



UNIVERSIDADE
ESTADUAL DE LONDRINA

RAFAEL MIZUBUTI BRITO

**UTILIZAÇÃO DE MICRORGANISMO AMIOLÍTICO NO
DESENVOLVIMENTO E APLICAÇÃO DE RECIPIENTES
BIODEGRADÁVEIS PARA PRODUÇÃO DE MUDAS
AGRÍCOLAS DE MELANCIA**

Londrina
2011

RAFAEL MIZUBUTI BRITO

**UTILIZAÇÃO DE MICRORGANISMOS AMIOLÍTICO NO
DESENVOLVIMENTO E APLICAÇÃO DE RECIPIENTES
BIODEGRADÁVEIS PARA PRODUÇÃO DE MUDAS
AGRÍCOLAS DE MELANCIA**

Dissertação de Mestrado apresentado ao programa de pós-graduação em Ciência de Alimentos da Universidade Estadual de Londrina como requisito para obtenção do título de Mestre em Ciência de Alimentos.

Orientador: Raúl Jorge Hernan Castro-Gómez

Londrina
2011

**Catálogo elaborado pela Divisão de Processos Técnicos da Biblioteca Central da
Universidade Estadual de Londrina**

Dados Internacionais de Catalogação-na-Publicação (CIP)

B862u Brito, Rafael Mizubuti.

Utilização de microrganismos amilolítico no desenvolvimento e aplicação de recipientes biodegradáveis para produção de mudas agrícolas de melancia / Rafael Mizubuti Brito. – Londrina, 2011. 95f. : il.

Orientador: Raúl Jorge Hernan Castro-Gómez.

Dissertação (Mestrado em Ciência de Alimentos) – Universidade Estadual de Londrina, Centro de Ciências Agrárias, Programa de Pós-Graduação em Ciência de Alimentos, 2011.

Inclui bibliografia.

1. Filmes biodegradáveis – Teses. 2. Plásticos nas embalagens – Teses. 3. Mudas – Embalagens – Teses. 4. Biofilme – Teses. 5. Microorganismos – Desintegração – Teses. I. Castro-Gómez, Raúl Jorge Hernan. II. Universidade Estadual de Londrina. Centro de Ciências Agrárias. Programa de Pós-Graduação em Ciência de Alimentos. III. Título.

CDU 664.004.3

RAFAEL MIZUBUTI BRITO

**UTILIZAÇÃO DE MICRORGANISMOS AMILOLÍTICO NO
DESENVOLVIMENTO E APLICAÇÃO DE RECIPIENTES
BIODEGRADÁVEIS PARA PRODUÇÃO DE MUDAS AGRÍCOLAS DE
MELANCIA**

Dissertação de Mestrado apresentado ao programa de pós-graduação em Ciência de Alimentos da Universidade Estadual de Londrina como requisito para obtenção do título de Mestre em Ciência de Alimentos.

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. Raúl Jorge Hernan Castro-Gómez
Orientador
UEL – Londrina- PR

Prof. Dr. Hélio Hiroshi Suguimoto
UNOPAR – Londrina - PR

Profa. Dra. Lyssa Setsuo Sakanaka
UTFPR – Londrina - PR

Londrina, 10 de agosto de 2011.

Dedico esta dissertação aos meus pais, Osmar e Ivone, e as minhas irmãs Débora e Vanessa, pessoas em quem sempre confiei e que em mim sempre confiaram.

AGRADECIMENTOS

Ao meu orientador, professor Dr. Raúl Jorge Hernan-Castro Gómez pelo apoio, ensinamento, incentivo e pela confiança.

A todos os professores e a secretária Sandra Resende do departamento de ciência e tecnologia de alimentos pelos ensinamentos e atenção fornecidos.

A minha mãe, professor Dr. Ivone Y. Mizubuti e meu pai, professor Dr. Osmar R. Brito por terem disponibilizado material e tempo para correção da dissertação, além de me incentivarem no decorrer do mestrado.

A professora Dra. Lyssa T. Sakanaka que me auxiliou nos ensaios mecânicos e que me disponibilizou material didático e de laboratório.

Aos técnicos em que todos os momentos em que precisei estavam presentes e que sempre disponibilizaram atenção.

A minha estagiária Hanellore Mendes Garcia que participou com o auxílio nas análises e condução do experimento.

A Juliana Olivato que me ajudou a operar o texturômetro, a Juliana Freixo, Juliane Alves e Elisa Laurentti que sempre me ajudaram.

Agradeço a todos os colegas da pós-graduação especialmente os colegas de classe: Marcelo, Diogo, Alisson, Cláudia, Kharina, Marcela, Harissa, Lorena, Mary pela convivência agradável.

Agradeço a minha namorada Amanda Giazzi.

BRITO, R. M. **Utilização de microrganismo amilolítico no desenvolvimento e aplicação de recipientes biodegradáveis para produção de mudas agrícolas de melancia**. 2011. 95 f. Dissertação (Mestrado em Ciência de Alimentos) – Universidade Estadual de Londrina, Londrina. 2011.

RESUMO

Os objetivos do trabalho foram desenvolver um filme biodegradável enriquecido com microrganismo amilolítico, avaliar sua biodegradabilidade e aplicá-lo como recipiente na produção de mudas agrícolas, assim como avaliar o efeito do transplante da muda com o recipiente biodegradável no cultivo da melancia (*Citrullus lanatus*). A cepa *Bacillus* CA-10 foi o microrganismo escolhido como o agente promotor da biodegradação. Através das análises das superfícies de resposta foi possível estimar a formulação 4,4% (m/v) de amido; 10,8% (m/m) de celulose sobre a massa de amido e 24% (m/m) de glicerol sobre a massa de amido, sendo a composição detentora das características de maior resistência mecânica à tração, menor deformação no ponto de ruptura e maior valor para o módulo de elasticidade, obtidos por meio dos testes de tração; maior resistência à perfuração com menor deformação quando submetidos ao teste de perfuração e a menor permeabilidade ao vapor de água, consideradas como sendo as melhores características para a confecção do recipiente para a produção de mudas. Durante o período de um dia foram solubilizado 60,22% de biofilme em 10 mL de água destilada sob agitação de 100 rpm. A atividade amilolítica total após 48 horas de incubação em água destilada esterilizada foi de 0,3138 U e de 1,4729 U obtida nos tubos contendo água peptonada 0,1% esterilizada. Foi evidenciado a quantidade de 1,9310 mg/dL de glicose nos tubos contendo o filme incubado em água destilada autoclavada; enquanto que nos tubos em que o filme foi incubado com água destilada peptonada obteve-se a quantidade de glicose igual a 2,9119 mg/dL. A atividade amilolítica total e a presença de glicose indicaram que o microrganismo incorporado estava viável e que manteve sua atividade. O recipiente biodegradável com microrganismo amilolítico incorporado resistiu à fase de produção de mudas e após o período de 10 dias do transplante o recipiente se biodegradou quase por completo em vaso com solo não autoclavado. O recipiente biodegradável nas duas espessuras testadas não influenciou o desenvolvimento das raízes e as plantas de melancia cultivadas com recipiente biodegradável de menor espessura obtiveram o maior teor de matéria seca.

Palavras – chaves: Polímeros. Biodegradação. Produção agrícola.

BRITO, R. M. **The use of amylolytic microorganism on the development and application of biodegradable containers on the watermelon seedling production.** 2011. 95 p. Dissertation (Master's Degree in food science) – State University of Londrina, Londrina. 2011.

ABSTRACT

The goals of this work were develop a biofilm enriched with an amylolytic microorganism, evaluate it's biodegradability and apply the biofilm as a container on the seedling production, as well as evaluate the effect of the seedling transplant with the biodegradable container on the watermelon (*Citrullus lanatus*) production. The strain *Bacillus* CA-10 was the chosen microorganism to be the biodegradation promoter. Analyzing the surfaces responses it was possible to estimate the formulation of 4,4% (m/v) of starch; 10,8% (m/m) of cellulose over the mass of starch and 24% of glycerol (m/m) over the mass of starch, as the composition which detent the features of the larger mechanical resistance to the traction, the lower deformation at the rupture point and the lager elasticity modulus obtained by the traction test; larger resistance to perforation and lower deformation under the perforation test and the lower water vapor permeability, considered the better features for the production of the plant seedling containers. The value of 0,035 grams of biofilm per day was solubilized in 10 mL of distilled water under 100 rpm. The total amylolytic activity after 48 hours of incubation in sterilized distilled water was 0,3138 U and 1,4729 U to the tubes with 0,1% sterilized peptone water. It was observed the amount of 1,9310 mg/dL of glucose in the tubes with sterilized distilled water, whereas in the tubes with 0,1% of sterilized peptone water was observed the amount of 2,9119 mg/dL of glucose. The total amylolytic activity and the presence of glucose indicate that the incorporated microorganism was viable and had been preserved its metabolic activity. The biodegradable container with the incorporation of the amylolytic microorganism resisted to the seedling production and practically it had completely biodegradated in 10 days after the transplant in vessels with soil non autoclaved. The biodegradable container in the both tested thickness did not had effect on the roots growth and the watermelon cultivated with the lower thickness container had the higher dry matter content.

Key – Words: Polymers. Biodegradation. Agricultural production.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1	– Classificação dos polímeros biodegradáveis	23
Figura 2	– Estrutura química e representação esquemática da (a) amilose e (b) amilopectina.....	25
Figura 3	– Representação esquemática dos processos de gelatinização e retrogradação.....	26
Figura 4	– Viscógrafo Brabender: a. Equipamento de aquecimento, agitação e mensuração da viscosidade; b. Central de processamento de dados; c. Detalhe da curva em resposta da programação	36
Figura 5	– Procedimentos de esterilização e moldagem por casting dos biofilmes: a. Câmara de fluxo laminar com luz UV; b. Recipiente com material antiaderente para moldagem da solução filmogênica; c. Biofilme moldado sobre a superfície antiaderente de fundo circular.....	38
Figura 6	– Texturômetro TA.XT.plus - STABLE MICRO SYSTEMS	40
Figura 7	– Esquema do sistema de determinação da força da deformação em teste de ruptura	41
Figura 8	– Vista superior da cápsula contendo o biofilme para o teste de permeabilidade ao vapor de água.....	42
Figura 9	– Aparato para a tomada de fotografias padronizadas	44
Figura 10	– Formato cônico do recipiente para a produção de mudas. a: ilustração; b: recipiente com substrato.....	47
Figura 11	– Colônias bacterianas com halo de degradação de amido; a: Bacillus CA10; b: Bacillus RA1; Bacillus DA1	49
Figura 12	– Presença de defeitos tecnológicos em filmes produzidos em diversas concentrações dos componentes amido, glicerol e celulose, a: alta concentração de amido; b: baixa concentração de amido; c: baixa concentração de glicerol	50
Figura 13	– Colônias resultantes do plaqueamento do corpo de prova utilizado no teste de tração	51

Figura 14 – Curvas de contorno para a resistência mecânica a tração em função das concentrações de amido e de celulose para a menor e maior concentração de glicerol	56
Figura 15 – Superfícies de resposta para a resistência mecânica a tração em função das concentrações de amido e de celulose para a menor e maior concentração de glicerol	56
Figura 16 – Curvas de contorno para a máxima elongação no ponto de ruptura em função das concentrações de amido e de glicerol para a menor e maior concentração de celulose	60
Figura 17 – Superfícies de resposta para a máxima elongação no ponto de ruptura em função das concentrações de amido e de glicerol para a menor e maior concentração de celulose	60
Figura 18 – Curvas de contorno para o módulo de elasticidade em função das concentrações de amido e de celulose para a menor e maior concentração de glicerol	64
Figura 19 – Superfícies de resposta para o módulo de elasticidade em função das concentrações de amido e de celulose para a menor e maior concentração de glicerol	64
Figura 20 – Curva de contorno e superfície de resposta para força máxima exercida no ponto de ruptura do filme	
Figura 21 – Curvas de contorno para a máxima deformação no ponto de ruptura em função das concentrações de amido e de celulose para a menor e maior concentração de glicerol	71
Figura 22 – Superfícies de resposta para a máxima deformação no ponto de ruptura em função das concentrações de amido e de celulose para a menor e maior concentração de glicerol	71
Figura 23 – Curvas de contorno para a permeabilidade ao vapor de água do filme em função das concentrações de amido e de glicerol para a menor e maior concentração de celulose	75
Figura 24 – Superfícies de resposta para a permeabilidade ao vapor de água do filme em função das concentrações de amido e de glicerol para a menor e maior concentração de celulose	75
Figura 25 – Gráfico de solubilização do biofilme em água com respectiva equação de regressão linear	77

Figura 26 – Diferença na tonalidade azul da reação de degradação quando comparado com o branco em a: biofilmes incubados com água destilada autoclavada e b: biofilmes incubados com água peptonada 0,1% autoclavada.....	79
Figura 27 – Recipientes para a produção de mudas com espessuras, a: espessura de 0,09 mm e b: 0,20 mm, após o período de produção de mudas.....	80
Figura 28 – Vestígios dos recipientes degradados após 10 dias do transplante para vasos; a: espessura 0,09 mm em solo autoclavado; b: espessura 0,09 mm em solo não autoclavado; c: espessura 0,20 mm em solo autoclavado; d: espessura 0,20 mm em solo não autoclavado	81

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Arranjo fatorial completo (2^3) com 3 variáveis dependentes a 2 níveis de variação	37
Tabela 2 – Variáveis codificadas e descodificadas	38
Tabela 3 – Concentração dos componentes e defeitos tecnológicos encontrados	50
Tabela 4 – Variáveis descodificadas e quantidade teórica de células por grama de matéria seca (Biofilme)	51
Tabela 5 – Variáveis descodificadas e valores observados para a tensão máxima no ponto de ruptura	53
Tabela 6 – Análise de variância para os efeitos principais, interações e falta de ajuste do modelo de resistência mecânica a tração	53
Tabela 7 – Estimativa dos efeitos das variáveis independentes sobre a tensão de ruptura dos filmes	53
Tabela 8 – Coeficientes de regressão do modelo linear sobre a tensão na ruptura dos filmes.....	55
Tabela 9 – Variáveis descodificadas e valores observados para a elongação máxima no ponto de ruptura	57
Tabela 10 – Análise de variância para os efeitos principais, interações e falta de ajuste do modelo para a deformação máxima no ponto de ruptura.....	57
Tabela 11 – Estimativa dos efeitos das variáveis independentes sobre elongação máxima no ponto de ruptura dos filmes.....	58
Tabela 12 – Coeficientes de regressão do modelo linear sobre elongação máxima no ponto de ruptura dos filmes	59
Tabela 13 – Variáveis descodificadas e valores observados para o módulo de elasticidade	61
Tabela 14 – Análise de variância para os efeitos principais, interações e falta de ajuste do modelo para o módulo de elasticidade.....	61
Tabela 15 – Estimativa dos efeitos das variáveis independentes sobre módulo de elasticidade dos filmes	62
Tabela 16 – Coeficientes de regressão do modelo linear para o módulo de elasticidade dos filmes	63

Tabela 17 – Variáveis descodificadas e valores observados para força máxima exercida no ponto de ruptura	65
Tabela 18 – Análise de variância para os efeitos principais, interações e falta de ajuste do modelo para força máxima exercida no ponto de ruptura	65
Tabela 19 – Estimativa dos efeitos das variáveis independentes sobre a força máxima exercida no ponto de ruptura dos filmes	66
Tabela 20 – Coeficientes de regressão do modelo linear sobre força máxima exercida no ponto de ruptura dos filmes	67
Tabela 21 – Variáveis descodificadas e valores observados para a deformação máxima no ponto de ruptura.....	68
Tabela 22 – Análise de variância para os efeitos principais, interações e falta de ajuste do modelo para força máxima exercida no ponto de ruptura.....	69
Tabela 23 – Estimativa dos efeitos das variáveis independentes sobre a tensão de ruptura dos filmes	69
Tabela 24 – Coeficientes de regressão do modelo linear sobre a deformação máxima no ponto de ruptura dos filmes.....	70
Tabela 25 – Variáveis descodificadas e valores observados para a permeabilidade ao vapor de água	72
Tabela 26 – Análise de variância para os efeitos principais, interações e falta de ajuste do modelo para a permeabilidade ao vapor de água	72
Tabela 27 – Estimativa dos efeitos das variáveis independentes sobre a permeabilidade ao vapor de água dos filmes.....	73
Tabela 28 – Coeficientes de regressão do modelo linear sobre a permeabilidade ao vapor de água dos filmes.....	74
Tabela 29 – Análise de variância, CV = 1,51%, para os tratamentos produção de mudas em recipiente produzidos com duas espessuras: 0,09 mm e 0,2 mm e transplantados em vasos com e sem solo autoclavado.....	82
Tabela 30 – Testes de comparação de médias de Tukey para quantidade de matéria seca (g) dos diferentes tratamentos	83

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	15
2 OBJETIVOS	17
2.1 OBJETIVO GERAL	17
2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	17
3 REVISÃO DE LITERATURA	18
3.1 PRODUÇÃO DE MUDAS HORTÍCOLAS	18
3.2 CULTURA DA MELANCIA (CITRULLUS LANATUS)	20
3.3 POLÍMEROS BIODEGRADÁVEIS	23
3.3.1 Biopolímeros	23
3.3.2 Amido	24
3.4 PLASTIFICANTES	27
3.5 COMPÓSITOS COM FIBRAS DE CELULOSE	28
3.6 PRODUÇÃO DE FILMES A BASE DE AMIDO	30
3.7 BIODEGRADAÇÃO	31
4 MATERIAL E MÉTODOS	35
4.1 SELEÇÃO DO MICRORGANISMO PROMOTOR DA BIODEGRADAÇÃO	35
4.2 LIOFILIZAÇÃO E CONTAGEM DO MICRORGANISMO AMIOLÍTICO	35
4.3 PRODUÇÃO DOS BIOFILMES	36
4.3.1 Preparo da Solução Filmogênica	36
4.3.2 Determinação da Melhor Composição para o Biofilme	37
4.4 CARACTERIZAÇÃO DOS FILMES	38
4.4.1 Propriedades Mecânicas	39
4.4.1.1 Teste de tração	39
4.4.1.2 Teste de perfuração	40
4.4.1.3 Teste para verificar a propriedade de barreira do biofilme	41
4.5 CARACTERIZAÇÃO DO RECIPIENTE BIODEGRADÁVEL	43
4.6 DETERMINAÇÃO DA SOLUBILIDADE	43
4.7 TESTES DE BIODEGRADABILIDADE DO RECIPIENTE BIODEGRADÁVEL	44
4.7.1 Testes de Biodegradabilidade Conduzidos em Laboratório	44

4.7.1.1	Determinação da atividade amilolítica total	45
4.7.1.2	Determinação de glicose	45
4.7.2	Testes de Biodegradabilidade Conduzidos em Casa de Vegetação	46
4.8	ANÁLISE DO EFEITO DO RECIPIENTE BIODEGRADÁVEL SOBRE O DESENVOLVIMENTO DA PLANTA	47
5	RESULTADO E DISCUSSÃO	49
5.1	SELEÇÃO DO MICRORGANISMO PROMOTOR DA BIODEGRADAÇÃO	49
5.2	TESTES PRÉVIOS PARA DEFINIR AS FAIXAS DE VARIAÇÃO DAS VARIÁVEIS A SEREM UTILIZADAS NO DESENHO EXPERIMENTAL	49
5.3	PROPRIEDADES MECÂNICAS	52
5.3.1	Teste de Tração	52
5.3.1.1	Tensão máxima no ponto de ruptura	52
5.3.1.2	Deformação máxima no ponto de ruptura	56
5.3.1.3	Módulo de elasticidade	60
5.3.2	Teste de Perfuração	65
5.3.2.1	Força máxima exercida no ponto de ruptura	65
5.3.2.2	Deformação máxima no ponto de ruptura	68
5.4	PROPRIEDADE DE BARREIRA	72
5.4.1	Permeabilidade ao Vapor de Água	72
5.5	CARACTERÍSTICAS DO RECIPIENTE BIODEGRADÁVEL	76
5.6	DETERMINAÇÃO DA SOLUBILIDADE EM ÁGUA	76
5.7	TESTES DE BIODEGRADABILIDADE DO RECIPIENTE BIODEGRADÁVEL CONDUZIDOS EM LABORATÓRIO	77
5.7.1	Determinação da Atividade Amilolítica Total	77
5.7.2	Determinação de Glicose	79
5.8	TESTES DE BIODEGRADABILIDADE CONDUZIDOS EM CASA DE VEGETAÇÃO	79
5.8.1	Avaliação Visual da Biodegradabilidade dos Recipientes para Mudanças no Momento do Transplante	80
5.8.2	Avaliação Visual da Biodegradabilidade dos Recipientes para Mudanças Após o Transplante	80
5.9	ANÁLISE DO EFEITO DO RECIPIENTE BIODEGRADÁVEL SOBRE O DESENVOLVIMENTO DA PLANTA	82

6 CONCLUSÕES	86
7 SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS	87
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	88

1 INTRODUÇÃO

Os campos destinados à produção comercial de sementes são regidos por normas de produção (cada cultura possui sua própria) estabelecidas pelas Comissões Estaduais de Sementes e Mudas, e tais lavouras necessitam de intenso controle de pragas, doenças e plantas invasoras. Portanto, as ações de manejo refletem no custo final das sementes e, conseqüentemente, o custo de produção.

A horticultura requer pequenas áreas de cultivo, propicia alta produtividade e retorno financeiro quando manejada corretamente, contribuindo para fixar o homem no campo. Segundo os dados de 2008 da Central de Abastecimento de Londrina (CEASA-PR) são comercializados mais de 167.000 toneladas de produtos hortigranjeiros por ano.

A maioria das hortaliças é propagada utilizando-se semente botânica e algumas culturas através de partes vegetativas. Segundo Filgueira (2000), o olericultor atual preocupa-se mais com a etapa de implantação da cultura do que com sua condução. De acordo com Fontes (2005), o campo agrícola para exploração econômica é formado por plantas de interesse comercial provindas de duas modalidades de cultivo distintas: semeadura direta no campo ou via sistema de transplântio com o uso de mudas. A produção de mudas em ambiente protegido é uma atividade em expansão e podem ser realizadas tanto pelo olericultor quanto por empresas especializadas. As mudas são obtidas por meio de semeadura, em canteiros (ou sementeiras) com ou sem repicagem para os viveiros, e por semeadura em recipientes coletivos (bandejas) ou individuais (sacos plásticos).

A melancia pertence à família *Curcubitaceae* e sua implantação no campo é realizada tradicionalmente através da semeadura direta no campo, pois quando o sistema de transplântio de mudas é utilizado a planta sofre com o estresse de exposição de suas raízes e sua readaptabilidade ao novo ambiente no nível da rizosfera despende muita energia por um período de tempo longo, o que pode comprometer a continuidade de seu desenvolvimento e o rendimento produtivo.

Os recipientes facilitam os trabalhos de semeadura, tratos culturais e conseqüentemente reduz a quantidade de mão-de-obra requerida na condução inicial da lavoura, assim como requerem menores quantidades de substrato e espaço na estufa, ações que também influem no lucro esperado pelo agricultor. Um

recipiente individual muito utilizado é o saco plástico que após o transplante é descartado, sem o reaproveitamento para a mesma finalidade de produção de mudas, não apresentando coerência com o desenvolvimento agrícola sustentável por causar impacto ambiental pela poluição com resíduos sólidos. Do ponto de vista ambiental, existem três classes diferentes de poluição: da atmosfera, de águas e por resíduos sólidos.

Dentre os diversos resíduos gerados diariamente pelas atividades humanas, o material plástico possui um crescente consumo, assim como apresentam também uma crescente participação como material poluente (REDDY et al., 2003; FRANCHETTI; MARCONATO, 2006). Segundo o artigo “Sem retorno” de Bizzotto (27 de fevereiro de 2009) publicado no jornal O Estado de São Paulo, o país produz cerca de 18 bilhões de sacolas plásticas, sendo que cerca de 80% após o uso vão para os aterros sanitários, contudo, cada sacola irá se decompor no ambiente em média após 500 anos.

Estudos visando à solução do problema do acúmulo de resíduos plásticos são realizados desde meados da década de 70, quando surgiram as formulações envolvendo a mistura de polímeros sintéticos com biopolímeros com a finalidade de desenvolver embalagens mais facilmente degradáveis (CURVELO et al., 2001). Biopolímeros são materiais poliméricos classificados estruturalmente como polissacarídeos, poliésteres ou poliamidas. Dentre os biopolímeros mais promissores para este fim estão os amidos de diversas fontes botânicas, por serem biodegradáveis, de baixo custo e com alta disponibilidade no mercado.

As fibras naturais são materiais de reforço na preparação de compósitos biodegradáveis com boas propriedades de interface que tendem a diminuir as características higroscópicas de filmes produzidos a partir de amido.

De acordo com este panorama, o presente trabalho teve como propósito desenvolver um recipiente biodegradável para produção de mudas de melancia e proporcionar ao agricultor a praticidade de não remover o recipiente no momento do transplante, o que também propicia uma integridade das raízes de plantas transplantadas, e expectativas de melhores produtividades.

2 OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

Desenvolver filme biodegradável enriquecido com microrganismo amilolítico e aplicá-lo como recipiente na produção de mudas agrícolas.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Determinar a melhor composição do biofilme através do uso da metodologia de superfície de resposta em relação às propriedades mecânicas e físico-químicas;
- Avaliar a biodegradabilidade do biofilme desenvolvido;
- Verificar a atividade amilolítica do microrganismo presente no biofilme;
- Verificar a resistência do recipiente durante a fase de produção de mudas;
- Verificar o efeito do uso do biofilme como recipiente biodegradável no cultivo da melancia (*Citrullus lanatus*).

3 REVISÃO DE LITERATURA

3.1 PRODUÇÃO DE MUDAS HORTÍCOLAS

A muda é uma estrutura vegetativa, oriunda de uma espécie ou cultivar, produzida através de propagação sexuada ou assexuada, conduzida sobre preceitos básicos adotados para a espécie ou cultivar em particular que tenha por finalidade o plantio visando à produção. Nos últimos anos, as mais importantes modificações no sistema de produção de hortaliças estão sendo feitas durante o processo de produção de mudas (MINAMI, 1995).

A produção de mudas é uma fase do processo produtivo de vital importância para o êxito de uma exploração hortícola, pois dela depende o desempenho da planta, tanto nutricionalmente quanto para o tempo necessário para a reprodução. O sucesso do cultivo de hortaliças depende em grande parte da utilização de mudas de alta qualidade, o que torna o cultivo de hortaliças mais competitivo, com o aumento de produtividade e diminuição dos riscos de produção (MINAMI, 1995).

A produção de mudas de hortaliças em sementeiras é uma atividade de custo relativamente elevado, de alto risco e de baixa eficiência. A produção de mudas em recipientes pode contornar muitas inconveniências das realizadas em canteiro (SOUSA; LÉDO; SILVA, 1997).

Segundo Bezerra (2003), a produção de mudas de hortaliças sob cultivo protegido tem apresentado um crescimento expressivo, em decorrência das vantagens em relação ao sistema tradicional, geralmente conduzido em canteiros ou sementeira com ou sem transplante para casa-de-vegetação. As vantagens são maior precocidade; menor possibilidade de contaminação fitopatogênica; maior relação percentual entre sementes plantadas e mudas obtidas; melhor aproveitamento da área destinada à produção de mudas; maior facilidade na execução de tratamentos culturais como desbaste, irrigação, adubação, tratamento fitossanitário; e menor estresse por ocasião do transplantio.

As sementes que originarão as mudas podem ser semeadas em recipientes (o que facilita este trabalho e os tratamentos culturais) e proporcionam melhor utilização do espaço na estufa e requerem menores quantias de substrato, variáveis que influem no custo final. Mudas produzidas em recipientes pequenos têm seus

custos reduzidos quando comparados com os custos de produção em recipientes maiores; em contrapartida, mudas produzidas em recipientes grandes são maiores e mais vigorosas (BEZERRA, 2003; BEZERRA; AQUINO, 2003).

Conforme Xu; Wolf; Kafkafi (2001), plantas de pimenta doce (*Capsicum annum L.*) quando cultivadas em recipientes que restringia o volume para o desenvolvimento das raízes, eram induzidas ao florescimento precoce e de menor duração, assim como a maturação dos frutos também era precoce. A resposta da parte aérea em restrição ao crescimento das raízes varia entre as espécies e há resultados contraditórios sobre a relação do efeito da restrição de água para as raízes, razão parte aérea:raíz e composição de nutrientes na planta. Nem sempre a restrição de água e nutrientes são responsáveis pela menor área foliar em plantas com volume de raiz restringido, mas preferencialmente estão ligados ao fornecimento de substâncias promotoras de crescimento nela sintetizadas (KHARKINA; OTTOSEN; ROSENQVIST, 1999). Em trabalhos conduzidos com a cultura do tomate, Shi et al. (2008) concluíram que a limitação fotossintética das folhas pela restrição de volume das raízes está intimamente relacionado com o estresse de água e a redução na assimilação do CO₂ é primariamente devida à limitações estomatais prejudicando o ciclo de Calvin.

Vários materiais podem ser utilizados como recipientes individuais, que comportam maiores volumes de substrato, porém destaca-se o uso de copo de papel (jornal), copo descartável e saco plástico. O primeiro pode ser ou não removido no momento do transplante a campo, sendo que os dois últimos devem ser selado (SOUSA; LÉDO; SILVA, 1997). Na escolha do recipiente deve ser considerado o custo, material, tamanho, forma, facilidade de manuseio e peso (MINAMI, 1995).

Os substratos para a produção de mudas podem ser definidos como sendo o meio adequado para sua sustentação e retenção de quantidades suficientes e necessárias de água, oxigênio e nutrientes. Possuir características como pH compatível, ausência de elementos químicos em níveis tóxicos e condutividade elétrica adequada. A fase sólida do substrato é constituída por uma mistura de partículas minerais e orgânicas, cuja composição poderá influenciar o suprimento adequado de nutrientes, água e oxigênio à semente (GUERRINI; TRIGUEIRO, 2004).

O substrato ideal deve possuir algumas características como: ser de baixa densidade; ter boa aeração; elevada capacidade de retenção de água e ao

mesmo tempo ter boa drenagem para evitar acúmulos excessivos de água; não ter contaminantes fitopatogênicos; ser isentos de ervas daninhas; ser neutro e não salino alcalino ou ácido; não conter substâncias tóxicas; não mudar as suas propriedades e qualidades sob condições esterilização comercial; ser uniforme; facilidades de abastecimento; estabilidade no armazenamento, mantendo suas qualidades e ser de baixo custo. Porém, encontrar todas essas características em um único produto é praticamente impossível, sendo aconselhável utilizar material de diversas fontes (SOUSA; LÉDO; SILVA, 1997).

3.2 CULTURA DA MELANCIA (*CITRULLUS LANATUS*)

A melancia (*Citrullus lanatus*) é considerada uma hortaliça-fruto rasteira que foi introduzida no Brasil pelos escravos africanos durante o ciclo econômico da cana-de-açúcar. As sementes eram originárias de regiões equatorianas da África que geraram frutos do tipo redondos e pequenos, posteriormente introduziu-se cultivares de frutos grandes de origem egípcia (VILELA; AVILA; VIERIA, 2006). O hábito de florescimento é monóico e polinização efetuado por abelhas. As cultivares pode ser do tipo globular, tipo alongado ou do tipo sem semente (FILGUEIRA, 2000).

A melancia é cultivada de forma predominante por pequenos produtores, sendo que dos 107 mil produtores a maior parte possui propriedade rural menor que 20 hectares, porém, não há dados precisos sobre o volume de frutos comercializados internamente devido ao grande número de canais de escoamento da produção (organizações associativas, consumidores institucionais, varejistas locais, atacadistas e agroindústrias). De acordo com os dados do IBGE (2006), citado por Vilela; Avila; Viera, 2006, a safra brasileira em 2005 foi de 1,614 mil toneladas em uma área de 85,292 mil hectares. A produção brasileira de melancia está distribuída entre as regiões Sul (34,3%); Nordeste (30,1%) Sudeste (14,9%) e Norte (11,9%). Os principais estados produtores são o Rio Grande do Sul (26,15%), seguido por São Paulo (12,30%), Bahia (9,43%), Goiás (6,77%) Rio Grande do Norte (7,72%) e Tocantins (5,70%). As melancias comercializadas na CEASA-Londrina possuem, em sua maioria, procedência correspondente aos estados de São Paulo, Rio Grande do Sul, Goiás e do próprio Paraná.

A hortaliça-fruto foi a segunda hortaliça mais exportada no ano de

2006, no qual ficou somente atrás do melão, contabilizando um volume de 30.333 toneladas no valor de US\$ 9.718 mil, sendo os estados do Rio Grande do Norte e Ceará os maiores exportadores. Nos segmentos socioeconômicos envolvidos na produção e no consumo, observam-se nítidas discrepâncias em relação à renda da população. A melancia é um produto de elevada elasticidade entre renda e demanda, sendo que o maior consumo está concentrado na classe de alta renda, ou seja, o consumo aumenta quando a renda familiar aumenta. Nas principais regiões brasileiras o consumo da população de renda alta é quatro vezes maior do que a de baixa renda. Esse contraste assume maior intensidade na região Sudeste, onde a classe de renda alta apresenta o consumo 13 vezes maior em relação ao grupo de renda mais baixa (VILELA; AVILA; VIERIA, 2006).

Conforme Leonel et al. (2000), as exigências do consumidor brasileiro são por melancias de frutos arredondados, com casca verde-claro e estrias escuras, polpa vermelha e elevado teor de açúcares. Outro fato que impulsionou o consumo de melancias recentemente é a comercialização de melancias quadradas, produzida inicialmente no Japão. O formato é obtido através do acondicionamento do fruto em caixas de vidro durante seu desenvolvimento, que facilita o corte e armazenamento em geladeira (BBC Brasil, 2001). No Brasil a melancia já começou a ser produzida no Ceará, porém são exportadas, sendo que o preço final obtido pelo fruto é altamente rentável (Globo notícias, 2005).

O alto consumo de frutas e vegetais pode contribuir com a saúde humana devido ao teor de substâncias antioxidantes que estes alimentos contêm, incluindo carotenóides, flavonóides, compostos fenólicos e vitaminas (GARDNER et al., 2000). A melancia possui pequenas quantias de compostos fenólicos e vitamina C quando comparada com outras frutas (GIL; AGUAYO; KAER, 2006). Porém, o fruto é rico em licopeno, fonte da coloração vermelha da polpa, e beta-caroteno (BREEMEN; PAJKOVIC, 2008; CHAROENSIRI et al, 2009). O consumo de produtos que possuem licopeno vem sendo constantemente associado com a redução na incidência de doenças coronárias e alguns tipos de câncer (FRASER; BRAMLEY, 2004).

A cultura pode se propagar através de sementes e por cultura de tecidos, ou seja, micropropagação, sendo este último uma técnica recente de biotecnologia (FONTES, 2005; COMPTON; GRAY; GABA, 2004).

De acordo com Fonseca Ferreira (2005), a melancia se caracteriza

por se reproduzir por cruzamentos ao acaso, mas para a produção de sementes, os cruzamentos são conduzidos de maneira específica entre diferentes materiais genéticos ou pela autofecundação do material. Tais métodos representam os programas de recursos genéticos, pré-melhoramento, melhoramento genético e produção comercial de híbridos.

Atualmente existe disponíveis no mercado de sementes grande número de cultivares de melancia, as quais apresentam características distintas de ciclo, tamanho do fruto, tolerância a patógenos, exigência nutricional e manejo pós-colheita. Dentre as cultivares de melancia disponíveis no mercado brasileiro, as mais cultivadas são Charleston Gray, Congo, Emperor, Esmeralda, Crimson Sweet, Fairfax, Omaru Yamato e Yamato Sato. Dentre os híbridos, têm-se Beni Tsubasa, Eureka, Geórgia, Hikari Kodama, Honey ball, Red Tower Kobayashi, Sun, Emperor Charleston Bonanza, Starbrite, Nova (sem sementes), Jetstream, Madera, Mirage, Rubi AG-08, Tiffany (sem sementes), Preciosa e Pérola. Os híbridos, cujas sementes são mais caras, podem apresentar maior precocidade, produtividade, frutos maiores e mais uniformes (FONTES, 2005; DIAS et al.,2001; LEONEL et al.,2000).

Fontes (2005) afirma que, em alguns casos, como no uso de sementes de melancia triplóides (sem sementes), a escolha da semente representa em torno de 25% do custo total de produção. No atual mercado mundial, a melancia sem sementes é um produto muito aceito, sendo uma ótima alternativa de cultivo para produtores especializados em olerícolas. Nos Estados Unidos, até o ano de 1991, este produto ocupava cerca de 5% do mercado e, em 2001, participou com cerca de 20% do mesmo. No Brasil não há informação neste sentido (DIAS et al., 2001).

3.3 POLÍMEROS BIODEGRADÁVEIS

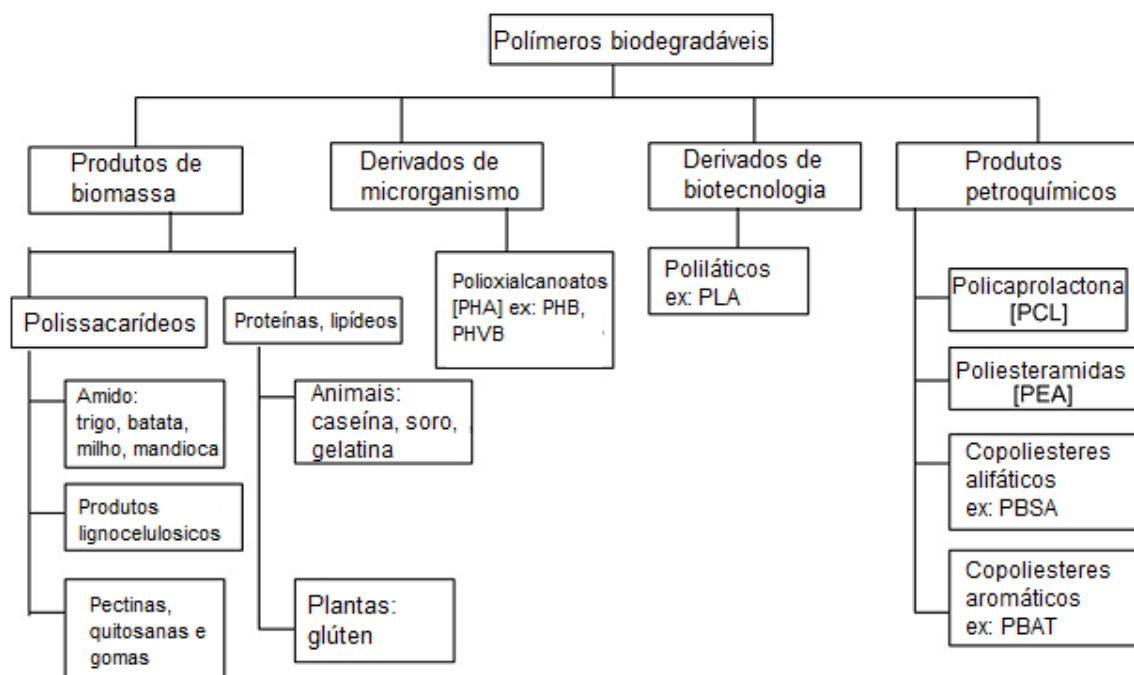
3.3.1 Biopolímeros

Os polímeros biodegradáveis naturais ou biopolímeros são sintetizados por diversos ciclos da natureza por meio de reações de polimerização

ou catálise enzimática, no interior de células, por processos metabólicos complexos (CHANDRA; RUSTGI, 1998).

Os polímeros podem ser classificados em quatro famílias de acordo com Avèrous e Boquillon (2004): produtos de biomassa; derivados de microrganismos; derivados de biotecnologia e produtos petroquímicos. Conforme pode ser observado no esquema apresentado na Figura 1.

Figura 1 – Classificação dos polímeros biodegradáveis



Fonte: Averous e Boquillon, (2004)

Com exceção da quarta família que é formada de poliésteres sintetizados por processos petroquímicos (PCL – policaprolactona, PEA – amida poliéster e alifáticos ou aromáticos copoliésteres), a maioria dos polímeros (famílias de 1 a 4) são obtidas de fontes renováveis (biomassa). A primeira família é formada por agropolímeros (ex: polissacarídeos) produzidos a partir da biomassa por fracionamento. A segunda e a terceira família são constituídos por poliésteres obtidos pela fermentação da biomassa ou de plantas geneticamente modificadas (ex: PHA - polihidroxialcanoatos), e pela síntese de polímeros a partir de monômeros obtidos da biomassa (PLA – ácidos poliláticos) (CHANDRA; RUSTGI, 1998; AVEROUS; BOQUILLON, 2004; BELITZ; GROSCH; SCHIEBERLE, 2009).

Um grande número destes biopolímeros são comercialmente

disponíveis, apresentam uma ampla faixa de propriedades e podem ser adicionados com outros polímeros não biodegradáveis em diferentes áreas industriais como a de embalagens (AVEROUS; BOQUILLON, 2004).

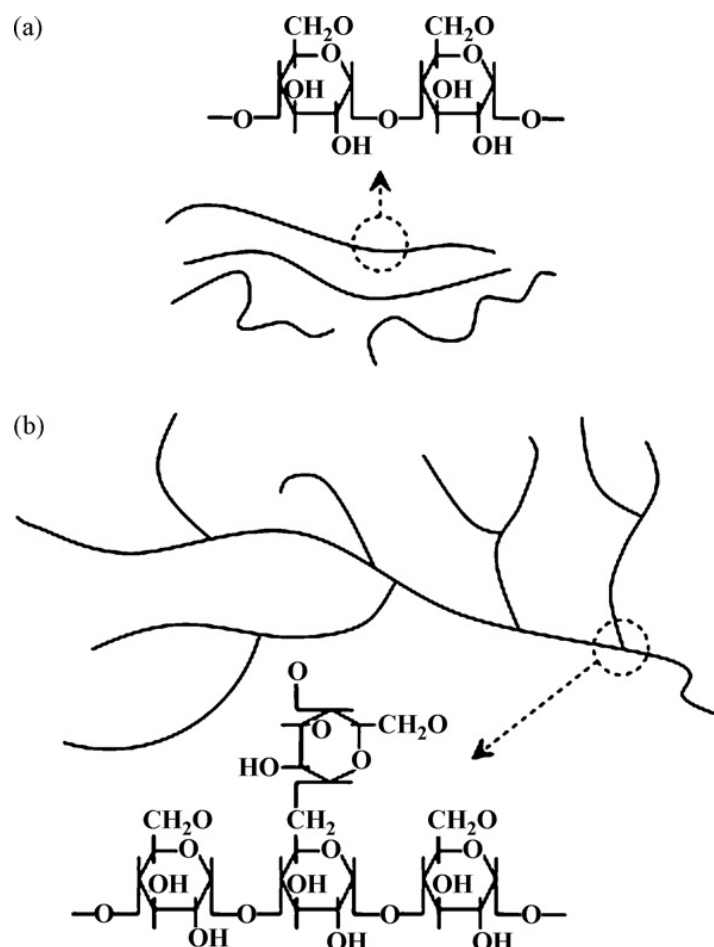
3.3.2 Amido

O amido é um polissacarídeo de baixo custo e obtido de plantas agricultáveis, na forma de grânulos facilmente isoláveis como forma de reserva de carboidratos, sendo também uma matéria prima de fonte renovável e suscetível ao ataque biológico (ZULLO; IANNACE, 2009). Os grânulos de amido nativo possuem varias formas, dimensões e são insolúveis em água gelada e diversos solventes orgânicos (VAN SOEST; VLIEGENTHART, 1997).

O amido é um complexo homopolímero formado por unidades de α -D-glicose com duas formas estruturais e funcionais encontradas por combinação física: amilose e amilopectina (VAN SOEST; VLIEGENTHART, 1997). A amilose é uma molécula linear ou esparsamente ramificada, com ligações glicosídicas α 1-4 predominantes e massa molecular acima de 10^6 Daltons; enquanto que, a amilopectina é múltipla e altamente ramificada, no ponto de ramificação com ligação glicosídica α 1-6 e massa molecular em torno de 10^8 Daltons (VAN SOEST; VLIEGENTHART, 1997; BELITZ; GROSCH; SCHIEBERLE, 2009; LIU et al., 2009; FROST, et al., 2009), a Figura 2 demonstra as duas estruturas.

Fisicamente, a maioria dos amidos nativos é semicristalina, com cristalinidade entre 20 e 45%, no qual a amilose e os pontos de ramificação da amilopectina formam as regiões amorfas, e as cadeias pouco ramificadas da amilopectina são as principais componentes cristalinos nos grânulos de amido (LIU et al., 2009). As cadeias ramificadas da amilopectina estão presentes na forma de dupla hélice e a estrutura do cristal em amido nativo é formada pelo empacotamento da matriz hexagonal de amilopectina helicoidais (BELITZ; GROSCH; SCHIEBERLE, 2009; FROST, et al., 2009).

Figura 2 – Estrutura química e representação esquemática da (a) amilose e (b) amilopectina



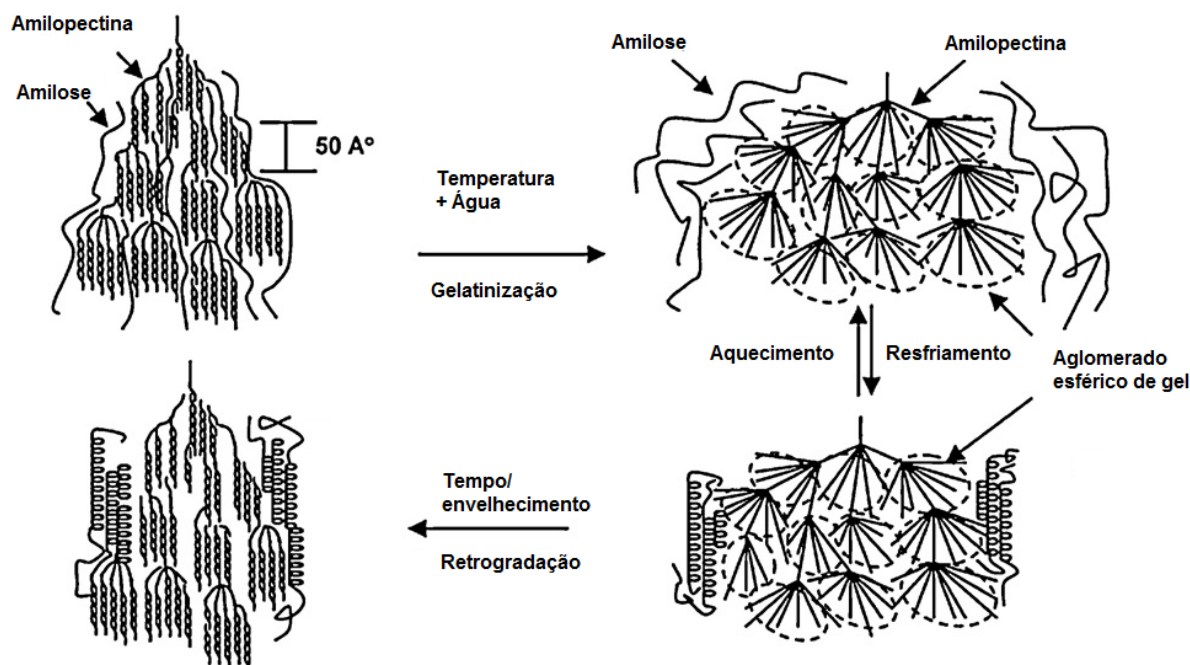
Fonte: Liu et al. (2009)

A origem do amido altera a quantidade e o comprimento das cadeias ramificadas, a proporção entre amilose: amilopectina, a estrutura química e suas propriedades funcionais. Grânulos típicos de amido de milho contêm aproximadamente 70% de amilopectina e 30% de amilose e ainda possuem quantidades mínimas de minerais, lipídios e proteínas (VAN SOEST; VLIEGENTHART, 1997; LIU et al., 2009).

O processamento térmico de polímeros de amido envolve múltiplas reações físico-químicas, como difusão em água, intumescimento dos grânulos, gelatinização, decomposição, fusão e cristalização. A gelatinização refere-se à destruição das estruturas cristalinas nos grânulo de amido, o que é um processo irreversível e que inclui o intumescimento dos grânulos, fusão das regiões cristalinas com perda da birrefringência a luz e solubilização molecular, formando uma pasta de propriedades reológicas dependente da origem do amido, e a temperatura em que ocorre este processo denomina-se temperatura de gelatinização (VAN SOEST; VLIEGENTHART, 1997; LIU et al., 2009). A Figura 3 demonstra a transição de fase

durante a gelatinização e a retrogradação.

Figura 3 – Representação esquemática dos processos de gelatinização e retrogradação



Fonte: Adaptado de Liu et al. (2009)

Conforme Belitz; Grosch; Schieberle (2009) e Liu et al. (2009), as suspensões com 60%, ou mais de conteúdo de água, as forças de van der Waals ou pontes de hidrogênio que mantinham os componentes moleculares unidos sob a forma de esferulitos, são rompidas e moléculas de água são anexadas aos grupos hidroxilas dos componentes moleculares do amido, resultando em maior intumescimento e dissolução dos cristalitos; simultaneamente, todas as duplas hélices pertencentes da amilopectina são dissociadas e os grânulos são rompidos. De acordo com os mesmos autores, durante a gelatinização, a amilose e a amilopectina são separadas devido a sua incompatibilidade estrutural e o processamento com cisalhamento pode aumentar esta separação; contudo, a maior parte da amilose continua na amilopectina, que mantêm sua forma estrutural como no grânulo e que propicia a formação de aglomerados esféricos de gel (com cadeias da mesma sub-cadeia).

O processo de gelatinização na presença de agentes gelatinizantes ou plastificantes produz um material denominado amido termoplástico (VAN SOEST;

VLIEGENTHART, 1997; AVEROUS et al., 2000) e sua obtenção é feita através das técnicas como a extrusão, modelagem por injeção/compressão, prensagem a quente e por intensa agitação (LIU et al., 2009).

A pasta viscoelástica homogênea e amorfa de amido possui comportamento reológico de materiais pseudo-plásticos, no qual a viscosidade aparente diminui com o aumento da temperatura e, com o aumento do conteúdo de plastificante (e/ou água) a uma mesma temperatura; porém a viscosidade aparente aumenta a mesma taxa de cisalhamento quando há maior teor de amilose para amidos de mesma origem botânica e com a concentração de amido (BERTUZZI; ARMADA; GOTTIFREDI, 2007; LIU et al., 2009; LÓPEZ; ZARITZKI; GARCÍA, 2010).

O amido, ao reagir com o iodo, produz coloração de tonalidade azul devido ao metal ocupar a cavidade interna helicoidal de poliglicose, o que é útil para a identificação botânica de diversos amidos e para estudos do aquecimento e resfriamento de dispersões e géis (SINGH; BELTON; GEORGET, 2009). Ainda de acordo com os mesmos autores, a amilose se liga com o iodo em maiores proporções do que as cadeias ramificadas da amilopectina.

3.4 PLASTIFICANTES

Plastificantes é uma importante classe de compostos não voláteis de baixo peso molecular e são amplamente utilizados na indústria de polímeros como aditivos (VIEIRA et al., 2011). O principal papel destes compostos é melhorar a flexibilidade e processabilidade de polímeros pelo abaixamento da temperatura de segunda ordem, a temperatura de transição vítrea (POMMET et al., 2003; POMMET et al., 2005; VIEIRA et al., 2011). Estas substâncias diminuem as características do polímero como: tensão de deformação, dureza, densidade, viscosidade e cargas eletrostáticas; mas ao mesmo tempo aumenta a flexibilidade das cadeias dos polímeros, resistência a fratura e a constante dielétrica (VIEIRA et al., 2011).

Os plastificantes devem ser compatíveis com o biopolímero utilizado como matriz; dentre eles, os mais estudados em combinação com os filmes de amido são os polióis, como o glicerol e o sorbitol, materiais que interagem com as cadeias de amido, aumentando a mobilidade molecular e, conseqüentemente, a flexibilidade (MALI et al, 2004; VIEIRA et al., 2011).

Polímeros de amido não podem ser termicamente processados, para

a produção de amido termoplástico, sem a presença de plastificante ou agente gelatinizante, devido ao fato da temperatura de decomposição térmica do polímero ser menor que a temperatura de fusão dos grânulos (LIU et al., 2009). A essencialidade dos plastificantes como aditivos na produção de coberturas e filmes de biopolímeros também se deve pela capacidade de melhorar as características de flexibilidade e manipulação, além de evitar a formação de poros e fendas na matriz polimérica, mantendo sua integridade (VIEIRA et al., 2011).

A proporção de 10 a 60 g/100g matéria seca de plastificantes são geralmente adicionadas a matriz polimérica para produção de filmes, dependendo do grau de rigidez do material essa quantia é variável (GONTARD; GUILBERT; CUQ, 1993 apud SHIMAZU; MALI, GROSSMANN, 2007). O efeito antiplastificante é causado pela diminuição da flexibilidade e hidrofobicidade do filmes de amido quando pequenas concentrações de plastificante são empregadas (abaixo 20 g/100 amido) e deve-se a interação do plastificante com a matriz polimérica, mas com quantia insuficiente para causar a mobilidade molecular (SHIMAZU; MALI, GROSSMANN, 2007).

O principal plastificante utilizado para o amido termoplástico é o glicerol, mas outros compostos como outros polióis, etileno glicol e uréia (VAN SOEST; VLIEGENTHART, 1997; DA RÓZ et al., 2006).

A amilopectina é mais sensível ao plastificante glicerol que a amilose; portanto, como os filmes confeccionados exclusivamente por amido são pouco flexíveis, quebradiços e apresentam baixa maquinabilidade, ou seja, se adéquam com dificuldade aos processamentos convencionais para a produção de embalagens, a introdução de aditivos às matrizes poliméricas é necessária (MYLLÄRINEN et al., 2002).

3.5 COMPÓSITOS COM FIBRAS DE CELULOSE

Recentemente, as discussões sobre a preservação dos recursos naturais e de reciclagem provocou um renovado interesse em relação ao uso de materiais naturais produzidos a partir de fontes renováveis (BLEDZKI; GASSAN, 1999; AVEROUS; BOQUILLON, 2004). As fibras naturais são classificadas de acordo com sua origem, provindas de plantas, animais ou minerais; geralmente, fibras de vegetais são utilizadas para reforçar materiais plásticos. Fibras de plantas

incluem fios (algodão), feixe de fibras em plantas dicotiledôneas ou feixe de vasos de monocotiledôneas (BLEDZKI; GASSAN, 1999).

Os componentes majoritários das biofibras (lignoceluloses) são: celulose, hemicelulose e lignina (MOHANTY; MISRA; HINRICHSEN, 2000). Porém, as fibras naturais podem ser consideradas como a ocorrência natural de compósitos, consistindo principalmente, de fibrilas de celulose dispersa na matriz de lignina; sendo que a celulose está alinhada ao longo da fibra, conferindo força, flexibilidade e rigidez (JOHN; THOMAS, 2008).

A celulose é constituída por unidades repetidas de resíduos de β -glicopiranosil unidos por ligações 1 \rightarrow 4 e é o principal componente da parede celular de plantas e freqüentemente encontrada com hemiceluloses, pectinas e ligninas (JOHN; THOMAS, 2008; BELITZ; GROSCH; SCHIEBERLE, 2009).

A estrutura da celulose é formada por hastes delgadas de microfibrilas cristalinas, no qual o cristal é monocíclico esfenoïdal compreendendo cerca de 60% da celulose nativa; porém as regiões de gel amorfo com ligações ácidas e alcalinas lábeis podem ser cristalizadas se houver remoção do seu conteúdo de água e se as ligações forem hidrolisadas, formando a celulose microcristalina, insolúvel em água e sem estrutura fibrosa (JOHN; THOMAS, 2008; BELITZ; GROSCH; SCHIEBERLE, 2009). A celulose microcristalina é resistente a agentes oxidantes e meios fortemente alcalinos (17,5% m/m), todavia é facilmente hidrolisada a açucares simples em meios fortemente ácidos (JOHN; THOMAS, 2008).

Materiais baseados em uma matriz exclusiva a base de amido não produzem corpos que complete todos os requisitos em algumas aplicações como a finalidade de embalagens, portanto, as pesquisas desenvolveram duas estratégias: modificação da cadeia de amido (ex: acetilação) e produtos multifásicos (AVÉROUS; FRINGANT; MORO, 2001).

Os biocompósitos são polímeros biodegradáveis utilizados como materiais de matriz e de enchimento ou carga, que normalmente são fibras biodegradáveis como, por exemplo, a celulose (AVEROUS; BOQUILLON, 2004). O uso das fibras naturais em aplicações técnicas como agente reforçador está presentes na indústria automotiva e de embalagens, pois propicia ganhos em força, resistência, dureza e menor flexibilidade (BLEDZKI; GASSAN, 1999; MOHANTY; MISRA; HINRICHSEN, 2000, AVEROUS; BOQUILLON, 2004).

3.6 PRODUÇÃO DE FILMES A BASE DE AMIDO

O amido pode ser utilizado na forma granular, natural ou modificada, ou transformado em amido termoplástico, podendo ser processado sozinho ou em combinação com algum polímero sintético. O grão de amido, na sua forma natural, pode ser incorporado a uma matriz polimérica, atuando como carga e os plásticos a base de amido podem conter de 10% a 90% do biopolímero, e conforme esta quantidade aumenta, os compósitos se tornam mais biodegradáveis, desta forma, reduzindo a liberação de resíduos recalcitrantes. Este tipo de plástico vem sendo muito empregado na produção de filmes agrícolas ou em sacolas de supermercados (CHANDRA; RUSTGI, 1998).

A aplicação do amido na confecção de biofilmes se baseia nas propriedades químicas, físicas e funcionais da amilose para formar géis e na sua capacidade para formar filmes. As moléculas de amilose em solução, devido à sua linearidade, tendem a se orientar paralelamente, aproximando-se o suficiente para que se formem ligações de hidrogênio entre hidroxilas de polímeros adjacentes, como resultado, a afinidade do polímero por água é reduzida, favorecendo a formação de pastas opacas e filmes resistentes (VAN SOEST; VLIEGENTHART, 1997).

Segundo Sarantópoulos et al. (2002), embalagens plásticas flexíveis são aquelas cujo formato depende da forma física do produto acondicionado e cuja espessura é inferior a 250 μm ou 0,25 mm.

O método de *casting* para produção de biofilmes envolve os processos de preparo da solução filmogênica com amido, compósitos e plastificantes; pelo processo de gelatinização seguido da moldagem e secagem (LIU et al., 2009). Os autores ainda afirmam que a espessura dos biofilmes pode ser controlada (normalmente entre 0,02 e 0,10 mm) pela quantidade de solução filmogênica depositada nas placas de acrílico ou de teflon, que são recipientes utilizados para a secagem em estufas.

3.7 BIODGRADAÇÃO

As definições sobre biodegradação dependem das diversas áreas de aplicação dos polímeros, portanto, ainda não estão claras (GRIMA et al., 2000). É

necessário fazer a distinção entre os conceitos de degradação e biodegradação. A degradação é um processo irreversível com mudanças na estrutura química de um polímero e envolve mudanças deletérias em suas propriedades através da interação dos mecanismos: degradação pela luz (fotodegradação), degradação pela ação do oxigênio (oxidação), degradação pelo calor (termodegradação), degradação mecânica e biodegradação por microrganismos como as bactérias e os fungos (GRIMA et al., 2000; MOHANTY; MISRA; HINRICHSEN, 2000).

Os materiais plásticos produzidos a partir de polímeros sintéticos acumulam no ambiente a uma taxa de 25 milhões de toneladas por ano; conseqüentemente, três alternativas são consideradas para reduzir o impacto ambiental, estas que são: a incineração, a reciclagem ou o uso de polímeros biodegradáveis (JBILOU et al., 2011). Em algumas aplicações a biodegradabilidade é condição primária para a funcionalidade do material, como por exemplo, o uso de fontes de carbono como nutriente para o cultivo de microrganismos ou compostos usados como veículos em fármacos, onde o objetivo da natureza biodegradável destes componentes é relevante para a disponibilidade do nutriente ou do princípio ativo para o organismo (MERGAERT et al., 2000).

Segundo Reddy et al. (2003), existem três tipos de plásticos biodegradáveis: os fotodegradáveis, os semi-biodegradáveis e os completamente biodegradáveis. Os plásticos fotodegradáveis possuem um grupo de aditivos sensíveis a luz incorporados à cadeia de carbono que sob extensiva exposição à radiação ultravioleta podem se desintegrar e permite que sua cadeia polimérica possa sofrer o ataque microbiano, porém a falta de luz nos aterros os mantêm não degradáveis. Os plásticos semi-biodegradáveis são aqueles em que polímeros naturais são adicionados aos polímeros sintéticos para favorecer o ataque microbiano. Os plásticos completamente biodegradáveis são aqueles que os microrganismos utilizam todo o polímero para seu crescimento.

Macromoléculas naturais geralmente degradam em sistemas biológicos através de hidrólise seguida de oxidação, por conterem ligações hidrolisáveis ao longo da cadeia polimérica que são suscetíveis a biodegradação, como por exemplo, as ligações amida, éster, uretânicas e tipo uréia (CHANDRA; RUSTGI, 1998).

De acordo com Chandra; Rustgi (1998), a biodegradação pode ocorrer tanto em meio líquido quanto em meio sólido e na presença ou ausência de

oxigênio pela atuação de diferentes microrganismos. Em condições aeróbias a degradação resulta em dióxido de carbono, água, biopolímero residual (dependente do tempo de degradação), biomassa microbiana e sais. Em condições anaeróbias a diferença é a produção de metano. Os polímeros naturais são mais suscetíveis a biodegradação completa (SHIMAZU; MALI; GROSSMANN, 2007).

A biodegradação pode ser precedida com a interação dos processos físicos e químicos, especialmente nos casos de polímeros inertes ao ataque microbiano, para tornar a cadeia polimérica suscetível ao ataque microbiano, mas quando não há fragmentação abiótica inicial, o processo de biodegradação pode ser dividido em etapas de fragmentação e mineralização (CHANDRA; RUSTGI, 1998; GRIMA et al., 2000).

Conforme Grima et al. (2000) e Lucas et al. (2008), durante a fragmentação, ou biodeterioração, ocorre a formação de colônias de microrganismos sobre a superfície do polímero, estas, por sua vez, liberam enzimas extracelulares específicas, causando a decomposição dos polissacarídeos em cadeias menores (oligômeros e monômeros) pelo processo de despolimerização. As enzimas extracelulares envolvidas nesta etapa são classificadas como endoenzimas e exoenzimas. As endoenzimas são responsáveis pela clivagem aleatória das ligações internas das cadeias poliméricas, enquanto as exoenzimas são responsáveis pela clivagem seqüencial das ligações a partir das unidades monoméricas terminais da cadeia principal. Esta primeira etapa pode ser acompanhada pela erosão da superfície do material.

Alguns monômeros são reconhecidos pelos receptores celulares microbianos e atravessam a membrana celular para o citoplasma para a produção de energia, nova biomassa, estocagem em vesículas e inúmeros metabolitos primários e secundários; processo denominado bioassimilação. No estágio de mineralização, ao mesmo tempo em que alguns metabolitos simples e complexos são excretados para o exterior da célula (ácidos orgânicos, aldeídos, terpenos e antibióticos), moléculas simples como CO₂, N₂, CH₄, H₂O e diferentes sais de metabolitos intracelulares são completamente oxidadas e liberadas ao ambiente (GRIMA et al., 2000; LUCAS et al., 2008).

Contudo, a velocidade de biodegradação depende de características intrínsecas ao biopolímero como a quantidade de ligações químicas hidrolisáveis, grau e tipo de ramificação, grau de polimerização, caráter hidrofílico-hidrofóbico,

distribuição do peso molecular, cristalinidade, e outros aspectos morfológicos (CHANDRA; RUSTGI, 1998). Os produtos resultantes do processo de biodegradação são reaproveitados no ambiente através dos ciclos elementares como o ciclo do carbono, nitrogênio e enxofre, em condições normais de umidade, temperatura e pressão (CHANDRA; RUSTGI, 1998).

Organizações internacionais como a Sociedade Americana de Teste e Materiais (ASTM) em conjunto com o Instituto para Pesquisas de Padronização (ISR), o Comitê Europeu de Normas (CEN), a Organização Internacional de Padronização (ISO), o Instituto Alemão de Padronização (DIN), a Agência Italiana de Padronização (UNI), a Associação da Recuperação Orgânica e Compostagem (ORCA) estão ativamente envolvidas em desenvolver definições e metodologias para a biodegradabilidade em diferentes ambientes e compostagem, mas um único teste a ser utilizado como padrão, em escala global, ainda não foi proposto (MOHANTY; MISRA; HINRICHSEN, 2000).

De maneira geral, os procedimentos dos testes de biodegradabilidade envolvem a mensuração do consumo de algum componente pertencente a matriz polimérica, pela mensuração dos produtos da biodegradação ou mesmo pela desintegração em ambiente de compostagem, assim como a análise da qualidade do composto associado a testes de toxicidade com a finalidade de estimar o grau e taxa de biodegradabilidade de um determinado material em um determinado ambiente (FRANCHETTI; MARCONATO, 2006; KALE et al., 2007).

Os testes devem se aproximar ao máximo das condições naturais reais, entretanto, a reprodução em escala laboratorial exige certa velocidade, permitindo uma simulação em meios de cultura inoculados com microrganismos de solos, de lodos ativados, de rios e mares, nos quais o polímero em teste é a única fonte de carbono ou os testes podem ser acelerados com o uso de enzimas extraídas de microrganismos conhecidos (GRIMA et al., 2000).

As enzimas podem ser dividida em seis grupos: hidrolases, estearases, isomerases, redutases, ligases e liases (GRIMA et al., 2000; BELITZ; GROSCH; SCHIEBERLE, 2009). Estas possuem diferentes mecanismos de catalise, porém a biodegradação dos polímeros são tipicamente realizadas pela hidrolise biológica e oxidação biológica, geralmente chamada de reação de despolimerase, que ocorrem sobre a superfície do material o que causa redução no tamanho do polímero sem modificar a massa final do material (CHANDRA; RUSTGI, 1998;

GRIMA et al., 2000).

O amido pode sofrer hidrólise na presença de ácidos ou enzimas. A amilase é responsável pela cisão das ligações α 1-4, das moléculas de amilose e amilopectina, todavia, a cisão das ligações α 1-6 é decorrente da ação da enzima glucosidase (CHANDRA; RUSTGI, 1998).

4 MATERIAL E MÉTODOS

4.1 SELEÇÃO DO MICROORGANISMO PROMOTOR DA BIODEGRADAÇÃO

O microrganismo utilizado como agente promotor da biodegradação foi uma bactéria amilolítica do gênero *Bacillus spp*, fornecida pelo Laboratório de Microbiologia do Departamento de Ciência e Tecnologia de Alimentos (DCTA) da Universidade Estadual de Londrina (UEL), utilizadas no trabalho de Itano (2006).

A capacidade de degradação do amido foi confirmada repicando a cepa mantida em Agar Padrão (caseína hidrolisada 0,5%; extrato de levedura 0,25%; dextrose 0,1%; Agar 1,5%) inclinado para um meio líquido estéril de Infusão de Cérebro e Coração (BHI) (0,06% de sólidos de infusão de cérebro e coração; 0,06% de digerido péptico de tecidos animais; 0,05% de cloreto de sódio; 0,03% de dextrose; 1,45% digerido pancreático de gelatina; 0,025% de fosfato dissódico) (BECTON). Após incubação deste meio a 37°C por 24 horas, estrias na superfície do Agar Amido (Agar-agar, 1,5%; Amido, 1%; tripticase peptona 1%; NaCl 0,5%) foram feitas utilizando uma alça de platina. As placas assim inoculadas foram incubadas a 37°C por 24 horas, quando foram adicionados 5,0 mL de solução de lugol (1% iodo) sobre a superfície do Agar. A degradação do amido foi observada pela formação de uma área incolor (halo de degradação de amido) ao redor da colônia e ficando o resto do meio na cor azul.

4.2 LIOFILIZAÇÃO E CONTAGEM DO MICRORGANISMO AMILOLÍTICO

A bactéria selecionada foi cultivada em Erlenmeyer de 500 mL de capacidade contendo 250 mL em BHI estéril (121°/15 min) e incubada sem agitação a 37°C por 24 horas. Ao caldo com a cultura foi adicionado cerca de 150 gramas de carbonato de cálcio (SYNTH) para servir como veículo da cultura liofilizada. A mistura foi congelada em freezer a -10°C por 12 horas e levada ao liofilizador (CHRIST) por um período de 18 horas (0,04mbar a -50°C).

O liofilizado foi transferido assepticamente a vasilhame de vidro estéril (180°/12h) e mantido em dessecador sob vácuo e refrigeração (4°C).

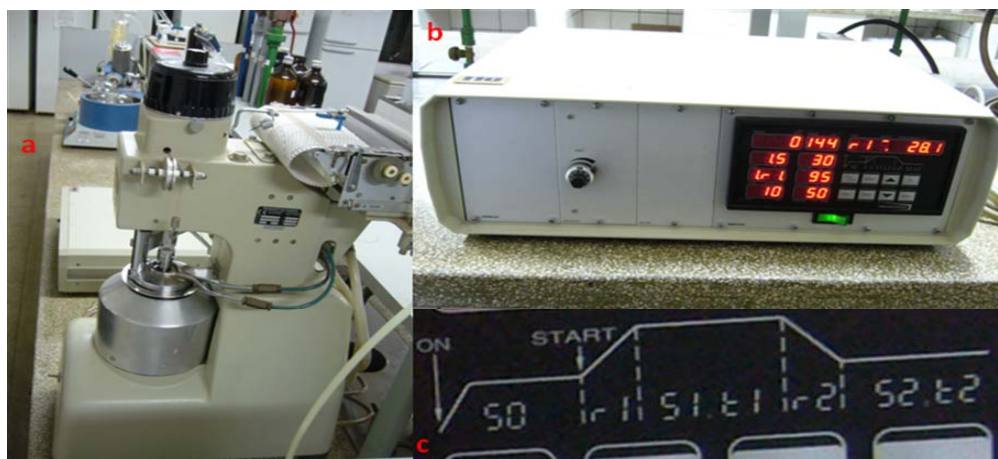
Um grama do liofilizado foi utilizada para a contagem de células viáveis (UFC/g) pelo método de diluição seriada com plaqueamento em Agar de Contagem Padrão (PCA) (HIMEDIA) (SIQUEIRA,1995).

4.3 PRODUÇÃO DOS BIOFILMES

4.3.1 Preparo da Solução Filmogênica

Os componentes amido de milho (UNILEVER), a celulose microcristalina (SIGMA) e o glicerol (NUCLEAR) foram adicionados em água para formação de uma mistura heterogênea e transferida posteriormente ao equipamento viscógrafo (BRABENDER) para a produção da solução filmogênica (Figura 4). O equipamento foi programado para iniciar o processo de aquecimento crescente a uma taxa de 1,5°C/minuto após ultrapassar a temperatura inicial de 30°C. Ao atingir a temperatura de 95°C, o aquecimento foi mantido constante, a mesma temperatura, por 10 minutos, objetivando a gelatinização dos grânulos de amido. Após este período, o processo de resfriamento da solução filmogênica foi iniciado. Todos os procedimentos, de aquecimento e resfriamento, foram mantidos sob agitação constante a 145 rpm, em média.

Figura 4 – Viscógrafo Brabender: a. Equipamento de aquecimento, agitação e mensuração da viscosidade; b. Central de processamento de dados; c. Detalhe da curva em resposta da programação



Quando a solução filmogênica atingiu a temperatura de 50°C, interrompeu-se a agitação para a adição de 1 grama do microrganismo liofilizado. A mistura foi agitada a 145 rpm por mais 10 minutos na temperatura de 45°C.

4.3.2 Determinação da Melhor Composição para o Biofilme

Para definir a melhor composição do biofilme foi utilizado o método de Análise de Superfície de Resposta aplicando o arranjo fatorial completo com

pontos equidistantes de três variáveis dependentes, com dois níveis de variação (2^3), totalizando oito experimentos, incluindo três repetições no ponto central. As variáveis dependentes e seus níveis encontram-se na Tabela 1. O delineamento estatístico utilizado foi o completamente casualizado com cinco repetições e as variáveis dependentes com os valores codificados e decodificados no arranjo fatorial 2^3 com três repetições no ponto central encontra-se esquematizado na Tabela 2 (BOX; HUNTER; HUNTER, 1987).

As faixas de concentração dos fatores utilizados no estudo foram definidas através de testes prévios (item 5.2).

Tabela 1 – Arranjo fatorial completo (2^3) com 3 variáveis dependentes a 2 níveis de variação.

Variável dependente	nível		
	-1	0	+1
Amido (%)*	2,5	3,5	4,5
Celulose (%)**	9	10	11
Glicerol (%)**	24	25	26

*massa de amido/volume solução

**massa de celulose ou glicerol/massa de amido

Os moldes com superfície de teflon de 17 cm de diâmetro utilizados na obtenção do biofilme foram submetidos a uma assepsia prévia com álcool etílico 70 % e esterilizados sob luz ultravioleta durante 20 minutos em câmara de fluxo laminar. Para a produção dos biofilmes foi utilizado o método de “casting”, para o qual uma quantia de solução filmogênica, correspondente a uma espessura padrão de 0,09 mm em média, foi depositada nos moldes. Em seguida estes foram colocados para secagem em uma estufa com circulação e renovação de ar a 47°C durante 8 horas (Figura 5).

As respostas avaliadas foram as características de resistência à tensão, alongação na espessura quando sobre ação da tensão, módulo de elasticidade, resistência à perfuração, e deformação sobre perfuração, bem como propriedades de permeabilidade ao vapor de água.

Tabela 2 – Variáveis codificadas e decodificadas.

Número do	Variáveis Originais	Variáveis
-----------	---------------------	-----------

Experimento	Amido (%)	Celulose (%)	Glicerol (%)	codificadas		
				X ₁	X ₂	X ₃
1	2,5	9	24	-	-	-
2	4,5	9	24	+	-	-
3	2,5	11	24	-	+	-
4	4,5	11	24	+	+	-
5	2,5	9	26	-	-	+
6	4,5	9	26	+	-	+
7	2,5	11	26	-	+	+
8	4,5	11	26	+	+	+
9	3,5	10	25	0	0	0
10	3,5	10	25	0	0	0
11	3,5	10	25	0	0	0

Figura 5 – Procedimentos de esterilização e moldagem por casting dos biofilmes: a. Câmara de fluxo laminar com luz UV; b. Recipiente com material antiaderente para moldagem da solução filmogênica; c. Biofilme moldado sobre a superfície antiaderente de fundo circular



4.4 CARACTERIZAÇÕES DOS FILMES

A espessura dos biofilmes foi padronizada e determinada utilizando-se um micrômetro digital de resolução 0,001 mm (MITUTOYO) e a média aritmética de dez pontos medidos aleatoriamente no filme foi utilizada. Esta foi padronizada para possuírem valores próximos de 0,09 mm (item 4.3.2). As medidas foram obtidas antes do período de obtenção dos corpos de prova (corte do biofilme) e seu acondicionamento.

Os filmes produzidos em cada experimento após serem retirados da estufa de secagem foram cortados para formar os corpos de prova no formato

correspondente exigido por cada teste, para posteriormente condicioná-los em um ambiente padrão de umidade relativa de 53% e temperatura de 25°C durante 72 h. Após este condicionamento os corpos de prova foram submetidos aos testes de caracterização:

4.4.1 Propriedades Mecânicas

As propriedades mecânicas estão divididas nos testes de tração e de perfuração.

Nos testes de tração obtiveram-se os valores de resistência mecânica à tração, deformação máxima no ponto de ruptura e o módulo de elasticidade. Nos testes de perfuração foram obtidos os valores da deformação máxima do filme até o ponto de ruptura causado pela sonda e a força máxima exercida pela mesma.

A resistência mecânica à tração é a tensão máxima exercida até o momento de ruptura, em MegaPascal (MPa), calculada através da relação entre a força e a área da seção transversal inicial do filme. A deformação na ruptura ou alongação foi expressa em porcentagem e determinada diretamente da curva de tensão versus deformação, considerada como deformação linear. O módulo de elasticidade, expresso em MPa, foi calculado como sendo a inclinação da região linear da curva de tensão em função da deformação.

4.4.1.1 Teste de tração

Os corpos de prova possuíam dimensão de 50 mm de comprimento por 20 mm de largura. O método padrão D 882-95 da *American Society for Testing and Materials* (ASTM, 1995) foi utilizado para operar o equipamento texturômetro (TA.XT.plus - STABLE MICRO SYSTEMS) para determinar a tensão e a deformação na ruptura e o módulo de elasticidade ou módulo de Young, calculados pelo software do próprio equipamento. Esta mesma norma implicou no condicionamento prévio dos corpos de prova em dessecador contendo solução salina saturada de nitrato de magnésio hexahidratado (VETEC) para obtenção de microambiente com 53% de umidade relativa (URE) e armazenamento em incubadora B. O. D. a 25°C por 3 dias.

A distância inicial entre as garras do equipamento (Figura 6) foi

ajustada a 30 mm e a velocidade de tração em 0,8 mm/segundos.

Figura 6 – Texturômetro TA.XT.plus - STABLE MICRO SYSTEMS

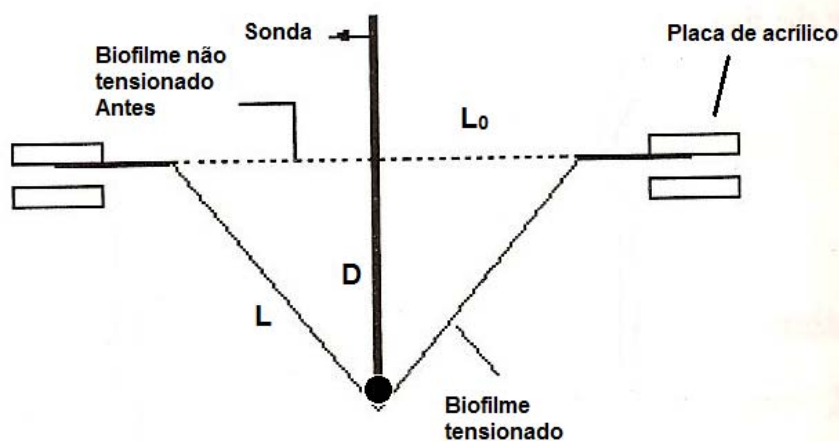


4.4.1.2 Teste de perfuração

O teste de perfuração foi realizado no equipamento texturômetro. A distância inicial entre as garras do equipamento (Figura 6 do item 4.4.1.1) foi ajustada a 15 mm e a velocidade de tração em 1 mm/segundos.

Para a realização do teste de perfuração o filme foi fixado em dupla placa de acrílico com 0,6 cm de diâmetro de abertura e perfurado por uma sonda de 5 mm de diâmetro deslocando-se perpendicularmente a 1 mm/s, como mostra a Figura 7.

Figura 7 – Esquema do sistema de determinação da força da deformação em teste de ruptura



Fonte: Modificado de Sakanaka (2002 p.40)

Conforme a Figura 7, L_0 é o raio da superfície do filme tensionado, D é a distância penetrada pela sonda no momento da ruptura e L é a geratriz correspondente ao triângulo retângulo formado pela superfície do filme no ponto de ruptura (filmes tensionados), a sonda e o raio. Considerando-se que no momento da ruptura, o filme apresenta a forma representada na Figura 7, pode-se, então calcular L aplicando o teorema de Pitágoras, de forma que a deformação na ruptura pode ser calculada usando a Equação 1. A força (N) e o deslocamento da sonda (D), na ruptura foram determinados diretamente das curvas de força em função da deformação, permitindo o cálculo de deformação na ruptura ($\Delta L/L_0$), os resultados foram utilizados para a análise pela metodologia de superfície de resposta:

$$\frac{\Delta L}{L_0} = \frac{(D^2 + L_0^2)^{1/2} - L_0}{L_0}$$

(Eq. 1)

4.4.1.3 Teste para verificar a propriedade de barreira do biofilme

A permeabilidade ao vapor de água é uma característica físico-química dos filmes e foi determinada de acordo com o método da ASTM – E-96-00 descrita por Sarantopoulos et al. (2002). Os corpos de prova provenientes de cada

experimento foram de formato circular com 60 mm de diâmetro com espessura média de 0,09 mm. Os corpos de prova foram fixados em cápsulas metálicas com abertura circular (60 mm) com uso de graxa de silicone nas partes móveis para garantir que a migração de umidade ocorresse exclusivamente através do filme (Figura 8). No interior da cápsula foi colocada uma quantidade de Cloreto de Cálcio anidro (URE = 0%). A cápsula com o reagente e o biofilme foi mantida dentro de dessecador de vidro contendo água destilada (URE =100%) em seu interior para promover ambiente saturado de alta umidade e que criasse um gradiente de vapor de água que induziu a permeabilidade. A cada seis horas foram realizadas pesagens da cápsula com o filme em balança analítica até a obtenção de uma taxa constante de ganho de peso.

Figura 8 – Vista superior da cápsula contendo o corpo de prova do biofilme para o teste de permeabilidade ao vapor de água



Por meio do cálculo de regressão linear entre o ganho de peso em gramas em função do tempo foi obtida uma reta, e respectiva equação, e desta forma foi determinado o coeficiente angular (m/t) para um dia, e calculada a permeabilidade ao vapor de água (PVA). A determinação da PVA foi feita de acordo com a Equação 2:

$$PVA = \frac{m \cdot e}{t \cdot A \cdot \Delta P} \quad (\text{Eq. 2})$$

Onde:

m/t é o coeficiente angular (g/dia);

A é a área de permeação (m^2);

e é a espessura média dos filmes (m);

ΔP é a diferença de pressão de vapor de água (KPa) entre as superfícies do corpo de prova.

4.5 CARACTERIZAÇÃO DO RECIPIENTE BIODEGRADÁVEL

A partir dos ensaios mecânicos e de propriedade de barreira descritos anteriormente, foi obtida a melhor composição da solução filmogênica utilizada para produzir o biofilme e posterior confecção dos recipientes. Estes foram avaliados quanto às suas características de solubilidade e biodegradabilidade.

4.6 DETERMINAÇÃO DA SOLUBILIDADE

Cinco béquers de 100 mL de capacidade contendo 10 mL de água destilada autoclavada (121°C/15 min) foram utilizados para condicionar em cada um deles um corpo de prova do biofilme (3 cm x 3 cm e massa de 0,088 gramas). Os béquers foram incubados à temperatura de 37°C, com agitação de 100 rpm. A cada seis horas, até completar 24 horas, foi retirado um deles e o corpo de prova contido foi seco em estufa a 105°C, para posteriormente determinar sua massa (g). A solubilidade foi mensurada através da quantificação do material não solúvel após a incubação pela diferença de massa inicial e final. O ensaio foi realizado em duplicata e os resultados submetidos à regressão linear.

$$\text{Solub. (\%)} = \frac{m_i - m_f}{m_i} \quad (\text{Eq. 3})$$

Onde:

m_i é a massa inicial do corpo de prova;

m_f é a massa final do corpo de prova seco após a realização do teste

4.7 TESTES DE BIODEGRADABILIDADE DO RECIPIENTE BIODEGRADÁVEL

Os testes de biodegradabilidade foram conduzidos em laboratório e em casa de vegetação.

Nos testes em laboratório foi realizada a investigação da biodegradabilidade através dos métodos de atividade amilolítica total utilizando o método descrito por Bernfeld (1955) e quantificação de glicose através do método enzimático colorimétrico (Kit Glicose-Oxidase Bioliquid).

Nos testes em casa de vegetação em que envolviam a análise de imagem, as fotografias foram feitas com o auxílio de uma estrutura própria que permitia iluminação constante com 45 graus de incidência e permitiu que o objeto fosse fotografado a uma distancia constante de 30 cm. Foi possível ajustar a cor do plano de fundo, como pode ser observado na Figura 9.

Figura 9 – Aparato para a tomada de fotografias padronizadas



4.7.1 Testes de Biodegradabilidade Conduzidos em Laboratório

Nos testes em laboratório a biodegradabilidade foi estudada através da investigação da atividade amilolítica total (BERNFELD, 1955) e pelo método Glicose-Oxidase de quantificação da glicose (Bioliquid).

Para ambos os testes foram preparados seis tubos de ensaio (18 mm x 200 mm) com rosca contendo 25 mL de água destilada autoclavada (121°C/15 min.) e outros seis tubos de ensaio (18 mm x 200 mm) com rosca contendo 25 mL de água peptonada 0,1% autoclavada (121°C/15 min.). Em todos os tubos, uma fita de biofilme com dimensões de 30 mm x 30 mm, enriquecido com o microrganismo

amilolítico, foi adicionada assepticamente e incubados a 37°C. Após 48 horas de incubação uma alíquota de 0,2 mL foi utilizada para determinar atividade amilolítica total e outra de 0,02 mL foi destinada para a quantificação de glicose pelo método enzimático da glicose-oxidase.

4.7.1.1 Determinação da atividade amilolítica total

A determinação quantitativa da atividade amilolítica total foi feita utilizando o método descrito por Bernfeld (1955), modificado por Lajolo (1977). O amido solúvel foi preparado pela metodologia descrita por Strumeyer (1967) e as soluções de iodo foram preparadas pela metodologia de Caraway (1959).

O método de Bernfeld consiste em tomar uma alíquota de 0,2 mL provinda dos tubos incubados foi transferida para 2 mL de solução de amido 1% pré aquecida a 37°C em tubo de ensaio (13 mm x 100 mm). A mistura foi incubada por 5 minutos em água aquecida a 37°C. Em seguida, a reação foi interrompida com a adição de 0,02 mL de solução de trabalho de iodo. A absorbância do complexo colorido formado foi mensurada em espectrofotômetro no comprimento de onda de 660 nm. Foi incluído um branco contendo os reagentes e substituindo a alíquota dos tubos incubados (0,2 mL) por água destilada.

A atividade amilolítica total foi expressa na forma de 1 UI (unidade internacional) de α -amilase que corresponde a 1 mg de amido degradado em 15 minutos, em tampão fosfato de sódio 10mM (pH 6,9) contendo 38 mM de NaCl e 0,1 mM de CaCl₂.

4.7.1.2 Determinação de glicose

O teste de quantificação de glicose foi feito do método enzimático colorimétrico pelo kit GLICOSE-OXIDASE Bio Liquid (LABORCLIN).

A alíquota provinda dos tubos incubados foi adicionada ao reagente de cor do kit e a mistura incubada por 5 minutos em água aquecida a 37°C, posteriormente o complexo colorido foi mensurado em espectrofotômetro a 505 nm.

A quantidade de glicose foi calculada de acordo com a equação 4:

$$\text{Glicose (mg/dL)} = \frac{\text{Absorbância do teste}}{\text{Absorbância da amostra}} \times 100 \quad (\text{Eq. 4})$$

4.7.2 Testes de Biodegradabilidade Conduzidos em Casa de Vegetação

Nesta avaliação foi utilizada terra esterilizada (SANTOS et al., 2009) e não esterilizada para verificar a participação do microrganismo amilolítico incorporado na formulação do biofilme no processo de biodegradação. A terra que foi utilizada para o enchimento dos vasos foi coletada da leiva fértil do solo na área experimental da Fazenda Escola (FAZESC - Latitude: 23°20'23.45"S, longitude: 51°12'32.28"W e altitude: 532m) da UEL, Londrina-PR. Antes do enchimento dos vasos, a terra foi peneirada com malha de 4,0 mm de abertura. O clima da região de acordo com a classificação de Köppen é do tipo Cfa, subtropical úmido e com chuvas em todas as estações, podendo ocorrer secas no inverno. O solo da área é classificado como Nitossolo Vermelho argiloso eutroférico.

De acordo com a proposta do trabalho, as mudas produzidas foram transplantadas aos vasos sem retirar os recipientes.

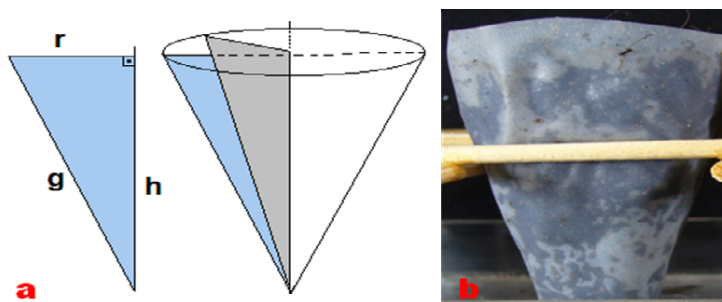
O recipiente biodegradável utilizado para a semeadura comportava 67,37 cm³ de volume de substrato e dimensões de: raio (r) = 2,83 cm; altura (h) = 8,01 cm e geratriz (g) = 8,5 cm, conforme indica a Figura 10.

Após dois dias da confecção dos recipientes, estes foram preenchidos com o substrato para produção de mudas (Vida Verde Ind. Com. Insumos Orgânicos Ltda.) sem ser esterilizado e realizada a semeadura (21 de março de 2011) com duas sementes de melancia por recipiente a uma profundidade de 2 cm da superfície. A cultivar de melancia que foi utilizada é o híbrido TOPGUN (Syngenta sementes).

Estes foram deixados na casa de vegetação até a plântula atingir o estágio V2 (segundo par de folhas). Neste estágio (19 dias após o transplante) foi realizado o transplante da plântula com o recipiente aos vasos (seis contendo terra esterilizada e outros doze contendo terra não esterilizada) de 30 cm de altura com 37 cm de diâmetro na circunferência superior e 27 cm de diâmetro na circunferência inferior, sendo alguns recipientes nesse momento retirados e fotografados para serem avaliados subjetivamente com relação a sua biodegradabilidade e quanto a

sua resistência a fase de produção de mudas (tempo zero).

Figura 10 – Formato cônico do recipiente para a produção de mudas. a: ilustração; b: recipiente com substrato



Depois do período de 10 dias (29 dias após transplante em vasos) quando a planta atingiu o estágio V3, os recipientes biodegradáveis foram removidos dos vasos com terra esterilizada e não esterilizada, fotografados e avaliados subjetivamente quanto sua integridade e resistência com relação à biodegradação (tempo 10 dias).

4.8 ANÁLISE DO EFEITO DO RECIPIENTE BIODEGRADÁVEL SOBRE O DESENVOLVIMENTO DA PLANTA

O experimento teve como objetivo comparar o desenvolvimento das mudas transplantadas com e sem o recipiente e foi conduzido em vasos com terra (ver item 4.5.2) em ambiente de casa de vegetação, por semeadura direta, produção de mudas em canteiro e produção de mudas em recipiente biodegradável.

A semeadura foi realizada de acordo com o item 4.5.2. Para a disposição dos vasos na casa de vegetação, foi considerado o espaçamento para a cultura que é de 2,5 x 2,0 m recomendado por Resende; Costa; Dias, (2006) contabilizando uma população de 2000 plantas por hectare.

O transplante para os vasos foi feita com 15 dias após a semeadura no momento em que foi estabelecido o estágio vegetativo V2. Durante o período experimental foi realizada a reposição diária da água evapotranspirada mediante pesagem dos vasos para manter a umidade próxima a 80% da capacidade de retenção de água do solo.

Após 10 dias do transplante, os recipientes biodegradáveis foram

removidos para avaliação visual e as plantas lavadas e posteriormente secas em estufa (105 °C/48 horas) para a avaliação de massa seca entre os tratamentos. Os tratamentos testados foram a produção de mudas em recipiente produzidos com duas espessuras: 0,09 mm e 0,2 mm e transplantados em vasos com, e sem, solo esterilizado, transplante convencional e semeadura direta ao solo. As plantas foram avaliadas visualmente quanto ao crescimento de suas raízes e registradas através de fotografias, para verificar se houve ou não restrição ao seu desenvolvimento causado pelos recipientes biodegradável.

O delineamento experimental adotado foi o inteiramente casualizado com seis tratamentos, com um vaso por tratamento, e três repetições. Foram analisadas as variáveis: Produção de matéria seca da parte aérea e índice de pegamento no transplante (sobrevivência).

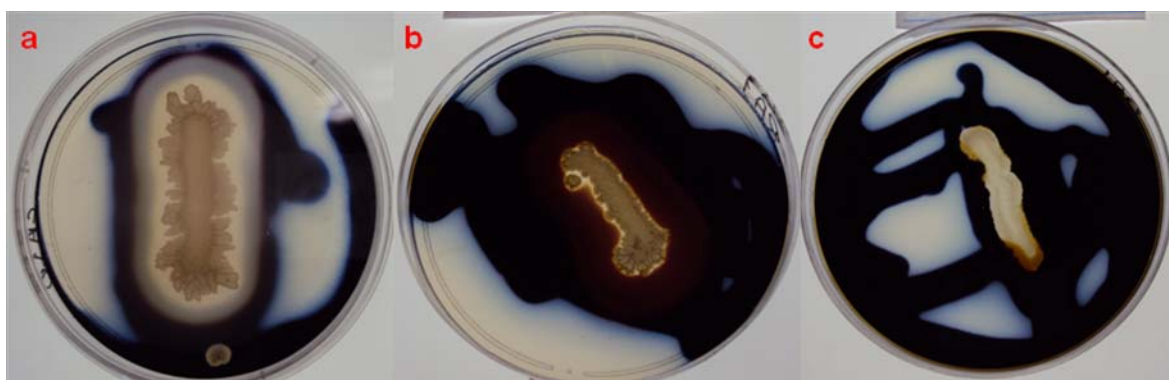
Os dados foram submetidos a análises de variância e as médias comparadas pelo teste de Tukey a 5%, com o auxílio do programa computacional SISVAR, com o intuito de comparar os métodos de produção hortícola.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 SELEÇÃO DO MICRORGANISMO PROMOTOR DA BIODEGRADAÇÃO

Na Figura 11 estão os resultados da utilização do amido por *Bacillus spp.* A cepa CA-10 foi a única que produz enzimas amilolíticas (halo claro ao redor da colônia/estria) e com colônia mais desenvolvida. Os *Bacillus* RA-1 e DA-1 formaram colônias menores quando comparadas com o *Bacillus* CA-10 indicando certas dificuldades no metabolismo do amido por não apresentarem produção de enzimas amilolíticas.

Figura 11 – Colônias bacterianas com halo de degradação de amido; a: *Bacillus* CA-10; b: *Bacillus* RA-1; *Bacillus* DA-1



Desta forma, o microrganismo escolhido como agente promotor da biodegradação do biofilme e portanto do recipiente, foi à cepa de *Bacillus* CA-10.

5.2 TESTES PARA DEFINIR AS FAIXAS DAS VARIÁVEIS DO DESENHO EXPERIMENTAL

As diferentes concentrações dos componentes amido, celulose e glicerol foram testadas previamente na formação de filmes.

Os filmes resultantes, dependendo das concentrações dos componentes escolhidos, apresentavam falta de continuidade ou homogeneidade, rupturas, presença de partículas insolúveis, presença de bolhas e pouca maleabilidade (Tabela 3). Em altas concentrações de amido a presença de bolhas era constante (Figura 12-a) e a espessura não uniforme, mas em baixas concentrações de amido eram freqüentes o aparecimento de falhas e descontinuidades por rupturas (Figura 12-b). Em baixas concentrações de glicerol a presença de rupturas eram freqüentes (Figura 12-c). A ausência de celulose nos

biofilmes o tornava pegajoso devido à alta hidrofiliçidade do mesmo.

Figura 12 – Presença de defeitos tecnológicos em filmes produzidos em diferentes concentrações dos componentes amido, glicerol e celulose, a: alta concentração de amido; b: baixa concentração de amido; c: baixa concentração de glicerol.



Tabela 3 – Concentração dos componentes e defeitos tecnológicos encontrados

Número de Experimentos	Componentes			Homogeneidade	bolhas	rupturas
	Amido (%)	Celulose (%)	Glicerol (%)			
1	2,0	10	25	Ausente	Ausente	Presente
2	5,0	10	25	Presente	Presente	Presente
3	3,5	10	20	Presente	Ausente	Presente

De acordo com Mali, Grossmann, Yamashita (2010), quando se produzem filmes por “casting”, o controle da espessura depende largamente da viscosidade da solução filmogênica. As soluções muito viscosas devem ser espalhadas com um equipamento conveniente para manter a espessura da solução no suporte uniforme o que permitirá o conhecimento da espessura do filme depois de seco. Quando se trabalha com soluções diluídas, o controle da espessura ocorre através do conhecimento da gramatura do material obtido.

Na Tabela 4, pode-se observar os valores teóricos das concentrações total de bactérias expressos em número de células por grama de biofilme em função da contagem da cepa pura de *Bacillus CA-10* liofilizado ($1,5 \times 10^7$ UFC/grama) e do material seco teórico calculado para cada um dos experimentos de acordo com o desenho experimental utilizado.

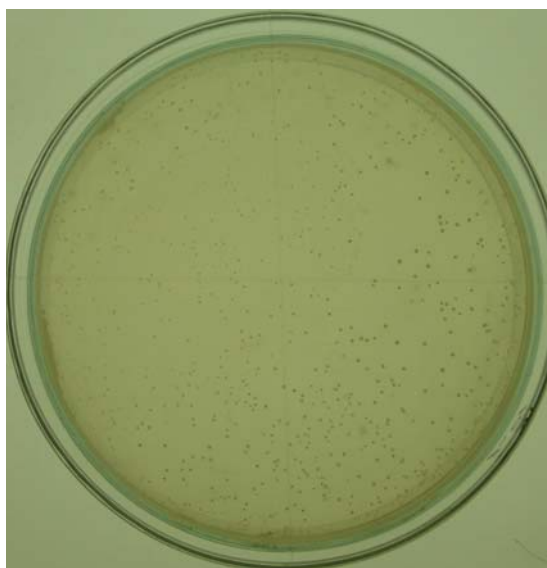
Podemos observar que a concentração da cepa promotora da biodegradação se encontraria teoricamente num valor considerado alto do ponto de vista microbiológico (acima de um milhão de bactérias por grama de biofilme), portanto, a escolha de incorporar um grama de bactéria liofilizada permite ter expectativas de que as formulações dos biofilmes e futuros recipientes possuirão

atividade de biodegradação.

Tabela 4 – Variáveis descodificadas e quantidade teórica de células por grama de matéria seca (Biofilme)

Número de Experimentos	Variáveis					Células/g
	Amido (g%)	Celulose (g%)	Glicerol (g%)	Cepa (g%)	Peso Total (g)	
1	2,5	0,225	0,600	1,0	4,325	$3,5 \times 10^6$
2	4,5	0,405	1,080	1,0	6,985	$2,1 \times 10^6$
3	2,5	0,275	0,600	1,0	4,375	$3,4 \times 10^6$
4	4,5	0,495	1,080	1,0	7,075	$2,1 \times 10^6$
5	2,5	0,225	0,650	1,0	4,375	$3,4 \times 10^6$
6	4,5	0,405	1,170	1,0	7,075	$2,1 \times 10^6$
7	2,5	0,275	0,650	1,0	4,425	$3,5 \times 10^6$
8	4,5	0,495	1,170	1,0	7,165	$2,1 \times 10^6$
9	3,5	0,350	0,875	1,0	5,725	$2,6 \times 10^6$
10	3,5	0,350	0,875	1,0	5,725	$2,6 \times 10^6$
11	3,5	0,350	0,875	1,0	5,725	$2,6 \times 10^6$

Figura 13 – Colônias resultantes do plaqueamento do corpo de prova utilizado no teste de tração



Posteriormente foi comprovada a viabilidade da bactéria amilolítica no biofilme através do plaqueamento de um corpo de prova utilizado no teste de tração, em PCA (Figura 13). Pode-se observar nesta placa a presença de colônias e algumas delas foram utilizadas posteriormente para a preparação de lâminas e observadas sob microscópio ótico, no qual foi comprovado que todas eram de bacilos.

Pelos testes de biodegradação observou-se também a produção de enzimas amilolíticas nos recipientes biodegradáveis, indicando que a cepa incorporada manteve sua atividade metabólica. Assim sendo, a incorporação da bactéria biodegradável pode ser detectada em função da atividade metabólica da bactéria, neste caso a atividade amilolítica, e a concentração de células poderia definir o tempo necessário para que o recipiente se biodegrade. Entretanto, o objetivo do trabalho não era verificar se era possível controlar a velocidade de biodegradação em função da presença de mais ou menos bactéria amilolítica na formulação do biofilme, mas comprovar que havendo atividade metabólica haveria biodegradação. Considerando que a concentração de microrganismo no solo atinge valores próximos ou até maiores do que 10^6 células/g estabeleceu-se que uma concentração semelhante seria adequada para futuras comparações entre os testes de biodegradação, ou seja, 1,0 g% de bactéria liofilizada permitiria obter em todas as formulações valores acima dos 10^6 bactérias/g de recipiente (Tabela 4).

5.3 PROPRIEDADES MECÂNICAS

5.3.1 Teste de Tração

5.3.1.1 Tensão máxima no ponto de ruptura

Os valores observados para a resistência à tração expressos como tensão máxima no ponto de ruptura ou tensão na ruptura (MPa) estão na Tabela 5.

A análise de variância, Tabela 6, indica que não há evidência da falta de ajuste do modelo de primeira ordem na região explorada.

Os valores das estimativas dos efeitos: concentração de amido, concentração de celulose, concentração de glicerol e das interações entre amido x celulose, amido x glicerol, celulose x glicerol e amido x celulose x glicerol, sobre a resistência mecânica a tração estão na Tabela 7.

Tabela 5 – Variáveis descodificadas e valores observados para a tensão máxima no ponto de ruptura.

Número do Experimento	Variáveis Originais			Tensão na ruptura (MPa)
	Amido (%)	Celulose (%)	Glicerol (%)	
1	2,5	9	24	15,1201
2	4,5	9	24	16,2895
3	2,5	11	24	16,5376
4	4,5	11	24	17,6957
5	2,5	9	26	12,8608
6	4,5	9	26	12,2184
7	2,5	11	26	12,8500
8	4,5	11	26	13,5510
9	3,5	10	25	15,9095
10	3,5	10	25	16,4909
11	3,5	10	25	15,5858

Tabela 6 – Análise de variância para os efeitos principais, interações e falta de ajuste do modelo de resistência mecânica a tração.

Causas de Variação	Graus de Liberdade	SQ	QM	p -valor	R ²
Amido	1	0,7117	0,7116	0,2072	0,86
Celulose	1	2,1481	2,1481	0,0855	
Glicerol	1	25,0727	25,0727	0,0082*	
Amido x Celulose	1	0,2218	0,2218	0,4124	
Amido x Glicerol	1	0,6435	0,6434	0,2223	
Celulose x Glicerol	1	0,2820	0,2819	0,3665	
Falta de ajuste	2	4,2353	2,1176	0,0903	
Erro Puro	2	0,4207	0,2103		
Total	10	33,73587			

*Efeitos estatisticamente significativos a $p \leq 0,05$

Tabela 7 – Estimativa dos efeitos das variáveis independentes sobre a tensão de ruptura dos filmes.

Fator	Efeito	Erro padrão	p - valor
Média	15,0010	0,3252	0,0000*
Amido	0,5965	0,7628	0,4779
Celulose	1,03637	0,7628	0,2459
Glicerol	-3,5407	0,7628	0,0097*
Amido x Celulose	0,3330	0,7628	0,6850
Amido x Glicerol	-0,5672	0,7628	0,4985
Celulose x Glicerol	-0,3755	0,7628	0,6484

*Efeitos estatisticamente significativos a $p \leq 0,05$

O componente glicerol foi o único que apresentou influência negativa e significativa nos valores de tensão na ruptura nas condições experimentais estudadas. Quando os componentes amido e celulose foram fixados em seus níveis superiores e o teor de glicerol submetido à mudança do seu nível inferior para o nível

superior, experimentos 4 e 8, observou-se um decréscimo de 4,1447 MPa nos valores de tensão na ruptura. Porém, quando foram mantidas as concentrações em nível inferior dos componentes amido e celulose e com a mesma variação do nível de glicerol, de inferior para superior demonstrado nas experimentos 1 e 5, a mudança proporcionou um decréscimo de 2,2593 MPa no valor de tensão na ruptura. Em ambos os casos houve uma diminuição na resistência mecânica a tração devido à presença em maior quantidade de glicerol e ao seu efeito plastificante.

Shimazu; Mali; Grossmann (2007), ao trabalharem com filmes à base de amido de mandioca plastificados com glicerol e sorbitol notaram a diminuição da resistência mecânica à tração à medida que os plastificantes eram adicionados, mesmo em pequenas quantidades, devido a diminuição das interações entre as cadeias de amido. Este efeito também foi observado por Irissin-Mangata et al. (2001), que ao elevar o teor de glicerol de 10 para 20% (m/v) obteve um decréscimo de 9,5 MPa na resistência mecânica a tração em filmes de glúten de trigo.

Existe um efeito de 1,83 vezes inferior nas perdas de tensão de ruptura quando comparado as experimentos 1 e 5 com as experimentos 4 e 6, que provavelmente se deve ao fato da celulose, para esta resposta, atuar mais como carga e também pode ter ocorrido o fenômeno de transcristalização. Teixeira et al. (2009) quando trabalharam com a formulação de 20% (m/m) de nanofibrilas de celulose adicionadas na produção de biofilmes a base de amido de mandioca observaram o fenômeno de transcristalização do amido ao redor das nanofibrilas de celulose, resultando em menor resistência mecânica à tração devido à menor homogeneidade da matriz e conseqüente diminuição das interações entre o amido e a celulose, escondendo o efeito de reforço para tração. Porém, no resultado pode-se observar que, com o aumento do conteúdo de celulose, experimentos 1 e 3 e experimentos 6 e 8, há incremento na força de tensão na ruptura, assim como os resultados observado por Avérous; Boquillon (2004) que ao trabalharem com diferentes comprimentos de fibras de celulose, verificaram que a resistência mecânica a tração aumentava com o aumento do volume e do comprimento dos compósitos de celulose. Müller; Laurindo; Yamashita (2009) evidenciaram que a incorporação de 0,1 e 0,5 gramas de fibras/grama de amido aumentou em 6,7 e 18 vezes a resistência mecânica a tração.

Tabela 8 – Coeficientes de regressão do modelo linear sobre a tensão na ruptura dos filmes.

Fator	Coeficiente de Regressão	Erro padrão	p - valor
Média	-12,8800	102,4373	0,9060
Amido	5,7235	10,2778	0,6073
Celulose	4,6288	9,6367	0,6561
Glicerol	1,0997	4,0593	0,7999
Amido x Celulose	0,1665	0,3814	0,6850
Amido x Glicerol	-0,2836	0,3814	0,4985
Celulose x Glicerol	-0,1877	0,3814	0,6484

*Efeitos estatisticamente significativos a $p \leq 0,05$

Os coeficientes de regressão obtidos estão apresentados a Tabela 8 e como não houve efeito significativo entre nenhuma interação, a equação ajustada, com $R^2 = 0,82$, para o modelo de tensão na ruptura definida na Equação 5:

$$RT = 54,0426 + 0,2982 \cdot \text{amido} + 0,5182 \cdot \text{celulose} - 1,7703 \cdot \text{glicerol} \quad (\text{Eq. 5})$$

A partir do modelo obtido, pode-se gerar as curvas de contorno e as superfícies de resposta em função dos componentes estudados. A Figura 14 demonstra as curvas de contorno para resistência mecânica à tração em função das concentrações de amido e de celulose para a menor e maior concentração de glicerol. Enquanto que a Figura 15 demonstra as superfícies de resposta para resistência mecânica a tração em função das concentrações de amido e de celulose para a menor e maior concentração de glicerol, com o intuito de obter a maior resistência à tração.

O efeito do glicerol pode ser evidenciado nos valores da resposta quando a menor e a maior concentração de glicerol foram utilizadas para gerar tanto as curvas de contorno, quanto as superfícies de resposta. A diferença entre os valores é melhor visualizada quando são comparados os patamares ocupados pela superfície de resposta, em ambas as concentrações de glicerol.

Figura 14 – Curvas de contorno para a resistência mecânica a tração em função das concentrações de amido e de celulose para a menor e maior concentração de glicerol

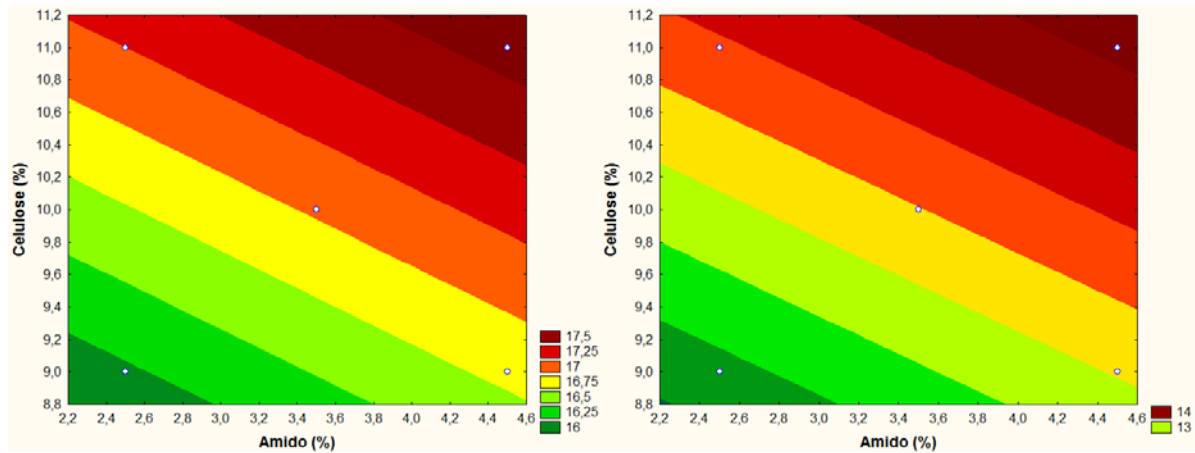
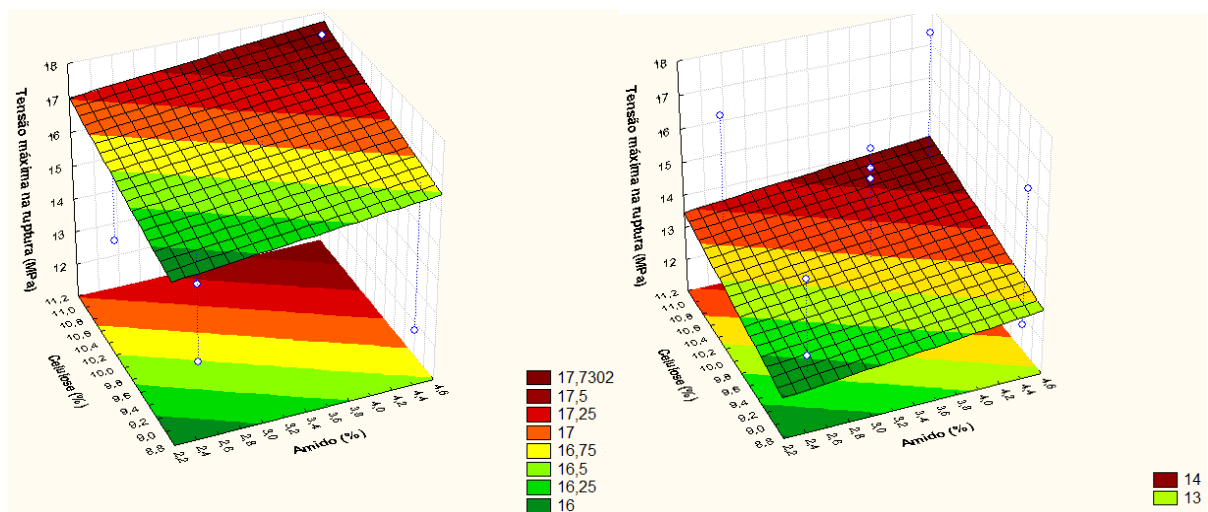


Figura 15 – Superfícies de resposta para a resistência mecânica a tração em função das concentrações de amido e de celulose para a menor e maior concentração de glicerol



5.3.1.2 Deformação máxima no ponto de ruptura

Os valores observados de deformação máxima no ponto de ruptura ou Elongação (%) pelo teste de tração estão na Tabela 9.

A análise de variância, Tabela 10, indica que não há evidência da falta de ajuste do modelo de primeira ordem na região explorada.

Tabela 9 – Variáveis descodificadas e valores observados para a elongação máxima no ponto de ruptura.

Número do Experimento	Variáveis Originais			Elongação (%)
	Amido (%)	Celulose (%)	Glicerol (%)	
1	2,5	9	24	0,2890
2	4,5	9	24	0,2968
3	2,5	11	24	0,2307
4	4,5	11	24	0,2805
5	2,5	9	26	0,3322
6	4,5	9	26	0,4273
7	2,5	11	26	0,4045
8	4,5	11	26	0,5570
9	3,5	10	25	0,3622
10	3,5	10	25	0,3458
11	3,5	10	25	0,3894

Tabela 10 – Análise de variância para os efeitos principais, interações e falta de ajuste do modelo para a deformação máxima no ponto de ruptura.

Causas de Variação	Graus de Liberdade	SQ	QM	p - valor	R ²
Amido	1	0,0116	0,0116	0,0392*	0,98
Celulose	1	0,0020	0,0020	0,1775	
Glicerol	1	0,0487	0,0487	0,0098*	
Amido x Celulose	1	0,0012	0,0012	0,2516	
Amido x Glicerol	1	0,0045	0,0045	0,0928	
Celulose x Glicerol	1	0,0096	0,0096	0,0471*	
Falta de ajuste	2	0,0004	0,0002	0,6927	
Erro Puro	2	0,0010	0,0005		
Total	10	0,079055			

*Efeitos estatisticamente significativos a $p \leq 0,05$

Os valores das estimativas dos efeitos: concentração de amido, concentração de celulose, concentração de glicerol e das interações entre amido x celulose, amido x glicerol, celulose x glicerol e amido x celulose x glicerol, sobre a deformação máxima no ponto de ruptura estão na Tabela 11.

Os componentes amido e glicerol, assim como as interações entre o amido x glicerol e celulose x glicerol influenciaram significativamente os valores de deformação máxima no ponto de ruptura dos biofilmes nas condições experimentais estudadas.

Tabela 11 – Estimativa dos efeitos das variáveis independentes sobre a elongação máxima no ponto de ruptura dos filmes.

Fator	Efeito	Erro padrão	p - valor
Média	0,3559	0,0056	0,0000*
Amido	0,0763	0,0132	0,0044*
Celulose	0,0318	0,0132	0,0737
Glicerol	0,1560	0,0132	0,0002*
Amido x Celulose	0,0248	0,0132	0,1335
Amido x Glicerol	0,0475	0,0132	0,0229*
Celulose x Glicerol	0,0691	0,0132	0,0063*

*Efeitos estatisticamente significativos a $p \leq 0,05$

A variação de glicerol existente entre os experimentos 1 e 5 promoveu um aumento de 0,0432% na elongação, enquanto a variação de glicerol existente entre os experimentos 4 e 8 promoveu um aumento de 0,2765% na elongação. Este último valor observado está de acordo com as duplas interações significativas observadas entre os componentes amido x glicerol e celulose x glicerol, em que o componente glicerol atuou fortemente plastificando estes componentes, apresentando um efeito de 0,1560 sobre a resposta.

Ao elevar a concentração de amido, como pode ser evidenciado entre os experimentos 7 e 8, a elongação é aumentada devido a maior possibilidade de deslizamento entre as cadeias poliméricas em função do efeito plastificante promovido pelo componente glicerol. Pommet et al. (2005) observaram, através de análise dínamo-mecânica de filmes de glúten com diferentes plastificantes, que os materiais estavam em estado vítreo e praticamente sem elongação, sendo menor quanto maior a temperatura de transição vítrea. Oliveira; Assmann; Soldi (2006), que pesquisaram as propriedades funcionais de filmes de carboximetil celulose, observaram uma elevação de 2,4% na elongação quando o teor de glicerol era acrescido de 10 para 30% na formulação. Curvelo et al. (2001), ao trabalharem com biofilmes com 16% (m/m) de celulose observaram a redução de até 31% na elongação, quando comparados com biofilmes sem os compósitos.

Por avaliação visual, a presença de celulose como componente, diminui a higroscopicidade dos biofilmes, pois promove a interação entre as cadeias poliméricas de amido e celulose e, mas nas condições experimentais estudadas a interação entre os componentes não foi significativa e sugere que a celulose possui maior atuação como carga na composição do filme do que como agente de reforço. Segundo Avèrous; Fringant; Moro (2001), ao trabalhar em comparação com

calorimetria em filmes de amido de trigo e de poliolefinas ambos extrusados com fibras de celulose de diferentes comprimentos, demonstraram a fraca existência de interação entre as cadeias de amido e celulose de fibras curtas (diâmetro médio de 20 μm). Os autores ainda afirmam que a celulose atuou principalmente como carga no filme, mas a alongação no ponto de ruptura foi menor ao se utilizar maiores comprimentos de fibras e quantidades que permitiam maiores interações com o plastificante.

Tabela 12 – Coeficientes de regressão do modelo linear sobre alongação máxima no ponto de ruptura dos filmes.

Fator	Coeficiente de Regressão	Erro padrão	p - valor
Média	9,2699	1,7764	0,0064*
Amido	-0,6798	0,1782	0,0188*
Celulose	-0,8919	0,1671	0,0059*
Glicerol	-0,3509	0,0703	0,0075*
Amido x Celulose	0,0124	0,0066	0,1335
Amido x Glicerol	0,0237	0,0066	0,0229*
Celulose x Glicerol	0,0346	0,0066	0,0063*

*Efeitos estatisticamente significativos a $p \leq 0,05$

Os coeficientes de regressão obtidos estão na Tabela 12. A equação ajustada para o modelo, com $R^2 = 0,96$, está demonstrada na equação 6:

$$\text{Alongação (\%)} = 8,8350 - 0,5556 \cdot \text{amido} - 0,8484 \cdot \text{celulose} - 0,3508 \cdot \text{glicerol} + 0,0237 \cdot \text{amido} \cdot \text{glicerol} + 0,0345 \cdot \text{celulose} \cdot \text{glicerol} \text{ (Eq. 6)}$$

A partir do modelo obtido, pode-se gerar as curvas de contorno e as superfícies de resposta em função dos componentes estudados. A Figura 16 demonstra as curvas de contorno para a máxima alongação no ponto de ruptura em função das concentrações de amido e de glicerol para a menor e maior concentração de celulose. A Figura 17 demonstra as superfícies de resposta para a máxima deformação no ponto de ruptura em função das concentrações de amido e de glicerol para a menor e maior concentração de celulose, com o intuito de obter a menor alongação dos filmes quando submetidos à tração.

A maior concentração de celulose contribuiu para um aumento da faixa da alongação, devido sua interação com o glicerol, o que permitiu que as fibras

puddessem interagir com as cadeias de amido. Em toda a faixa de concentração de amido, os menores valores para a resposta foi observada, contudo, quanto maior a concentração de amido aliado a altas concentrações de glicerol foi evidenciado as maiores elongações.

Figura 16 – Curvas de contorno para a máxima elongação no ponto de ruptura em função das concentrações de amido e de glicerol para a menor e maior concentração de celulose

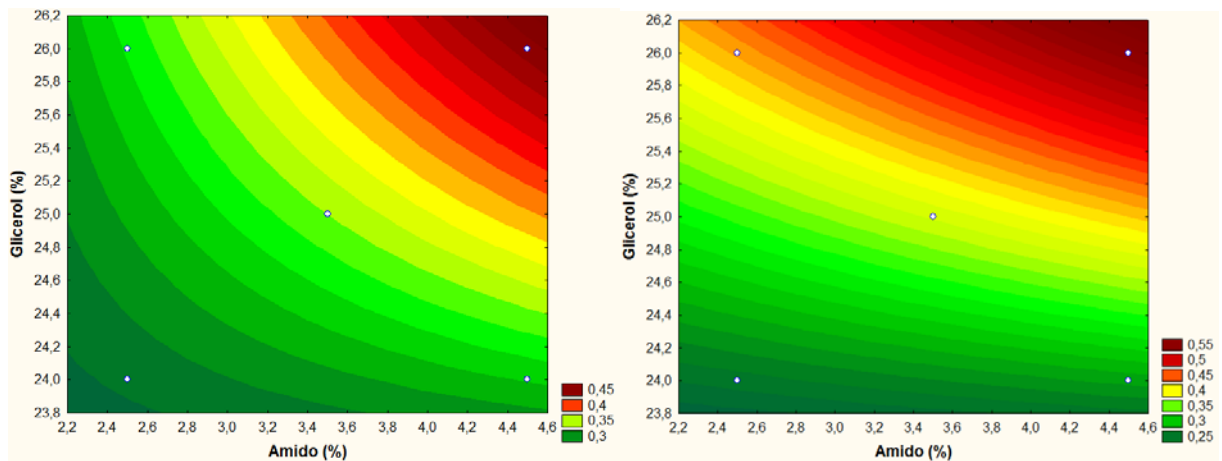
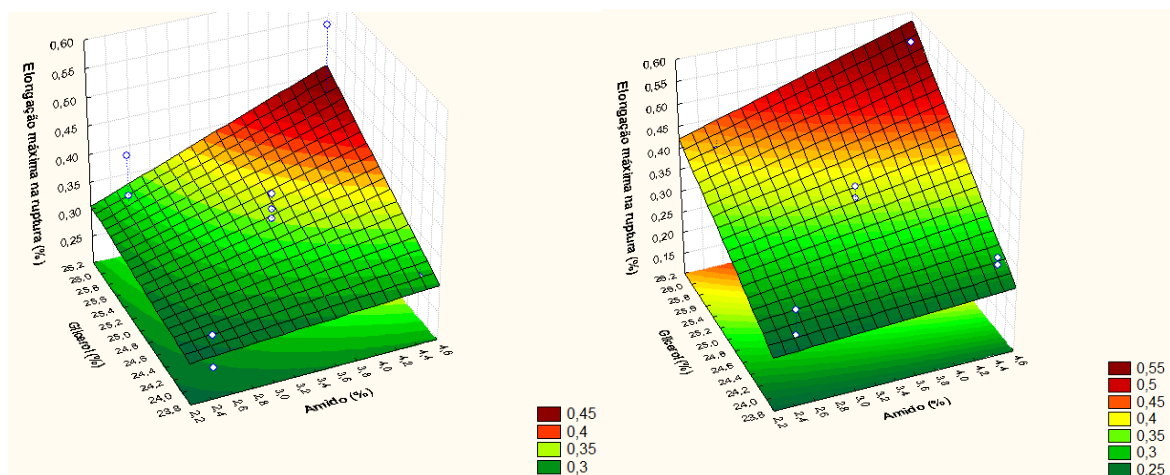


Figura 17 – Superfícies de resposta para a máxima elongação no ponto de ruptura em função das concentrações de amido e de glicerol para a menor e maior concentração de celulose



5.3.1.3 Módulo de elasticidade

Os valores observados para o módulo de elasticidade ou de módulo de Young estão na Tabela 13.

A análise de variância, Tabela 14, indica que não há evidência da falta de ajuste do modelo de primeira ordem na região explorada.

Tabela 13 – Variáveis descodificadas e valores observados para o módulo de elasticidade.

Número do Experimento	Variáveis Originais			Módulo de Elasticidade (MPa)
	Amido (%)	Celulose (%)	Glicerol (%)	
1	2,5	9	24	633,4795
2	4,5	9	24	673,8067
3	2,5	11	24	658,8980
4	4,5	11	24	709,0495
5	2,5	9	26	377,7844
6	4,5	9	26	415,1655
7	2,5	11	26	416,1440
8	4,5	11	26	427,8500
9	3,5	10	25	529,2270
10	3,5	10	25	568,1740
11	3,5	10	25	542,2630

Tabela 14 – Análise de variância para os efeitos principais, interações e falta de ajuste do modelo para o módulo de elasticidade.

Causas de Variação	Graus de Liberdade	SQ	QM	p - valor	R ²
Amido	1	2434,83	2434,83	0,1305	0,99
Celulose	1	1559,76	1559,76	0,1846	
Glicerol	1	134755,71	134755,71	0,0029*	
Amido x Celulose	1	31,41	31,41	0,8040	
Amido x Glicerol	1	214,16	214,16	0,5373	
Celulose x Glicerol	1	11,56	11,56	0,8796	
Falta de ajuste	2	281,32	140,66	0,7364	
Erro Puro	2	786,06	393,03		
Total	10	140074,81			

*Efeitos estatisticamente significativos a $p \leq 0,05$

Os valores das estimativas dos efeitos: concentração de amido, concentração de celulose, concentração de glicerol e das interações entre amido x celulose, amido x glicerol, celulose x glicerol e amido x celulose x glicerol, sobre o módulo de elasticidade de ruptura estão na Tabela 15.

Como pode ser observado na Tabela 15, os componentes glicerol e amido foram os únicos que apresentaram influência significativa nos valores do módulo de elasticidade nas condições experimentais estudadas. O amido contribui

com um efeito positivo, enquanto que o glicerol contribui com um efeito negativo alto para a resposta analisada.

Tabela 15 – Estimativa dos efeitos das variáveis independentes sobre módulo de elasticidade dos filmes.

Fator	Efeito	Erro padrão	p - valor
Média	541,0765	4,9253	0,0000*
Amido	34,8914	11,5509	0,0391*
Celulose	27,9264	11,5509	0,0729
Glicerol	-259,5724	11,5509	0,0000*
Amido x Celulose	-3,9627	11,5509	0,7488
Amido x Glicerol	-10,3479	11,5509	0,4210
Celulose x Glicerol	-2,4043	11,5509	0,8453

*Efeitos estatisticamente significativos a $p \leq 0,05$

Ao compararmos os experimentos 1 e 5; e os experimentos 4 e 8, o aumento do nível de glicerol causa um decréscimo de 255,6951 e 281,1995 MPa, respectivamente, no módulo de Young, que aparentemente deve-se ao efeito plastificante do glicerol, que ao atuar sobre materiais poliméricos confere maior mobilidade entre as cadeias e, conseqüentemente, promove uma maior maquinabilidade e manuseabilidade dos filmes formados, como observado também por Gaudin et al. (1999).

Oliveira; Assmann; Soldi (2006), notaram um decréscimo de 156 MPa no módulo de Young quando aumentaram em 20% o teor de glicerol em filmes de carboximetil celulose. Todavia, Müller; Laurindo, Yamashita (2009), obtiveram ganho de 200 MPa no módulo de elasticidade ao adicionarem 0,2 g a mais de celulose nos filmes contendo 0,3 g celulose/ grama amido.

Nos experimentos em foram mantidos fixa a concentração do componente glicerol, mas que as concentrações de amido e/ou de celulose foram aumentadas houve um aumento generalizado no módulo de elasticidade devido, possivelmente, à maior interação entre as cadeias de amido e pela função de carga da celulose, uma vez que não há interação significativa para a interação amido x celulose, o que produz maior rigidez ao material.

Avérous; Boquillon (2004), afirmam que em uma matriz de amido termoplástico com compósitos de celulose e plastificante, existe boa adesão devido à compatibilidade entre as tensões de interface entre polímeros, mas para isto ocorrer, a mistura deve possuir proporção adequada entre os componentes e assim

evitar a saturação dos sítios hidroxilas dos carboidratos com glicerol. A celulose utilizada está no estado microcristalino e apresenta pouca energia superficial, desta forma há poucos pontos suscetíveis para a realização de interações entre as cadeias de amido e de glicerol (BLEDZKI; GASSAN, 1999).

Avérous et al. (2001) afirmam que as fibras de celulose após a formação dos filmes podem sofrer o processo de encurtamento de cadeia, retraindo então o polímero a menor comprimento, sendo as fibras longas as de maior capacidade de retração; portanto, os compósitos de celulose passam a atuar como enchimento ao invés de agente de reforço. Contudo, o que pode justificar o efeito significativo do componente amido é o resultado da suposta concentração em excesso do conteúdo de celulose que não atua somente em melhoria das propriedades mecânicas, mas atua também como agente desplastificante da matriz, permitindo desta forma, maior interação entre as cadeias de amido (KUNANOPPARAT et al., 2008).

Tabela 16 – Coeficientes de regressão do modelo linear para o módulo de elasticidade dos filmes.

Fator	Coeficiente de Regressão	Erro padrão	p - valor
Média	2762,4350	1550,9939	0,1495
Amido	166,6080	155,6155	0,3446
Celulose	50,9516	145,9083	0,7445
Glicerol	-99,6559	61,4616	0,1802
Amido x Celulose	-1,9813	5,7754	0,7488
Amido x Glicerol	-5,1739	5,7754	0,4210
Celulose x Glicerol	-1,2021	5,7754	0,8453

*Efeitos estatisticamente significativos a $p \leq 0,05$

Os coeficientes de regressão obtidos estão na Tabela 16. A equação ajustada para o modelo, com $R^2 = 0,99$, está demonstrada na Equação 7:

$$\text{Módulo de Young (MPa)} = 3585,0403 + 17,4457 \cdot \text{amido} + 13,9632 \cdot \text{celulose} - 129,7862 \cdot \text{glicerol} \text{ (Eq. 7)}$$

A partir do modelo obtido, pode-se gerar as curvas de contorno e as superfícies de resposta em função dos componentes estudados. A Figura 18 demonstra as curvas de contorno para o módulo de Young em função das

concentrações de amido e de celulose para a menor e maior concentração de glicerol. A Figura 19 demonstra as superfícies de resposta para o módulo de Young em função das concentrações de amido e de celulose para a menor e maior concentração de glicerol, com o intuito de obter o maior módulo de elasticidade dos filmes quando submetidos à tração.

Figura 18 – Curvas de contorno para o módulo de elasticidade em função das concentrações de amido e de celulose para a menor e maior concentração de glicerol

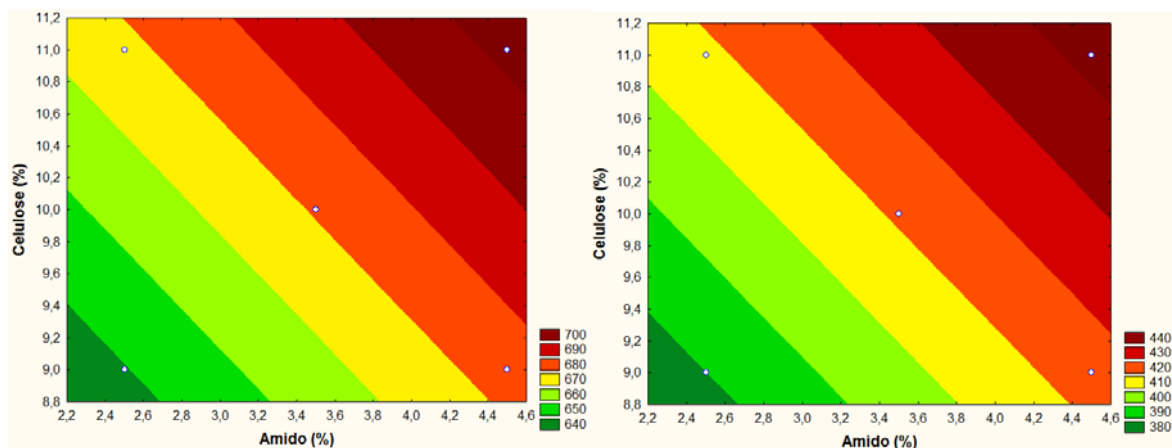
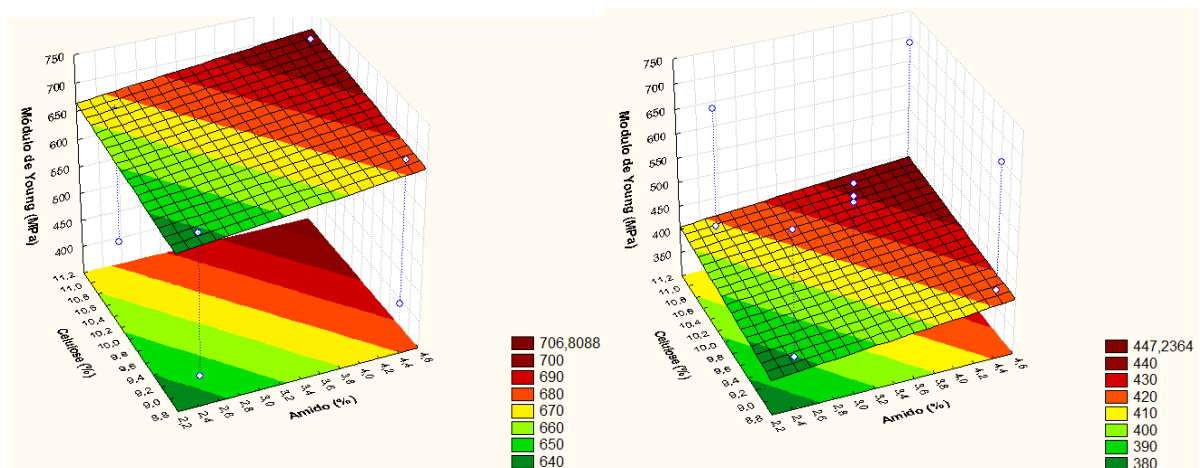


Figura 19 – Superfícies de resposta para o módulo de elasticidade em função das concentrações de amido e de celulose para a menor e maior concentração de glicerol



Como não houve interações significativas entre os componentes, os valores do módulo de Young foram dependentes da concentração do glicerol.

O efeito do glicerol pode ser evidenciado nos valores da resposta quando a menor e a maior concentração de glicerol foram utilizadas para gerar as

curvas de contorno e as superfícies de resposta. A diferença entre os valores são melhores visualizados quando são comparados os patamares ocupados pela superfície de resposta em ambas as concentrações de glicerol.

5.3.2 Teste de Perfuração

5.3.2.1 Força máxima exercida no ponto de ruptura

Os valores observados para a força máxima exercida até o ponto de ruptura ou força máxima na ruptura estão na Tabela 17.

A análise de variância, Tabela 18, indica que não há evidência da falta de ajuste do modelo de primeira ordem na região explorada.

Tabela 17 – Variáveis descodificadas e valores observados para força máxima exercida no ponto de ruptura.

Número do Experimento	Variáveis Originais			Força máxima na ruptura (N)
	Amido (%)	Celulose (%)	Glicerol (%)	
1	2,5	9	24	5,5015
2	4,5	9	24	7,5303
3	2,5	11	24	7,2960
4	4,5	11	24	9,1580
5	2,5	9	26	5,8670
6	4,5	9	26	5,5840
7	2,5	11	26	5,7795
8	4,5	11	26	5,8395
9	3,5	10	25	5,8440
10	3,5	10	25	8,8790
11	3,5	10	25	5,4580

Tabela 18 – Análise de variância para os efeitos principais, interações e falta de ajuste do modelo para força máxima exercida no ponto de ruptura.

Causas de Variação	Graus de Liberdade	SQ	QM	p - valor	R ²
Amido	1	1,6816	1,6816	0,5604	0,65
Celulose	1	1,6112	1,6112	0,5680	
Glicerol	1	5,1453	5,1453	0,3497	
Amido x Celulose	1	0,0039	0,0039	0,9765	
Amido x Glicerol	1	2,1154	2,1154	0,5188	
Celulose x Glicerol	1	1,3237	1,3237	0,6017	
Falta de ajuste	2	0,0866	0,0433	0,9878	
Erro Puro	2	7,0212	3,5106		
Total	10	18,9889			

*Efeitos estatisticamente significativos a $p \leq 0,05$

Os valores das estimativas dos efeitos: concentração de amido, concentração de celulose, concentração de glicerol e das interações entre amido x celulose, amido x glicerol, celulose x glicerol e amido x celulose x glicerol, sobre a força máxima no ponto de ruptura estão na Tabela 19.

Tabela 19 – Estimativa dos efeitos das variáveis independentes sobre a força máxima exercida no ponto de ruptura dos filmes.

Fator	Efeito	Erro padrão	p - valor
Média	6,6124	0,4019	0,0001*
Amido	0,9169	0,9426	0,3857
Celulose	0,8976	0,9426	0,3949
Glicerol	-1,6040	0,9426	0,1640
Amido x Celulose	0,0440	0,9426	0,9650
Amido x Glicerol	-1,0284	0,9426	0,3366
Celulose x Glicerol	-0,8135	0,9426	0,4368

*Efeitos estatisticamente significativos a $p \leq 0,05$

Como pode ser observado na Tabela 19, não houve influência significativa nos valores de força máxima na ruptura nas condições experimentais estudadas dos componentes do filme.

Ao ser realizada a comparação entre os experimentos 2 e 3, ou os experimentos 6 e 7, mantendo o nível de glicerol fixado, mas variando as faixas de amido (para nível inferior) e de celulose (para nível superior) há uma similaridade nos resultados obtidos, sendo possível observar a baixa influência destes componentes sobre a resposta de força máxima exercida no ponto de ruptura.

O experimento 4 apresentou a maior força exercida sobre o ponto de ruptura, enquanto que experimento 1 possui o menor valor obtido pelo ensaio de perfuração. A espessura média dos filmes utilizados no teste de perfuração foi de $0,093 \pm 0,009$ mm, e coincidentemente a espessura média do experimento 4 foi de 0,102 mm, o mais espesso dentre os experimentos, enquanto os experimento 1 (0,090 mm) e 7 (0,073 mm) os menos espessos. Estes resultados demonstram que a força aplicada necessária à perfuração é mais dependente da espessura do material que sua composição.

Sobral (2000), ao trabalhar com o teste de perfuração em amostras de filmes a base de proteínas miofibrilares concluiu que a força exercida na perfuração aumenta linearmente com a espessura dos corpos de prova, como resultado do aumento de matéria seca por superfície, o que conduz ao aumento

potencial de interações intermoleculares. Mali et al. (2004), observaram dependência linear na força máxima de ruptura ao testarem as variáveis espessura, conteúdo de glicerol e concentração de amido de inhame em filmes submetidos ao teste de perfuração, com a resposta compreendida entre 6,03 a 15,96 MPa.

Alves et al. (2007), observaram um aumento de 3,4 MPa na força máxima exercida para romper o filme ao enriquecerem com amilose filmes de amido de mandioca e uma redução de 11,7 MPa ou de 40,6% ao aumentarem a concentração de glicerol em 2,25 vezes.

Tabela 20 – Coeficientes de regressão do modelo linear sobre força máxima exercida no ponto de ruptura dos filmes.

Fator	Coeficiente de Regressão	Erro padrão	p - valor
Média	171,4063	102,6173	0,170172
Amido	-9,0904	10,2959	0,427151
Celulose	-9,9078	9,6536	0,362746
Glicerol	-6,3010	4,0664	0,196190
Amido x Celulose	0,2220	0,3821	0,592439
Amido x Glicerol	0,3069	0,3821	0,466878
Celulose x Glicerol	0,4013	0,3821	0,352924

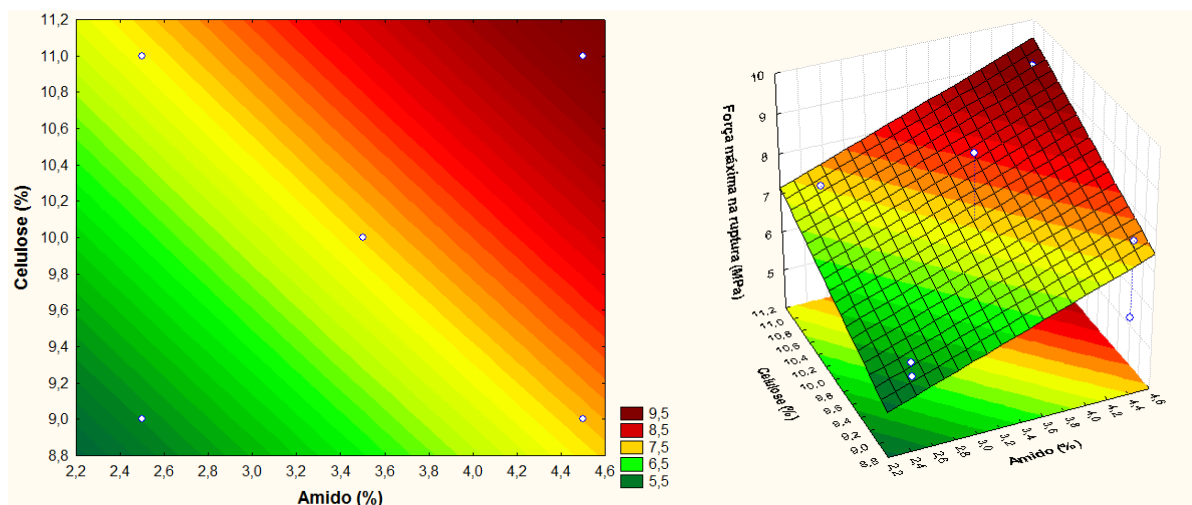
*Efeitos estatisticamente significativos a $p \leq 0,05$

Os coeficientes de regressão obtidos estão na Tabela 20. A equação ajustada para o modelo, com $R^2 = 0,63$, está demonstrada Equação 8:

$$\text{Força máxima na ruptura (N)} = -126,1190 + 13,3141 \cdot \text{amido} + 10,6182 \cdot \text{celulose} + 5,0656 \cdot \text{glicerol} - 0,5142 \cdot \text{amido} \cdot \text{glicerol} - 0,4068 \cdot \text{celulose} \cdot \text{glicerol} \text{ (Eq. 8)}$$

A partir do modelo da Equação 8, pode-se gerar as curvas de contorno em função dos componentes estudados. A Figura 20 demonstra a curva de contorno com a sua superfície de resposta para as concentrações de amido em função de celulose para a menor concentração de glicerol, com o intuito de obter a maior força máxima exercida no ponto de ruptura.

Figura 20 – Curva de contorno e superfície de resposta para força máxima exercida no ponto de ruptura do filme



5.3.2.2 Deformação máxima no ponto de ruptura

Os valores observados para a deformação máxima no ponto de ruptura ou deformação máxima estão na Tabela 21.

Tabela 21 – Variáveis descodificadas e valores observados para a deformação máxima no ponto de ruptura.

Número do Experimento	Variáveis Originais			Deformação máxima na ruptura (mm)
	Amido (%)	Celulose (%)	Glicerol (%)	
1	2,5	9	24	0,9347
2	4,5	9	24	0,9314
3	2,5	11	24	0,9331
4	4,5	11	24	0,9263
5	2,5	9	26	0,9766
6	4,5	9	26	0,9779
7	2,5	11	26	0,9641
8	4,5	11	26	0,9503
9	3,5	10	25	0,9326
10	3,5	10	25	0,9312
11	3,5	10	25	0,9396

A análise de variância, Tabela 22, indica que não há evidência da falta de ajuste do modelo de primeira ordem na região explorada.

Tabela 22 – Análise de variância para os efeitos principais, interações e falta de ajuste do modelo para força máxima exercida no ponto de ruptura.

Causas de Variação	Graus de Liberdade	SQ	QM	p - valor	R ²
Amido	1	0,000064	0,000064	0,2192	0,85
Celulose	1	0,000274	0,000274	0,0671	
Glicerol	1	0,002575	0,002575	0,0078*	
Amido x Celulose	1	0,000043	0,000043	0,2831	
Amido x Glicerol	1	0,000001	0,000001	0,8662	
Celulose x Glicerol	1	0,000140	0,000140	0,1201	
Falta de ajuste	2	0,000496	0,000248	0,0760	
Erro Puro	2	0,000041	0,000020		
Total	10	0,003633			

*Efeitos estatisticamente significativos a $p \leq 0,05$

Os valores das estimativas dos efeitos: concentração de amido, concentração de celulose, concentração de glicerol e das interações entre amido x celulose, amido x glicerol, celulose x glicerol e amido x celulose x glicerol, sobre a deformação máxima no ponto de ruptura estão na Tabela 23.

Tabela 23 – Estimativa dos efeitos das variáveis independentes sobre a tensão de ruptura dos filmes.

Fator	Efeito	Erro padrão	p - valor
Média	0,9453	0,0035	0,0000*
Amido	-0,0056	0,0082	0,5286
Celulose	-0,0117	0,0082	0,2263
Glicerol	0,0359	0,0082	0,0119*
Amido x Celulose	-0,0046	0,0082	0,6009
Amido x Glicerol	-0,0006	0,0082	0,9442
Celulose x Glicerol	-0,0084	0,0082	0,3648

*Efeitos estatisticamente significativos a $p \leq 0,05$

Como pode ser observado na Tabela 23, o componente glicerol foi o único componente que apresentou influência significativa nos valores de deformação máxima no ponto de ruptura dos filmes, nas condições experimentais estudadas.

Com exceção ao componente glicerol, os demais componentes e as interações apresentaram efeito negativo na resposta. A ação negativa dos efeitos proporciona uma menor deformação à penetração da sonda através do filme.

Alves et al. (2007), ao aumentar em 2,25 vezes o teor de glicerol em filmes de amido de mandioca enriquecidos com amilose submetidos ao teste de perfuração, observou aumento de 1,6 para 5,7 mm na deformação máxima na

ruptura, porém quando foi mantido o teor de glicerol mas elevaram-se o teor de amilose como enriquecimento a deformação diminui significativamente. O mesmo comportamento linear foi observado por Mali et al. (2004), que observou o aumento da deformação com o aumento de glicerol, com faixa variando entre 3,44 a 4,78 mm ao trabalharem de filmes de amido de inhame plastificados com glicerol.

Os coeficientes de regressão obtidos estão na Tabela 24. A equação ajustada para o modelo, com $R^2 = 0,63$, está demonstrada na Equação 9:

Deformação máxima na ruptura (mm) = $0,5651 - 0,0028 \cdot \text{amido} - 0,0059 \cdot \text{celulose} + 0,0179 \cdot \text{glicerol}$ (Eq. 9)

Tabela 24 – Coeficientes de regressão do modelo linear sobre a deformação máxima no ponto de ruptura dos filmes.

Fator	Coefficiente de Regressão	Erro padrão	p - valor
Média	-0,5885	1,0998	0,6209
Amido	0,0280	0,1103	0,8120
Celulose	0,1068	0,1035	0,3601
Glicerol	0,0608	0,0436	0,2352
Amido x Celulose	-0,0023	0,0041	0,6009
Amido x Glicerol	-0,0003	0,0041	0,9442
Celulose x Glicerol	-0,0042	0,0041	0,3648

*Efeitos estatisticamente significativos a $p \leq 0,05$

A partir do modelo da Equação 9, pode-se gerar as curvas de contorno e as superfícies de resposta em função dos componentes estudados. A Figura 21 demonstra as curvas de contorno para a deformação máxima no ponto de ruptura em função das concentrações de amido e de celulose para a menor e maior concentração de glicerol. A Figura 22 demonstra as superfícies de resposta para a deformação máxima no ponto de ruptura em função das concentrações de amido e de celulose para a menor e maior concentração de glicerol, com o intuito de obter a menor deformação no ponto de ruptura.

Figura 21 – Curvas de contorno para a máxima deformação no ponto de ruptura em função das concentrações de amido e de celulose para a menor e maior concentração de glicerol

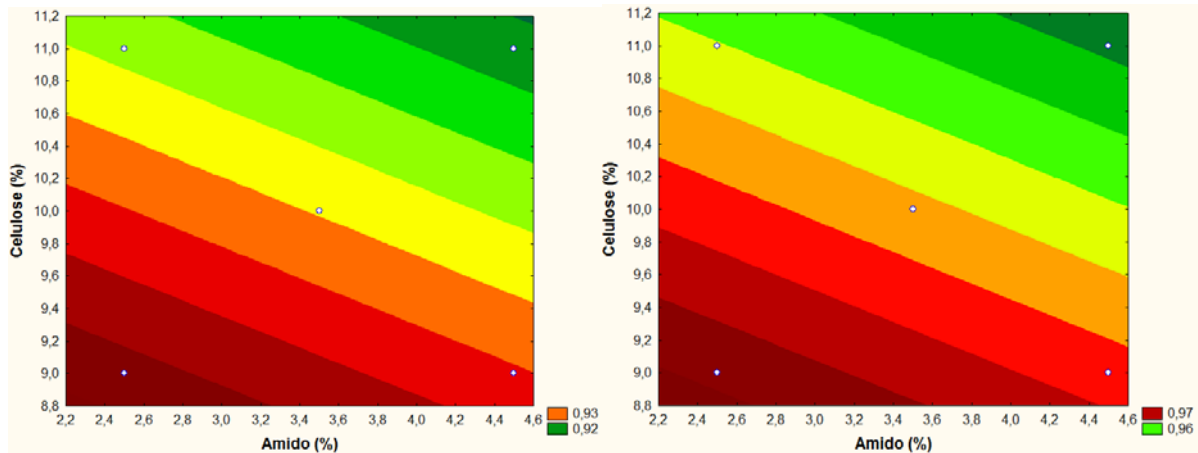
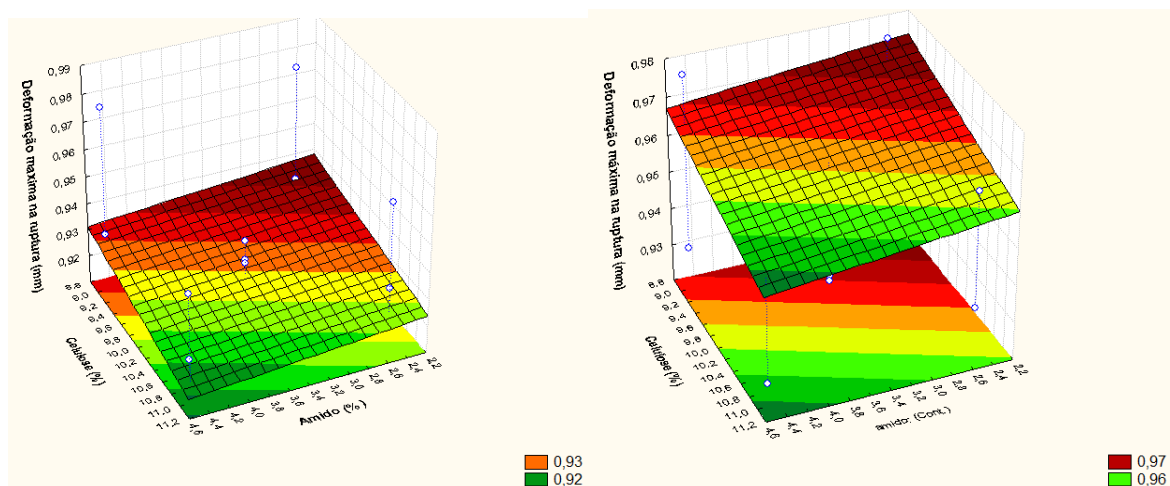


Figura 22 – Superfícies de resposta para a máxima deformação no ponto de ruptura em função das concentrações de amido e de celulose para a menor e maior concentração de glicerol



O efeito do glicerol pode ser evidenciado nos valores da deformação máxima na ruptura pelo teste de perfuração pelas curvas de contorno e pelas superfícies de resposta quando a menor e a maior concentração de glicerol foram utilizadas para gerá-las. A diferença entre os patamares ocupados pela superfície de resposta que correspondem aos valores observados, em ambas as concentrações de glicerol, evidenciam sua influência sobre a resposta.

5.4 PROPRIEDADE DE BARREIRA

5.4.1 Permeabilidade ao Vapor de Água

Os valores observados para a característica físico-química de permeabilidade ao vapor de água (PVA) estão na Tabela 25.

Tabela 25 – Variáveis descodificadas e valores observados para a permeabilidade ao vapor de água.

Número do Experimento	Variáveis Originais			PVA
	Amido (%)	Celulose (%)	Glicerol (%)	
1	2,5	9	24	$1,0616^{-5}$
2	4,5	9	24	$1,2049^{-5}$
3	2,5	11	24	$1,1196^{-5}$
4	4,5	11	24	$1,5104^{-5}$
5	2,5	9	26	$1,1369^{-5}$
6	4,5	9	26	$1,6823^{-5}$
7	2,5	11	26	$8,9214^{-6}$
8	4,5	11	26	$1,3974^{-5}$
9	3,5	10	25	$1,1659^{-5}$
10	3,5	10	25	$1,2026^{-5}$
11	3,5	10	25	$1,2129^{-5}$

A análise de variância, Tabela 26, indica que não há evidência da falta de ajuste do modelo de primeira ordem na região explorada.

Tabela 26 – Análise de variância para os efeitos principais, interações e falta de ajuste do modelo para a permeabilidade ao vapor de água.

Causas de Variação	Graus de Liberdade	SQ	QM	p - valor	R ²
Amido	1	$3,13 \cdot 10^{-11}$	$3,13 \cdot 10^{-11}$	0,0019*	0,96
Celulose	1	$3,45 \cdot 10^{-13}$	$3,45 \cdot 10^{-13}$	0,1405	
Glicerol	1	$5,63 \cdot 10^{-13}$	$5,63 \cdot 10^{-13}$	0,0934	
Amido x Celulose	1	$5,37 \cdot 10^{-13}$	$5,37 \cdot 10^{-13}$	0,0973	
Amido x Glicerol	1	$3,33 \cdot 10^{-12}$	$3,33 \cdot 10^{-12}$	0,0178*	
Celulose x Glicerol	1	$9,97 \cdot 10^{-12}$	$9,97 \cdot 10^{-12}$	0,0061*	
Falta de ajuste	2	$1,73 \cdot 10^{-12}$	$8,69 \cdot 10^{-13}$	0,0656	
Erro Puro	2	$1,22 \cdot 10^{-13}$	$6,10 \cdot 10^{-14}$		
Total	10	$4,80 \cdot 10^{-11}$			

*Efeitos estatisticamente significativos a $p \leq 0,05$

Os valores das estimativas dos efeitos: concentração de amido, concentração de celulose, concentração de glicerol e das interações entre amido x celulose, amido x glicerol, celulose x glicerol e amido x celulose x glicerol, sobre a permeabilidade ao vapor de água estão na Tabela 27.

Tabela 27 – Estimativa dos efeitos das variáveis independentes sobre a permeabilidade ao vapor de água dos filmes.

Fator	Efeito	Erro padrão	p - valor
Média	0,000012	0,000000	0,0000*
Amido	0,000004	0,000000	0,0012*
Celulose	-0,000000	0,000000	0,4377
Glicerol	0,000001	0,000000	0,3331
Amido x Celulose	0,000001	0,000000	0,3430
Amido x Glicerol	0,000001	0,000000	0,0554
Celulose x Glicerol	-0,000002	0,000000	0,0098*

*Efeitos estatisticamente significativos a $p \leq 0,05$

Como pode ser observado na Tabela 27, o componente amido e a interação entre a celulose x glicerol apresentaram influência significativa nos valores da permeabilidade ao vapor de água nas condições experimentais estudadas.

Nos experimentos 1 e 2, ao elevar o nível do componente amido há diminuição da permeabilidade, assim como nos experimentos 3 e 4; 5 e 6; 7 e 8. O experimento número 7, obteve o menor valor de permeabilidade dentre todos os tratamentos, pois combinava a interação negativa e significativa entre celulose x glicerol e o menor nível do componente amido.

Sobral (2000) observou dependência linear negativa sobre a taxa permeabilidade dos biofilmes de proteínas miofibrilares com o aumento de espessura.

Diversos autores observaram um aumento da permeabilidade ao vapor de água em filmes biodegradáveis em relação à hidroflicidade da matriz gelatinizada que confere diferentes mudanças estruturais e complexo transporte difusivo da água através do filme como resultado das isotermas não lineares de sorção de água que são influenciadas pela hidroflicidade do plastificante (CUQ et al., 1997; POMMET et al., 2003; MALI et al., 2004; THURAN, ŞAHBAZ, 2004; BERTUZZI et al., 2007).

Alves et al. (2007), obtiveram menores valores de permeabilidade ao aumentar o teor de amilose em filmes de amido de mandioca preparados por

casting; por outro lado, ao aumentar o teor de glicerol ocorreu um aumento da permeabilidade, sendo este comportamento relacionado a menor densidade da rede de amido que favorece a absorção e dessorção das moléculas de água.

Moura et al. (2011) concluiu que a adição de fibras provoca uma diminuição na permeabilidade ao vapor de água e quanto menores estas forem maiores são as respostas obtidas causadas pela maior dispersão na matriz; os autores observaram que ao incorporar fibras de celulose de 16 μm houve uma queda na permeabilidade ao vapor de água de $0.455 \pm 0.010 \text{ g mm kPa}^{-1} \text{ h}^{-1} \text{ m}^{-2}$. SANCHEZ-GARCIA et al. (2008) reportou que a presença de fibras cristalinas impermeáveis reflete no aumento da tortuosidade na matriz do filme, conduzindo a um menor processo de difusão e, conseqüentemente, menor permeabilidade.

Tabela 28 – Coeficientes de regressão do modelo linear sobre a permeabilidade ao vapor de água dos filmes.

Fator	Coeficiente de Regressão	Erro padrão	p - valor
Média	-0,0002127	0,0000648	0,0304*
Amido	-0,0000168	0,0000065	0,0615
Celulose	0,0000268	0,0000061	0,0117*
Glicerol	0,0000092	0,0000026	0,0233*
Amido x Celulose	0,0000003	0,0000002	0,3430
Amido x Glicerol	0,0000006	0,0000002	0,0554
Celulose x Glicerol	-0,0000011	0,0000002	0,0098*

*Efeitos estatisticamente significativos a $p \leq 0,05$

Os coeficientes de regressão obtidos estão na Tabela 28. A equação ajustada para o modelo, com $R^2 = 0,95$, está demonstrada na Equação 10:

$$\text{PVA (g.m/m}^2\text{.h.Pa)} = -0,000222 - 0,000014*\text{amido} + 0,000028*\text{celulose} + 0,00009*\text{glicerol} + 0,000001*\text{amido}*glicerol - 0,000001*\text{celulose}*glicerol \text{ (Eq. 10)}$$

A partir do modelo da Equação 10 foi possível gerar as curvas de contorno e as superfícies de resposta em função dos componentes estudados. A Figura 23 demonstra as curvas de contorno para a PVA em função das concentrações de amido e de glicerol para a menor e maior concentração de celulose. A Figura 24 demonstra as superfícies de resposta para a PVA em função

das concentrações de amido e de glicerol para a menor e maior concentração de celulose, com o intuito de obter a menor PVA.

No nível inferior de celulose a concentração de amido em toda a sua faixa de variação possui baixas PVA, enquanto que ao nível superior da concentração de celulose a PVA manteve-se alta praticamente em toda a faixa. Isto sugere que a celulose provavelmente possui um efeito de carga. A rede de amido ao redor da fibra, possivelmente não possui forte interação com estas, permitindo desta forma uma maior passagem do vapor de água através do filme.

Figura 23 – Curvas de contorno para a permeabilidade ao vapor de água do filme em função das concentrações de amido e de glicerol para a menor e maior concentração de celulose

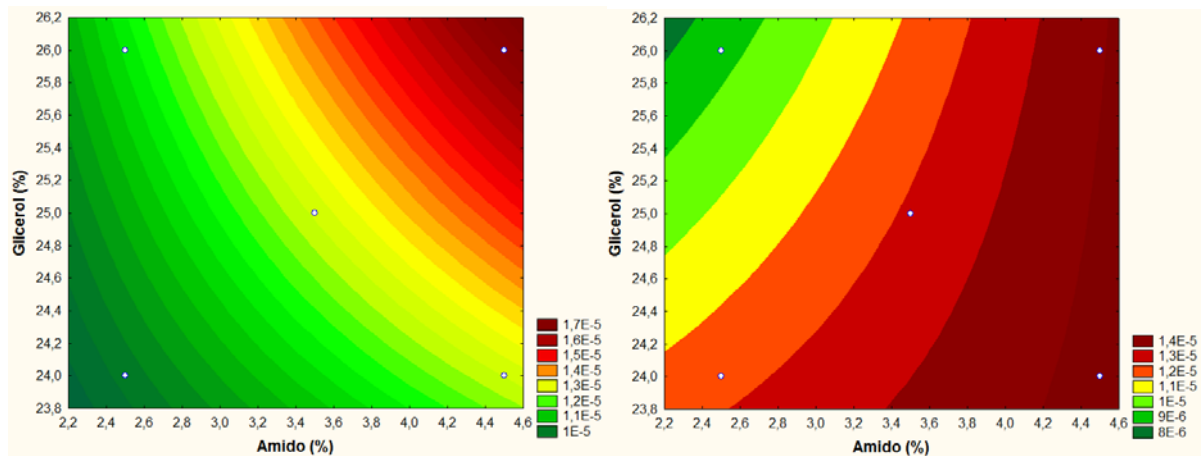
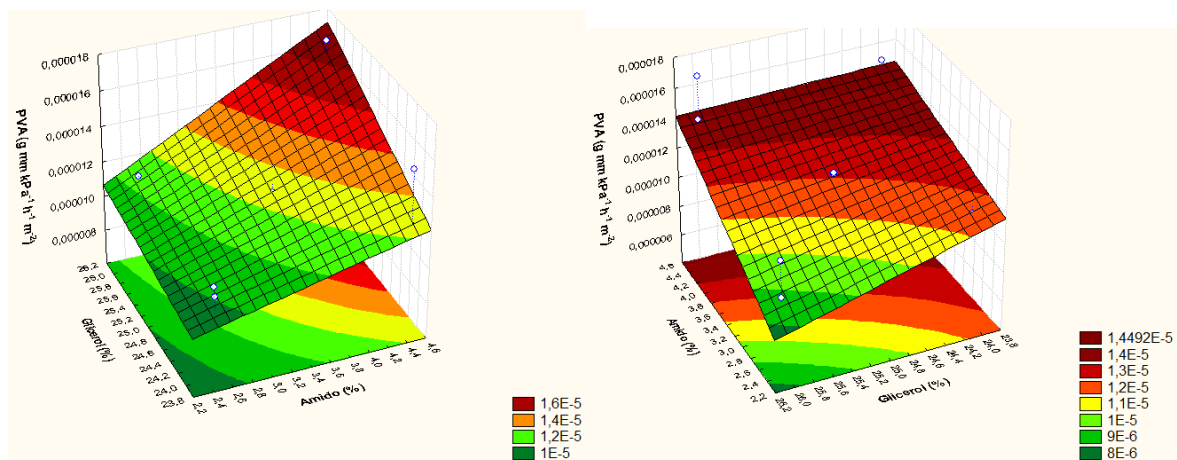


Figura 24 – Superfícies de resposta para a permeabilidade ao vapor de água do filme em função das concentrações de amido e de glicerol para a menor e maior concentração de celulose



5.5 CARACTERÍSTICAS DO RECIPIENTE BIODEGRADÁVEL

O biofilme que seria utilizado como recipiente para produção de mudas, dentro da faixa de variação dos seus componentes estudados no qual era possível sua obtenção, deve apresentar a maior resistência mecânica à tração, a menor deformação no ponto de ruptura e o maior valor para o módulo de elasticidade, obtidos para os testes de tração; maior força máxima no ponto de ruptura ou maior resistência a perfuração e menor deformação quando submetidos ao teste de perfuração. Estas características visavam à resistência do recipiente quando manipulado pelo agricultor, para que não se rasgasse (evitar a perda de integridade) e que possuísse rigidez necessária a fim de facilitar o enchimento com substrato.

Quanto à permeabilidade, o filme deveria possuir o menor valor dentre as combinações observadas, pois, provavelmente, o biofilme não permitiria um ressecamento do substrato para a produção de mudas, o que ocasionaria em estresse hídrico para a muda.

Com os resultados obtidos e através das análises das superfícies de resposta foi possível estimar a formulação 4,4% (m/v) de amido; 10,8% (m/m) de celulose sobre a massa de amido e 24% (m/m) de glicerol sobre a massa de amido, sendo a formulação detentora destas características citadas interessantes para a função de suporte na produção de mudas agrícolas.

Biofilmes com esta composição foram produzidos e utilizados nos testes de solubilidade, biodegradação, avaliação da resistência do produto na fase de produção de mudas e o efeito pós-transplante com o recipiente sobre o desenvolvimento das plantas.

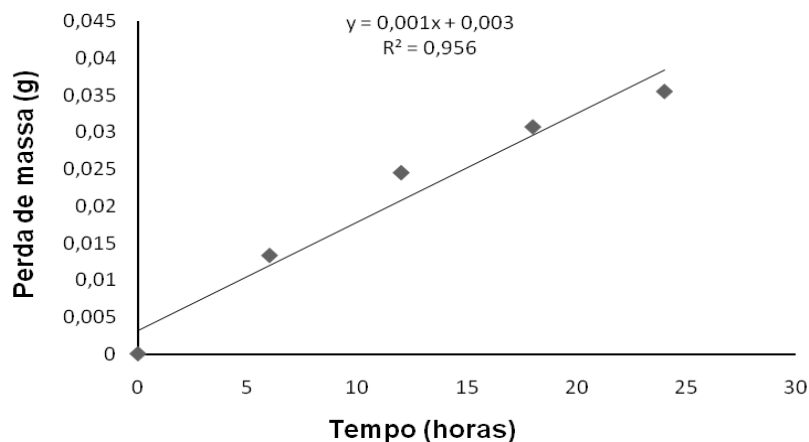
5.6 DETERMINAÇÃO DA SOLUBILIDADE EM ÁGUA

A Figura 25 demonstra a regressão linear obtida para o teste de solubilidade em água.

De acordo com a Figura 25, após 24 horas foram solubilizados cerca de 0,035 gramas do biofilme que corresponde a 60,22% de solubilidade em água.

O resultado observado quando comparado com os obtidos na literatura são mais elevados devido à ação amilolítica do microrganismo.

Figura 25 – Gráfico de solubilização do biofilme em água com respectiva equação de regressão linear



O valor encontrado discorda com o obtido por Corrêa; Filho (2009), que obtiveram após incubação a 50 rpm por 24 horas apenas 8,33% de solubilização, mas os autores discorrem que filmes de zeína são pouco hidrofílicos e devido a isto se solubilizam vagarosamente. Mehvar; Han (2004), ao realizarem o ensaio de solubilidade em água com filmes de amido de arroz (44%) e de ervilha (32%) enriquecidos com amilose, atribuem os altos valores à hidrofiliçidade do glicerol utilizado como plastificante e que sua interação foi maior com o amido de ervilha, e desta forma, este filme apresentou menor solubilidade. Resultado semelhante foi obtido por Turhan; Şahbaz (2004) que, ao aumentarem o teor de glicerol no filmes, obtiveram um aumento na solubilidade.

5.7 TESTES DE BIODEGRADABILIDADE DO RECIPIENTE BIODEGRADÁVEL CONDUZIDOS EM LABORATÓRIO

O teste de biodegradabilidade conduzido em laboratório teve como objetivo determinar a atividade amilolítica total dos biofilmes incubados em condições que favoreciam o crescimento microbiano, com e sem restrição de fontes de nutrientes no meio.

5.7.1 Determinação da Atividade Amilolítica Total

A presença de enzimas capazes de hidrolisar a matriz polimérica dos filmes foi encontrada nos diferentes tubos incubados com água destilada

autoclavada ou com água peptonada 0,1% esterilizada e indica a viabilidade dos microrganismos que foram adicionados como promotores da biodegradação.

Os microrganismos ficaram aprisionados na matriz polimérica e eram liberados ao meio aquoso na medida em que o filme era solubilizado e hidrolisado, onde poderiam produzir as enzimas exocelulares capazes de degradar o biofilme.

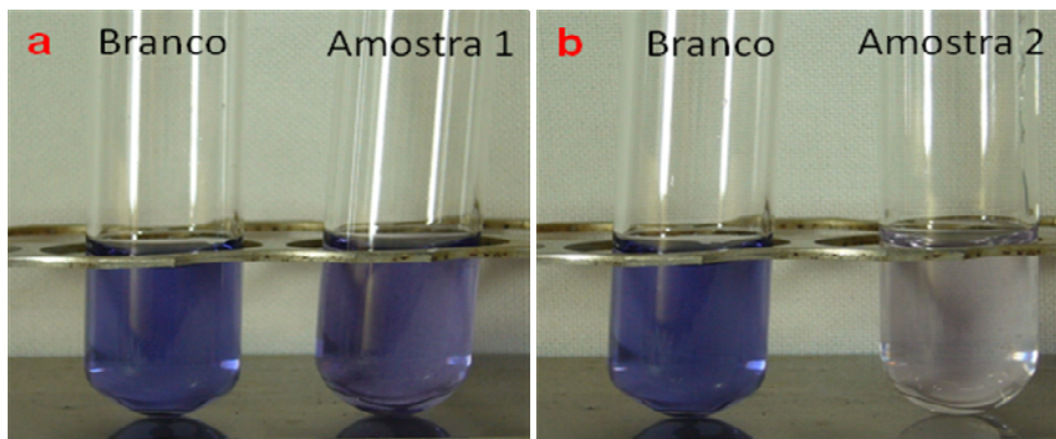
Apesar de não ter sido realizada a curva de crescimento microbiano, a quantidade de células vivas foi capaz de produzir uma quantidade de enzimas correspondente a atividade amilolítica total de 0,3138 U, obtida nos tubos contendo água destilada esterilizada, e atividade amilolítica total de 1,4729 U, obtida nos tubos contendo água peptonada 0,1% esterilizada. Jbilou et al. (2011) observaram que a presença de enzimas amilolíticas produziram, após 24 horas de incubação, um valor da velocidade de liberação de açúcares redutores de $0,22 \text{ g L}^{-1}$ para filmes extrusados de amido de milho plastificados com glicerol.

A diferença de cerca de 4,7 vezes na atividade amilolítica total encontrado nos diferentes meios de incubação deve-se, provavelmente, à maior concentração de nitrogênio e de células microbianas no meio contendo água peptonada. Tari et al. (2006), observaram um aumento na atividade da protease alcalina de *Bacillus* ao aumentarem a quantidade de nitrogênio presente no meio de cultura. Zain et al. (2007), ao trabalhar com a otimização da produção de ciclodextrina glucanotransferase, afirma que a bactéria *Bacillus* necessita de um valor mínimo de nitrogênio no meio de cultivo para produzir a enzima, mas seu excesso pode causar uma repressão na produção e que o excesso de polissacarídeos no meio induz o microrganismo a produzir glucoamilase.

A diferença da intensidade de tonalidade era visível a olho nu ao comparar os tubos contendo o substrato de amido e a enzima provindos da incubação com diferentes meios logo após a reação ter sido interrompida com a solução de iodeto. A Figura 26 demonstra a diferença de tonalidade azul da reação de degradação quando comparada com o branco (sem enzima).

A atividade amilolítica total presente era desejável, pois, desta forma, haviam expectativas de que o recipiente seria degradado em maior velocidade e independente da flora microbiana natural do solo.

Figura 26 – Diferença na tonalidade azul da reação de degradação quando comparado com o branco em a: biofilmes incubados com água destilada autoclavada e b: biofilmes incubados com água peptonada 0,1% autoclavada



5.7.2 Determinação de Glicose

Os microrganismos, para sobreviverem, produziram enzimas capazes de degradar a matriz polimérica do biofilme e utilizaram os monômeros como fonte de nutriente. O monômero produzido pela degradação do amido é a glicose. Foi evidenciado a quantidade de 1,9310 mg/dL de glicose nos tubos contendo o filme incubado em água destilada esterilizada; enquanto que nos tubos em que o filme foi incubado com água destilada peptonada esterilizada obteve-se a quantidade de glicose igual a 2,9119 mg/dL. A maior quantidade de glicose observada no segundo caso provavelmente deve-se à maior atividade enzimática encontrada neste meio. Jbilou et al. (2011), observaram que, do total dos produtos resultantes da ação enzimática na degradação de biofilmes extrusados de amido de milho com glicerol, havia 32% de glicose após 24 horas de incubação.

5.8 TESTES DE BIODEGRADABILIDADE CONDUZIDOS EM CASA DE VEGETAÇÃO

Os testes de biodegradabilidade em casa de vegetação objetivaram avaliar a resistência do recipiente na fase de produção de mudas e seu efeito sobre o desenvolvimento da planta após o transplante com o recipiente.

5.8.1 Avaliação Visual da Biodegradabilidade dos Recipientes para Mudas no Momento do Transplante

Os recipientes produzidos em duas espessuras e que foram utilizados como recipientes para a produção de mudas resistiram ao período de germinação das sementes e ao início da fase de desenvolvimento da planta, pois não comprometeram sua integridade ao ponto de haver perdas de substrato e exposição das raízes.

A Figura 27 mostra os recipientes nas duas espessuras testadas e percebe-se que a integridade do filme prevaleceu; porém os danos indicados com setas foram decorrentes ao manuseio exercido para a remoção da plântula, de limpeza e tomada de fotografias. Percebeu-se a presença de cavitação do material e que este estava frágil e com menor espessura como resultado do consumo dos seus componentes por microrganismos ou pela solubilização do material, em que ambos os casos contribuem para a perda de massa do material.

Figura 27 – Recipientes para a produção de mudas com espessuras, a: espessura de 0,09 mm e b: 0,20 mm, após o período de produção de mudas

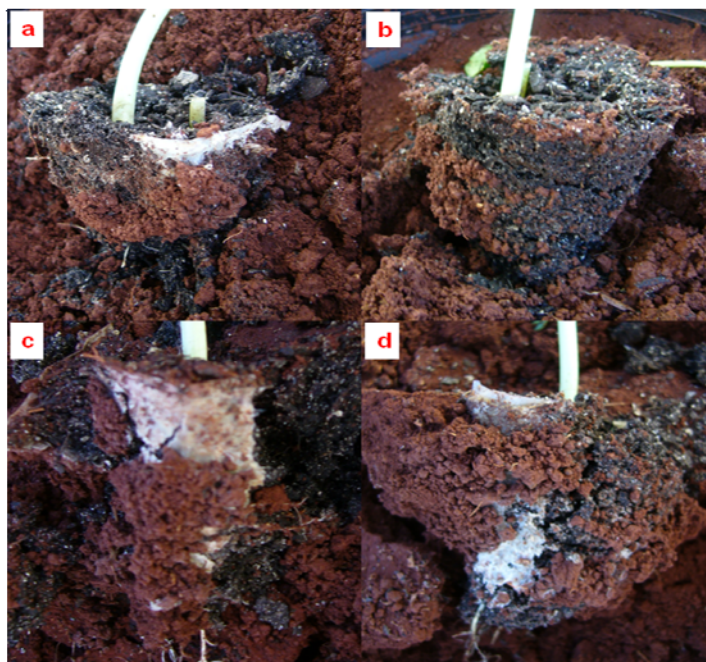


5.8.2 Avaliação Visual da Biodegradabilidade dos Recipientes para Mudas Após o Transplante

A Figura 28 demonstra os vestígios dos biofilmes encontrados após o período de 10 dias da realização do transplante para vasos. A Figura 28-b apesar de não apresentar o recipiente, fragmentos ficaram no solo. Nota-se que, mesmo com o trabalho realizado para a remoção da plântula do solo, as raízes permaneceram envolvidas pelo substrato e que o formato do recipiente foi mantido,

o que indica que próximo às raízes o estresse realizado pelo transplante foi minimizado e que não houve perdas do sistema radicular periférico pelo transplante. Os recipientes de maior espessura apresentaram maior frequência de vestígios do que os de menor espessura. Domenek et al. (2004), obtiveram cerca de 80% de perda de massa depois de dez dias enterrado em solo e o desaparecimento completo de filmes a base de proteína após cinquenta dias.

Figura 28 – Vestígios dos recipientes degradados após 10 dias do transplante para vasos; a: espessura 0,09 mm em solo autoclavado; b: espessura 0,09 mm em solo não autoclavado; c: espessura 0,20 mm em solo autoclavado; d: espessura 0,20 mm em solo não autoclavado



Os filmes foram degradados em quase sua totalidade após 10 dias da realização do transplante. A velocidade de degradação observada antes, e após o transplante, pode ter sido influenciada pela menor amplitude térmica e umidade no sistema solo – filme – substrato, comparado ao sistema substrato – filme – atmosfera. Castro et al. (1993), obtiveram maior nodulação em soja por *Bradyrhizobium* quando o solo foi mantido com cobertura, o que evitou maiores amplitudes térmicas, e proporcionou maior crescimento microbiano e favorecimento da simbiose. Guerra; Osakawa (1981), observaram uma queda do crescimento de bactérias em solo tropical ao observarem diferentes amplitudes térmicas, especialmente em temperaturas abaixo de 25°C, mas em ótimas temperaturas na

presença de substrato no solo, ocorria crescimento exponencial de diversos microrganismos.

5.9 ANÁLISE DO EFEITO DO RECIPIENTE BIODEGRADÁVEL SOBRE O DESENVOLVIMENTO DA PLANTA

Os tratamentos: recipiente com espessura 0,09 mm em solo autoclavado (CA1); recipiente com espessura 0,20 mm em solo autoclavado (CA2); recipiente com espessura 0,09 mm em solo não autoclavado (SA1); recipiente com espessura 0,20 mm em solo não autoclavado (SA2); transplante convencional (T) com mudas produzidas em canteiro e semeadura direta no solo (S) obtiveram 100% de germinação e 100% de pegamento, ou seja, todas as sementes germinaram e todas as mudas transplantadas sobreviveram.

Todas as plantas apresentaram desenvolvimento normal das raízes, o que demonstra que o recipiente não afetou no seu desenvolvimento. A matéria seca da parte aérea foi avaliada pela análise de variância, Tabela 29.

De acordo com a análise de variância, existe diferença estatística entre a matéria seca dos diferentes tratamentos ao nível de 5% de significância. A Tabela 30 apresenta o teste de comparação de médias de Tukey.

Tabela 29 – Análise de variância, CV = 1,51%, para os tratamentos produção de mudas em recipiente produzidos com duas espessuras: 0,09 mm e 0,2 mm e transplantados em vasos com e sem solo autoclavado.

Causas de Variação	Graus de Liberdade	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
Tratamento	5	0,007777	0,001555	426,293	0,0000*
Erro	12	0,000044	0,000004		
Total	17	0,007821			

*Efeitos estatisticamente significativos a $p \leq 0,05$

De acordo com o teste de comparação de médias, o recipiente com menor espessura, incubado em solo com e sem autoclavagem, obteve o maior resultado em quantidade de matéria seca. O resultado indica que as plantas pertencentes aos tratamentos CA1 e SA1 possuíram melhor desenvolvimento, pois as mudas transplantadas provavelmente sofreram menor estresse hídrico que os demais tratamentos que foram dependentes da velocidade de degradação dos. Os

filmes de menor espessura foram degradados mais rapidamente por conterem menor quantidade de massa a ser degradada não funcionaram como barreira física para a lâmina de água de irrigação e permitindo que as raízes pudessem explorar maior volume de solo, assim como por possíveis interações benéficas entre a rizosfera e os microrganismos. Os tratamentos CAE2 e SAE2 possivelmente sofreram pouco estresse devido à barreira física proporcionada pelo recipiente.

Tabela 30 – Testes de comparação de médias de Tukey para quantidade de matéria seca (g) dos diferentes tratamentos.

Tratamentos	Médias	Resultado do teste*
CA1	0,150833	a
SA1	0,147433	a
CAE2	0,139167	b
SAE2	0,119500	c
S	0,111733	d
T	0,092800	e

*Médias com letras iguais na mesma coluna não apresentam diferença significativa pelo teste de Tukey ($p \leq 0,05$). CA1 = recipiente com espessura 0,09 mm em solo autoclavado; CA2 recipiente com espessura 0,20 mm em solo autoclavado; SA1 recipiente com espessura 0,09 mm em solo não autoclavado; SA2 recipiente com espessura 0,20 mm em solo não autoclavado; T = transplante convencional com mudas produzidas em canteiro; S = semeadura direta no solo

Os tratamentos que consistiam no transplante com o recipiente continham o substrato para a produção de mudas e que, possivelmente, foi o responsável por manter a plântula sobre melhores condições nutricionais.

Rezende et al. (1998), afirmam que nenhum sistema de irrigação é capaz de aplicar a água com perfeita uniformidade, e a uniformidade acima da superfície do solo, aplicada por aspersão em seu trabalho, foi menor que abaixo dela, indicando que a redistribuição da água promove maior uniformidade da umidade no perfil do solo. De acordo com Souza; Matsura (2004) é necessário conhecer a forma de distribuição do bulbo de molhamento produzido pela irrigação para dimensionar o sistema de irrigação por gotejamento. Azevedo et al. (2005), observaram que a produtividade da cultura da melancia é dependente da irrigação, sendo o máximo obtido correspondente a reposição de 95% da evaporação no tanque classe “A”, enquanto que a reposição de 120% foi obtida por Teodoro et al. (2004). Segundo Erdem; Yuksel (2003), a privação em média de 50% do conteúdo de água recomendada para irrigação reduz em média 24% a produtividade da cultura da melancia.

O uso de bactérias promotoras de crescimento aumenta o rendimento das culturas por atuarem indiretamente na supressão de doenças e diretamente pela produção ou alteração da concentração de fitohormônios, fixação de nitrogênio, pela solubilização de fosfatos minerais ou outros nutrientes do solo; oxidação do enxofre; aumento de permeabilidade das raízes e; produção de sideróforos (BONKOWSKI et al., 2000). Bactérias do gênero *Bacillus* melhoram a saúde das plantas por três mecanismos ecológicos distintos: antagonismo a pragas e doenças; promovem o crescimento do hospedeiro pela melhora de nutrição e estimulação dos mecanismos de defesa do hospedeiro (CHOUDHARY; JOHRY, 2009). No trabalho realizado por Gomes et al. (2003) em que foi testada a produção de mudas orgânicas de alface com a aplicação de *Bacillus spp.*, os autores obtiveram maior produção de massa fresca com a aplicação conjunta com o microrganismo pelo aumento do teor foliar de nitrogênio.

As plantas provindas de semeadura direta no solo (S) não autoclavado obtiveram valores de matéria seca inferiores aos tratamentos CA1, SA1, CAE2 e SAE2, que sofreram possível estresse na emergência devido ao efeito da resistência proporcionado solo peneirado que depois de irrigado se compactou e também, possivelmente, pela menor aporte de nutrientes para a planta. Segundo Alcântara; Madeira (2008), a compactação não é um fenômeno natural, no qual o revolvimento excessivo do solo causa a destruição de agregados e que após sofrerem compressão, reduz o número de poros por onde circularia ar e água, diminuindo o movimento de água no perfil. Silva; Costa; Borges (2008), ao avaliarem a compactação de um solo argiloso sob diferentes cultivos observaram que os solos sob cultivo de hortaliças possuem alta resistência à penetração como consequência do revolvimento excessivo do solo. Os substratos comerciais possuem boas capacidades de retenção de água (LIZ et al., 2008), mas em solos que possuem partículas argilosas, o conteúdo de água influencia na resistência à penetração, sendo maiores em solos mais secos (LEY; MULLINS; LAL, 1995).

Pabin et al. (1998), concluíram que o comprimento das raízes diminui com o aumento da resistência à penetração, sendo que esta resistência aumenta com o aumento da quantidade de argila e com a diminuição do carbono orgânico no solo. Eltz; Böck; Amado (2005), ao avaliarem o efeito de diferentes manejos do solo sobre a qualidade e produtividade de melancia, concluíram que o manejo convencional propiciou maiores produtividades com melhor desenvolvimento

vegetativo devido à presença de sistema radicular mais denso e profundo.

O transplante convencional com mudas produzidas em canteiro e transplantadas com as raízes nuas obteve o menor valor de produção de matéria seca, devido ao estresse de exposição das raízes e readaptação da plântula ao novo meio. Constantino (2009), ao trabalhar com a produção de *Pinus taeda*, observou que as mudas formadas em recipientes individuais e transplantadas sem a exposição das raízes tiveram melhor desempenho em campo, enquanto que as mudas em que as raízes foram expostas foram mais suscetíveis ao estresse hídrico e a compactação do solo. Cocco (2010), ao testar o plantio do morangueiro com e sem a exposição de raízes, concluiu que o plantio de mudas com raízes nuas produzem plantas adultas de qualidade inferior e com menor produtividade.

Nesmith (1999) observou que áreas produtoras de melancias instaladas com mudas possuíam de 90 a 100% de frutos comercializáveis, enquanto que áreas produtoras provindas de semeadura direta no solo apresentavam 40% de frutos comercializáveis; a diferença observada na qualidade foi um reflexo do sistema radicular das plantas transplantadas serem mais desenvolvidos que alcançaram até 37 cm de profundidade no solo depois de 4 a 7 semanas após a semeadura.

6 CONCLUSÕES

1. O microrganismo selecionado para fazer parte da formulação do biofilme biodegradável foi a cepa *Bacillus* CA-10 que apresentou a melhor capacidade de degradar amido;
2. O biofilme biodegradável utilizado na confecção dos recipientes para a produção de mudas agrícolas apresentou como melhor composição, em função de suas características físico-químicas e mecânicas, 4,4% (p/v) de amido; 10,8% (p/p) de celulose sobre o peso de amido e 24% (p/p) de glicerol sobre o peso de amido;
3. O biofilme desenvolvido demonstrou ser solúvel em água a uma taxa aproximada de 0,035 g/dia, o que contribui para sua biodegradação;
4. O microrganismo incorporado na formulação do biofilme manteve sua atividade metabólica observada através da atividade amilolítica e pela presença de glicose no meio;
5. Um ambiente com maior disponibilidade de nutrientes demonstrou contribuir com a biodegradabilidade do biofilme, em função de uma maior atividade metabólica do microrganismo presente na formulação do mesmo;
6. O recipiente biodegradável desenvolvido resiste à manipulação durante a fase de produção de mudas mantendo sua integridade e forma;
7. Após 10 dias do transplante da muda, verificou-se que o recipiente desenvolvido se biodegradou quase por completo em solo não esterilizado. Foram observados alguns vestígios do recipiente quando o transplante foi feito em solo esterilizado;
8. A espessura do recipiente biodegradável não afeta o desenvolvimento das raízes da planta, sob as condições testadas, entretanto a planta cultivada com recipiente biodegradável de menor espessura obteve o maior teor de matéria seca.

7 SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS

A partir do trabalho realizado e dos resultados obtidos foi considerado interessante a realização de trabalhos futuros que comparem diferentes maneiras de incorporar o microrganismo na solução filmogênica, assim como utilizar diferentes concentrações e diferentes microrganismos para verificar se há diferença na velocidade de biodegradação. Seria interessante avaliar se há o efeito benéfico da possível interação entre o microrganismo e a planta cultivada, bem como testar o recipiente biodegradável em diferentes culturas e diferentes idades de transplante.

REFERÊNCIAS

American Society for Testing and Materials - ASTM. Standard test methods for tensile properties of thin plastic sheeting (D 882-95). **Annual Book of ASTM Standards**. Philadelphia: ASTM, 1995.

ALCÂNTARA, F. A.; MADEIRA, N. R. **Manejo do solo no sistema de produção orgânico de hortaliças**. Brasília: EMBRAPA Hortaliças, 2008. p. 12. (circular técnica, n.64).

ALVES, V. D.; MALI, S.; BELÉIA, A.; GROSSMANN, M. V. E. Effect of glycerol and amilose enrichment on cassava starch film properties. **Journal of food engineering**, v.78, n.3, p. 941-946, 2007.

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

AVÉROUS, L.; FRINGANT, C.; MORO, L. Plasticized starch-cellulose interactions in polysaccharide composites. **Polymer**, v.42, n.7, p. 6565 - 6572, 2001.

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

AZEVEDO, B. M.; BASTOS, F. G. C.; VIANA, T. V. A.; RÊGO, J. L.; D'ÁVILA, J. H. T. Efeito de níveis de irrigação na cultura da melancia. **Revista Ciência agrônômica**, v.36, n.1, p. 9-15, 2005.

BERNFELD, P. Amylases alpha and betha. **Methods Enzymology**, New York, v.1, p. 149-154, 1955.

BELITZ, H.-D.; GROSCH, W.; SCHIEBERLE, P. **Food Chemistry**. 4.ed. Berlin: SPRINGER-VERLAG BERLIN HEIDELBERG, 2009

BERTUZZI, M. A.; ARMADA, M.; GOTTIFREDI, J. C. Physicochemical characterization of starch based films. **Journal of food engineering**, v.82, n.1, p. 17-25, 2007.

BEZERRA, F. C. **Produção de mudas de hortaliças em ambientes protegidos**. Fortaleza: EMBRAPA Agroindústria Tropical, 2003. p. 22. (Documentos, n.72).

BEZERRA, F. C.; AQUINO, A. J. S. Tamanho do recipiente na produção de mudas de melão. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE OLERICULTURA, 43, 2003, Recife. **Horticultura Brasileira**. Brasília : Sociedade Brasileira de Olericultura, 2003.

BIZZOTTO, A. Sem retorno. **O ESTADO DE SÃO PAULO**. São Paulo, 27 fev. 2009. Caderno Especial, p. 3-5.

BLEDZKI, A. K.; GASSAN, J. Composites reinforced with cellulose based fibres. **Progress in Polymer Science**, v.24, n.1, p. 221–274, 1999.

BREEMEN, R. B.; PAJKOVIC N. Multitargeted therapy of cancer by lycopene. **Cancer letters**, v.269, n.2, p. 339-351, 2008.

BONKOWSKI, M.; CHENG, W.; GRIFFITHS, B. S.; ALPHEI, J.; SCHEU, S. Microbial-faunal interactions in the rhizosphere and effects on plant growth. **European Journal of soil biology**, v.36, n.1, p. 135-147, 2000.

BOX, G.E.P., DRAPER, N.R. **Empirical Model-Building and response surfaces**. Capítulo 6. Editora John Wiley & Sons, 1987.

CARAWAY, W. T. A stable starch substrate for the determination of amylase in serum and other body fluids. **American Journal of Clinical Pathology**, v.32, n.1, p. 97-99, 1959.

CASTRO, O. M.; PRADO, H.; SEVERO, A. C. R.; CARDOSO, E. J. B. N. Avaliação de atividade de microrganismos do solo em diferentes sistemas de manejo de soja. **Scientia Agricola**, v.50, n.2, p. 212-219, 1993.

Ceará produz melancias quadradas e sem sementes./ **Globo notícias**./ Disponível em: < <http://g1.globo.com/Noticias/Brasil/0,,MUL152675-5598,00.html>>. Acesso em: 20 julho 2009.

CHANDRA, R.; RUSTGI, R. Biodegradable polymers. **Progress in Polymer Science**, v.23, n.7, p. 1273-1335, 1998.

CHAROENSIRI, R.; KONGKACHUICHA, R.; SUKNICOM, S.; SUNGPUAG P. Beta-carotene, lycopene, and alpha-tocopherol contents of selected Thai fruits. **Food chemistry**, v.113, n.1, p. 202-207, 2009.

CHOUDHARY, D. K.; JOHRY, B. N. Interactions of *Bacillus spp.* And plants – with special reference to induced systemic resistance (ISR). **Microbiological research**, v.164, n.3, p. 493-513, 2009.

COCCO, C. **Qualidade fisiológica das mudas na produção de frutas do morangueiro**. 2010. Dissertação (mestrado) – Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria.

COMPTON, M. E.; GRAY, D.J.; GABA, V. P. Use of tissue culture and biotechnology for the genetic improvement of watermelon. **Plant biotechnology and applied genetics**, v.77, n.1, p. 231-243, 2004.

CONSTANTINO, V. **Efeitos de métodos de produção de mudas e equipes de plantadores na arquitetura do sistema radicular e no crescimento de *Pinus taeda* Linnaeus**. 2009. Dissertação (mestrado) - Universidade Federal do Paraná, Curitiba.

CORRÊA, B. M.; FILHO, J. F. L. Elaboração e caracterização de biofilmes a base de zeína. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE ENGENHARIA QUÍMICA EM INICIAÇÃO CIENTÍFICA, 8., 2009, Uberlândia. **Anais...** Uberlândia: UFU, 2009. p. 1-5.

CURVELO, A. A.; CARVALHO, A. J. F. de; AGNELLI, J. A. M. Thermoplastic starch-cellulosic fibers composites: Preliminary results. **Carbohydrate Polymers**, v.45, n.3, p. 183–188, 2001.

CUQ, B.; GONTARD, N.; AYMARD, C.; GUILBERT, S. Relative humidity and temperature effects on mechanical and water vapor barrier properties of microfibrillar protein-based films. **Polymers gels and networks**, v.5, n.1, p. 1-15, 1997.

DA RÓZ, A. L.; CARVALHO, A. J. F.; GANDINI, A.; CURVELO, A.A.S. The effect of plasticizers on thermoplastic starch compositions obtained by melt processing. **Carbohydrate polymers**, v.63, n.2, p. 417 – 424, 2006.

DIAS, R. C. S.; COSTA, N. D.; QUEIROZ, M. A.; FARIA, C. M. B. **Cultura da melancia**. Petrolina: EMBRAPA Semi-Árido, 2001. p. 20. (Circular técnica, n. 63).

DOMENEK, S.; FEUILLOLEY, P.; GRATRAUD, F.; MOREL, M. H.; GUILBERT, S. Biodegradability of wheat gluten based bioplastics. **Chemosphere**, v.54, n.2, p. 551-559, 2004.

ELTZ, F. L.; BÖCK, V. D.; AMADO, T. J. C. Efeito do manejo do solo e de doenças foliares sobre a produção e qualidade de melancia. **Revista brasileira de agrociências**, v.11, n.2, p. 201-206, 2005.

ERDEM, Y.; YUKSEL, A. N. Yield response of watermelon to irrigation shortage. **Scientia Horticulturae**, v.98, n.2, p. 365-383, 2003.

Estatística dos produtos comercializados./ **CEASA-PR**./ Disponível em: <<http://www.ceasa.pr.gov.br/modules/conteudo/conteudo.php?conteudo=24>>. Acesso em: 01 julho 2011.

FILGUEIRA, F. A. R. NOVO MANUAL DE OLERICULTURA. **Agrotecnologia Moderna na Produção e Comercialização de Hortaliças**. 1.ed. Viçosa: Editora UFV, 2000.

FONSECA FERREIRA, M. A. J. **Técnicas de produção de sementes de melancia, via polinizações manuais controladas, em campo e casa-de-vegetação**. Brasília: EMBRAPA Recursos genéticos e Biotecnologia, 2005. p. 7. (Circular técnica, n.40).

FONTES, P. C. R. **Olericultura: teoria e prática**. 1.ed. Viçosa: Editora UFV, 2005.

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.

FRASER, P. D.; BRAMLEY P. M. The biosynthesis and nutritional uses of carotenoids. **Progress in lipid research**, v.43, n.3, p. 228-265, 2004.

FROST, K.; KAMINSKI, D.; KIRWAN, G.; LASCARIS, E. SHANKS, R. Crystallinity and structure of starch using wide angle X-ray scattering. **Carbohydrate Polymers**. 2009. Article in press.

GAUDIN, S.; LOURDIN, D.; LE BOTLAN, D.; ILARI, J. L. Colonna P. Plasticization and mobility in starch-sorbitol films. **Journal of Cereal Science**, v.29, n.3, p.273-284, 1999.

GARDNER, P. T.; WHITE, T. A. C.; McPHAIL D. B.; DUTHIE, G. G. The relative contributions of vitamin C, carotenoids and phenolics to the antioxidant potential of fruit juices. **Food chemistry**, v.68, n.4, p. 471–474, 2000.

GIL, M.I.; AGUAYO, E.; KAER, A.A. Quality changes and nutrient retention in fresh-cut versus whole fruits during storage. **Journal of agricultural and food chemistry**, v.54, n.12, p. 4284–4296, 2006.

GOMES, A. M. A.; MARIANO, R. L. R.; SILVEIRA, E. B.; MESQUITA, J. C. P. Isolamento, seleção de bactérias e efeito da utilização de *Bacillus* spp. na produção de mudas orgânicas de alface. **Horticultura Brasileira**, v.21, n.4, p. 699-703, 2003.

GRIMA, S.; BELLON-MAUREL, V.; FEULLOLEY, P.; SILVESTRE, F. Aerobic biodegradation of polymers in solid-state conditions: a review of environmental and physicochemical parameter settings in laboratory simulations. **Journal of polymers and the environment**, v.8, n.4, p. 183-195, 2002.

GUERRA, R. T.; OSAKAWA, N. Efeito da presença e numero de indivíduos de *Pontoscolex corethurus* (Glossoscolecidae, Oligochaeta) sobre a população total de microrganismos do solo. **ACTA Amazonica**, v.11, n.2, p. 319-324, 1981.

GUERRINI, I. A.; TRIGUEIRO, R. M. Atributos físicos e químicos de substratos compostos por biossólidos e casca de arroz carbonizada. **Revista brasileira de ciência do solo**, v.28, n.6, p. 1069-1076, 2004.

IRISSIN-MANGATA, J.; BAUDUIN, G.; BOUTEVIN, B.; GONTARD, N. New plasticizers for wheat gluten films. **European Polymer Journal**, v.37, n.10, 1533-1541, 2001.

ITANO, F. H. **Otimização da produção de quitinase de *Bacillus* spp.** 2006. Dissertação (mestrado) Universidade Estadual de Londrina, Londrina.

JBILLOU, F.; GALLAND, S.; AYADI, S.; BERLARD, L.; DOLE, P.; DESJARDIN, P.; BAYARD, R.; DEGRAEVE, P. Biodegradation of corn flour-based materials assessed by enzymatic, aerobic, and anaerobic tests: Influence of specific surface area. **Polymer testing**, v.30, n.1, p. 131-139, 2011.

JOHN, M. J.; THOMAS, S. Biofibres and biocomposites. **Carbohydrate polymers**. v.71, n.2, p. 343 – 364, 2008.

KALE, G.; AURAS, R.; SINGH, S. P.; NARAYAN, R. Biodegradability of polylactide bottles in real and simulated composting conditions. **Polymer Testing**, v.26, n.7, p. 1049–1061, 2007.

KHARKINA, T. G.; OTTOSEN, C. O.; ROSENQVIST, E. Effects of root restriction on the growth and physiology of cucumber plants. **Physiologia plantarum**, v.105, n.3, p. 434-441, 1999.

KUNANOPPARAT, T.; MENUT, P.; MOREL, M. H.; GUILBERT, S. Reinforcement of plasticized wheat gluten with natural fibers: From mechanical improvement to deplasticizing effect. **Composites Part A: Applied Science and manufacturing**, v.39, n.3, p. 777 – 785, 2008.

LAJOLO, F. M. **Inibidor de α -amilase do *Phaseolus vulgaris*: estudo bromatológico**. São Paulo, 133 p., 1977. Tese de livre docência. Faculdade de Ciências Farmacêuticas. Universidade de São Paulo.

LEONEL, L. A. K.; ZÁRATE, N. A. H.; VIEIRA, M. C.; MARCHETTI, M. E. Produtividade de sete genótipos de melancia em Dourados. **Horticultura brasileira**, Brasília, v.18, n.3, p. 222-224, 2000.

LEY, G. L.; MULLINS, C. E.; LAL, R. The potential restriction to root growth in structurally weak tropical soils. **Soil & tillage research**, v.33, n.1, p. 133-142, 1995.

LIU, H.; XIE, F.; YU, L.; CHEN, L.; LI, L. Thermal processing of starch-based polymers. **Progress in polymer science**. 2009. Article in press.

LIZ, R. S.; CARRIJO, A.O.; CALBO, A. G.; OLIVEIRA, C. A. S. Mini sensor Irrigas® na determinação da curva de retenção de água em substratos para hortaliças. **Horticultura Brasileira**, v.26, n.4, p.504-509, 2008.

LÓPEZ, O. V.; ZARITZKI, N. E.; GARCÍA, M. A. Physicochemical characterization of chemically modified corn starches related to rheological behavior, retrogradation and film forming capacity. **Journal of food engineering**, v.100, n.1, p. 160-168, 2010.

LUCAS, N.; BIENAIME, C.; BELLOY, C.; QUENEUDEC, N.; SILVESTRE, F.; NAVA-SAUCEDO, J. E. Polymer biodegradation: mechanisms and estimation techniques. **Chemosphere**, v.73, n.2, p. 429-442, 2008.

MALI, S.; GROSSMANN, M. V. E.; GARCÍA, M. A.; MARTINO, M. M.; ZARITZKY, N. E. Barrier, mechanical and optical properties of plasticized yam starch films. **Carbohydrate polymers**, Barking, v.56, n.2, p.129-135, 2004.

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

MEHYAR, G. F.; HAN, J. H. Physical and mechanical properties of high-amylose rice and pea starch films as affected by relative humidity and plasticizer. **Journal of Food Science**, v.69, n.9, p. E449–E454, 2004.

MERGAERT, J.; RUFFIEUX, K.; BOURBAN, C.; STORMS, V.; WAGEMANS, W.; WINTERMANTEL, E.; SWINGS, J. *In Vitro* Biodegradation of Polyester-Based Plastic Materials by Selected Bacterial Cultures. **Journal of Polymers and the Environment**, v.8, n.1, p. 17-27, 2000.

Melancias quadradas./ BBC BRASIL./ Disponível em:
<http://www.bbc.co.uk/portuguese/noticias/2001/010615_melancia.shtml>. Acesso em: 20 julho 2009.

MINAMI, K. **Produção de mudas de alta qualidade em horticultura**. 1.ed. São Paulo: T.A. QUEIROZ, 1995.

MOHANTY, A. K.; MISRA, M.; HINRICHSEN, G. Biofibres, biodegradable polymers and biocomposites: An overview. **Macromolecular Material Engineering**, v.276, n.1, p. 1 – 24, 2000.

MOURA, M. R.; AVENA-BUSTILLOS, R. J.; McHUGH, T. H.; WOOD, D. F.; OTONI, C. G.; MATTOSO, L. H. C. Miniaturization of cellulose fibers and effect of addition on the mechanical and barrier properties of hydroxypropyl methylcellulose films. **Journal of food engineering**, v.104, n.1, p. 154-160, 2011.

MÜLLER, C. M. O.; LAURINDO, J. B.; YAMASHITA, F. Effect of cellulose fibers addition on the mechanical properties and water vapor barrier of starch-based films. **Food hydrocolloids**, v.23, n.7, p. 1328-1333, 2009.

MYLLÄRINEN, P.; PARTANEN, R.; SEPPÄLÄ, J.; FORSELL, P. Effect of glycerol on behaviour of amylose and amylopectin films. **Carbohydrate polymers**, v.50, n.4, p. 355-361, 2002.

NESMITH, D. S. Root distribution and yield of direct seeded and transplanted watermelon. **Journal of the American society for horticultural science**, v.124, n.5, p. 458-461, 1999.

OLIVEIRA, A. F.; ASSMANN, V.; SOLDI, V./ Influência de plastificantes nas propriedades de blendas poliméricas desenvolvidas através da mistura de biopolímeros derivados de celulose./In: CONGRESSO BRASILEIRO DE ENGENHARIA E CIÊNCIA DE MATERIAIS, 17., 2006, Foz do Iguaçu. **Anais...** Foz do Iguaçu: UFSC, 2006. p. 8179-8189.

PABIN, J.; LIPIEC, J.; WLODEK, S.; BISKUPSKI, A.; KAUS, A. Critical soil bulk density and strength for pea seedling root growth as related to other soils factors. **Soil & tillage research**, v.46, n.1, p. 203-208, 1998.

POMMET, M.; REDL, A.; MOREL, M. H.; GUILBERT, S. Study of wheat gluten plasticization with fatty acids. **Polymer**, v.44, n.1, p. 115-122, 2003.

POMMET, M.; REDL, A.; GUILBERT, S.; MOREL, M. H. Intrinsic influence of various plasticizers on functional properties and reactivity of wheat gluten thermoplastic material. **Journal of cereal science**, v.45, n.1, p. 81-91, 2005.

REDDY, C. S. K.; GHAI, R.; RASHMI; KALIA, V. C. Polyhydroxyalkanoates: an overview. **Bioresource Technology**, v.87, n.2, p. 137–146, 2003.

RESENDE, G. M.; COSTA, N. D.; DIAS, R. C. S. **Densidade de plantio na cultura da Melancia no vale do São Francisco**. Petrolina: EMBRAPA semi-árido, 2006, p. 4. (Comunicado Técnico, n. 125).

REZENDE, R.; FRIZZONE, J. A.; GONÇALVES, A. C. A.; FREITAS, P. S. L. Influência do espaçamento entre as aspersores na uniformidade de distribuição de água acima e abaixo da superfície do solo. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v.2, n.3, p.257-261, 1998.

SAKANAKA, L. S. **Estudos das condições de armazenamento sobre as propriedades mecânicas e de barreira de filmes de gelatina reticulada**. 2002. Dissertação (mestrado), Universidade Estadual de Campinas, Campinas.

SANCHEZ-GARCIA, M. D.; GIMENEZ, E.; LAGARON, J. M. Morphology and barrier properties of solvent cast composites of thermoplastic biopolymers and purified cellulose fibers. **Carbohydrate Polymers**, v.71, n.1, p. 235-244, 2008.

SANTOS, C. E. R. S.; BEZERRA, R. V.; FREITAS, A. D. S.; SEIDO, S. L.; MARTINS, L. M. V.; RUMJANEK, N. G.; XAVIER, G. R. **Modificação de vasos de Leonard com garrafas descartáveis tipo Pet**. Seropédica: EMBRAPA agrobiologia, 2009, p. 4. (Comunicado Técnico, n. 124).

SARANTÓPOULOS, C. I. G. L.; OLIVEIRA, L. M.; PADULA, M.; COLTRO, L.; ALVES, R. M. V.; GARCIA, E. E. C. **Embalagens plásticas flexíveis: Principais polímeros e avaliação de propriedades**. Campinas: CETEA/ITAL, 267 p. 2002.

SHAH, A. A.; HASAN, F.; HAMEED, A.; AHMED, S. Biological degradation of plastics: A comprehensive review. **Biotechnology Advances**, v.26, n.1, p. 246–265, 2008.

SOBRAL, P. J. A. Influência da espessura de biofilmes à base de proteínas miofibrilares sobre suas propriedades funcionais. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.35, n.6, p. 1251-1259, 2000b.

SHI, K.; DING, X. T.; DONG, D. K.; ZHOU, Y. H.; YU, J. Q. Root restriction-induced limitation to photosynthesis in tomato (*Lycopersicon esculentum* Mill.) leaves. **Scientia horticulturae**, v.117, n.3, p. 197-202, 2008.

SHIMAZU, A. A.; MALI, S.; GROSSMANN, M. V. E. Efeito plastificante e antiplastificante do glicerol e do sorbitol em filmes biodegradáveis de amido de mandioca. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v.28, n.1, p. 79-88, 2007.

SILVA, P. C.; COSTA, R. A.; BORGES, E. N. Compactação e resistência à penetração de um solo argiloso sob diferentes cultivos no triangulo mineiro./In: Semana do Servidor, 4., 2008, Uberlândia. **Anais...** Uberlândia: UFU, 2008. p. 1-6.

SIQUEIRA, R. S. **Manual de microbiologia de alimentos**. 1.ed. Brasília: EMBRAPA, 1995.

SINGH, N.; BELTON, P. S.; GEORGET, D. M. R. The effects of iodine on kidney bean starch: Films and pasting properties. **International Journal of Biological Macromolecules**, v.45, n.1, p. 116 – 119, 2009.

SOUSA, J. A. de; LÉDO, F. J. da S.; SILVA, M. R. da. **Produção de mudas de hortaliças em recipientes**. Rio Branco: EMBRAPA Centro de Pesquisa Agroflorestal do Acre, 1997. p. 19. (Circular técnica, n. 19).

SOUZA, C. F.; MATSURA, E. E. Distribuição da água no solo para o dimensionamento da irrigação por gotejamento. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v.8, n.1, p.7-15, 2004.

STRUMEYER, D. H. A modified starch for use in amylases assays. **Analytical Biochemistry**, Baltimore, v.19, p. 61-71, 1967.

TARI, C.; GENCKAL, H.; TOKATL, F. Optimization of a growth medium using a statistical approach for the production of an alkaline protease from a newly isolated *Bacillus* sp. L21. **Process biochemistry**, v.41, n.2, p. 659-665, 2006.

TEIXEIRA, E. M.; PASQUINI, D.; CURVELO, A. S.; CORRADINI, E.; BELGASSEN, M. N.; DUFRESNE, A. Cassava bagasse cellulose nanofibrils reinforced thermoplastic cassava starch. **Carbohydrate Polymers**, v.78, n.3, p. 422-431, 2009.

TEODORO, R. E. F.; ALMEIDA, F. P.; LUZ, J. M. Q.; MELO, B. Diferentes lâminas de irrigação por gotejamento na cultura de melancia (*Citrullus lanatus*). **Bioscience Journal**, v.20, n.1, p. 29-32, 2004.

THURHAN, K. N.; ŞAHBAZ, F. Water vapor permeability, tensile properties and solubility of metal cellulose-based edible films. **Journal of food engineering**, v.61, n.2, p. 459-466, 2004.

VAN SOEST, J. J. G.; VLIEGENTHART, J. F. G. Crystallinity in starch plastics: consequences for material properties. **Trends in Biotechnology**. v.15, n.6, p. 208 – 213, 1997.

VIEIRA, M. G. A.; SILVA, M. A.; SANTOS, L. O.; BEPPU, M. M. Natural-based plasticizers and biopolymer films: A review. **European Polymer Journal**, v.47, n.1, p. 254 – 263, 2011.

VILELA, N. J.; AVILA, A. C.; VIEIRA, J. V. **Dinâmica do agronegócio brasileiro da melancia: produção consumo e comercialização**. Brasília: EMBRAPA HORTALIÇAS, 2006. p. 12. (Circular técnica, n. 42).

XU, G.H.; WOLF, S.; KAFKAFI, U. Interactive effect of nutrient concentration and container volume on flowering, fruiting, and nutrient uptake of sweet pepper. **Journal of plant nutrition**, v.24, n.3, p. 479-501, 2001.

ZAIN, W. S. W. M.; ILLIAS, R. M.; SALLEH, M. M.; HASSAN, O.; RAHMAN, R. A.; HAMID, A. A. Production of cyclodextrin glucanotransferase from alkalophilic *Bacillus* sp. TS1-1: Optimization of carbon and Nitrogen concentration in the feed medium using central composite design. *Biochemical engineering journal*, v.33, n.1, p. 26-33, 2007.

ZULLO, R.; IANNACE, S. The effects of different starch sources and plasticizers on film blowing of thermoplastic starch: Correlation among process, elongational properties and macromolecular structure. **Carbohydrates polymers**, v.77, n.2, p. 376-383, 2009.