt%), alcohols (1 wt%) and others (6 wt%) (Bonvehi and Bermejo, 2012; Polat et al., 2013; Tulloch, 1980) and has been studied by several researchers (Cuq et al., 1995; Fabra et al., 2008; Martínez-Abad et al., 2014; Polat et al., 2013; Velickova et al., 2013).

The coating when applied on the surface of the tray can migrate, and to verify the interaction among the tray components and/or with the coating, the infrared

spectroscopy techniques (IR) can be used, because they can identify and elucidate the structure of organic substances (Lopes and Fascio, 2004).

Another technique used to characterize materials is the Raman spectroscopy, a nondestructive, fast analysis technique that requires only small sample volumes and nearly no interference of water occurs (Edwards et al., 1996; Gelder et al., 2007; Kizil et al. 2002; Nawrocka and Lamorska, 2013; Vano-Herrera et al., 2015). Moreover, bands in Raman spectra are well resolved compared to similar spectroscopic techniques, such as infrared spectroscopy (Gelder et al., 2007).

In Raman technique with the aid of Confocal microscopy the Raman images of the trays are obtained, showing the distribution of starch, PLA and beeswax, and it is possible to identify the coating layer at the interface of the tray.

The goal of this study was to characterize the components of biodegradable trays coated with beeswax and the interactions between them through Infrared and Confocal Raman spectroscopies.

4.2 EXPERIMENTAL

4.2.1 Materials

The trays were produced with native cassava starch (17% wt amylose, 11% wt moisture) (Tereos Syral do Brasil, Brazil), poly (lactic acid) (PLA) (Ingeo 4043D, NatureWorks LLC, Cargill, USA) and glycerol (Dinâmica, Brazil).

The coating emulsion was produced with beeswax (BW), courtesy of APOMEL (Associação dos produtores de mel de Ortigueira – PR, Brazil), ethyl alcohol P.A. (Exodo Científica, Brazil) and Tween 80 (CAAL, Brazil).

4.2.2 Trays Production

Blends of 52.5 g.100g⁻¹ starch, 17.5 g.100 g⁻¹ glycerol, and 30 g.100g⁻¹ PLA were manually mixed and then extruded to produce pellets. The extrusion was carried out in a pilot single-screw extruder (BGM, EL-25 model, Brazil), with a screw diameter (D) of 25 mm, screw length (L) of 750 mm (L/D ratio of 30), five heating zones and a matrix six 2-mm holes. The barrel temperature profile was set at 90/180/180/140 °C with a screw speed of 30 rpm.

The pellets were extruded to produce sheets in a pilot co-rotating twin-screw extruder (BGM, D-20 model, Brazil) with a screw diameter of 20 mm and L/D ratio 34, five heating zones, flat die slot of 1.74 mm, and coupled with a three-rolls calender (AX Plásticos, Brazil). The temperature profile was set at 90/170/170/170/170 °C and the screw speed at 100 rpm.

The sheets were thermopressed in a hydraulic press (JOMAQ, Brazil) to produce trays. The hydraulic press had electric heating system, PID controller and it was equipped with a tray-shape mold (82 x 70 x 23 mm) plated with PTFE. The sheets were pressed in the mold (100 °C/2 min/100 bar), and demolded.

4.2.2.1 Coating

The trays were coated with BW emulsion prepared according to Velickova et al. (2013), with some modifications. The BW was melted in a water bath at 65 °C and then mixed with ethyl alcohol and Tween 80 (25% w/w to the wax content). The emulsion was produced with 1, 2 and 3 g wax/ 100 g solution. The trays were coated by immersion in BW solution for 3 seconds and then dried at room temperature for 7 days.

The samples were coded as BCX, where X corresponds to the concentration of beeswax in the coating solution.

4.2.3 Characterization of the Trays

4.2.3.1 Confocal Raman spectroscopy

Raman spectra of samples were recorded on a WITec Confocal Raman Microscope System alpha300+. The excitation wavelengths were at 532 and 785 nm. The Raman images were obtained in different thicknesses of the sample and associated with the Raman spectra using a confocal microscope (objective Zeiss EC 100x of field, numerical aperture (NA) of 0.90, working distance (WD) of 0.31 mm).

4.2.3.2 Fourier transform infrared spectroscopy (FT-IR)

The samples were dried in a desiccator containing anhydrous calcium chloride (CaCl_2) prior to the analyses. The Fourier transform infrared (FT-IR) spectra were obtained with an FT-IR spectrophotometer (IRPrestige-21, Shimadzu, Japan) through KBr pellets. The analyses were performed on the Fourier transform mid-infrared zone with wavenumbers ranging from 4,000 to 400 cm^{-1} and a spectral resolution of 2 cm^{-1} . Thirty-two scans were performed on each sample.

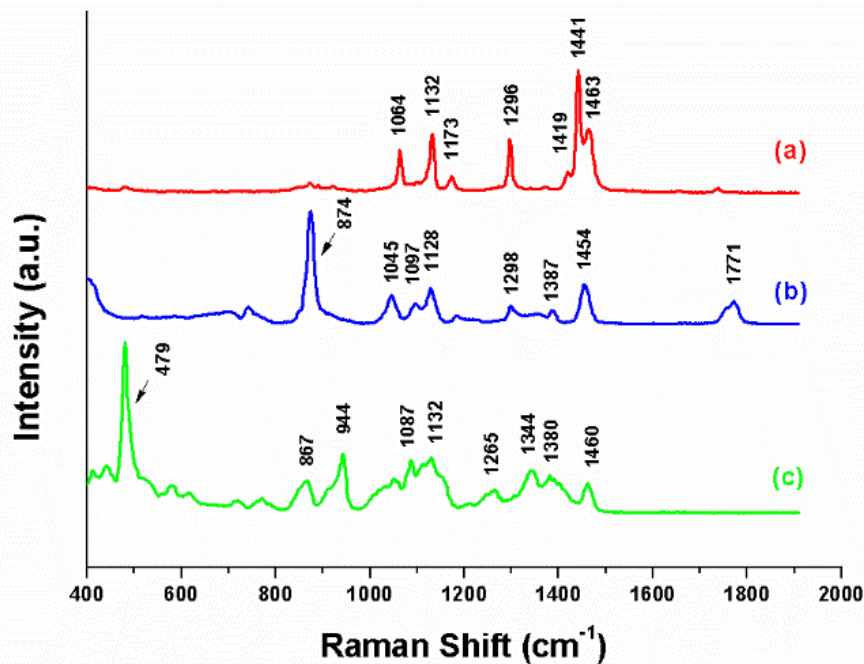
4.3 RESULTS AND DISCUSSION

4.3.1 Confocal Raman Spectroscopy

Figure 1 shows the Raman spectra of solid samples of the beeswax, PLA, and starch. The spectra of the solid materials were used to check the nature of the material, based on the characteristic frequencies, and for the beeswax the frequencies at 1463, 1441, 1419 and 1296 cm^{-1} correspond to the CH_2 deformations and the band at 1173 cm^{-1} is due to the C-C stretching (Edwards et al., 1996; Zimnicka and Hacura, 2006). The band of several esters of acetic acid, sulfonic acid, which are the main components of beeswax, was verified at 1132 cm^{-1} , which corresponds to the C-O-C and C-C stretching mode. The band at 1064 cm^{-1} is relative to the Si-O stretching due presence of the silicon compounds (Zimnicka and Hacura, 2006).

In the Raman spectrum of PLA (Figure 1b), the band associated with stretching of the carbonyl group ($\text{C}=\text{O}$) was observed at 1771 cm^{-1} . The bands at 1454 and 1387 cm^{-1} correspond to the CH_3 asymmetric and symmetric deformations mode, respectively (Jarmelo et al., 2012; Vano-Herrera et al., 2015). The C-H deformation had a band at 1298 cm^{-1} , CH_3 rocking modes at 1128 cm^{-1} , C-O-C bond stretching at 1097 cm^{-1} and the stretching vibration of the C-C at 1045 cm^{-1} . The C-COO stretching was responsible for the very strong band at 874 cm^{-1} and has been assigned to semicrystalline and amorphous polymers (Auras et al., 2010; Jarmelo et al. 2012; Vano-Herrera et al., 2015).

Figure 1 - Raman spectra of beeswax (a), PLA (b) and starch (c)



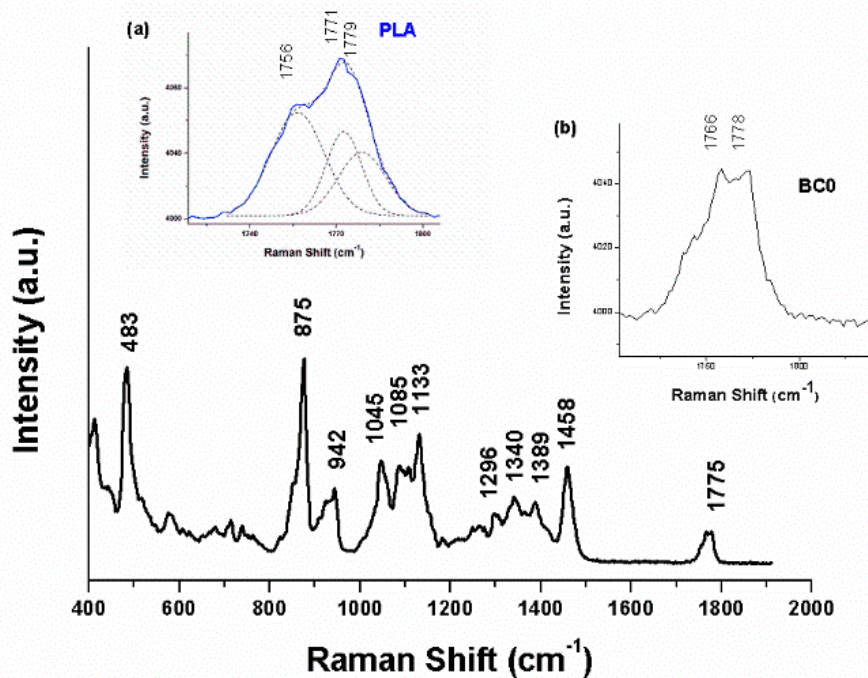
In Figure 1c the Raman frequencies between 800 and 1500 cm^{-1} are characteristic of polysaccharides (amylose, amylopectin, and starch) and mainly originate from the vibrational state of its monomer glucose unit (Kizil et al., 2002). The Raman band at 479 cm^{-1} is attributed to the vibrations of the pyranose ring in the glucose unit of starch. The band at 867 cm^{-1} is assigned to the C(1)-H and CH_2 deformation, and the 944 cm^{-1} band is related to the skeletal modes vibrations of α -1,4 (C-O-C) glycosidic bonds. Raman band at 1087 cm^{-1} could be attributed to the C-O-H deformation, the band at 1132 cm^{-1} was attributed to the contribution of two main vibrational modes: C-O stretching and C-O-H deformation and at 1265 cm^{-1} to the side chain related CH_2OH , that is characteristic of the V-form amylose. The band at 1344 cm^{-1} is due to C-H deformation, and the bands at 1380 and 1460 cm^{-1} were attributed to CH_2 deformation (Kizil et al., 2002; Wang et al., 2015).

Figure 2 shows the Raman spectra of the surface BC0 tray, with a highlight at the region around 1770 cm^{-1} (insert **b**) and a highlight at the same region of the PLA Raman spectra (insert **a**).

No significant variations were observed in the starch bands, at 483, 942, 1085, 1133, 1340 and 1389 cm^{-1} , and at 875, 1045, 1296, 1458 and 1775 cm^{-1} ,

relative to PLA. However, as can be seen in the highlight of the region around 1770 cm^{-1} (Figure 2 - Insert **a**), the band referring to the C=O stretch of the PLA presents three distinct bands in 1756, 1771 and 1779 cm^{-1} , that suffer displacement and variation of the same relative intensity in the spectrum BC0 sample, where two well-defined bands were observed in 1766 and 1778 cm^{-1} (Figure 2 - Insert **b**).

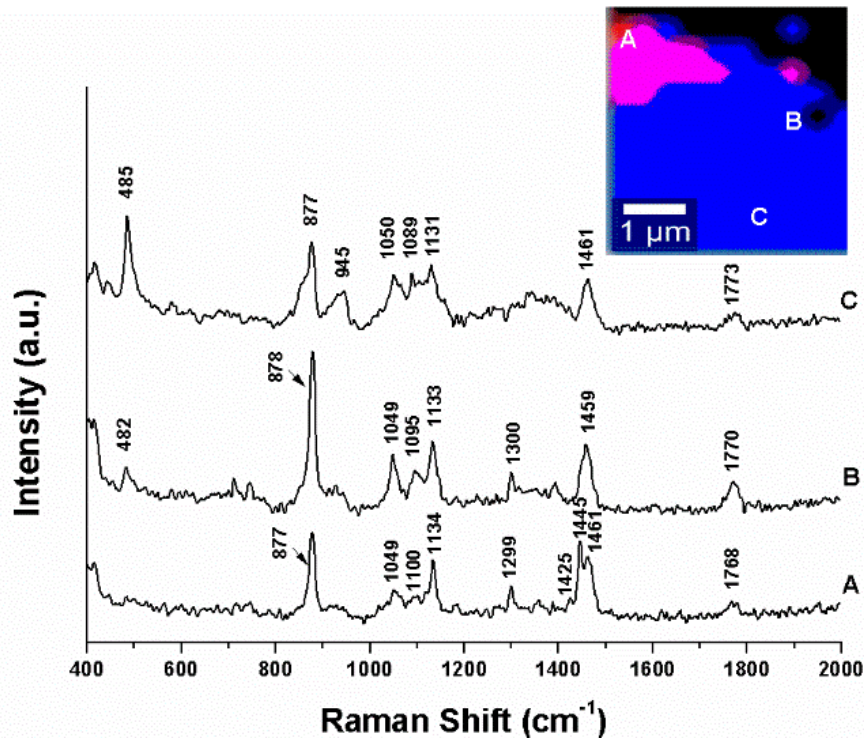
Figure 2 - Raman spectra of BC0 tray.



According to the structure of these compounds, it can be considered weak hydrogen bonds interaction between the starch groups and carbonyl of the PLA.

Figure 3 shows the Raman spectra of the BC1 tray at different points, depending on the thickness of the sample. The image was obtained simultaneously with the Raman spectra, and the characteristic spectral variations of the compounds studied were then selected. The color variation close to point **A** (red) indicates that the spectra referring to beeswax were predominant and in the area corresponding to blue color where the points **B** and **C** are located, the frequencies observed were associated with PLA and starch.

Figure 3 - Raman spectra associated with the image in different thickness of the BC1 tray.



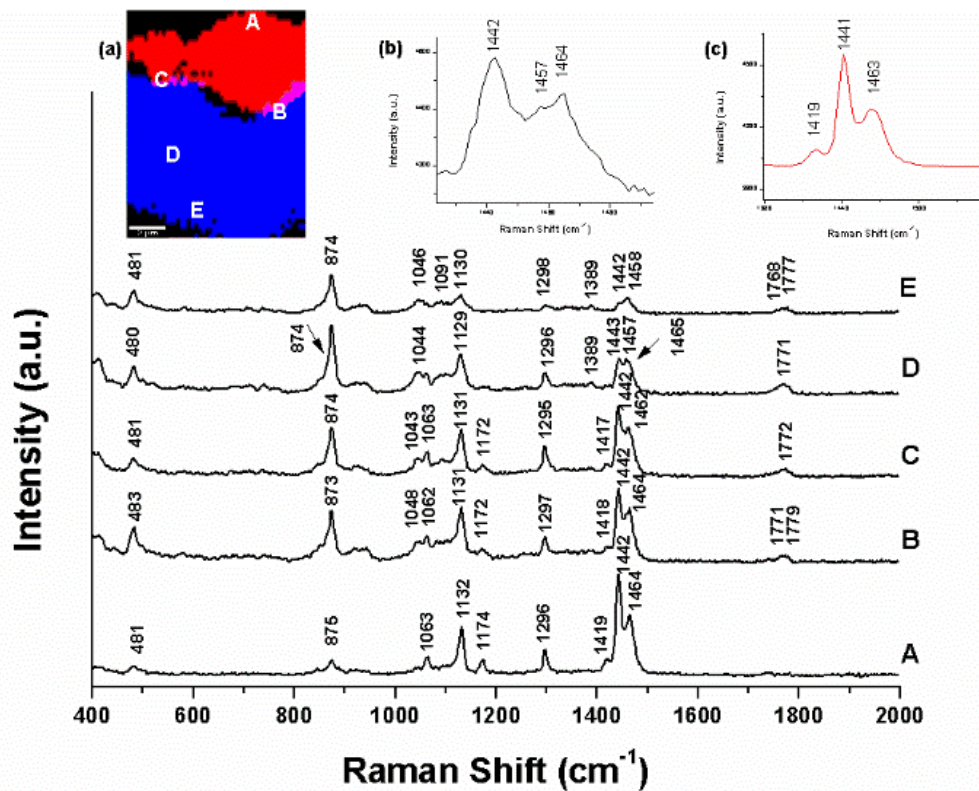
The point **A** (Figure 3) is close to the interface between the tray (TPS/PLA) and the coating (beeswax emulsion), and it was observed that the 1296 cm^{-1} band previously assigned to the CH_2 deformation in the wax spectrum decreased in intensity and shifted to 1299 cm^{-1} and the 1441 cm^{-1} band also attributed to the CH_2 deformation shifted to 1445 cm^{-1} . The characteristic bands of starch were not observed in this spectrum, and the frequency related to the carbonyl of the PLA structure was observed at 1768 cm^{-1} . This result may indicate that there is a weak interaction between beeswax and PLA by hydrogen bonding.

Raman spectra and image of the BC2 tray as a function of sample thickness are showed in Figure 4. There was a predominance of beeswax characteristic bands (Figure 1a) at the point **A** (Figure 4), which did not suffer displacement. Only the band at 1296 cm^{-1} appears, as previously observed, with low relative intensity compared to the beeswax spectra and the low-intensity bands related to PLA at 875 cm^{-1} and starch at 481 cm^{-1} .

Point **B** is the interface between the beeswax layer and the PLA and TPS blend. At this point a shoulder was observed at 1457 cm^{-1} (Figure 4 - Insert **b**), which

may be related to the CH₃ asymmetric deformation of PLA and/or with an interaction between the C=O group of PLA by hydrogen bonding with beeswax CH₂ group, because in the beeswax Raman spectra this band was not observed (Figure 4 - insert c).

Figure 4 - Raman spectra associated with the image in different thickness of the BC2 tray.



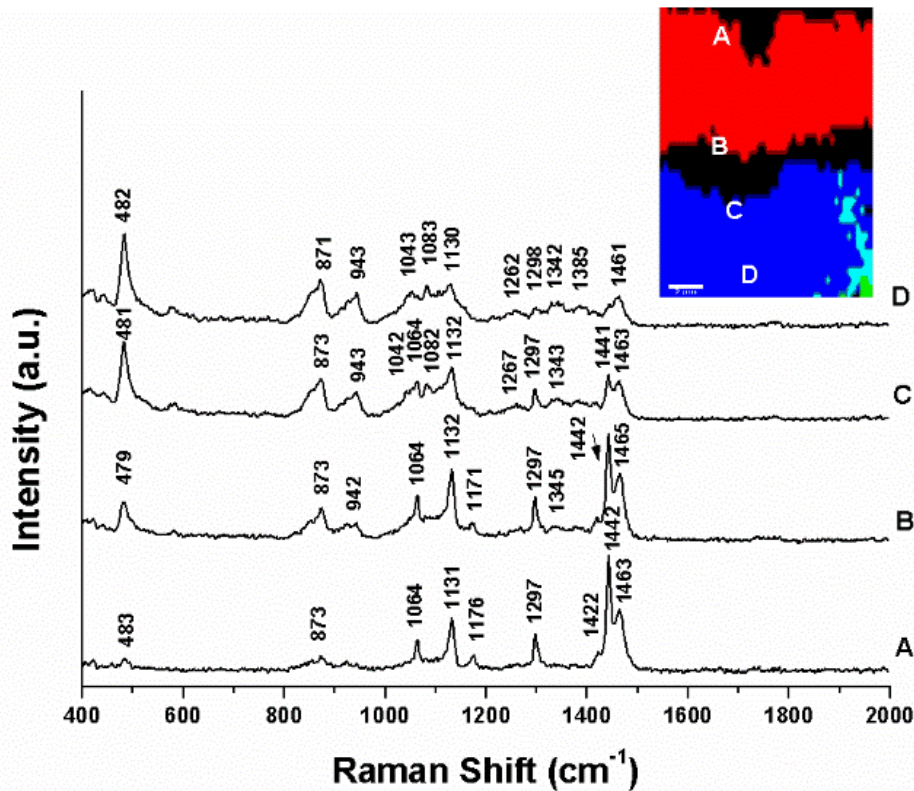
At point **C**, which is also an interface between beeswax layer and the TPS/PLA blends, the shoulder was not observed at 1457 cm⁻¹, even with the presence of characteristic bands of all the compounds involved.

At points **D** and **E**, the PLA and starch spectra were predominant, but the 1443 and 1465 cm⁻¹ bands were characteristics of beeswax and the band at 1457 cm⁻¹ was related to PLA. The band at 1457 cm⁻¹ presented relative intensity to the band at 874 cm⁻¹ similar to the pure PLA spectra (Figure 2).

Figure 5 shows the Raman spectra and image of the BC3 tray, as a function of sample thickness. At point **A**, the characteristic bands of beeswax were observed, as observed at point **A** of Figure 4 (BC2 tray). At point **B**, despite the

increased intensity of the starch and PLA bands, the beeswax bands had the same characteristic frequencies.

Figure 5 - Raman spectra associated with the image in different thickness of the BC3 tray.



At point **C** it was observed that the starch bands were more intense than the PLA bands, but still, the beeswax bands were observed at 1064, 1441 and 1463 cm^{-1} . Similarly, at the point **D**, both PLA and starch characteristic bands were observed.

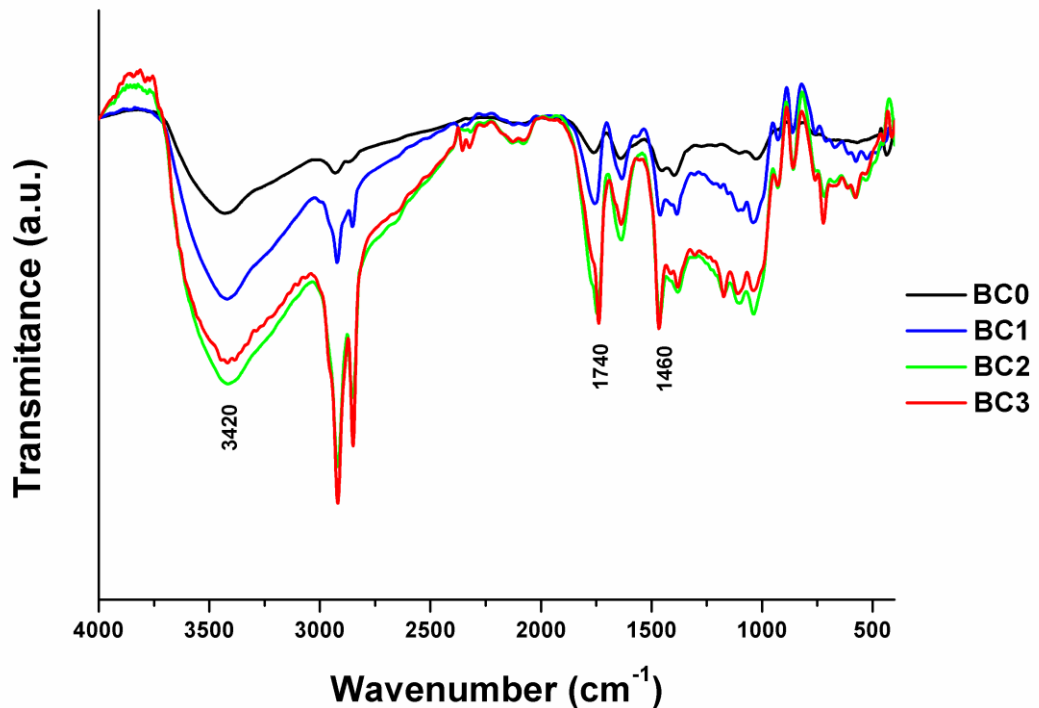
4.3.2 Fourier Transform Infrared Spectroscopy (FT-IR)

Figure 6 shows the FT-IR spectra of BC0, BC1, BC2 and BC3 trays. The region of the wavenumber around 3420 cm^{-1} can be attributed to the hydrogen interactions due to the presence of hydroxyl groups in the starch, glycerol and in the ends of the PLA chain (Shirai et al., 2013), as well as in the compounds present in beeswax (O-H stretching).

Peaks near 2900 and 2850 cm^{-1} correspond to C-H stretching (Pavia, 2001; Verdelheze et al., 2012) present in starch, PLA, glycerol, and BW. The intensities of these peaks, in the case of aliphatic compounds, increase with the carbonic chain length (Barbosa, 2007). The peak intensities were higher for coated trays with BW solution, probably due to the aliphatic hydrocarbons characteristic of the BW.

Bands around 1750 cm^{-1} correspond to the carbonyl group stretching ($\text{C}=\text{O}$) which is present in the structure of the PLA (Shirai et al., 2013; Wang et al., 2007) and around 1740 and 1720 cm^{-1} are attributed to the aliphatic aldehydes ($\text{C}=\text{O}$) (Barbosa, 2007) present in BW. There was a coalescence of these peaks, probably due to the weak PLA-BW interactions.

Figure 6 - FTIR spectra of BC0, BC1, BC2 and BC3 trays.



The band in the range of 1630 cm^{-1} can be attributed to the O-H angular deformation, probably due to the water absorbed by KBr, because it is very

hygroscopic (Barbosa, 2007) and the near peak at 1460 cm^{-1} corresponds to the symmetrical angular deformation of CH_2 (Barbosa, 2007).

Bands between 1300 and 1000 cm^{-1} are attributed to C-O bond stretching (Pavia, 2001). In this region, there are characteristic peaks of starch, referring to C-O-C bond stretching. These peaks can be attributed of the glucose ring O-C stretch (Ning et al., 2007). Bands around $725\text{-}720\text{ cm}^{-1}$ correspond to the asymmetric angular deformation of CH_2 group, being evident in long chain compounds (Barbosa, 2007).

Differences were observed between the spectra, because there was an increase in the peaks intensity when the coating was present, besides the characteristic peaks of the beeswax. It was possible to observe by the spectra weak interaction between PLA and BW.

4.4 CONCLUSION

The characterization of the TPS/PLA biodegradable trays revealed that despite the low compatibility between starch (hydrophilic) and PLA (hydrophobic) there was interaction by hydrogen bonding between the starch and PLA carbonyl group, characterizing them as an immiscible blend. The BW showed weak interaction with PLA, but this interaction was sufficient to provide a good adhesion of the BW on the surface of the trays, reducing their hygroscopicity and enabling a commercial scale production of this biodegradable trays type.

Acknowledgments

The authors thank CAPES, CNPq and Fundação Araucária for the financial support. We would like to express our appreciation to the Spectroscopy Laboratory (SPEC) at the PROPPG/UEL Multiuser Center.

References

- Auras, R.A., Lim, L.T., Selke, S.E.M., Tsuji, H., 2010. Poly(lactic acid): synthesis, structures, properties, processing, and applications. John Wiley & Sons, Inc., Hoboken, New Jersey.
- Avérous, L., Fringant, C., Moro, L., 2001. Starch-based biodegradable materials suitable for thermoforming packaging. *Starch-Stärke*. 53, 368–371.
- Barbosa, L.C.A., 2007. Espectroscopia no infravermelho na caracterização de compostos orgânicos. Viçosa, UFV.
- Bonvehi, J.S., Bermejo, F.J.O., 2012. Detection of adulterated commercial Spanish Beeswax. *Food Chem.* 132 (1), 642–648.
- Cuq, B., Gontard, N., Guilbert, S., 1995. Edible films and coatings as active layers, in: Rooney, M.L. (Ed.), *Active Food Packaging*, London (UK): Chapman & Hall, pp. 111–142.
- Edwards, H.G.M., Farwel, D.W., Daffner, L., 1996. Fourier-transform Raman spectroscopic study of natural waxes and resins. I. *Spectrochim. Acta A*, 52, 1639–1648.
- Fabra, M.J., Talens, P., Chiralt, A., 2008. Tensile properties and water vapor permeability of sodium caseinate films containing oleic acid-beeswax mixtures. *J. Food Eng.* 85, 393–400.
- Gelder, J.D., Gussem, K.D., Vandenabeele, P., Moens, L., 2007. Reference database of Raman spectra of biological molecules. *J. Raman Spectrosc.* 38, 1133–1147.
- Huneault, M.A., Li, H., 2012. Preparation and properties of extruded thermoplastic starch/polymer blends. *J. Appl. Polym. Sci.* 126, 96–108.

Jarmelo, S., Marques, D.A.S., Simões, P.N., Carvalho, R.A., Batista, C.M.S.G., Araujo-Andrade, C., Gil, M.H., Fausto, R., 2012. Experimental (IR/Raman and $^1\text{H}/^{13}\text{C}$ NMR) and Theoretical (DFT) Studies of the Preferential Conformations Adopted by L Lactic Acid Oligomers and Poly(L-lactic acid) Homopolymer. *J. Phys. Chem. B.* 116, 9–21.

Kizil, R., Irudayaraj, J., Seetharaman, K., 2002. Characterization of Irradiated Starches by Using FT-Raman and FTIR Spectroscopy. *J. Agric. Food Chem.* 50, 3912–3918.

Lopes, W.A., Fascio, M., 2004. Esquema para interpretação de espectros de substâncias orgânicas na região do infravermelho. *Quím. Nova*, 27 (4), 670–673.

Martínez-Abad. A., Lagarón, J.M., Ocio, M.J., 2014. Antimicrobial beeswax coated polylactide films with silver control release capacity. *Int. J. Food Microbiol.* 174, 39–46.

Martin, O., Avérous, L., 2001. Poly(lactic acid): plasticization and properties of biodegradable multiphase systems. *Polymer*, 42, 6209–6219.

Nawrocka, A., Lamorska, J., 2013. Determination of Food Quality by Using Spectroscopic Methods, in: Grundas, S., Stepniewski, A. (Eds.), *Advances in Agrophysical Research*, pp. 347–367.

Ning, W., Jiugao, Y., Xiaofei, M., Ying, W., 2007. The influence of citric acid on the properties of thermoplastic starch/linear low-density polyethylene blends. *Carbohydr. Polym.* 67, 446–453.

Ohkita, T., Lee, S.H., 2006. Thermal degradation and biodegradability of poly (lactic acid)/corn starch biocomposites. *J. Appl. Polym. Sci.* 100, 3009–3017.

Pavia, D.L., Lampman, G.M., Kriz, G.S., Vyvyan, J.R., 2001. Introdução à espectroscopia. Tradução da 4^o ed. norte-americana. Ed. Cengage Learning.

Polat, S., Uslu, M.K., Aygün, A., Certel, M., 2013. The effects of the addition of corn husk fibre, kaolin and beeswax on cross-linked corn starch foam. *J. Food Eng.* 116, 267–276.

Shirai, M.A., Grossmann, M.V.E., Mali, S., Yamashita, F., Garcia, P.S., Muller, C.M.O., 2013. Development of biodegradable flexible films of starch and poly(lactic acid) plasticized with adipate or citrate ester. *Carbohydr. Polym.* 92, 19–22.

Shirai, M.A., Müller, C.M.O., Grossmann, M.V.E., Yamashita, F., 2015. Adipate and Citrate Esters as Plasticizers for Poly(Lactic Acid)/Thermoplastic Starch Sheets. *J. Polym. Environ.* 23, 54–61.

Soares, F.C., Yamashita, F., Müller, C.M.O., Pires, A.T.N., 2014. Effect of cooling and coating on thermoplastic starch/poly(lactic acid) blend sheets. *Polym. Test.* 33, 34–39.

Teixeira, E.M., Curvelo, A.A.S., Corrêa, A.C., Marconcini, J.M., Glenn, G.M., Mattoso, L.H.C., 2012. Properties of thermoplastic starch from cassava bagasse and cassava starch and their blends with poly (lactic acid). *Ind. Crop. Prod.* 37, 61–68.

Tulloch, A.P., 1980. Beeswax-composition and analysis. *Bee World*, 61 (2), 47–62.

Vano-Herrera, K., Misiun, A., Vogt, C., 2015. Preparation and characterization of poly(lactic acid)/poly(methyl methacrylate) blend tablets for application in quantitative analysis by micro Raman spectroscopy. *J. Raman Spectrosc.* 46, 273–279.

Velickova, E., Winkelhausen E., Kuzmanova, S., Alves, V.D., Moldão-Martins, M., 2013. Impact of chitosan-beeswax edible coatings on the quality of fresh strawberries

(*Fragaria ananassa* cv Camarosa) under commercial storage conditions. *LWT - Food Sci. Technol.* 52, 80–92.

Vercelheze, A.E.S., Fakhouri, F.M., Dall'Antônia, L.H., Urbano, A., Youssef, E.Y., Yamashita, F., Mali, S., 2012. Properties of baked foams based on cassava starch, sugarcane bagasse fibers and montmorillonite. *Carbohydr. Polym.* 87 (2), 1302–1310.

Wang, N., Yu, J., Chang, P.R., Ma, X., 2008. Influence of formamide and water on the properties of thermoplastic starch/poly(lactic acid) blends. *Carbohydr. Polym.* 71, 109–118.

Wang, N., Yu, J., Ma, X., 2007. Preparation and characterization of thermoplastic starch/PLA blends by one-step reactive extrusion. *Polym. Int.* 56, 1440–1447.

Wang, S., Li, C., Copeland, L., Niu, Q., Wang, S., 2015. Starch Retrogradation: A Comprehensive Review. *Compr. Rev. Food Sci. Food Saf.* 14, 568–585.

Xiong, Z., Li, C., Ma, S., Feng, J., Yang, Y., Zhang, R., Zhu, J., 2013. The properties of poly(lactic acid)/starch blends with a functionalized plant oil: Tung oil anhydride. *Carbohydr. Polym.* 95, 77–84.

Zimnicka, B., Hacura, A., 2006. An Investigation of Molecular Structure and Dynamics of Crude Beeswax by Vibrational Spectroscopy. *Polish J. of Environ. Stud.* 15 (4A), 112–114.

CAPÍTULO IV

5 EFEITO DO REVESTIMENTO COMESTÍVEL E DA EMBALAGEM BIODEGRADÁVEL SOBRE AS CARACTERÍSTICAS FÍSICO-QUÍMICAS E MICROBIOLÓGICA DE TOMATE-CEREJA (*Solanum Lycopersicum* var. *cerasiforme*) PROVENIENTES DE PRODUÇÃO ORGÂNICA

Resumo

Foram estudadas as características físico-químicas e microbiológicas de tomates-cereja, provenientes de sistema de produção orgânica, revestidos com goma arábica e contendo natamicina como antimicrobiano durante o armazenamento a 20 °C por 30 dias. Os frutos foram embalados em bandejas biodegradáveis de amido/poli (ácido láctico) revestidas com cera de abelha e em bandejas sem revestimento. Foram determinadas a perda de massa, cor, firmeza, teor sólidos solúveis, acidez titulável, pH e contagem de bolores e leveduras dos tomates-cerejas e as propriedades mecânicas das bandejas. O revestimento não ficou uniformemente distribuído sobre a superfície dos tomates-cerejas e não foi eficaz na redução de contagem de bolores e leveduras. O revestimento comestível retardou a perda de firmeza, redução da acidez titulável e alteração da cor de tomates-cerejas em comparação com os frutos sem revestimento até o 8º dia de armazenamento. Entretanto do 8º ao 30º dia de armazenamento não foi observada diferença entre os frutos com e sem revestimento. O revestimento tem potencial para estender a vida de prateleira de tomates-cerejas, porém são necessários estudos adicionais para melhorar a distribuição do revestimento no fruto. As bandejas apresentaram estáveis durante todo o período de armazenamento, sem alterações significativas nas suas propriedades mecânicas, sendo possível substituir as embalagens à base de petróleo por biodegradáveis sem prejudicar a qualidade do produto embalado.

Palavras-chave: antifúngico; embalagem biodegradável; filme comestível.

5.1 INTRODUÇÃO

A produção e comercialização do tomate-cereja (*Solanum lycopersicum* var. *cerasiforme*) no Brasil têm crescido nos últimos anos (SEAB, 2016), este se caracteriza por seu tamanho reduzido, sabor adocicado, textura firme e coloração vermelha atrativa, devido ao elevado teor de licopeno (LENUCCI et al., 2006; SILVA et al., 2011). O tomate-cereja é um fruto climatérico que tem uma vida de prateleira limitada, variando de cinco a sete dias dependendo do momento da colheita, sendo altamente susceptível a injúrias mecânicas e deterioração (podridão)

pós-colheita causada por microrganismos (ALI et al., 2010; GUERREIRO et al., 2016; TRONCOSO-ROJAS et al., 2013).

A aplicação de revestimentos semipermeáveis indica melhora na vida de armazenamento de frutas e legumes (CHIEN; SHEU; LIN, 2007; JIANG et al., 2013; OJAGH et al., 2010). Revestimentos comestíveis podem estender a vida útil de frutas e hortaliças, reduzindo a perda de umidade e taxa de respiração, impedindo danos físicos e melhorando a aparência do produto, além de não agredirem o meio ambiente. Estes revestimentos são normalmente baseados em polissacarídeos, proteínas e lipídios, isoladamente ou em combinação (ALI et al., 2010, FAGUNDES et al., 2014). A goma arábica (goma acácia) (GA) é um coloide vegetal obtido da exsudação de árvores de acácias (BEMILLER; HUBER, 2010) e é empregada extensivamente no setor industrial devido às suas propriedades de emulsificação, formação de filme e encapsulação (MOTLAGH et al., 2006) e tem sido utilizada em diversos trabalhos como revestimento comestível (ALI et al., 2010; JIANG et al., 2013; MAQBOOL et al., 2011).

Ali et al. (2010) usaram 10% de goma arábica como revestimento comestível em tomates armazenados a 20 °C, e o processo de amadurecimento foi adiado e a vida de armazenamento dos tomates foi estendida. Maqbool et al. (2011) também sugeriram a utilização de 10% de goma arábica combinada com óleo de canela a 0,4% como biofungicida para controlar antracnose pós-colheita em frutos tropicais como banana e mamão.

A natamicina (NA) é um agente antifúngico natural produzido por *Streptomyces natalensis* e possui atividade contra amplo espectro de bolores e leveduras, porém não apresenta atividade contra bactérias (WELSCHER et al., 2007). O mecanismo de ação da natamicina é resultante da sua ligação com moléculas de esteróis na membrana celular fúngica, causando distúrbios nos processos celulares (LINDSAY, 2010). É um dos poucos antifúngicos reconhecido pela FDA como um aditivo alimentar e classificado como um composto GRAS (*Generally Regarded As Safe*), e é amplamente utilizada na indústria de alimentos como um conservante alimentar natural para a prevenção da contaminação de bolores em bebidas, queijos, frutas, carnes curadas e salsichas (CHEN; LU; DU, 2008; CONG, ZHANG; DONG, 2007; DELVES-BROUGHTON; THOMAS; WILLIAMS, 2006).

Geralmente os tomates-cereja são comercializados em bandejas produzidas com materiais não renováveis (poli (tereftalato de etileno) ou poliestireno) e essas embalagens podem levar vários anos para se degradar, gerando acúmulo de resíduos no meio ambiente. Portanto, o uso de embalagens biodegradáveis é uma alternativa para embalagens plásticas e tem sido encorajado em diversos trabalhos (CHEA et al., 2015; DEBIAGI et al., 2014; KAISANGSRI; KERDCHOECHUEN; LAOHAKUNJIT, 2014; VERCELHESE et al., 2012). O poli (ácido láctico) (PLA) é um polímero biodegradável que é sintetizado a partir do ácido láctico (AURAS; SINGH; SINGH, 2006), no entanto, é um polímero mais caro (~US\$ 3,00/kg) que os convencionais (polietileno de baixa densidade - ~US\$ 1,55/kg e polipropileno – ~US\$ 1,70/kg). Uma alternativa para reduzir o custo é utilizar blendas do PLA com polímeros naturais, como o amido, que tem custo mais baixo, é biodegradável e proveniente de fonte renovável (MARTIN; AVÉROUS, 2001; REN et al., 2009; SHIRAI et al., 2013; SHIRAI et al., 2015).

O objetivo do trabalho foi estudar o efeito do revestimento comestível de goma arábica contendo natamicina como antimicrobiano sobre as características físicas, químicas e microbiológicas de tomate-cereja durante o armazenamento a 20 °C. Foram estudadas também as propriedades mecânicas das bandejas biodegradáveis revestidas e não revestidas com cera de abelha, utilizadas para embalar os tomates ao longo da armazenagem.

5.2 MATERIAL E MÉTODOS

5.2.1 Preparação, Tratamento e Armazenamento das Amostras

Os tomates-cerejas (*Solanum lycopersicum* var. *cerasiforme*) provenientes de sistema orgânico de produção, foram colhidos em abril de 2016, no estágio de maturação verde-maduro, e adquiridos de um produtor da microrregião de Londrina-PR (Ibiporã-PR, Brasil, 23 ° 17' de latitude sul e 51 ° 0,3' de longitude oeste), acondicionados em caixas plásticas e transportados para o laboratório do Departamento Ciência e Tecnologia de Alimentos da Universidade Estadual de Londrina. Todos os tomates foram selecionados com base no mesmo estágio de maturação, tamanho uniforme e ausência de danos físicos e podridões.

As bandejas foram produzidas com amido de mandioca nativo (17% de amilose) (Tereos Syral do Brasil, Brasil), poli (ácido láctico) (PLA) (4043D INGENIO, NatureWorks LLC, Cargill, EUA) e glicerol (Dinâmica, Brasil). O filme para recobrir as bandejas com os tomates foi produzido com poli (adipato co-tereftalato de butileno) (PBAT) (BASF, Alemanha) com o nome comercial Ecoflex®. Para revestir as bandejas foram utilizados: cera de abelha (CA), gentilmente cedida pela APOMEL (Associação dos produtores de mel de Ortigueira– PR, Brasil), álcool etílico P.A. (Êxodo Científica, Brasil) e Tween 80 (CAAL, Brasil). Para revestir os tomates foram utilizadas goma arábica (GA) (Synth, Brasil), glicerol (Dinâmica, Brasil) e natamicina (NA) (Coalhopar, Brasil).

As bandejas foram produzidas de acordo com trabalho anterior (Capítulo II) selecionando as duas melhores formulações – bandeja controle (BC) e bandeja revestida com 1% de cera de abelha (BR).

A solução de goma arábica (10%) e natamicina (0,02%), contendo glicerol como plastificante (1%) foi agitada em agitador magnético (Biomixer, Brasil) a temperatura ambiente por 1 h para completa dispersão, então os tomates-cerejas foram mergulhados na solução durante 5 min e colocados sobre uma peneira plástica com ventilador em baixa velocidade por 30 min de acordo com Jiang et al. (2013), em seguida os frutos foram colocados nas bandejas (12 frutos por bandeja, em duplicata). As bandejas contendo os frutos foram envoltas com filme de PBAT ($114 \pm 46 \mu\text{m}$) contendo 4 furos com 5 mm de diâmetro cada e armazenadas durante 30 dias a $20 \pm 1 \text{ }^\circ\text{C}$. Os dados foram registrados no dia 0 e em intervalos de 4 dias durante 12 dias e depois em intervalos de 5, 6 e 7 dias até completar 30 dias.

Foram utilizados quatro tratamentos diferentes dispostos em delineamento inteiramente casualizado: (1) tomate-cereja sem revestimento (TC) e bandeja sem revestimento (TC-BC), (2) tomate-cereja revestido com GA+NA (TR) e bandeja sem revestimento (TR-BC), (3) tomate-cereja sem revestimento (TC) e bandeja revestida com 1% de cera de abelha (TC-BR) e (4) tomate-cereja revestido com GA+NA (TR) e bandeja revestida com 1% de cera de abelha (TR-BR).

5.2.2 Perda de Massa

As amostras de tomate-cereja (12 frutos por replicata) foram pesadas no dia 0 e no final de cada intervalo de armazenamento. A perda de massa foi expressa como a porcentagem de perda de massa em relação à massa inicial.

5.2.3 Cor

Os parâmetros de cor L^* , a^* e b^* foram obtidos no sistema CIELAB, onde o parâmetro L^* corresponde à luminosidade, a^* componente vermelho-verde e b^* componente amarelo-azul, utilizando um colorímetro digital (Konica Minolta, modelo CR-400, Brasil). Foram utilizados 21 frutos de cada amostra e as medidas foram tomadas em 2 pontos diferentes do tomate.

5.2.4 Firmeza

No teste de compressão foram utilizadas 8 repetições de cada tratamento. O tomate-cereja foi colocado sobre a base do texturômetro (Stable Micro System, modelo TA TX2i, Inglaterra) e comprimido com uma sonda cilíndrica com ponta de seção plana de 35 mm de diâmetro e paralela à base. A compressão foi no sentido da porção equatorial do tomate-cereja até 8 mm, com velocidade de 1 mm/s, suficiente para provocar o rompimento da casca de acordo com Borges et al. (2012). Foi determinada a força máxima no rompimento (N).

5.2.5 Teor de Sólidos Solúveis (TSS), Acidez Titulável (AT) e pH.

Os tomates-cerejas de cada tratamento foram moídos em um *mixer* (Mondial, Brasil) e o suco dos frutos foram utilizados para determinar o teor de sólidos solúveis (TSS) usando um refratômetro digital (ATAGO, modelo PAL-04S, Japão). A acidez titulável (AT) foi realizada por titulometria de neutralização de acordo com as normas do Instituto Adolfo Lutz (2008) e expressa em g ácido cítrico/100 g de tomate-cereja, e o pH foi medido com potenciômetro digital de bancada (Hanna Instruments, modelo HI 3221, Brasil) padronizado com soluções padrão de

pH 4,0 e pH 7,0 diretamente no suco de tomate-cereja. O índice de maturidade (IM) foi calculado como a razão entre o TSS e a AT.

5.2.6 Análise Microbiológica

Para cada tratamento foi realizado a contagem de bolores e leveduras de acordo com Brasil (2003). Vinte e cinco gramas de tomates-cerejas foram removidos assepticamente de cada bandeja e diluiu-se em 225 mL de água peptonada 0,1%. As amostras foram homogeneizadas em uma mesa agitadora (Marconi, modelo MA140/CFT) a 220 rpm por 5 min. Diluições em séries (10^{-1} - 10^{-7}) foram feitas em tubos de diluição pegando 1,0 mL com 9,0 mL de água peptonada 0,1%. Foi utilizado ágar batata dextrose (HiMedia Laboratories, Índia) acidificado com ácido tartárico (Qhemis, Brasil) (pH 3,5). As condições de incubação foram 25 °C por 5-7 dias.

5.2.7 Propriedades Mecânicas

Os testes de tração para as bandejas foram realizados de acordo com o método da ASTM D-882-02 (2002), utilizando um texturômetro (Stable Micro System, modelo TA TX2i, Inglaterra) e velocidade de tração de 0,8 mm/s. Foram utilizadas 8 amostras de cada tratamento de cada dia de armazenamento. E as amostras foram condicionadas em 53% de Umidade Relativa (UR) (solução saturada de $Mg(NO_3)_2$) e 25 °C, por 48 horas antes da realização dos ensaios. As propriedades medidas foram resistência à tração (MPa), alongamento na ruptura (%) e módulo de Young (MPa).

5.2.8 Análise Estatística

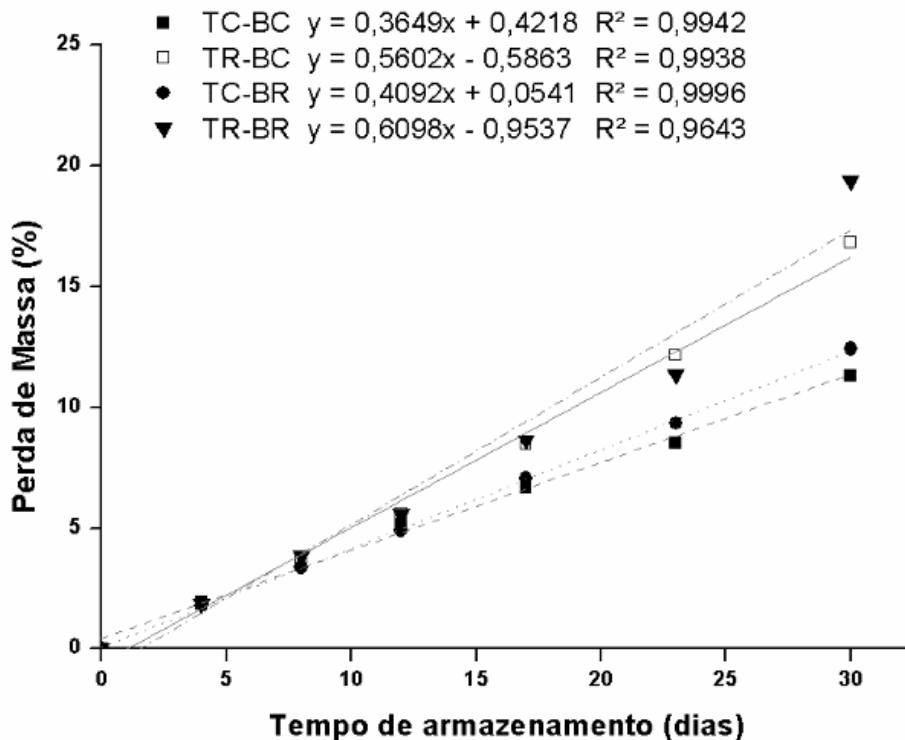
Os dados foram analisados com auxílio do software Statistica 8.0 (Statsoft, EUA), utilizando-se análise de variância (ANOVA) e Teste de Tukey ao nível de 5% de significância.

5.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.3.1 Perda de Massa

A perda de massa dos tomates-cerejas apresentou um comportamento linear em função do tempo de armazenamento a 20 °C (Figura 1). As taxas de perda de massa foram de 0,365 e 0,409 %. dia^{-1} , para os tratamentos TC-BC e TC-BR, respectivamente, e 0,560 e 0,610 %. dia^{-1} para os tratamentos TR-BC e TR-BR, respectivamente. As taxas de perda de massa dos tomates revestidos (TR) foram superiores às do tomate sem revestimento (TC), provavelmente devido ao fato dos tomates revestidos terem perdido parte da sua cutícula durante o processo de revestimento, pois a cutícula serve de proteção quanto à perda de água das estruturas vegetais. Além disso, o revestimento não foi suficiente para repor a proteção dada pela cutícula, pois o mesmo não ficou uniformemente aderido ao tomate.

Figura 1 - Efeito do revestimento de goma arábica e natamicina e da embalagem sobre a perda de massa de tomates-cereja durante o armazenamento.



De acordo com a literatura, tomates-cerejas revestidos com oligossacarídeos (WU, LU, WANG, 2016) e tomates revestidos com goma arábica (ALI et al., 2010) apresentaram menor perda de massa em relação ao produto não revestido, entretanto no presente trabalho este efeito não foi observado.

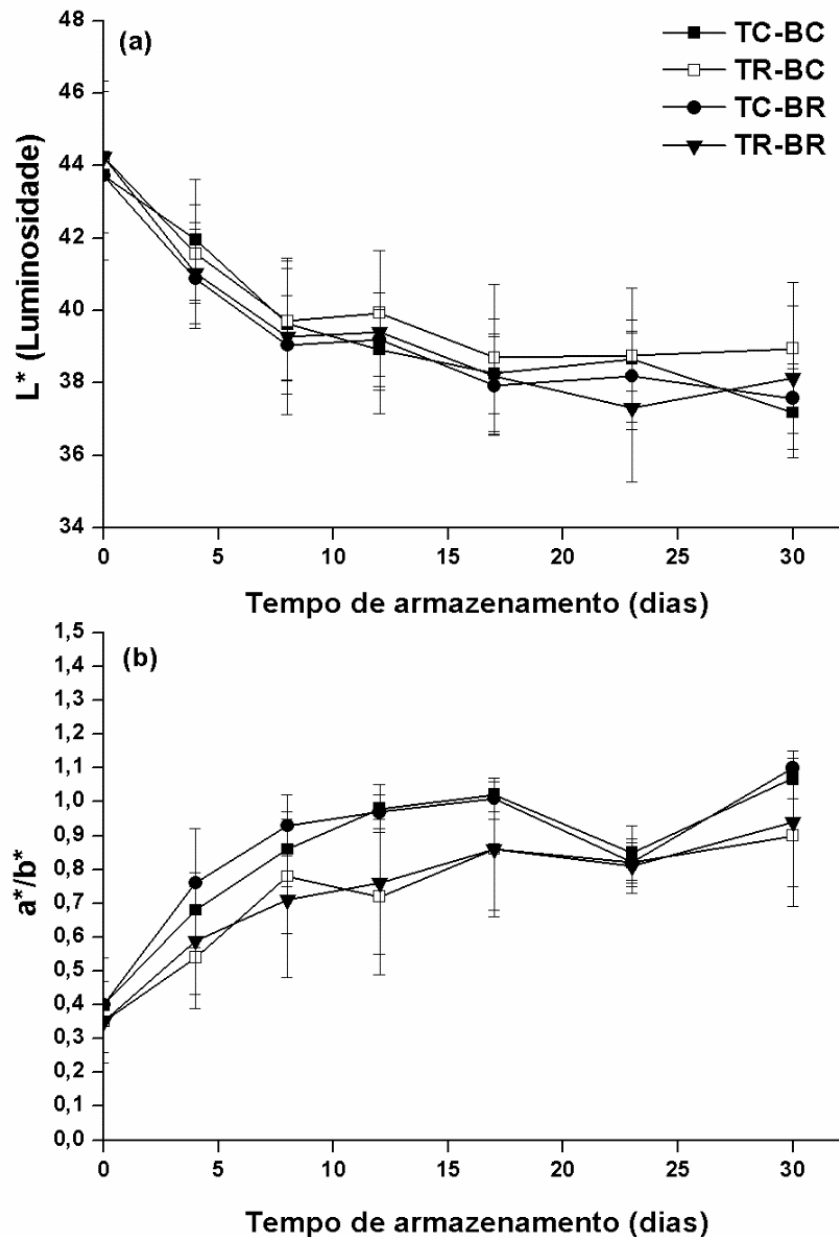
No final do armazenamento, os tomates-cerejas revestidos apresentaram perda de massa de 16,8 a 19,4%, respectivamente aos tratamentos TR-BC e TR-BR enquanto os tomates-cereja sem revestimento tiveram perda de massa ao redor de 12% (TC-BC e TC-BR). Essa perda de massa causou o enrugamento da superfície, amolecimento e aparência menos atrativa do produto. Koide e Shi (2007) relataram que perdas de massa maiores que 5% causariam redução no valor de varejo de produtos frescos, valores estes atingidos após 12 dias para os tratamentos TR-BC e TR-BR e 17 dias para os tratamentos TC-BC e TC-BR.

5.3.2 Cor

Como ilustrado na Figura 2, a luminosidade (L^*) diminuiu gradativamente ao longo do tempo de armazenamento de $44,2 \pm 2,1$ a $37,2 \pm 1,2$ e os tipos de tratamento não tiveram influência significativa nos valores de L^* . A diminuição de L^* durante a armazenagem provavelmente está relacionada com a perda de massa.

No tempo zero os tomates-cereja revestidos (TR) apresentaram um aspecto brilhante e ao longo do armazenamento a mudança de cor nos tomates-cereja não revestidos (TC) foi mais rápida, sendo que eles alcançaram coloração vermelha após 4-8 dias de armazenamento. Já os TR ficaram vermelhos após 12-17 dias, e no final do armazenamento ainda havia alguns TR esverdeados e amarelados (dados não mostrados). Resultados similares foram encontrados por Ali et al. (2010), ao estudarem tomates revestidos com goma arábica (GA) armazenados a 20 °C. Para esses autores a GA proporcionou uma barreira contra a produção de etileno e a troca de gases entre ambientes internos e externos, e, conseqüentemente, atrasou o amadurecimento do fruto durante o armazenamento. Oliveira et al. (2011) armazenaram tomates revestidos com biofilme de gelatina a 23 °C durante 7 dias e verificaram que o revestimento restringiu excessivamente a troca de gases, pois os frutos apresentaram desordens fisiológicas e não amadureceram normalmente.

Figura 2 - Efeito do revestimento de goma arábica e natamicina e da embalagem sobre a cor de tomates-cereja durante o armazenamento.



Os valores de b^* , independente do tratamento, diminuíram significativamente ao longo do armazenamento, no entanto até o 4º dia os valores de b^* foram menores nos tomates-cereja revestidos e após este período não apresentaram diferenças significativas entre os tratamentos. De acordo com Liu et al. (2009), a diminuição dos valores de b^* nos tomates reflete a biossíntese de licopeno e após um determinado ponto está correlacionado com a progressão do amadurecimento.

A razão a^*/b^* dos frutos aumentou gradualmente ao longo do armazenamento, sendo que os tomates-cerejas recobertos apresentaram menor razão a^*/b^* comparado com os tomates-cerejas não recobertos, sugerindo que o revestimento retardou as mudanças de cor nos tomates.

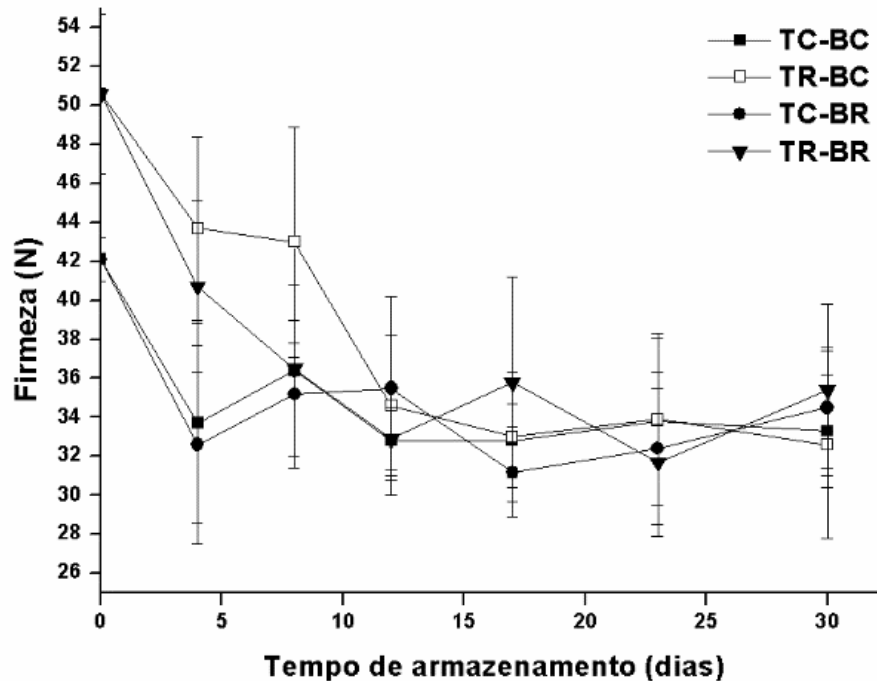
Os frutos foram perdendo a cor verde, que é a característica do amadurecimento dos frutos, porém os tomates-cerejas revestidos demoraram mais para perder a cor verde, e alguns ficaram amarelados, sugerindo que o revestimento interferiu no amadurecimento normal dos frutos.

5.3.3 Firmeza

Em geral, a firmeza dos tomates-cereja de cada tratamento diminuiu gradualmente com o tempo de armazenamento (Figura 3), assim como ocorreu em outros trabalhos que estudaram a vida de prateleira de tomates (ALI et al., 2010; WU, LU, WANG, 2016). O tecido do tomate-cereja torna-se mais macio devido a alterações metabólicas induzidas pela ação enzimática e respiração (CHOI et al., 2015), e de acordo com Yaman e Bayoindirli (2002), à medida que o processo de amadurecimento dos frutos avança, a despolimerização ou o encurtamento do comprimento da cadeia de substâncias pécticas ocorre com um aumento nas atividades das enzimas pectinesterase e poligalacturonase.

A redução na firmeza foi mais lenta nos frutos recobertos do que nos frutos sem cobertura até o 4º e 8º dia para os tratamentos TR-BR ($40,7 \pm 4,4$ N) e TR-BC ($43,0 \pm 5,9$ N), respectivamente, indicando o atraso do amolecimento devido à cobertura. Nos demais dias de armazenamento não houve diferença significativa entre os tratamentos, variando de $36,4 \pm 4,4$ N a $31,2 \pm 2,3$ N. O revestimento com GA+NA manteve a firmeza dos tomates-cereja, sugerindo que poderia ser um método promissor para preservar a textura dos frutos por mais tempo em relação aos frutos não revestidos. Em estudos semelhantes, a redução da firmeza também foi mais lenta para os frutos revestidos em comparação com os frutos sem revestimento, armazenados a 20 °C, durante 20 dias (ALI et al., 2010) e 14 dias de armazenamento (WU, LU, WANG, 2016).

Figura 3 - Efeito do revestimento de goma arábica e natamicina e da embalagem sobre a firmeza de tomates-cereja durante o armazenamento.

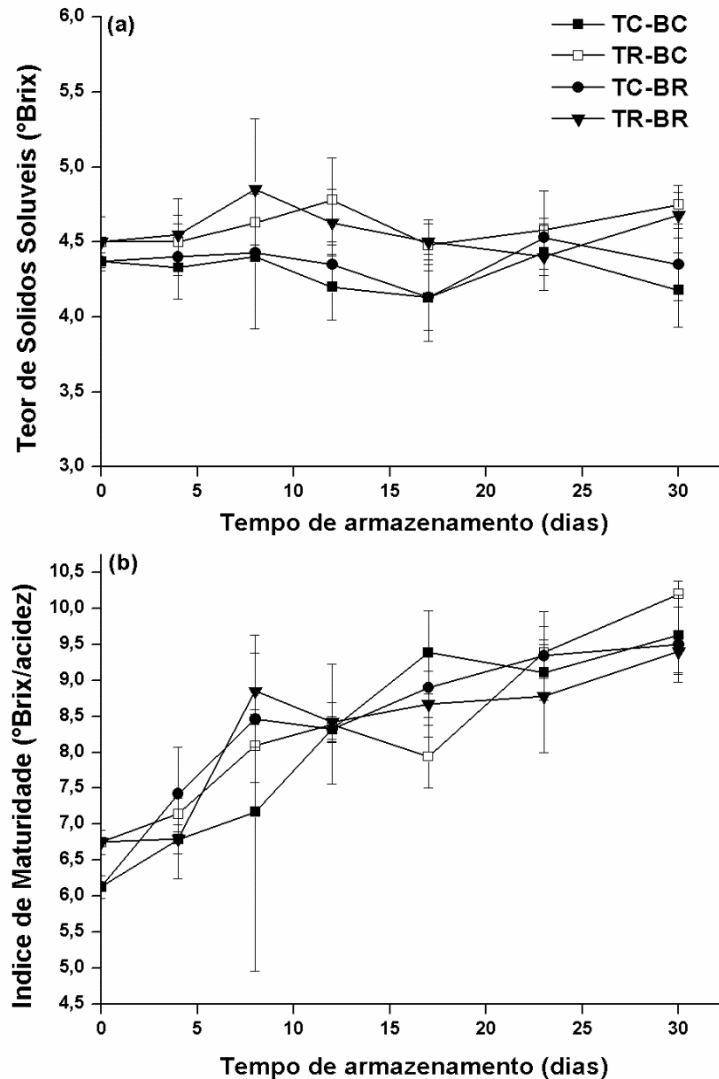


5.3.4 Teor de Sólidos Solúveis (TSS), Acidez Titulável (AT) e pH.

O teor de sólidos solúveis se manteve praticamente constante ao longo do armazenamento e sem apresentar diferenças significativas entre os tratamentos (Figura 4a). Guerreiro et al. (2016) também relataram que o tempo de armazenamento não teve influência nos valores de TSS em tomate-cereja. Por outro lado, Ali et al. (2010) observaram um aumento gradual no TSS durante o armazenamento de tomates revestidos com goma arábica.

O índice de maturidade (razão TSS/AT) (IM) oferece uma boa indicação da maturação dos tomates (GUERREIRO et al., 2016) e através da Figura 4b foi possível observar que os tomates foram amadurecendo ao longo do armazenamento, no entanto, não foram encontradas diferenças significativas entre os tratamentos.

Figura 4 - Efeito do revestimento de goma arábica e natamicina e da embalagem sobre (a) teor de sólidos solúveis e (b) índice de maturidade de tomates-cereja durante o armazenamento.

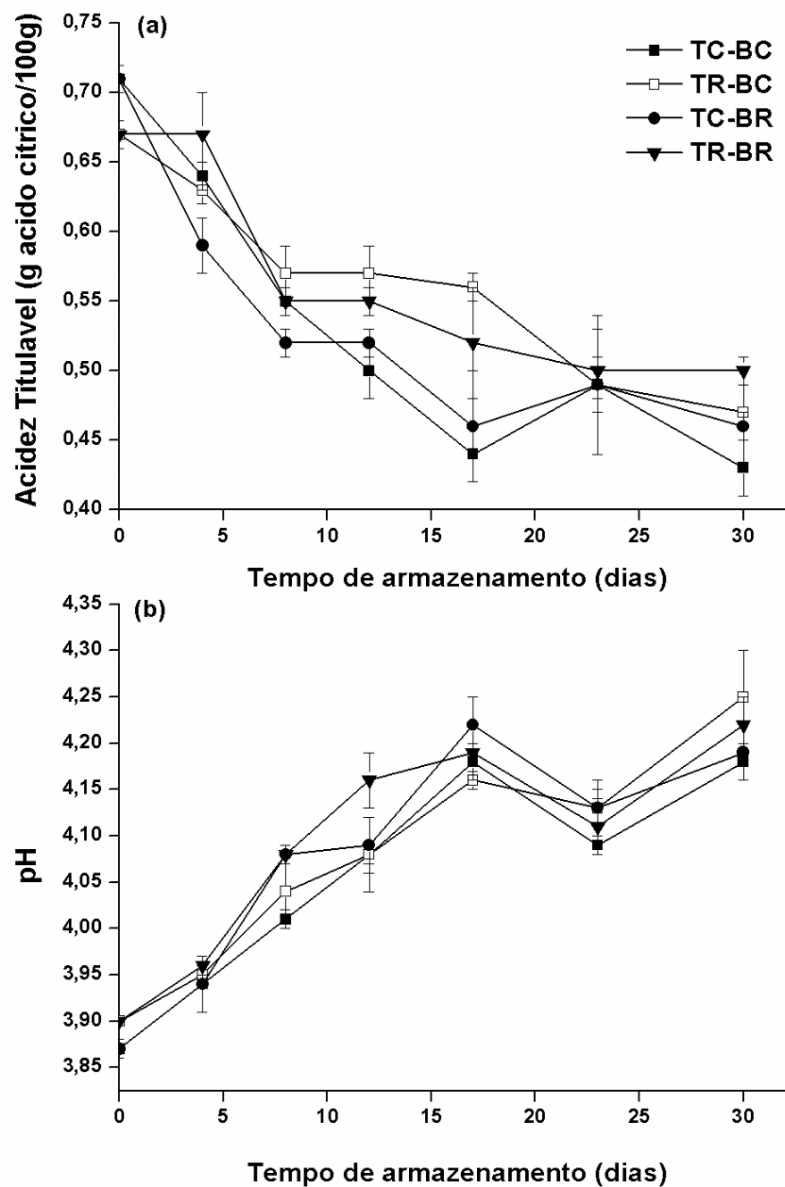


A acidez titulável (AT) diminuiu enquanto o pH aumentou ao longo do período de armazenamento, como mostram as Figuras 5a e 5b, respectivamente.

A queda da AT foi maior no dia 8 para os tratamentos TR-BC e TR-BR, enquanto para os tratamentos TC-BC e TC-BR essa redução já foi significativa no 4º dia. No decorrer do armazenamento o valor de AT foi mais elevado nos frutos recobertos, sugerindo que a concentração de ácidos orgânicos foi maior nos tomates tratados. Ali et al. (2010) relataram que AT mais baixas nos tomates sem

recobrimento comparado com os tomates recobertos indica que o revestimento de goma arábica atrasou a maturação proporcionando uma película semipermeável em torno do fruto.

Figura 5 - Efeito do revestimento de goma arábica e natamicina e da embalagem sobre (a) acidez titulável e (b) pH de tomates-cereja durante o armazenamento.



Além disso, os revestimentos podem reduzir a atividade metabólica do produto e, conseqüentemente, reduzir o consumo e/ou transformação dos ácidos

orgânicos (YAMAN; BAYOINDIRLI, 2002). Menor queda da acidez titulável também foi relatada para vários frutos tratados com revestimentos e filmes comestíveis (ALI et al., 2010; TANADA-PALMU; GROSSO, 2005; YAMAN; BAYOINDIRLI, 2002).

O pH aumentou durante o armazenamento e esse aumento tem sido descrito por outros autores (RODRIGUEZ-LAFUENTE; NERIN; BATLLE, 2010), todavia, não foram encontradas diferenças significativas nos valores de pH entre os tratamentos. De acordo com Garcia et al. (2014) a mudança no pH pode ser atribuída às alterações metabólicas e a perda de água nos tomates.

5.3.5 Análise Microbiológica

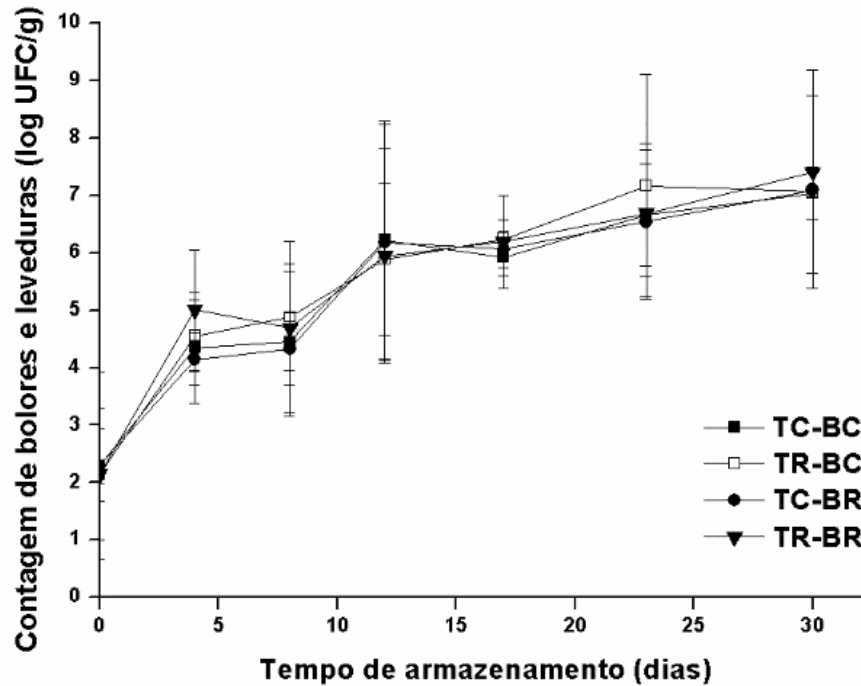
As alterações na população de bolores e leveduras para os quatro tratamentos são apresentadas na Figura 6. A carga inicial de bolores e leveduras foi em torno de 2,0 log UFC/g para todos os tratamentos.

A contagem de bolores e leveduras aumentou ao longo do armazenamento, porém, não houve diferença significativa entre os tratamentos, atingindo uma contagem ao redor de 7,0 log UFC/g após 23 dias de armazenamento. Salientando que a legislação brasileira não especifica um limite para a contagem de bolores e leveduras em tomate. A cobertura de GA+NA não foi eficaz para reduzir e/ou retardar a contagem de bolores e leveduras em tomates-cerejas armazenados a 20 °C, provavelmente devido à cobertura não uniforme nos frutos.

Jiang et al. (2013) mostraram que o revestimento com GA+NA em cogumelos foi eficaz para redução de contagem de bolores e leveduras atingindo contagem de 7,2 log UFC/g nos cogumelos controle e 2,3 log UFC/g nos cogumelos revestidos em 16 dias de armazenamento a 4 °C. Cong, Zhang e Dong (2007) relataram que filmes de quitosana-natamicina reduziram o desenvolvimento de fungos em melões Hami armazenados a 30 °C por 20 dias. Duran et al. (2016) relataram que filmes de quitosana-natamicina reduziram a contagem de bolores e leveduras em morangos a 4 °C por 40 dias.

Os tomates-cereja apresentaram colônias de mofos visíveis a olho nu após 23 dias de armazenamento e as bandejas BC apresentaram alguns pontos escuros, indicando a presença de mofo em 12 dias, enquanto que nas bandejas BR isso ocorreu após 17 dias de armazenamento.

Figura 6 - Efeito do revestimento de goma arábica e natamicina e da embalagem sobre a contagem de bolores e leveduras de tomates-cereja durante o armazenamento.

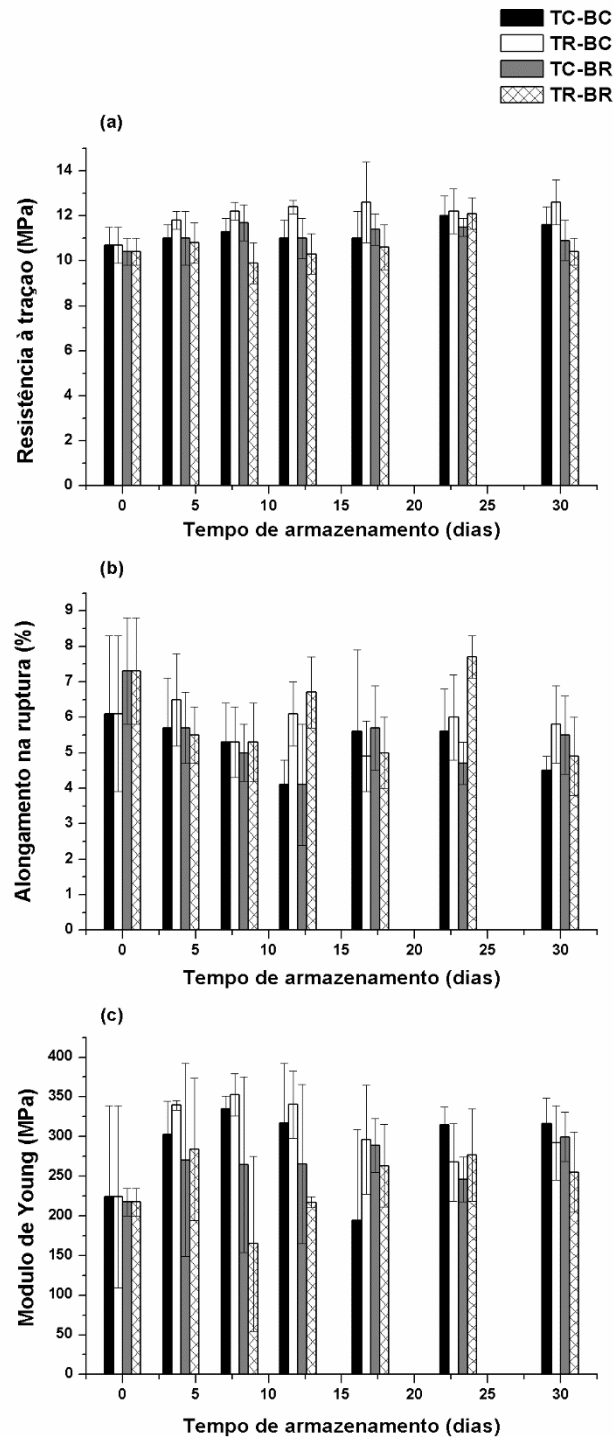


5.3.6 Propriedades Mecânicas

Através de estudos anteriores (Capítulo II) optou-se por utilizar 2 tipos de bandejas, a fim de verificar se as mesmas resistiriam ao período de armazenamento. As propriedades mecânicas das bandejas foram determinadas durante todo o período de armazenamento, como pode ser observado na Figura 7.

As bandejas resistiram aos 30 dias de armazenamento até mesmo quando os tomates estavam se deteriorando, as bandejas revestidas com cera de abelha (BR) apresentaram-se mais firmes (avaliação subjetiva) do que as bandejas sem revestimento (BC), porém sem apresentar diferença estatística significativa nas propriedades mecânicas avaliadas.

Figura 7 - Propriedades mecânicas das bandejas durante o período de armazenamento.



A resistência à tração das bandejas não se alterou ao longo do armazenamento (Figura 7a) com valores ao redor de 11 MPa, semelhante ao trabalho anterior (Capítulo II). Os valores de alongamento na ruptura e o módulo de

Young (Figuras 7b e 7c, respectivamente) apresentaram oscilação entre os dias de armazenamento, porém não houve diferenças significativas entre os tratamentos.

Como mencionado anteriormente (item 5.3.5) as bandejas BC apresentaram colônias visíveis de mofos em sua superfície primeiro que as bandejas BR, pois as bandejas BR, devido à cobertura com cera de abelha, apresentavam menor higroscopicidade.

5.4 CONCLUSÃO

O revestimento apresenta potencial para estender a vida de prateleira de tomates-cerejas, porém são necessários estudos adicionais para melhorar a distribuição do revestimento sobre o fruto.

O tipo de bandeja biodegradável (com e sem revestimento com cera de abelha) utilizado para embalar os tomates não interferiu nas características físicas, químicas e microbiológicas dos frutos. Ambas as embalagens apresentaram estáveis durante todo o período de armazenamento, sem alterações significativas nas suas propriedades mecânicas, sendo possível substituir as embalagens à base de petróleo por biodegradáveis sem prejudicar a qualidade do produto embalado.

Agradecimentos

Os autores agradecem à CAPES, ao CNPq e à Fundação Araucária pelo apoio financeiro.

Referências

- ALI, A.; MAQBOOL, M.; RAMACHANDRAN, S.; ALDERSON, P. G. Gum arabic as a novel edible coating for enhancing shelf-life and improving postharvest quality of tomato (*Solanum lycopersicum* L.) fruit. **Postharvest Biology and Technology**, v. 58, p. 42–47, 2010.
- ASTM – American Society for Testing and Materials, 2002. Standard Test Method for Tensile Properties of Thin Plastic Sheeting. In: D-882-02. Philadelphia: ASTM.
- AURAS, R., SINGH, S.P., SINGH, J., 2006. Performance evaluation of PLA against existing PET and PS containers. **Journal of Testing and Evaluation**, v. 34, p. 530–536, 2006.

BEMILLER, J. N.; HUBER, K. C. Carbohidratos. In: DAMODARAN, S.; PARKIN, K. L., FENNEMA, O. R. **Química de alimentos de Fennema**. 4. ed. Porto Alegre: Artmed, 2010.

BORGES, R. S.; ROBERTO, S. R.; YAMASHITA, F.; OLIVATO, J. B.; ASSIS, A. M. Sensibilidade ao rachamento de bagas das videiras 'Concord', 'Isabel' e 'Brs Rúbea'. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal - SP, v. 34, n. 3, p. 814-822, 2012.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Instrução normativa nº 62**, de 26 de agosto de 2003.

CHEA, V.; ANGELLIER-COUSSY, H.; PEYRON, S.; KEMMER, D.; GONTARD, N. Poly(3-hydroxybutyrate-co-3-hydroxyvalerate) films for food packaging: Physical–chemical and structural stability under food contact conditions. **Journal of Applied Polymer Science**, v. 133, p. 1-8, 2015.

CHEN, G. Q.; LU, F. P.; DU, L. X. Natamycin Production by *Streptomyces gilvosporeus* Based on Statistical Optimization. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 56, p. 5057–5061, 2008.

CHIEN, P. J.; SHEU, F.; LIN, H. R. Coating citrus (Murcott tangor) fruit with low molecular weight chitosan increases postharvest quality and shelf life. **Food Chemistry**, v. 100, p. 1160–1164, 2007.

CHOI, D. S.; PARK, S. H.; CHOI, S. R.; KIM, J. S.; CHUN, H. H. The combined effects of ultraviolet-C irradiation and modified atmosphere packaging for inactivating *Salmonella enterica* serovar Typhimurium and extending the shelf life of cherry tomatoes during cold storage. **Food packaging and shelf life**, v. 3, p. 19–30, 2015.

CONG, F.; ZHANG, Y.; DONG, W. Use of surface coatings with natamycin to improve the storability of Hami melon at ambient temperature. **Postharvest Biology and Technology**, v. 46, p. 71–75, 2007.

DEBIAGI, F.; KOBAYASHI, R. K. T.; NAKAZATO, G.; PANAGIO, L. A.; MALI, S. Biodegradable active packaging based on cassava bagasse, polyvinylalcohol and essential oils. **Industrial Crops and Products**, v. 52, p. 664–670, 2014.

DELVES-BROUGHTON, J.; THOMAS, L. V.; WILLIAMS, G. Natamycin as an antimycotic preservative on cheese and fermented sausages. **Food Australia**, v. 58, p. 19–21, 2006.

DURAN, M.; ADAY, M. S.; ZORBA, N. N. D.; TEMIZKAN, R.; BUYUKCAN, M. B.; CANER, C. Potential of antimicrobial active packaging 'containing natamycin, nisin, pomegranate and grape seed extract in chitosan coating' to extend shelf life of fresh strawberry. **Food and Bioproducts Processing**, v. 98, p. 354-363, 2016.

FAGUNDES, C.; PALOU, L.; MONTEIRO, A. R.; PÉREZ-GAGO, M. B. Effect of antifungal hydroxypropyl methylcellulose-beeswax edible coatings on gray mold development and quality attributes of cold-stored cherry tomato fruit. **Postharvest Biology and Technology**, v. 92, p. 1–8, 2014.

GARCIA, M.; CASARIEGO, A.; DIAZ, R.; ROBLEJO, L. Effect of edible chitosan/zeolite coating on tomatoes quality during refrigerated storage. **Emirates Journal of Food and Agriculture**, v. 26, n.3, p. 238–246, 2014.

GUERREIRO, D.; MADUREIRA, J.; SILVA, T.; MELO, R.; SANTOS, P. M. P.; FERREIRA, A.; TRIGO, M. J.; FALCÃO, A. N.; MARGAÇA, F. M. A.; VERDE, S. C. Post-harvest treatment of cherry tomatoes by gamma radiation: Microbial and physicochemical parameters evaluation. **Innovative Food Science and Emerging Technologies**, v. 36, p.1–9, 2016.

INSTITUTO ADOLFO LUTZ. **Métodos físico-químicos para análise de alimentos**. Coordenadores Odair Zenebon, Neus Sadocco Pascuet e Paulo Tiglea. São Paulo: Instituto Adolfo Lutz, 2008.

JIANG, T.; FENG, L.; ZHENG, X.; LI, J. Physicochemical responses and microbial characteristics of shiitake mushroom (*Lentinus edodes*) to gum arabic coating enriched with natamycin during storage. **Food Chemistry**, v. 138, p. 1992–1997, 2013.

KAISANGSRI, N.; KERDCHOECHUEN, O.; LAOHAKUNJIT, N. Characterization of cassava starch based foam blended with plant proteins, kraft fiber, and palm oil. **Carbohydrate Polymers**, v. 110, p. 70-77, 2014.

KOIDE, S.; SHI, J. Microbial and quality evaluation of green peppers stored in biodegradable film packaging. **Food Control**, v. 18, p. 1121–1125, 2007.

LENUCCI, M. S.; CADINU, D.; TAURINO, M.; PIRO, G.; DALESSANDRO, G. Antioxidant Composition in Cherry and High-Pigment Tomato Cultivars. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 54, p. 2606-2613, 2006.

LINDSAY, R. C. Aditivos Alimentares. In: DAMODARAN, S.; PARKIN, K. L., FENNEMA, O. R. **Química de alimentos de Fennema**. 4. ed. Porto Alegre: Artmed, 2010.

LIU, L. H.; ZABARAS, D.; BENNETT, L. E.; AGUAS, P.; WOONTON, B. W. Effects of UV-C, red light and sun light on the carotenoid content and physical qualities of tomatoes during post-harvest storage. **Food Chemistry**, v. 115, n. 2, p. 495–500, 2009.

MAQBOOL, M.; ALI, A.; ALDERSON, P. G.; MOHAMED, M. T. M.; SIDDIQUI, Y.; ZAHID, N. Postharvest application of gum arabic and essential oils for controlling anthracnose and quality of banana and papaya during cold storage. **Postharvest Biology and Technology**, v. 62, p. 71–76, 2011.

MARTIN, O.; AVÉROUS, L. Poly (lactic acid): plasticization and properties of biodegradable multiphase systems. **Polymer**, v. 2, p. 6209–6219, 2001.

MOTLAGH, S.; RAVINES, P.; KARAMALLAH, K.A.; MA, Q. The analysis of Acacia gums using electrophoresis. **Food Hydrocolloids**, v. 20, p. 848–854, 2006.

OJAGH, S. M.; REZAEI, M.; RAZAVI, S. H.; HOSSEINI, S. M. H. Effect of chitosan coatings enriched with cinnamon oil on the quality of refrigerated rainbow trout. **Food Chemistry**, v. 120, p. 193–198, 2010.

OLIVEIRA, T. A.; LEITE, R. H. L.; AROUCHA, E. M. M.; FERREIRA, R. M. A. Efeito do revestimento de tomate com biofilme na aparência e perda de massa durante o armazenamento. **Revista Verde**, Mossoró-RN, v.6, n.1, p. 230-234, 2011.

REN, J.; FU, H.; REN, T.; YUAN, W. Preparation, characterization and properties of binary and ternary blends with thermoplastic starch, poly (lactic acid) and poly (butylene adipate-co-terephthalate). **Carbohydrate Polymers**, v. 77, p. 576–582, 2009.

RODRIGUEZ-LAFUENTE, A.; NERIN, C.; BATLLE, R. Active paraffin-based paper packaging for extending the shelf life of cherry tomatoes. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 58, n. 11, p. 6780–6786, 2010.

SEAB – Secretaria do Estado da Agricultura e do Abastecimento. **Olericultura – Análise da conjuntura agropecuária**. 2016. Disponível em: <http://www.agricultura.pr.gov.br/arquivos/File/deral/Prognosticos/2016/Olericultura_2015_16.pdf>. Acesso em: 4 maio. 2017.

SHIRAI, M. A.; GROSSMANN, M. V. E.; MALI, S.; YAMASHITA, F.; GARCIA, P. S.; MULLER, C. M. O. Development of biodegradable flexible films of starch and poly (lactic acid) plasticized with adipate or citrate ester. **Carbohydrate Polymers**, v. 92, p. 19–22, 2013.

SHIRAI, M. A.; MÜLLER, C. M. O.; GROSSMANN, M. V. E.; YAMASHITA, F. Adipate and citrate esters as plasticizers for poly (lactic acid)/thermoplastic starch sheets. **Journal of Polymers and Environment**, v. 23, p. 54–61, 2015.

SILVA, A. C.; COSTA, C. A.; SAMPAIO, R. A.; MARTINS, E. R. Avaliação de linhagens de tomate cereja tolerantes ao calor sob sistema orgânico de produção. **Revista Caatinga**, Mossoro, v. 24, n. 3, p. 33-40, 2011.

TANADA-PALMU, P. S.; GROSSO, C. R. F. Effect of edible wheat gluten-based films and coatings on refrigerated strawberry (*Fragaria ananassa*) quality. **Postharvest Biology and Technology**, v. 36, p.199–208, 2005.

TRONCOSO- ROJAS, R.; SÁNCHEZ-ESTRADA, A.; CARVALLO, T.; GONZÁLEZ-LEÓN, A.; OJEDA-CONTRERAS, J.; AGUILAR-VALENZUELA, A.; TIZNADO-HERNÁNDEZ, M. A. fungal elicitor enhances the resistance of tomato fruit to *Fusarium oxysporum* infection by activating the phenylpropanoid metabolic pathway. **Phytoparasitica**, v. 41, p.133–142, 2013.

VERCELHEZE, A. E. S.; FAKHOURI, F. M.; DALL'ANTÔNIA, L. H.; URBANO, A.; YOUSSEF, E. Y.; YAMASHITA, F.; MALI, S. Properties of baked foams based on cassava starch, sugarcane bagasse fibers and montmorillonite. **Carbohydrate Polymers**, v. 87, n. 2, p. 1302–1310, 2012.

WELSCHER, Y. M.; NAPEL, H. H.; BALAGUÉ, M. M.; SOUZA, C.; RIEZMAN, H.; KRUIJFF, B.; BREUKINK, E. Natamycin blocks fungal growth by binding specifically to ergosterol without permeabilizing the membrane. **Journal of Biological Chemistry**, v. 283, p. 6393-6401, 2007.

WU, S.; LU, M.; WANG, S. Effect of oligosaccharides derived from *Laminaria japonica*-incorporated pullulan coatings on preservation of cherry tomatoes. **Food Chemistry**, v. 199, p. 296–300, 2016.

YAMAN, O.; BAYOINDIRLI, L. Effects of an edible coating and cold storage on shelf-life and quality of cherries. **LWT- Food Science and Technology**, v. 35, p. 146–150, 2002.

CAPÍTULO V

6 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Foi possível produzir bandejas biodegradáveis de TPS/PLA por extrusão plana, calandragem e termoprensagem, e também revestir as bandejas com emulsão cera de abelha, porém, com o aumento do teor de cera de abelha (2 e 3%) no revestimento as bandejas apresentaram-se pegajosas, entretanto, a bandeja revestida com 1% de cera de abelha não ficou pegajosa e apresentou melhores propriedades mecânicas e baixa permeabilidade ao vapor de água, sendo possível sua produção em escala comercial. Apesar da baixa interação entre amido (hidrofílico) e PLA (hidrofóbico), houve interação por ligação de hidrogênio entre as hidroxilas do amido e a carbonila do PLA, caracterizando-os como uma mistura imiscível. A cera de abelha apresentou fraca interação com PLA, mas essa interação foi suficiente para proporcionar uma boa adesão da cera de abelha na superfície das bandejas. O revestimento com cera de abelha é uma técnica interessante para reduzir a permeabilidade ao vapor de água de materiais biodegradáveis higroscópicos.

O revestimento de goma arábica com natamicina apresenta potencial para estender a vida de prateleira de tomates-cerejas, porém são necessários estudos adicionais para melhorar a distribuição do revestimento sobre o fruto.

O tipo de bandeja biodegradável (com e sem revestimento com cera de abelha) utilizado para embalar os tomates não interferiu nas características físico-químicas e microbiológicas dos frutos. Ambas as embalagens apresentaram estáveis durante todo o período de armazenamento, sem alterações significativas nas suas propriedades mecânicas. Portanto, é possível substituir as embalagens à base de petróleo por biodegradáveis sem prejudicar a qualidade do produto embalado.

APÊNDICES

Figura 1 – Chapas planas de TPS/PLA. (Capítulo II)



Figura 2 – Bandejas de TPS/PLA revestidas com cera de abelha, (a) BC0; (b) BC1; (c) BC2; (d) BC3. (Capítulo II)

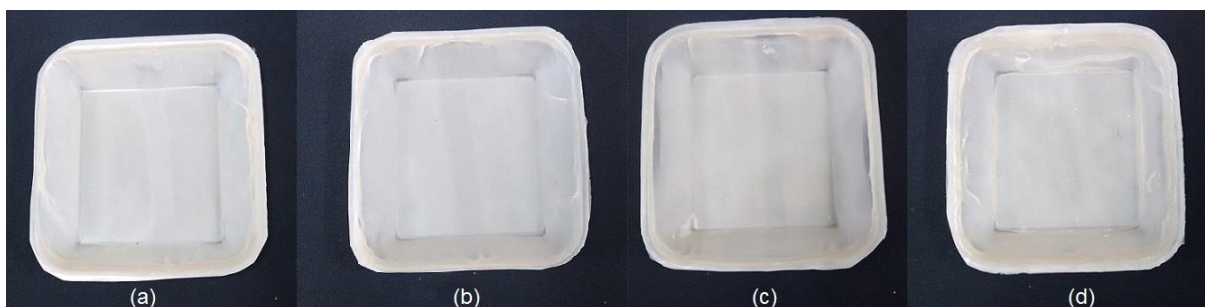


Figura 3 – Tomates-cereja embalados e armazenados a 20 °C (início do experimento). (Capítulo IV)



Figura 4 – 4 dias de armazenamento, (a) e (b) tomates sem revestimento; (c) e (d) tomates revestidos. (Capítulo IV)



Figura 5 – 17 dias de armazenamento, (a) e (b) tomates revestidos; (c) e (d) tomates sem revestimento. (Capítulo IV)



Figura 6 – 30 dias de armazenamento, (a) e (b) tomates sem revestimento; (c) e (d) tomates revestidos. (Capítulo IV)

