

MICHELE CAROLINE BARBOSA DE MORAES

**DESENVOLVIMENTO E CARACTERIZAÇÃO DE FILME
BIODEGRADÁVEL ATIVO À BASE DE EXTRATO DE RESÍDUOS DO
PROCESSAMENTO INDUSTRIAL DE LARANJA**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos, para obtenção do título de *Magister Scientiae*.

VIÇOSA
MINAS GERAIS – BRASIL
2018

**Ficha catalográfica preparada pela Biblioteca Central da Universidade
Federal de Viçosa - Câmpus Viçosa**

T

M827d
2018

Moraes, Michele Caroline Barbosa de, 1987-
Desenvolvimento e caracterização de filme biodegradável
ativo à base de extrato de resíduos do processamento industrial
de laranja / Michele Caroline Barbosa de Moraes. – Viçosa, MG,
2018.

xviii, 123f. : il. (algumas color.) ; 29 cm.

Orientador: Nilda de Fátima Ferreira Soares.

Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Viçosa.

Inclui bibliografia.

1. Alimentos - Embalagens. 2. Bagaço de laranja.
3. Farinhas. 4. Antioxidantes. I. Universidade Federal de Viçosa.
Departamento de Tecnologia de Alimentos. Programa de
Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos.
II. Título.

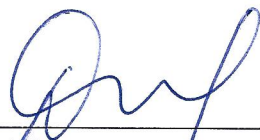
CDD 22. ed. 664.09

MICHELE CAROLINE BARBOSA DE MORAES

**DESENVOLVIMENTO E CARACTERIZAÇÃO DE FILME
BIODEGRADÁVEL ATIVO À BASE DE EXTRATO DE RESÍDUOS DO
PROCESSAMENTO INDUSTRIAL DE LARANJA**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos, para obtenção do título de *Magister Scientiae*.

APROVADA: 23 de fevereiro de 2018.



Afonso Mota Ramos
(Coorientador)



Washington Azevêdo da Silva
(Coorientador)



Eber Antonio Alves Medeiros



Nilda de Fátima Ferreira Soares
(Orientadora)

AGRADECIMENTOS

A Deus, que sempre esteve presente em minha vida, me protegendo e me dando forças para continuar rumo aos meus objetivos.

Aos meus pais, Herculano e Carmelita, e à minha irmã, Luanna, que são o meu porto seguro, que sempre me apoiam em minhas escolhas e por quem eu tenho amor incondicional.

Ao Micael, pelo carinho, apoio e incentivo em todos os momentos.

À minha família, por me encorajar desde o início desta etapa da minha vida, em especial à minha avó Luiza, que sempre se preocupou comigo e por quem eu tenho grande amor e admiração.

Ao meu cunhado Rafael, pela amizade e disponibilidade sempre que precisei.

À Universidade Federal de Viçosa (UFV), por me conceder a oportunidade de realizar o curso de Pós-graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos em nível de Mestrado no Departamento de Tecnologia de Alimentos (DTA) da mesma instituição.

À minha orientadora, professora Nilda de Fátima Ferreira Soares, pela orientação, ensinamentos e pela oportunidade de trabalhar no Laboratório de Embalagens (LABEM) da UFV, o qual coordena.

Aos meus coorientadores, Washington Azevêdo da Silva e Afonso Mota Ramos, pelos ensinamentos, sugestões e confiança.

À empresa doadora dos resíduos do processamento industrial de laranja utilizados como matéria-prima para a realização deste trabalho.

Aos professores da UFV, especialmente àqueles cujas disciplinas oferecidas foram cursadas, com os quais pude adquirir conhecimentos que contribuíram para o meu crescimento tanto profissional quanto pessoal.

Às professoras Edimar e Mônica do DTA da UFV, pela atenção e por permitirem a execução de algumas das análises realizadas neste trabalho nos laboratórios coordenados pelas mesmas.

Ao Eber, pelo suporte, conselhos, ensinamentos e convivência.

Aos amigos e colegas que fizeram parte e aos que ainda compõem a equipe do LABEM da UFV, Miriane, Daniela, Taíla, Adassa, Alane, Rafaela, Luciano, Cícero, Alan, Mariana, Paula, Clésia, Pedro, Raquel, Maria Adelaide, Laís, Carolina, Ludmila, Gabriel, Thiago, Nelson, Rosilene, Juliana, Rafael, Vânia e José, com os quais tive grande satisfação em conviver ao longo desses anos de curso, pela troca de conhecimentos e experiências, convívio, auxílio na realização das atividades propostas pelo programa de pós-graduação e pelos momentos de descontração.

À Johana, que, além de colega de laboratório, foi minha amiga em todas as horas. Agradeço pelas conversas, conselhos, aprendizado e pela amizade e parceria não apenas nos bons momentos compartilhados, mas também nas horas de dificuldade e aflição que enfrentamos juntas. Sem dúvida, é uma amizade que levarei por toda a vida.

Ao Fernando, pelo auxílio nas atividades realizadas no laboratório, pelas conversas descontraídas e pela amizade.

À Larissa, pela amizade, atenção, auxílio prestado na realização de uma das análises realizadas neste trabalho e pela parceria no LABEM.

À Camila, à Isabel, à Jaqueline, ao Leonardo, à Marcela, ao Alejandro, à Loyde e à Bruna, pela amizade, pelos momentos de descontração e por tornarem essa caminhada mais leve.

À Letícia e à Alessandra, pela amizade, pelas boas conversas e pelo auxílio na execução de algumas das análises realizadas neste trabalho.

Ao Vitor, pela disponibilidade e paciência.

A todos os amigos e colegas tanto do DTA quanto de outros departamentos da UFV, com os quais tive a oportunidade de conviver e trocar experiências e conhecimentos.

À Bruna e à Juliana, do Laboratório de Panificação e Massas do DTA da UFV, ao Abelardo e à Aluírta, do Laboratório de Instrumentação e Química Ambiental do Departamento de Química da UFV e ao José Geraldo e ao Helvécio da Planta Piloto de Conservas Vegetais do DTA da UFV pela disponibilidade e solicitude.

À Lorena e à Pollyana, da Secretaria da Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos e à Sueli, à Cássia e à Ana, da Reitoria, pelos esclarecimentos, auxílio, paciência e atenção.

À Coordenadoria de Educação Aberta e à Distância (CEAD) da UFV pelo auxílio prestado.

A todos os servidores técnicos e administrativos e aos funcionários terceirizados, que não medem esforços para a organização e o bom funcionamento do nosso ambiente de trabalho.

À Universidade Federal de São João del-Rei (UFSJ), Campus de Sete Lagoas (CSL), por possibilitar a realização de parte deste trabalho em suas dependências.

Aos professores Christiano e Andréia do Departamento de Engenharia de Alimentos da UFSJ/CSL, que, apesar de eu não possuir mais vínculo com a referida universidade, não deixaram de me dar suporte quando precisei.

À Sinara e ao Edmilson da UFSJ/CSL pela atenção e auxílio prestados.

Ao Grupo de Instrumentação e Automação em Química Analítica do Instituto de Química da Universidade Estadual de Campinas (GIA/IQ/Unicamp) pela

disponibilidade de uso do equipamento SisuCHEMA utilizado na realização de uma das análises deste trabalho.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (Capes), ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), à Fundação de Amparo à Pesquisa de MG (FAPEMIG) e à Financiadora de Estudos e Projetos (FINEP) pelo apoio financeiro, em especial à primeira, pela concessão da bolsa de mestrado.

À Nathália, pela disponibilidade e sugestões de alterações a serem realizadas em meu projeto de pesquisa de mestrado.

Às meninas da república, Débora, Danúbia, Michelle, Fernanda, Alice, Ana, Ludmila, Marcela e Paloma, com quem convivi grande parte do tempo no período de realização do mestrado e que foram a minha segunda família. Agradeço pelas conversas, momentos de descontração, companheirismo, preocupação e amizade.

Ao Eluane, pela amizade, preocupação e diligência.

A todos os amigos de Sete Lagoas, que mesmo distantes se fizeram presentes, me incentivaram e se preocuparam comigo e aos novos amigos conquistados em Viçosa, brasileiros e estrangeiros, pelas alegrias e momentos compartilhados e sem os quais os dias não teriam a mesma graça.

A todas as pessoas que de alguma forma contribuíram para o desenvolvimento deste trabalho, muito obrigada!

“Descobrir consiste em olhar para o que todo mundo está vendo e pensar uma coisa diferente”. (Roger Von Oech)

SUMÁRIO

LISTA DE FIGURAS	x
LISTA DE TABELAS	xiii
LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS	xv
RESUMO	xvii
ABSTRACT	xviii
1 INTRODUÇÃO GERAL	1
2 OBJETIVOS	3
2.1 Objetivo geral	3
2.2 Objetivos específicos	3
3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	5
3.1 Embalagens de alimentos	5
3.2 Embalagens biodegradáveis	6
3.3 Pectina	8
3.4 Plastificantes	10
3.5 Laranja: morfologia e constituição	12
3.6 Mercado e produção	16
3.7 Resíduos agroindustriais e suas aplicações tecnológicas	17
3.8 Uso de resíduos agroindustriais na elaboração de embalagens	19
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	21
Capítulo 1	32
1 INTRODUÇÃO	34
2 MATERIAL E MÉTODOS	35
2.1 Delineamento experimental	35
2.2 Matéria-prima: bagaço industrial de laranja	35
2.3 Obtenção da farinha de bagaço industrial de laranja (FBIL)	36
2.4 Rendimento do processo de obtenção da FBIL	36
2.5 Caracterização da FBIL	36
2.5.1 Granulometria	37
2.5.2 Teor de carotenoides	37
2.5.3 Teor de ácido ascórbico	38
2.5.4 Teor de compostos fenólicos totais	39
2.5.5 Teor de pectina	40

2.5.6 pH.....	41
2.5.7 Acidez	42
2.5.8 Atividade de água.....	42
2.5.9 Microestrutura.....	42
2.6 Análise estatística.....	43
3 RESULTADOS E DISCUSSÃO	43
3.1 Rendimento do processo de obtenção da FBIL.....	43
3.2 Caracterização da FBIL.....	44
3.2.1 Granulometria	44
3.2.2 Teor de carotenoides	46
3.2.3 Teor de ácido ascórbico	47
3.2.4 Teor de compostos fenólicos totais	48
3.2.5 Teor de pectina.....	48
3.2.6 pH.....	49
3.2.7 Acidez	50
3.2.8 Atividade de água.....	50
3.2.9 Microestrutura.....	51
4 CONCLUSÃO	52
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	53
Capítulo 2.....	59
1 INTRODUÇÃO	61
2 MATERIAL E MÉTODOS	62
2.1 Delineamento experimental	62
2.2 Obtenção do extrato aquoso da farinha de bagaço industrial de laranja (EAFBIL)	62
2.3 Caracterização do EAFBIL	62
2.3.1 Concentração do extrato.....	62
2.3.2 Massa específica.....	63
2.3.3 Teor de sólidos solúveis.....	63
2.3.4 Teor de carotenoides	64
2.3.5 Teor de ácido ascórbico	65
2.3.6 Teor de compostos fenólicos totais	65
2.3.7 Teor de pectina.....	66
2.3.8 Capacidade antioxidante	66
2.3.8.1 Método DPPH	66

2.3.8.2 Método ABTS	67
2.3.9 Atividade antimicrobiana	68
2.3.9.1 Micro-organismos	68
2.3.9.2 Concentração mínima inibitória (CMI).....	68
2.4 Análise estatística.....	69
3 RESULTADOS E DISCUSSÃO	69
3.1 Concentração do extrato.....	69
3.2 Massa específica.....	69
3.3 Teor de sólidos solúveis	70
3.4 Teor de carotenoides	70
3.5 Teor de ácido ascórbico	71
3.6 Teor de compostos fenólicos totais	71
3.7 Teor de pectina.....	72
3.8 Capacidade antioxidante	72
3.9 Atividade antimicrobiana	74
4 CONCLUSÃO	76
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	77
Capítulo 3.....	83
1 INTRODUÇÃO	85
2.1 Delineamento experimental	86
2.2 Elaboração do filme biodegradável ativo.....	86
2.3 Caracterização do filme biodegradável ativo	87
2.3.1 Aspecto visual	87
2.3.2 Propriedades ópticas.....	87
2.3.2.1 Cor.....	87
2.3.2.2 Opacidade.....	88
2.3.2.3 Espectro de varredura.....	88
2.3.3 Perfil de distribuição de componentes por imagem hiperespectral NIR.....	89
2.3.4 Espessura.....	89
2.3.5 Propriedades mecânicas	90
2.3.6 Microestrutura.....	90
2.3.7 Capacidade antioxidante <i>in vitro</i>	90
2.3.7.1 Método DPPH	91
2.3.7.2 Método ABTS	91

2.3.8 Atividade antimicrobiana <i>in vitro</i>	92
2.4 Análise estatística.....	92
3 RESULTADOS E DISCUSSÃO	93
3.1 Aspecto visual	93
3.2 Propriedades ópticas.....	94
3.2.1 Cor.....	94
3.2.2 Opacidade.....	98
3.2.3 Espectro de varredura.....	99
3.3 Perfil de distribuição de componentes por imagem hiperespectral NIR	101
3.4 Espessura.....	105
3.5 Propriedades mecânicas	106
3.6 Microestrutura.....	108
3.7 Capacidade antioxidante <i>in vitro</i>	110
3.8 Atividade antimicrobiana <i>in vitro</i>	115
4 CONCLUSÃO	117
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	118
CONCLUSÕES GERAIS E SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS	122

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Estrutura química do ácido poligalacturônico.....	9
Figura 2 - Estrutura química do trietilcitrate.....	12
Figura 3 - Foto da morfologia (corte transversal) do fruto da laranjeira.	13
Figura 4 - Foto das diferentes frações da farinha de bagaço industrial de laranja obtidas após a classificação granulométrica da mesma em peneiras de aberturas de 14, 24, 28, 32, 35 e 42 mesh Tyler e na base de fundo do equipamento.	45
Figura 5 - Micrografias da farinha de bagaço industrial de laranja em aumentos de (A) x400, (B) x100, (C) x150, (D) x400, (E) x500 e (F) x1.200.....	51
Figura 6 - Concentração mínima inibitória (CMI) do extrato aquoso da farinha de bagaço industrial de laranja sobre (A) <i>Escherichia coli</i> , (B) <i>Pseudomonas aeruginosa</i> e (C) <i>Staphylococcus aureus</i> . À esquerda, amostra contendo caldo Mueller Hinton, inóculo em solução salina 0,9 % e o extrato na concentração de 21,77 mg.mL ⁻¹ e, à direita, controle negativo correspondente à amostra, contendo caldo Mueller Hinton, solução salina 0,9 % estéril e o extrato na concentração de 21,77 mg.mL ⁻¹	75
Figura 7 - Fotos dos filmes (E1, E2, E3 e E4) desenvolvidos à base do extrato aquoso da farinha de bagaço industrial de laranja e pectina em função das diferentes concentrações do plastificante trietilcitrate utilizadas.	93
Figura 8 - Gráficos da variação dos parâmetros L*, a* e b* e dos índices de amarelecimento (YI E313) e brançura (WI E313) do filme biodegradável ativo em função da concentração de trietilcitrate utilizada.....	95
Figura 9 - Gráfico da variação da opacidade do filme biodegradável ativo em função da concentração do plastificante trietilcitrate utilizada.	98
Figura 10 - Transmitância da luz (%) através dos filmes dos diferentes tratamentos no intervalo de comprimento de onda de 190 nm a 800 nm.	100
Figura 11 - Perfil dos espectros no infravermelho próximo recuperados pela curva multivariada de resolução alternando mínimos quadrados (linhas de traço azul) em comparação com os padrões dos espectros (linhas contínuas vermelhas) (A) do extrato (R ² = 0,9924), (B) da pectina (R ² = 0,9717) e (C) do teflon (R ² = 0,9141).....	101
Figura 12 - Mapas de concentrações relativas do extrato e da pectina no filme obtido sem a adição do plastificante trietilcitrate (tratamento E1) e do teflon.	102
Figura 13 - Perfil dos espectros no infravermelho próximo recuperados pela curva multivariada de resolução alternando mínimos quadrados (linhas de traço azul) em comparação com os padrões dos espectros (linhas contínuas vermelhas) (A) do extrato	

- ($R^2 = 0,9847$), (**B**) da pectina ($R^2 = 0,9759$), (**C**) do trietilcitrato (10 %) ($R^2 = 0,9998$) e (**D**) do teflon ($R^2 = 0,8050$)..... 102
- Figura 14 - Mapas de concentrações relativas do extrato, da pectina e do trietilcitrato (TEC) no filme obtido com extrato, pectina e 10 % de trietilcitrato (tratamento E2) e do teflon. 102
- Figura 15 - Perfil dos espectros no infravermelho próximo recuperados pela curva multivariada de resolução alternando mínimos quadrados (linhas de traço azul) em comparação com os padrões dos espectros (linhas contínuas vermelhas) (**A**) do extrato ($R^2 = 0,9821$), (**B**) da pectina ($R^2 = 0,9792$), (**C**) do trietilcitrato (20 %) ($R^2 = 0,9998$) e (**D**) do teflon ($R^2 = 0,8488$)..... 103
- Figura 16 - Mapas de concentrações relativas do extrato, da pectina e do trietilcitrato (TEC) no filme obtido com extrato, pectina e 20 % de trietilcitrato (tratamento E3) e do teflon. 103
- Figura 17 - Gráfico da variação da espessura (mm) do filme biodegradável ativo em função da concentração de trietilcitrato (%) utilizada..... 105
- Figura 18 - Micrografias eletrônicas de varredura dos filmes dos diferentes tratamentos elaborados à base do extrato aquoso da farinha de bagaço industrial de laranja. E1, E2 e E3 em aumentos de **(1)** 2.500x e **(2)** 1.000x e E4 em aumentos de **(1)** 1.500x e **(2)** 1.000x. As micrografias eletrônicas de varredura localizadas na parte superior da figura **(1)** foram obtidas em uma região dos filmes onde não foi realizado o corte transversal nos mesmos e as micrografias eletrônicas de varredura localizadas na parte inferior da figura **(2)** foram obtidas em uma região dos filmes onde foi realizado o corte transversal nos mesmos..... 108
- Figura 19 - Solução do radical DPPH• (frascos à esquerda nas imagens) e solução do radical DPPH• + o filme biodegradável avaliado de área igual a 1 cm^2 (frascos à direita nas imagens) após 6 h de realização da análise. (**A**) Solução do radical DPPH• e solução do radical DPPH• + filme de pectina e água (controle); (**B**) solução do radical DPPH• e solução do radical DPPH• + filme E1; (**C**) solução do radical DPPH• e solução do radical DPPH• + filme E2; (**D**) solução do radical DPPH• e solução do radical DPPH• + filme E3; (**E**) solução do radical DPPH• e solução do radical DPPH• + filme E4.... 110
- Figura 20 – Gráficos da capacidade antioxidante *in vitro* dos filmes à base do extrato (E1, E2, E3 e E4) e do filme controle à base de pectina e água (C) em porcentagem de inibição (%) do radical livre DPPH• em função do tempo (min). 111
- Figura 21 - Solução do radical ABTS•+ (frascos à esquerda nas imagens) e solução do radical ABTS•+ + o filme biodegradável avaliado de área igual a 1 cm^2 (frascos à

direita nas imagens) após 30 min de realização da análise. **(A)** Solução do radical ABTS•+ e solução do radical ABTS•+ + filme de pectina e água (controle); **(B)** solução do radical ABTS•+ e solução do radical ABTS•+ + filme E1; **(C)** solução do radical ABTS•+ e solução do radical ABTS•+ + filme E2; **(D)** solução do radical ABTS•+ e solução do radical ABTS•+ + filme E3; **(E)** solução do radical ABTS•+ e solução do radical ABTS•+ + filme E4..... 112

Figura 22 – Gráficos da capacidade antioxidante *in vitro* dos filmes à base do extrato (E1, E2, E3 e E4) e do filme controle à base de pectina e água (C) em porcentagem de inibição (%) do radical livre ABTS•+ em função do tempo (min).....113

Figura 23 - Atividade antimicrobiana *in vitro* (teste do halo de inibição do crescimento microbiano) dos filmes dos diferentes tratamentos elaborados com o extrato aquoso da farinha de bagaço industrial de laranja (E1, E2, E3 e E4) sobre **(A)** *Escherichia coli*, **(B)** *Pseudomonas aeruginosa* e **(C)** *Staphylococcus aureus* na concentração de 10^5 UFC·mL⁻¹..... 116

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Composição química da laranja (<i>Citrus sinensis</i>) com casca, do suco e da casca da fruta (crus) por porção de 100 g.....	15
Tabela 2 - Teor de nutrientes do farelo de casca e bagaço e polpa da laranja variedade Pêra.....	15
Tabela 3 - Levantamento da produção (t) e da área colhida (ha) de laranja no Brasil nas safras de 2007 a 2016.....	16
Tabela 4 - Distribuição granulométrica da farinha de bagaço industrial de laranja (100 g).....	44
Tabela 5 - Porcentagem de inibição média dos radicais livres DPPH• e ABTS•+ pelos compostos antioxidantes presentes no extrato aquoso da farinha de bagaço industrial de laranja (EAFBIL) em diferentes concentrações (mg.mL ⁻¹).....	73
Tabela 6 - Tratamentos empregados na síntese dos filmes em função do volume (mL) de extrato aquoso, pectina (%) (m/v) (expressa em massa de polímero por volume de extrato aquoso) e concentração do trietilcitrato (%) (m/m) (expressa em massa de plastificante por massa de pectina) utilizados.....	87
Tabela 7 - Modelos ajustados para os parâmetros L*, a* e b* e para os índices de amarelecimento (YI E313) e brancura (WI E313) obtidos com a análise de cor dos filmes produzidos em função da variação da concentração do plastificante trietilcittrato utilizada bem como o p-valor da regressão, o p-valor da falta de ajuste e o coeficiente de determinação dos respectivos modelos.....	94
Tabela 8 - Diferença total de cor (ΔE^*) entre os filmes dos diferentes tratamentos.....	97
Tabela 9 - Percepção subjetiva da diferença de cor de amostras com diferenças globais (ΔE^*) determinadas.....	97
Tabela 10 - Médias e desvios padrões da resistência máxima à tração (MPa), do alongamento na ruptura (%) e do módulo de elasticidade (MPa) do filme à base do extrato aquoso da farinha de bagaço industrial de laranja.....	106
Tabela 11 – Análise de variância da regressão da resistência máxima à tração (RMT), do alongamento na ruptura (AR) e do módulo de elasticidade (ME) do filme à base do extrato aquoso da farinha de bagaço industrial de laranja em função da concentração de plastificante.....	107

Tabela 12 - Modelos ajustados para a capacidade antioxidante (porcentagem de inibição (PI) do radical livre DPPH• (%)) em função do tempo (t) dos filmes dos diferentes tratamentos avaliados, bem como o p-valor da regressão, o p-valor da falta de ajuste e o coeficiente de determinação dos respectivos modelos.....112

Tabela 13 - Modelos ajustados para a capacidade antioxidante (porcentagem de inibição (PI) do radical livre ABTS•+ (%)) em função do tempo (t) dos filmes dos diferentes tratamentos avaliados, bem como o p-valor da regressão, o p-valor da falta de ajuste e o coeficiente de determinação dos respectivos modelos.....114

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ABTS	Ácido 2,2'-azino-bis (3-etilbenzotiazolina-6-sulfônico)
ANOVA	Análise de Variância
ANVISA	Agência Nacional de Vigilância Sanitária
AOAC	Associação de Analistas Químicos Oficiais
AOCS	Sociedade Americana dos Químicos de Óleo
AR	Alongamento na Ruptura
ASTM	Sociedade Americana de Testes e Materiais
ATCC	Coleção Americana de Cultura de Células
CE	Concentração do Extrato
CITRUSBR	Associação Nacional dos Exportadores de Sucos Cítricos
CLSI	Instituto de Normas Clínicas e Laboratoriais
CMB	Concentração Mínima Bactericida
CMI	Concentração Mínima Inibitória
CT	Carotenoides Totais
DIC	Delineamento Inteiramente Casualizado
DPPH	2,2-difenil-1-picril-hidrazila
DTA	Departamento de Tecnologia de Alimentos
EAFBIL	Extrato Aquoso da Farinha de Bagaço Industrial de Laranja
FAOSTAT	Estatísticas da Organização das Nações Unidas para a Alimentação e Agricultura
FBIL	Farinha de Bagaço Industrial de Laranja
GIA	Grupo de Instrumentação e Automação em Química Analítica
GRAS	Geralmente Reconhecido como Seguro
HIS	Imagem Hiperespectral
IBGE	Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística
IUPAC	União Internacional de Química Pura e Aplicada
MCR-ALS	Resolução de Curva Multivariada - Alternando Mínimos Quadrados
ME	Módulo de Elasticidade
MEV	Microscopia Eletrônica de Varredura
NIR	Infravermelho Próximo
PEG	Polietilenoglicol
PI	Porcentagem de inibição
UFV	Universidade Federal de Viçosa

RMT	Resistência Máxima à Tração
RSU	Resíduos Sólidos Urbanos
TABNUT	Tabela de Composição Química dos Alimentos
TEAC	Capacidade Antioxidante Equivalente ao Trolox
TEC	Trietilcitrate
TINUVIN 326	2-(5-cloro-2H-benzotriazol-2-il)-6-(1,1-dimetiletil)-4-metilfenol
TROLOX	Ácido 6-hidróxi-2,5,7,8-tetrametilcromano-2-carboxílico
UFC	Unidades Formadoras de Colônias
UNICAMP	Universidade Estadual de Campinas
USDA	Departamento de Agricultura dos Estados Unidos
UV	Ultravioleta
UVA	Ultravioleta A
UVB	Ultravioleta B
WI E313	Índice de Brancura
YI E313	Índice de Amarelecimento

RESUMO

MORAES, Michele Caroline Barbosa de, M.Sc., Universidade Federal de Viçosa, fevereiro de 2018. **Desenvolvimento e caracterização de filme biodegradável ativo à base de extrato de resíduos do processamento industrial de laranja.** Orientadora: Nilda de Fátima Ferreira Soares. Coorientadores: Afonso Mota Ramos e Washington Azevêdo da Silva.

O uso e o descarte indiscriminado de embalagens à base de fontes fósseis, como o petróleo, na natureza têm sido motivos de preocupação mundial porque grandes impactos ambientais podem ocorrer em virtude desses fatores. Uma das alternativas encontradas para solucionar esse problema é a utilização de embalagens biodegradáveis, as quais levam um tempo menor para se degradarem no meio ambiente. Atrelado a isso, os resíduos do processamento industrial de frutas são gerados diariamente em grande escala e, quando descartados na natureza, também podem promover sérios danos ao meio ambiente. Objetivou-se com o presente trabalho desenvolver um filme biodegradável com propriedades ativas antioxidante e antimicrobiana a partir do extrato aquoso da farinha dos resíduos do processamento industrial de laranja. Foram realizadas caracterizações físico-químicas, granulométrica e microestrutural da farinha, caracterizações físico-químicas e antimicrobiana do extrato aquoso obtido a partir dessa farinha e análises de caracterização visual, propriedades ópticas, distribuição de componentes, microestrutura, espessura, propriedades mecânicas, capacidade antioxidante e atividade antimicrobiana do filme biodegradável ativo desenvolvido. Foi verificado que a farinha elaborada apresentou qualidade satisfatória para utilização como matéria-prima no desenvolvimento de processos tecnológicos e que o extrato aquoso da mesma apresentou capacidade antioxidante, a qual foi verificada pela capacidade do mesmo em capturar os radicais livres DPPH• e ABTS•+, e pequena atividade antimicrobiana sobre os micro-organismos *Escherichia coli* e *Staphylococcus aureus*. O filme desenvolvido apresentou propriedades satisfatórias para uso como embalagem biodegradável ativa antioxidante em alimentos, indicando que os resíduos do processamento industrial de laranja apresentam potencial de uso como matéria-prima no desenvolvimento de embalagens para alimentos.

ABSTRACT

MORAES, Michele Caroline Barbosa de, M.Sc., Universidade Federal de Viçosa, February, 2018. **Development and characterization of active biodegradable film based on extract from industrial orange processing waste.** Adviser: Nilda de Fátima Ferreira Soares. Co-advisers: Afonso Mota Ramos and Washington Azevêdo da Silva.

The indiscriminate use and disposal of packages based on fossil sources, such as petroleum, in nature has been a cause of worldwide concern because large environmental impacts may occur due to this factor. One of the alternatives found to solve this problem is the use of biodegradable packages, which take a less time to degrade in the environment. Linked to this factor, industrial fruit processing waste are generated daily on a large scale and, when discarded in nature, can also cause serious damage to the environment. It was aimed with the present work to develop a biodegradable film with active antioxidant and antimicrobial properties using the aqueous extract of flour from the industrial orange processing waste. Physico-chemical, granulometric and microstructural characterization of the flour, physical-chemical and antimicrobial characterization of the aqueous extract obtained from this flour and visual characterization, optical properties, component distribution, microstructure, thickness, mechanical properties, antioxidant capacity and antimicrobial activity analysis of the developed active biodegradable film were made. It was verified that the elaborated flour presented satisfactory quality for use as raw material in the development of technological processes and that its aqueous extract had antioxidant capacity, which was verified by its capacity in capturing the free radicals DPPH• and ABTS•+, and small antimicrobial activity on the microorganisms *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus*. The developed film presented satisfactory properties for use as active antioxidant biodegradable packaging in foods, indicating that the industrial orange processing waste presents potential of use as raw material in the development of food packaging.

1 INTRODUÇÃO GERAL

Existe uma preocupação mundial com relação ao uso e ao descarte indiscriminado de embalagens não biodegradáveis no meio ambiente, as quais são produzidas, principalmente, a partir de fontes fósseis que apresentam ciclo de renovação longo, como o petróleo.

Ao contrário das embalagens biodegradáveis cujo tempo de degradação na natureza é, geralmente, da ordem de semanas ou meses, as embalagens não biodegradáveis podem levar anos para se decomporem, o que pode conduzir a grandes impactos ambientais (DE PAOLI, 2008; BRITO et al., 2011).

Em virtude do aumento das questões relacionadas ao meio ambiente e do esgotamento do petróleo, o desenvolvimento de materiais que sejam ambientalmente amigáveis (biodegradáveis e à base de materiais biológicos), tanto pelo setor acadêmico quanto pelo setor industrial, se faz necessário (HE et al., 2014). Algumas fontes de origem biológica como madeira, resíduos agroindustriais, gramíneas e fibras naturais de plantas são algumas das opções encontradas para substituir o uso do petróleo na elaboração de materiais poliméricos (MOHANTY et al., 2005).

Paralelo a isso, é gerada uma grande quantidade de resíduos provenientes da indústria processadora de alimentos. Um exemplo é a geração anual no Brasil de milhões de toneladas de resíduos líquidos e sólidos, como cascas, polpa residual e sementes, decorrentes do processamento da laranja para a industrialização de suco (SCHNEIDER et al., 2012; SANTOS et al., 2015). Quando descartados de forma inadequada no meio ambiente esses resíduos podem atuar como fonte de poluição, provocando sérios danos ambientais. Por apresentarem grande variedade de substâncias em sua composição, os mesmos podem ser convertidos em produtos com valor agregado e serem utilizados em diferentes setores como o alimentício, o farmacêutico e o cosmético (ARORA; KAUR, 2013), o que possibilita melhor aproveitamento desses materiais contribuindo também para a preservação do meio ambiente.

Os resíduos da indústria de alimentos, por serem ricos em polímeros naturais como carboidratos e proteínas que apresentam capacidade de reticulação, têm sido avaliados por pesquisadores como matéria-prima para o desenvolvimento de embalagens biodegradáveis (ANDRADE, 2014; MANIGLIA et al., 2014; BRUNO et al., 2015; FAI et al., 2015). Alguns estudos também demonstram que extratos obtidos a partir de resíduos de frutas e hortaliças podem ser fontes de compostos que apresentam propriedades antioxidantes e antimicrobianas e, em virtude disso, alguns pesquisadores

têm trabalhado com a incorporação desses extratos em embalagens de alimentos (como filmes e revestimentos comestíveis) com o objetivo de retardar a oxidação dos mesmos e protegê-los contra micro-organismos, promovendo a extensão da validade comercial dos produtos (GERHARDT et al., 2012; MANIGLIA et al., 2014; DE DICASTILLO et al., 2016a; DE DICASTILLO et al., 2016b).

As embalagens elaboradas a partir de resíduos de frutas e hortaliças podem ainda promover melhorias nas características de cor dos alimentos, diminuindo, por exemplo, índices de esbranquiçamento de hortaliças minimamente processadas (FAI et al., 2015).

O uso de resíduos do processamento de alimentos na elaboração de embalagens oferece uma nova alternativa para o aproveitamento dos mesmos e fornece novas opções de embalagens biodegradáveis que podem ser utilizadas como embalagens ativas antimicrobianas, antioxidantes e aromatizantes, o que pode contribuir para a manutenção do meio ambiente e prolongar a vida útil de alimentos que apresentem alta perecibilidade.

Apesar das vantagens apresentadas pelas embalagens biodegradáveis, como menor tempo de degradação no meio ambiente em relação às embalagens não biodegradáveis e possibilidade de utilização de matérias-primas naturais renováveis (THARANATHAN, 2003; DE PAOLI, 2008), essas embalagens geralmente são frágeis, tornando necessária a adição de compostos que atuem na melhoria de suas propriedades mecânicas (COSTA et al., 2016).

Os plastificantes são substâncias normalmente adicionadas às dispersões poliméricas previamente aos procedimentos de fundição e secagem no processo de elaboração de filmes e podem atuar na melhoria de algumas das características dos mesmos, por exemplo, tornando esses materiais menos frágeis (GHANBARZADEH; ALMASI; ENTEZAMI, 2010).

Os ésteres de ácido cítrico são substâncias não tóxicas e são utilizados historicamente como plastificantes com uma variedade de polímeros (PARK et al., 2004). O trietilcitrato é um éster de ácido cítrico pertencente à classe dos citratos e, por ser derivado de compostos naturais e ser ambientalmente amigável (PARK et al., 2004), foi escolhido para ser utilizado como plastificante neste trabalho a fim de se avaliar o efeito desse aditivo nas propriedades do filme desenvolvido.

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo geral

Objetivou-se com o presente trabalho desenvolver e caracterizar um filme biodegradável antioxidante e antimicrobiano à base do extrato aquoso dos resíduos sólidos gerados com o processamento industrial de laranja transformados em farinha, pectina e diferentes concentrações do plastificante trietilcitrate.

2.2 Objetivos específicos

- Determinar o rendimento do processo de obtenção da farinha de bagaço industrial de laranja bem como a granulometria, os teores de carotenoides, de ácido ascórbico, de compostos fenólicos totais e de pectina, pH, acidez, atividade de água e microestrutura da mesma;
- Obter o extrato aquoso a partir da farinha de bagaço industrial de laranja;
- Determinar a concentração, a massa específica e os teores de sólidos solúveis, de carotenoides, de ácido ascórbico, de compostos fenólicos totais e de pectina do extrato aquoso obtido a partir da farinha de bagaço industrial de laranja;
- Determinar a capacidade antioxidante do extrato aquoso obtido a partir da farinha de bagaço industrial de laranja por meio dos métodos DPPH e ABTS;
- Determinar a atividade antimicrobiana do extrato aquoso obtido a partir da farinha de bagaço industrial de laranja por meio da determinação da concentração mínima inibitória (CMI) do mesmo sobre os micro-organismos *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* e *Staphylococcus aureus*;
- Desenvolver um filme biodegradável ativo a partir do extrato aquoso da farinha de bagaço industrial de laranja adicionando pectina e diferentes concentrações de trietilcitrate;
- Avaliar o efeito do uso de diferentes concentrações do trietilcitrate no filme desenvolvido sobre as características visuais, espessura, propriedades mecânicas, microestrutura, cor e propriedades ópticas do mesmo;
- Determinar o perfil de distribuição dos componentes do filme desenvolvido por imagem hiperespectral no infravermelho próximo (NIR-HIS);

- Avaliar a capacidade antioxidante *in vitro* do filme desenvolvido pela captura dos radicais livres DPPH• e ABTS•+;
- Avaliar a atividade antimicrobiana *in vitro* do filme desenvolvido sobre os micro-organismos *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* e *Staphylococcus aureus*.

3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1 Embalagens de alimentos

A sociedade moderna impõe crescentes desafios à tecnologia de embalagens de alimentos, uma vez que está cada vez mais exigente com relação a fatores como segurança, qualidade e rastreabilidade dos produtos, vida útil estendida, conveniência, sustentabilidade, entre outros (REALINI; MARCOS, 2014; VANDERROOST et al., 2014). Visando atender a essas exigências, a busca por novidades e melhorias nas tecnologias de fabricação de embalagens para alimentos fez com que dois conceitos de embalagens se destacassem no mercado: as embalagens inteligentes e as embalagens ativas (SOARES et al., 2009; VANDERROOST et al., 2014).

Segundo a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), embalagens ativas “são embalagens que interagem deliberadamente com o alimento ou ambiente ao redor do alimento para aumentar a segurança e vida útil” (GERÊNCIA GERAL DE ALIMENTOS; GERÊNCIA DE AVALIAÇÃO DE RISCO E EFICÁCIA DE ALIMENTOS, 2017). Inseridas no conceito de embalagens ativas, encontram-se as embalagens antimicrobianas, as embalagens antioxidantes e as embalagens aromáticas.

Embalagens antimicrobianas estão ligadas à preocupação com a inocuidade alimentar dos produtos, já que visa a diminuição de ciclos logarítmicos ou até mesmo a completa inibição do crescimento de micro-organismos deteriorantes e/ou patogênicos. Esse controle microbiológico consiste na incorporação de agentes conhecidos como antimicrobianos diretamente na própria embalagem, em rótulos, etiquetas ou em sachês (HAN, 2003; OLIVEIRA; OLIVEIRA, 2004).

Medeiros et al. (2016) avaliaram a atividade antimicrobiana de filme de acetato de celulose incorporado com óleo essencial de orégano sobre micro-organismos presentes em presunto fatiado e verificaram que a embalagem desenvolvida foi capaz de inibir o crescimento *in vitro* e *in loco* dos mesmos nas condições avaliadas, apresentado potencial de uso como embalagem ativa antimicrobiana para esse produto.

Pola et al. (2016) desenvolveram um filme à base de acetato de celulose incorporado com óleo essencial de orégano e argila montmorilonita organofílica para controlar o crescimento dos fungos *Alternaria alternata*, *Geotrichum candidum* e *Rhizopus stolonifer* e verificaram que o filme elaborado apresentou atividade antimicrobiana *in vitro* frente aos micro-organismos testados, indicando que o mesmo foi eficiente na conservação de frutas e hortaliças.

Otoni et al. (2014) testaram a eficácia de sachês antimicrobianos contendo alil isotiocianato contra *Aspergillus flavus* para controle da esporulação desse micro-organismo em amendoim e verificou que a mesma foi comprovada, já que o sachê conseguiu inibir o fungo em questão.

As embalagens antioxidantes buscam inibir ou diminuir o processo de oxidação, o qual é indesejável na maioria dos produtos alimentícios, uma vez que pode alterar sua textura, cor, sabor e aroma, além de ocasionar a diminuição da função nutricional dos mesmos (BRODY; STRUPINSKY; KLINE, 2001). As embalagens antioxidantes podem atuar de duas maneiras principais: compostos antioxidantes incorporados nas mesmas são liberados no meio onde se encontra o alimento e eliminam substâncias indesejáveis presentes tanto no *headspace* quanto no próprio alimento, tais como o oxigênio, espécies radicais oxidativas ou íons metálicos capazes de desencadear processos oxidativos; e fazendo uso de sistemas contendo sequestradores de oxigênio (não sendo esses últimos liberados nos alimentos), que são compostos que reagem, modificam ou aprisionam substâncias que participam de alguma etapa dos processos oxidativos que ocorrem nos alimentos (GÓMEZ-ESTACA et al., 2014).

Resende et al. (2014) avaliaram a capacidade antioxidante de filmes de base celulósica incorporados com os antioxidantes naturais ácido gálico, catecol e hesperidina para redução do processo oxidativo de carne suína cozida e verificaram que os filmes incorporados com ácido gálico e catecol foram capazes de reduzir o processo oxidativo do alimento embalado nas condições avaliadas, indicando que as embalagens elaboradas com a adição desses componentes podem ser utilizados na indústria alimentícia.

Garcia, Martins e Silva (2016) avaliaram o efeito de embalagem ativa à base de amido de mandioca (2 %), glicerol (2 %), laponita (0,1 %) e ácido ascórbico (0,25 %) em fatias de maçãs ao longo de 8 dias e verificaram que o uso do revestimento ativo antioxidante nas mesmas exerceu influência em suas características físico-químicas.

3.2 Embalagens biodegradáveis

O estilo de vida das pessoas vem se alterando ao longo do tempo, o que acarreta mudanças em seus hábitos.

Produtos industrializados (como os alimentos), os quais necessitam da utilização de embalagens (primárias, secundárias e terciárias), são altamente consumidos, o que

resulta no aumento de resíduos sólidos e conseqüentemente em impacto ambiental (LANDIM et al., 2016).

Embalagens e acessórios como os de poliestireno, poliestireno extrudado e poliestireno expandido estão presentes no cotidiano das pessoas com aplicações que visam à segurança, proteção, redução de perdas e manutenção da qualidade dos produtos acondicionados e têm como objetivos a otimização da função de embalagem desses produtos e o benefício para o consumidor. Após sua utilização, esses materiais, apesar de serem biologicamente inertes, não tóxicos e estáveis, passam a compor uma parcela do resíduo urbano pós-consumo e se acumulam nos aterros sanitários, promovendo o uso do espaço e a conseqüente diminuição da vida útil dos aterros (CENTRO DE TECNOLOGIA DE EMBALAGEM, 2017).

Os resíduos sólidos têm gerado preocupações urgentes quanto à sua geração e destinação (REIS; FRIEDE; LOPES, 2017). A persistência de plásticos no ambiente, a falta de espaço nos aterros, o esgotamento dos recursos petrolíferos, as preocupações com as emissões durante a incineração e o aprisionamento por e a ingestão de embalagens plásticas por peixes, aves e animais são fatores que estimularam esforços para o desenvolvimento de plásticos biodegradáveis ou de base biológica (MOHANTY et al., 2005). Além disso, as demandas dos consumidores por produtos mais seguros, ecológicos e de maior qualidade aumentaram, o que contribuiu para a busca por soluções técnicas para o problema do lixo (SOUZA; DITCHFIELD; TADINI, 2010).

Apesar de todas as vantagens que as embalagens convencionais apresentam, como boa resistência mecânica ou liberdade para se trabalhar com o design das mesmas, muitas vezes o esforço envolvido na reciclagem de um único tipo de plástico é muito grande. Além disso, materiais à base de fontes petroquímicas, ao serem incinerados, apresentam balanço negativo com relação à geração de gás carbônico (ENDRES et al., 2014).

O uso de polímeros biodegradáveis é uma das alternativas encontradas para solucionar os problemas decorrentes da poluição ambiental gerada pelo resíduo plástico à base dos polímeros convencionais (FECHINE, 2013). Assim, cada vez mais pesquisas envolvendo o desenvolvimento de embalagens que sejam biodegradáveis têm sido realizadas.

A biodegradabilidade é definida por Hawley (1971) como “a susceptibilidade de uma substância à decomposição por micro-organismos”. Guillet et al. (1992) definem biodegradável como “a capacidade de ser quimicamente transformado pela ação de enzimas biológicas ou micro-organismos em produtos que os mesmos são capazes de

uma maior degradação”. Chandra e Rustgi (1998) definem biodegradação como “um processo natural pelo qual produtos químicos orgânicos no ambiente são convertidos em compostos mais simples, mineralizados e redistribuídos através de ciclos elementares, como os ciclos de carbono, nitrogênio e enxofre”. De acordo com a Sociedade Americana de Testes e Materiais (ASTM) plástico biodegradável é “um plástico degradável no qual a degradação resulta da ação de micro-organismos que ocorrem naturalmente como bactérias, fungos e algas” (SOCIEDADE AMERICANA DE TESTES E MATERIAIS, 2004).

Os polímeros biodegradáveis podem ser classificados em naturais e sintéticos (FECHINE, 2013; DOPPALAPUDI et al., 2014). Dentre os polímeros naturais podem-se citar os polissacarídeos (como amido, celulose, ácido algínico, ácido hialurônico, sulfato de condroitina e quitosana) e as proteínas (como colágeno, gelatina e albumina). Exemplos de polímeros produzidos a partir de síntese são os poliésteres (como poli (α -hidroxiácidos), polilactonas, poliortoésteres, polifosfoésteres, policarbonatos e polidiolcitratos), polianidridos, poliuretanos, polifosfazenos, polialquil - cianoacrilatos, poliaminoácidos e copolímeros em bloco com polietilenoglicol (PEG) (DOPPALAPUDI et al., 2014).

O amido foi considerado um dos polímeros naturais mais promissores para o desenvolvimento de materiais biodegradáveis devido à sua atraente combinação de preço, abundância, comportamento termoplástico e biodegradabilidade (ALMASI; GHANBARZADEH; ENTEZAMI, 2010). Outros exemplos de fontes naturais renováveis que podem ser utilizadas na elaboração de embalagens biodegradáveis são: açúcar, celulose, quitina, óleo vegetal, algas marinhas (em virtude da produção, por exemplo, de carragenanas e alginato), quitosana, pectina, hidrocoloides, lipídeos, proteínas (como a zeína, glúten de trigo, proteínas do leite, colágeno, gelatina), entre outros (GUADALUPE, 2013).

3.3 Pectina

As pectinas são um grupo de polissacarídeos ácidos importantes na constituição de grande parte da parede celular das plantas (SCHELLER et al., 2007). Foram descobertas há mais de 200 anos, entretanto, sua estrutura é difícil de se desvendar, pois o polímero pode sofrer alterações durante o seu isolamento das plantas, armazenamento e processamento do material vegetal (NOVOSEL'SKAYA et al., 2000).

O ácido D-galacturônico é um ácido de açúcar (uma forma oxidada de D-galactose) que está presente na pectina na forma de ácido poligalacturônico (Figura 1), o qual é o componente majoritário desse polímero, sendo constituído por unidades do ácido α -D-galacturônico associadas por ligações glicosídicas α (1 \rightarrow 4) (GARNA et al., 2004; KHAN; BIBI; ZEB, 2015).

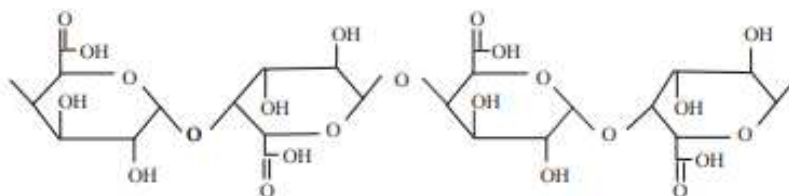


Figura 1 - Estrutura química do ácido poligalacturônico.
Fonte: KHAN; BIBI; ZEB (2015).

O ácido D-galacturônico possui um grupo aldeído e um grupo ácido carboxílico em C1 e C6 respectivamente. Unidades de β -L-ramnose podem eventualmente ser inseridas na cadeia principal através de ligações glicosídicas α (1 \rightarrow 4) e α (1 \rightarrow 2) e os grupos carboxílicos podem ser parcialmente esterificados por álcool metílico ou ser neutralizados com cátions mono ou divalentes. Arabinose, galactose, glucose, xilose e manose são outros açúcares neutros que podem ser anexados como cadeias laterais ao ácido D-galacturônico (GARNA et al., 2004; KHAN; BIBI; ZEB, 2015).

A pectina comercial pode ser obtida principalmente a partir do bagaço de maçã e da casca de citros. A matéria-prima utilizada exerce influência direta nos tipos de pectinas produzidas (as quais apresentam ligeira diferença entre si), o que torna uma ou outra mais adequada para aplicações específicas (MAY, 1989). A pectina é utilizada como aditivo alimentar atuando como emulsificante, gelificante, agente de revestimento, estabilizador ou espessante sob condições especificadas em certas categorias de alimentos ou itens alimentícios individuais (CODEX ALIMENTARIUS, 2017).

As pectinas podem ser classificadas de acordo com o grau de metoxilação (DM) em pectinas de alta metoxilação (DM > 50 %) ou pectinas de baixa metoxilação (DM < 50 %) (EINHORN-STOLL, 2017).

As pectinas com alto teor de metoxilação são usadas principalmente como agentes gelificantes em produtos à base de frutas, especialmente na fabricação de geleias e conservantes de frutas. Também podem ser utilizadas em sobremesas lácteas, preparações de frutas para iogurtes e vidros glaciais, geleias de confeitaria, geleias de

panificação resistentes ao calor, estabilização de produtos lácteos acidificados, sucos de frutas ou refrigerantes (DA SILVA; RAO, 2006).

Pectinas com baixo teor de metoxilação apresentam menor poder calorífico e são utilizadas no preparo de géis com nível reduzido de sólidos solúveis. As aplicações na indústria alimentícia incluem compotas e geleias de baixo teor de açúcar, sobremesas lácteas nas quais não é necessário adicionar sal de cálcio, géis de frutas para sorvete, revestimentos alimentícios e agentes espessantes de xaropes para frutas e enlatados vegetais, entre outros (DA SILVA; RAO, 2006).

Em virtude de suas propriedades físicas como gelificação, permeabilidade seletiva a gases, entre outras e por apresentar características como biodegradabilidade, biocompatibilidade, comestibilidade e versatilidade química, a pectina pode ser utilizada como uma adequada matriz polimérica na elaboração de embalagens comestíveis e que podem também apresentar ação ativa (ESPITIA et al., 2014).

O principal solvente usado na elaboração de filmes de pectina é a água e utilizam-se também plastificantes, sendo esses importantes componentes utilizados no processo de elaboração dos mesmos. Alguns plastificantes como glicerol, monoglicerídeos acetilados, polietilenoglicol e sucrose são usados com frequência com o intuito de promover alterações nas propriedades mecânicas e de barreira de filmes de pectina (ESPITIA et al., 2014).

3.4 Plastificantes

Os plastificantes são uma classe importante de compostos não voláteis de baixo peso molecular amplamente utilizados nas indústrias de polímeros (SEJIDOV; MANSOORI; GOODARZI, 2005).

A União Internacional de Química Pura e Aplicada (IUPAC) define plastificantes como “substâncias incorporadas a plásticos ou elastômeros com a finalidade de aumentar sua flexibilidade, processabilidade ou capacidade de alongamento”. Ainda segundo a organização, “um plastificante pode reduzir a viscosidade do fundido, abaixar sua temperatura de transição de segunda ordem (temperatura de transição vítrea ou Tg) ou diminuir seu módulo de elasticidade” (RODOLFO JR; NUNES; ORMANJI, 2006).

Os plastificantes interagem com as cadeias poliméricas em nível molecular aumentando a mobilidade das mesmas e acelerando sua resposta viscoelástica (WYPYCH, 2017).

Segundo Rabello (2000), todas as propriedades mecânicas dos polímeros são consideravelmente afetadas pela plasticização. Outras propriedades dos materiais poliméricos que também podem ser alteradas pela presença do plastificante são: grau de cristalinidade, condutividade elétrica, comportamento ao fogo, resistência à degradação biológica, propriedades de barreira e ópticas, entre outras (MALI et al., 2004; BIAŁECKA-FLORJAŃCZYK; FLORJAŃCZYK, 2007).

De acordo com Wypych (2017) os plastificantes são comumente classificados levando-se em consideração a sua composição química, o que facilita o entendimento da influência que os elementos estruturais dos mesmos exercem em suas propriedades e dos efeitos causados nos materiais aos quais são adicionados. Ainda segundo o autor, os plastificantes são agrupados de acordo com a sua família química (ou categoria), que podem ser, por exemplo, ésteres, ftalatos e parafinas cloradas.

O uso de plastificantes à base de ftalatos em plásticos comerciais celulósicos foi criticado por representarem uma possível ameaça à saúde se utilizado a longo prazo. Além das preocupações geradas em virtude desse fator, essa classe de plastificantes foi colocada sob minuciosa avaliação considerando-se aspectos ambientais (MOHANTY et al., 2003).

O ácido cítrico apresenta uma longa história de uso como aromatizante em alimentos e bebidas. Da mesma forma, os ésteres de ácido cítrico são utilizados historicamente como plastificantes associados a uma grande variedade de polímeros. Além de não serem tóxicos, foram aprovados para muitas aplicações e são utilizados, por exemplo, como aditivos em plásticos médicos, produtos de cuidado pessoal e em alimentos. Os ésteres de citratos são derivados de compostos naturais e, por essa razão, há interesse na determinação do seu efeito na plasticização, especialmente referentes aos parâmetros de processamento (PARK et al., 2004).

O trietilcitrate é o éster trietílico do ácido cítrico (BREINHOLT et al., 2002). É geralmente reconhecido como seguro (GRAS) para uso como aditivo direto em alimentos (FIUME; HELDRETH, 2011). A hidrólise *in vivo* do trietilcitrate dá origem ao ácido cítrico e ao etanol, compostos que apresentam baixo potencial tóxico bem definido (COMITÊ CIENTÍFICO SOBRE TOXICIDADE, ECOTOXICIDADE E MEIO AMBIENTE, 1999). Sua estrutura química está representada na Figura 2.

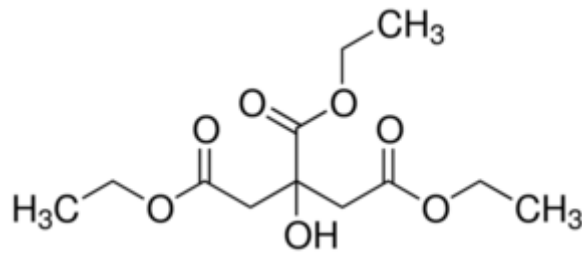


Figura 2 - Estrutura química do trietilcitrato.
Fonte: SIGMA-ALDRICH® (2018).

Além da sua utilização como aditivo alimentar, o trietilcitrato possui aplicação industrial como plastificante não-tóxico e é considerado ambientalmente amigável (PARK et al., 2004, HEFEI TNJ® CHEMICAL INDUSTRY, 2018). Apresenta boa compatibilidade e forte capacidade na dissolução de resinas, sendo amplamente utilizado como plastificante em resinas de vinil e resinas de celulose. Também é aplicado na granulação de PVC não-tóxico, em tintas e em brinquedos macios para crianças (HEFEI TNJ® CHEMICAL INDUSTRY, 2018). Devido à sua biodegradabilidade, estudos envolvem sua utilização como aditivo plastificante no desenvolvimento de filmes biodegradáveis (HAN et al., 2015; MAIZA; BENANIBA; MASSARDIER-NAGEOTTE, 2016).

O trietilcitrato também é utilizado há várias décadas como plastificante na indústria farmacêutica e, por essa razão, é considerado um plastificante tradicional. Assim como o glicerol, o triacetato de glicerila, a triacetina e o polietilenoglicol, também utilizados tradicionalmente como plastificantes, o trietilcitrato apresenta característica hidrofílica (KATRI et al., 2018). É utilizado como excipiente na composição de medicamentos (PORTAL SAÚDE DIRETA, 2018; BRASIL, 2018) e já foi estudado, por exemplo, na produção de membranas para reparação de feridas cutâneas (CARDOSO et al., 2013).

Em virtude de suas características de não toxicidade, por ser um composto natural, biodegradável e de natureza hidrofílica, o trietilcitrato foi escolhido para ser utilizado como plastificante no desenvolvimento do filme biodegradável ativo desenvolvido no presente trabalho.

3.5 Laranja: morfologia e constituição

A laranja é uma fruta conhecida em todo o mundo por conter uma grande quantidade de vitaminas e sais minerais em sua composição e apresenta fama de ser fonte de saúde desde a época das grandes expedições marítimas, quando era utilizada no combate ao

escorbuto, doença decorrente da carência de vitamina C que afetava principalmente os marinheiros naquela época (ASSOCIAÇÃO NACIONAL DOS EXPORTADORES DE SUCOS CÍTRICOS - CITRUSBR, [2011?]; FIORENTIN et al., 2012). Acredita-se que a fruta tenha sua origem no sul asiático, provavelmente na China, cerca de 4.000 anos atrás e que foi introduzida na Europa pelos árabes na Idade Média, sendo a expansão do cultivo dos citros favorecida pelas guerras e pelo comércio entre as nações nesse período (CITRUSBR, [2010?]).

A laranjeira pertence à família Rutaceae e produz frutos do tipo baga (hesperídio), cujo endocarpo apresenta divisões denominadas gomos. Nesses gomos estão presentes vesículas de suco e é no interior dos mesmos que estão localizadas as sementes (caso os frutos se originem de flores fecundadas) (SWINGLE; REECE, 1967; KOLLER, 2006a). Na Figura 3 estão representadas as partes constituintes do fruto da laranjeira.

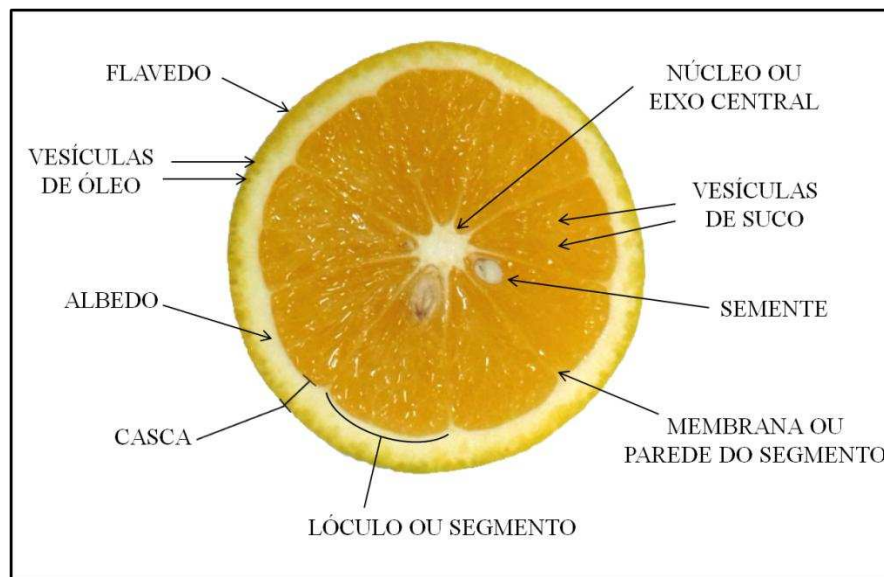


Figura 3 - Foto da morfologia (corte transversal) do fruto da laranjeira.

A laranja consiste de 8 a 16 carpelos, que formam lóculos ou segmentos, os quais são agrupados e unidos ao redor do núcleo da fruta. O pericarpo, também chamado de casca, é dividido em exocarpo (ou flavedo) e mesocarpo (ou albedo) (LADANIYA, 2008).

O flavedo representa aproximadamente 10 % da composição geral da fruta (IZQUIERDO; SENDRA, 2003). É a parte externa e colorida onde estão presentes compostos flavonoides e numerosas glândulas de óleo essencial, as quais apresentam forma esférica e tamanhos distintos. É bastante fino e é constituído pelas camadas mais externas do tecido, as quais têm epiderme coberta de cutícula e células do parênquima.

Sua pigmentação varia de acordo com a espécie ou variedade de citrus, podendo apresentar cores de laranja profundo ou avermelhado a laranja claro, amarelo ou esverdeado (ORTIZ, 2002; LADANIYA, 2008).

O albedo é a parte interna da casca cuja espessura e consistência varia com a espécie de citrus. Apresenta cor marfim ou amarelo pálido e é de textura esponjosa (ORTIZ, 2002). Representa aproximadamente 15 a 25 % da composição geral da fruta e é onde está localizada a maior parte das pectinas (IZQUIERDO; SENDRA, 2003). No albedo também estão presentes flavonoides que, se transferidos para o suco, transmitem sabor amargo (ETEBU; NWAUZOMA, 2014).

O núcleo central é constituído pelo mesmo tipo de rede de células do albedo e está conectado a esse último por membranas entre cada segmento (LADANIYA, 2008).

No interior dos segmentos estão localizados sacos de suco, o qual representa aproximadamente 40 a 50 % da fruta (IZQUIERDO; SENDRA, 2003). À medida que a fruta cresce e amadurece, as células presentes no interior das vesículas de suco acumulam água, ácidos, açúcares, minerais, pigmentos, entre outros compostos (EL-OTMANI; AIT-OUBAHOU; ZACARÍAS, 2011).

As sementes localizam-se adjacentes às vesículas de suco presentes nos lóculos (EL-OTMANI; AIT-OUBAHOU; ZACARÍAS, 2011). Akpata e Akubor (1999), ao realizarem a determinação química da farinha elaborada com sementes de laranja doce (*Citrus sinensis*) em seu trabalho, verificaram que a farinha de semente de laranja descascada apresentou 54,2 % de lipídeos, 28,5 % de carboidratos, 5,5 % de fibra bruta, 3,1 % de proteína bruta e 2,5 % de cinzas (peso seco). Segundo os autores, o óleo obtido a partir de sementes de laranja (refinado) poderia ser utilizado na formulação de óleos comestíveis ou na fabricação de sabões.

A laranja é uma fruta rica nutricionalmente e alguns estudos indicam que algumas partes constituintes da mesma (como a casca), muitas vezes descartadas após a extração do suco da fruta, podem apresentar teores de nutrientes consideráveis (RUVIARO et al., 2008; TABELA DE COMPOSIÇÃO QUÍMICA DOS ALIMENTOS - TABNUT, 2016), o que pode ser visualizado nas Tabelas 1 e 2.

Tabela 1 - Composição química da laranja (*Citrus sinensis*) com casca, do suco e da casca da fruta (crus) por porção de 100 g.

Componente	Laranja com casca	Suco de laranja	Casca de laranja
Água (g)	82,3	88,3	72,5
Valor energético (kcal)	63	45	97
Proteína (g)	1,3	0,7	1,5
Gorduras totais (g)	0,3	0,2	0,2
Carboidratos (por diferença) (g)	15,5	10,4	25
Fibra alimentar (g)	4,5	0,2	10,6
Cálcio (mg)	70	11	161
Ferro (mg)	0,8	0,2	0,8
Magnésio (mg)	14	11	22
Fósforo (mg)	22	17	21
Potássio (mg)	196	200	212
Sódio (mg)	2	1	3
Zinco (mg)	0,11	0,05	0,25
Vitamina C, ácido ascórbico total (mg)	71	50	136
Tiamina (mg)	0,1	0,09	0,12
Riboflavina (mg)	0,05	0,03	0,09
Niacina (mg)	0,5	0,4	0,9
Vitamina B6 (mg)	0,093	0,04	0,176
Ácido fólico, total (µg)	30	30	30
Vitamina B12 (µg)	0	0	0
Vitamina A (atividade equivalente de retinol) (µg)	13	10	21
Vitamina A (SI) (IU)	250	200	420
Gorduras saturadas (g)	0,035	0,024	0,024
Gorduras monoinsaturadas (g)	0,055	0,036	0,036
Gorduras poliinsaturadas (g)	0,06	0,04	0,04
Colesterol (mg)	0	0	0

Fonte: adaptado de Tabnut (2016).

Tabela 2 - Teor de nutrientes do farelo de casca e bagaço e polpa da laranja variedade Pêra.

Informação Nutricional	Porção	
	100 g de amostra de farelo de casca e bagaço de laranja Pêra	100 g de amostra de polpa de laranja Pêra*
Valor Calórico (kcal)	319,16	42
Carboidratos (g) (por diferença)	70,08	10,05
Proteínas (g)	4,85	0,8
Lipídios (g)	2,16	0,2
Fibra Alimentar (g)	11,04	0,4
Cinzas (g)	4,92	0,8
pH	4,41	n.r**
Umidade (%)	2,16	87,7

*Valores presentes na Tabela de Composição de Alimentos do Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística.

**Calculo não realizado.

Fonte: Ruviaro et al. (2008).

3.6 Mercado e produção

O Brasil é o terceiro maior produtor de frutas do mundo ficando atrás apenas da China e da Índia e ocupa a liderança na produção mundial de laranja, seguido pela China e União Europeia (ANDRADE, 2015; BELING, 2015; ESTATÍSTICAS DA ORGANIZAÇÃO DAS NAÇÕES UNIDAS PARA A ALIMENTAÇÃO E AGRICULTURA - FAOSTAT, 2017; DEPARTAMENTO DE AGRICULTURA DOS ESTADOS UNIDOS - USDA, 2018).

A laranja é uma das principais frutas produzidas no mundo e é a mais produzida em nosso país, sendo uma das preferidas e mais consumidas pelos brasileiros nos dias de hoje (BELING, 2015; INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA - IBGE, 2017; FAOSTAT, 2017). Na Tabela 3 podem-se visualizar os dados da produção brasileira de laranja (em toneladas) e área colhida da fruta de 2007 a 2016.

Tabela 3 - Levantamento da produção (t) e da área colhida (ha) de laranja no Brasil nas safras de 2007 a 2016.

Laranja					
	Safra 2007	Safra 2008	Safra 2009	Safra 2010	Safra 2011
Produção (t)	18.684.985	18.538.084	17.618.450	18.503.139	19.811.064
Área colhida (ha)	821.244	836.602	787.250	792.753	817.292
	Safra 2012	Safra 2013	Safra 2014	Safra 2015	Safra 2016
Produção (t)	18.012.560	17.549.536	16.927.637	16.746.247	17.251.291
Área colhida (ha)	729.583	702.200	680.268	665.174	658.945

Fonte: IBGE (2017).

Estima-se que na safra 2017/2018 o país produziu 17,340 milhões de toneladas de laranjas frescas em um total de 49,282 milhões de toneladas da fruta fresca produzidos no mundo, apresentando uma participação de 35,2 % na produção mundial da mesma (USDA, 2018). O cinturão citrícola, localizado em uma área de 300 municípios entre São Paulo e Minas Gerais, é responsável por mais de 80 % da produção de laranja no Brasil, o que faz do estado de São Paulo líder da produção da mesma (com uma participação de aproximadamente 75,7 % em maio de 2018) e de Minas Gerais o segundo maior estado produtor dessa fruta no país (com uma participação de 5,10 % em maio de 2018) (CITRUSBR, [2010?]; CITRUSBR, [2011?]; IBGE, 2018).

O país encontra-se em terceiro lugar no consumo da fruta *in natura*, atrás apenas da China, que ocupa a liderança, e da União Europeia (USDA, 2018). A produção de laranja no Brasil é voltada principalmente para a industrialização, sendo a maior parte das frutas produzidas (cerca de 80 % da produção) processada na forma de sucos (FERRAZ, 2011; BRASIL, 2016). O país é responsável por mais da metade (60 %) da produção de suco de laranja no mundo e lidera também as exportações desse produto - três em cada cinco copos de suco de laranja produzidos no mundo são provenientes do Brasil (CITRUSBR, [2011?]; BRASIL, 2016).

Em 2014 foi exportado 1,9 milhão de toneladas de suco de laranja, produto que apresenta grande destaque entre as frutas processadas em nosso país (SERVIÇO BRASILEIRO DE APOIO ÀS MICRO E PEQUENAS EMPRESAS, 2015). Consequentemente, esses fatores também fazem do país um grande gerador de resíduos provenientes dessa atividade industrial. Em 2011, foram gerados em torno de 9,5 milhões de toneladas de resíduos decorrentes do processamento de laranja para a industrialização do suco dessa fruta no país, o que equivale a praticamente metade da produção da mesma no mesmo ano (NETTO, 2013; SANTOS et al., 2015).

3.7 Resíduos agroindustriais e suas aplicações tecnológicas

A industrialização de suco de laranja gera resíduos sólidos (casca, membranas, polpa não aproveitada nos sucos e sementes), que correspondem a cerca de 50 % do peso da fruta, e líquidos, sendo esses últimos chamados de “água amarela”, a qual é composta por proteínas, óleos essenciais, pectina, açúcares, ácidos orgânicos e sais (BARBOSA, 2006; NETTO, 2013; SANTOS et al., 2015; CUTRALE, 2016). Esses resíduos, por apresentarem altos níveis de matéria orgânica em sua composição, podem representar uma ameaça ao meio ambiente se não receberem tratamento adequado antes de serem descartados no mesmo (SANTOS et al., 2015). Assim, algumas empresas buscam aproveitar da melhor maneira possível todos os constituintes da fruta com o objetivo de aumentar o rendimento do processo de industrialização de suco de laranja e ao mesmo tempo contribuir para a manutenção do meio ambiente.

A utilização de resíduos agroindustriais em diferentes setores vem sendo avaliada em muitos trabalhos como uma maneira de fornecer alternativas para o gerenciamento e aproveitamento dos mesmos, o que além de possibilitar a obtenção de produtos de valor agregado contribui para a manutenção do meio ambiente, uma vez que reduz o acúmulo de resíduos no mesmo. Esses resíduos podem ser utilizados, por

exemplo, como substrato no desenvolvimento de processos biotecnológicos para a produção de moléculas como proteínas microbianas, ácidos orgânicos, etanol, enzimas e metabólitos secundários biologicamente ativos (ABUD et al., 2015; ALEXANDRINO et al., 2007; AWAN, 2013; SANTOS et al., 2010).

Abud et al. (2015) avaliaram o uso de resíduos agroindustriais (casca de coco verde, bagaço de laranja lima e a mistura desses dois resíduos) como substrato para a produção de enzimas hidrolíticas por fermentação semi-sólida a partir do fungo *Aspergillus niger* e verificaram que os resíduos utilizados nas condições avaliadas apresentaram boa eficiência na produção da enzima poligalacturonase.

Alguns estudos demonstram ainda que as cascas de citros contêm compostos que podem apresentar ação antimicrobiana. Em seu trabalho, Gerhardt et al. (2012) avaliaram a atividade antimicrobiana de diferentes concentrações de extratos alcoólicos da casca crua de bergamota-ponkan (*Citrus reticulata* Blanco), pomelo (*Citrus maxima* (Burm.) Merr.) e limão-bergamota (*Citrus limonia* Osbeck ou limão-cravo) frente a diferentes micro-organismos (*Escherichia coli*, *Enterococcus faecalis*, *Staphylococcus aureus*, *Salmonella* Enteritidis e *Pseudomonas aeruginosa*) e verificaram que todas as variedades de citros utilizadas apresentaram ação antimicrobiana, tanto inibindo quanto inativando os micro-organismos avaliados. A *P. aeruginosa*, cuja concentração mínima inibitória (CMI) se encontrou entre 16 e 36 mg.mL⁻¹, foi a que mais apresentou sensibilidade aos extratos e o *E. faecalis* foi o mais resistente, não tendo sido inativado por nenhum dos extratos avaliados em nenhuma das concentrações testadas, apresentando também os maiores valores necessários de CMI e CMB (concentração mínima bactericida), seguida pela *E. coli*.

As sementes e cascas de frutos comestíveis processados, por exemplo, na forma de sucos naturais, sucos concentrados, doces em conserva, polpas e extratos, muitas vezes descartadas após o processamento, são fontes naturais de antioxidantes (OLIVEIRA et al., 2009). Estudos indicam que frutas e sucos cítricos são ricas fontes de compostos antioxidantes como ácido ascórbico, compostos fenólicos, flavonoides e pectina (GORINSTEIN et al., 2004; JAYAPRAKASHA; PATIL, 2007; PELLEGRINI et al., 2007; COUTO; CANNIATTI-BRAZACA, 2010). Benelli et al. (2010), ao avaliarem extratos obtidos a partir do bagaço industrial de laranja utilizando diferentes solventes orgânicos e técnicas de extração distintas, verificaram que o uso desse resíduo agroindustrial para a extração tanto de compostos antioxidantes quanto de compostos antimicrobianos é promissor em virtude da elevada quantidade de compostos que permanecem presentes nesse resíduo.

3.8 Uso de resíduos agroindustriais na elaboração de embalagens

O uso de resíduos industriais para a obtenção de uma mistura natural de biopolímeros na forma de farinha e que possam ser utilizados para a elaboração de embalagens tem sido alvo de estudos e é uma tendência nos dias atuais (ANDRADE, 2014; BRUNO et al., 2014; MANIGLIA et al., 2014; FAI et al. 2015; FERREIRA et al. 2016).

Bruno et al. (2014) elaboraram uma farinha a partir dos resíduos gerados com o processamento integral de frutas e hortaliças (laranja seleta (*Citrus sinensis*), maracujá (*Passiflora edulis*), melancia (*Citrullus lanatus*), abobrinha (*Cucúrbita pepo*), alface (*Lactuca sativa*), cenoura (*Daucus carota*), espinafre (*Spinacea oleracea*), hortelã (*Mentha s.p.*), inhame (*Colocasia esculenta*), pepino (*Cucumis sativus*) e rúcula (*Eruca sativa*)) e utilizaram o extrato da mesma para o desenvolvimento de filmes biodegradáveis. Segundo os autores a farinha, de frutas e hortaliças, avaliada nas condições estudadas apresentou um potencial interessante de uso como um material multicomposto alternativo para produzir filmes biodegradáveis.

Andrade (2014) elaborou filmes biodegradáveis utilizando resíduos do processamento integral de frutas e hortaliças, transformados em farinha, realizando-se a extração aquosa 8 % e 10 % (m/m) da mesma. Os filmes foram caracterizados quanto às suas propriedades mecânicas, permeabilidade ao vapor de água, espessura e solubilidade em água e, segundo a autora, a matéria-prima utilizada na elaboração dos mesmos apresentou viabilidade de uso como um material multicomposto e biodegradável para a produção de filmes comestíveis.

Maniglia et al. (2014) desenvolveram e caracterizaram filmes à base de uma farinha obtida a partir do resíduo da extração por solvente do corante de cúrcuma, a qual continha umidade, cinzas, lipídeos, proteínas, hemicelulose, celulose, lignina insolúvel, lignina solúvel e amido em sua composição (o que foi constatado por meio da realização de análises químicas) além da presença residual de curcuminoides, os quais conferiram propriedades antioxidantes efetivas aos filmes elaborados. Os autores avaliaram a influência de diferentes temperaturas e pHs na produção dos filmes bioativos utilizando essa farinha e verificaram que a variação nos valores desses parâmetros promoveu alterações nas propriedades mecânicas, na solubilidade, no teor de umidade, na permeabilidade ao vapor de água e na opacidade dos filmes nas condições estudadas.

Arevalo et al. (2009), com o objetivo de preparar filmes utilizando resíduos da indústria de suco, além de pectina e polivinil álcool (PVA) por meio do processo

casting e avaliar as propriedades mecânicas, de solubilidade e de biodegradabilidade dos mesmos, verificaram que os filmes produzidos apresentaram boas propriedades mecânicas, especialmente resistência à tração (podendo ser comparados a outros filmes biodegradáveis), solubilidade de 78 % após 45 min e a biodegradabilidade não ultrapassou 13 dias. Segundo os autores, os resultados obtidos em seu trabalho indicam que os resíduos agroindustriais podem ser utilizados na elaboração de produtos biodegradáveis podendo contribuir para o desenvolvimento de tecnologia sustentável.

De Dicastillo et al. (2016a) estudaram filmes ativos elaborados com metilcelulose, glutaraldeído e extrato da fruta maqui berry, atuando esse último como uma fonte de agentes antioxidantes. Os autores objetivaram caracterizar o extrato natural e os filmes ativos reticulados de modo a obter um material polimérico que oferecesse maior atividade antioxidante e melhores propriedades de barreira para aplicações futuras como embalagem ativa para alimentos.

Ferreira et al. (2016) produziram e caracterizaram filmes e coberturas comestíveis elaborados a partir de farinhas obtidas com resíduos de frutas e hortaliças e com casca de batata para aplicação em acerolas e verificaram que as frutas apresentaram aumento de 50 % em sua vida útil e redução em sua perda de massa de 30 a 57 % em comparação com as frutas controle.

Em seu trabalho, Fai et al. (2015) objetivaram produzir um revestimento à base de resíduo de frutas e hortaliças para aplicação em cenoura minimamente processada ralada a fim de avaliar características como perda de massa, variação de cor, sólidos solúveis, acidez titulável e pH ao longo do seu armazenamento. Foi verificado que as cenouras revestidas apresentaram uma tendência de redução do índice de esbranquiçamento em relação controle, além de melhor aspecto geral. O índice de cor das mesmas apresentou um valor positivo para todas as amostras (a cor laranja se manteve preservada ao longo do armazenamento) e foram percebidas pequenas modificações relacionadas à perda de peso, pH, acidez titulável e teor de sólidos solúveis das cenouras ao longo do armazenamento, indicando que a farinha de frutas e hortaliças elaborada nesse trabalho apresenta potencial de uso para a formulação de revestimentos comestíveis.

Assim, pode-se verificar que os resíduos do processamento de produtos de origem vegetal apresentam grande potencial de uso como matéria-prima no desenvolvimento de embalagens biodegradáveis para alimentos.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABUD, A. K. S.; ARAÚJO, M. L.; ALMEIDA, R. M. R. G. Uso do resíduo de laranja lima e da casca de coco verde na produção de enzimas. **Scientia Plena**, v. 11, n. 10, 2015. ISSN (online) 1808-2793.

AKPATA, M. I.; AKUBOR, P. I. Chemical composition and selected functional properties of sweet orange (*Citrus sinensis*) seed flour. **Plant Foods for Human Nutrition**, v. 54, p. 353-362, 1999. ISSN (versão impressa) 0921-9668, ISSN (versão online) 1573-9104.

ALEXANDRINO, A. M.; FARIA, H. G.; SOUZA, C. G. M. de, PERALTA, R. M. Aproveitamento do resíduo de laranja para a produção de enzimas lignocelulolíticas por *Pleurotus ostreatus* (Jack: Fr). **Food Science and Technology - Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 27, p. 364-368, 2007. ISSN (versão impressa) 0101-2061, ISSN (versão online) 1678-457X.

ALMASI, H.; GHANBARZADEH, B.; ENTEZAMI, A. A. Physicochemical properties of starch-CMC-nanoclay biodegradable films. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 46, n. 1, p. 1-5, 2010. ISSN (impresso) 0141-8130.

ANDRADE, P. F. S (Resp.). **Fruticultura**. SEAB – Secretaria de Estado da Agricultura e do Abastecimento. DERAL - Departamento de Economia Rural. Paraná, 2015.

ANDRADE, R. M. S. **Desenvolvimento e caracterização de filmes biodegradáveis à base de resíduos de frutas e hortaliças**. 2014. 75 f. Dissertação (Mestrado em Alimentos e Nutrição) - Universidade Federal do Estado do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2014.

AREVALO, K. ALEMAN, E.; ROJAS, G.; MORALES, L.; GALAN, L. J. Properties and biodegradability of cast films based on agroindustrial residues, pectin and polivinilic alcohol (PVA). **New Biotechnology**, v. 25, p. S287-S288, 2009. ISSN (versão impressa) 1871-6784, ISSN (versão online) 1876-4347.

ARORA, M.; KAUR, P. Antimicrobial & antioxidant activity of orange pulp and peel. **International Journal of Science and Research (IJSR)**, v. 2, n. 11, p. 412–415, 2013. ISSN (online) 2319-7064.

ASSOCIAÇÃO NACIONAL DE EXPORTADORES DE SUCOS CÍTRICOS (CITRUSBR). **A Indústria Brasileira de Suco de Laranja**, [2011?].

ASSOCIAÇÃO NACIONAL DOS EXPORTADORES DE SUCOS CÍTRICOS (CITRUSBR). **O Retrato da Citricultura Brasileira**, [2010?].

AWAN, A. T. **Orange Bagasse as Biomass for 2G - Ethanol Production**. 2013. 157 p. Tese (Doutorado em Ciências) - Instituto de Química da Universidade Estadual de Campinas, Campinas. 2013.

BARBOSA, R. D. Processamento Industrial da Laranja. In: KOLLER, O. C. (Org.). **Citricultura: 1. Laranja: Tecnologia de Produção, Pós-colheita, Industrialização e Comercialização**. / Editado por I. Manica. – Porto Alegre: Cinco Continentes, 2006.

BAZZO, G. C.; SILVA, M. A. S. Estudo termoanalítico de comprimidos revestidos contendo captopril através de termogravimetria (TG) e calorimetria exploratória diferencial (DSC). **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, v. 41, n. 3, p. 315-322, 2005. ISSN (versão impressa) 1516-9332, ISSN (versão online) 1809-4562.

BELING, R. R. **Anuário brasileiro da fruticultura 2015**. Santa Cruz do Sul: Gazeta Santa Cruz, 2015.

BENELLI, P.; RIEHL, C. A. S.; SMANIA JR, A.; SMANIA, E. F. A.; FERREIRA, S. R. S. Bioactive extracts of orange (*Citrus sinensis* L. Osbeck) pomace obtained by SFE and low pressure techniques: mathematical modeling and extract composition. **The Journal of Supercritical Fluids**, v. 55, n. 1, p. 132-141, 2010. ISSN (versão impressa) 0896-8446, ISSN (versão online) 1872-8162.

BIAŁECKA-FLORJAŃCZYK, E.; FLORJAŃCZYK, Z. Solubility of plasticizers, polymers and environmental pollution. In: LETCHER T. M. (Ed.). **Thermodynamics, Solubility and Environmental Issues**. 2007. cap. 22. p. 397-408.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Esomeprazol magnésio**. Disponível em: <http://www.anvisa.gov.br/datavisa/fila_bula/frmVisualizarBula.asp?pNuTransacao=18012172016&pIdAnexo=3512547>. Acesso em: 29 de jun. de 2018.

BRASIL. Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento. **Citrus**. Disponível em: <<http://www.agricultura.gov.br/vegetal/culturas/citrus>>. Acesso em: 20 de nov. de 2016.

BREINHOLT, V.; DRAGSTED, L.; HANSEN, M.; HOSSAINI, A.; LAM, H. R.; MORTENSEN, A.; RASMUSSEN, E. S.; HUSØY, T.; ILBÄCK, N. G.; MEYLAND, L.; PENTTILÄ, P. L.; HALLAS-MØLLER, T.; KNUDSEN, I. Food additives in Europe 2000: Status of safety assessments of food additives presently permitted in the EU. **Nordic Council of Ministers**. 2002. 701 p.

BRITO, G. F.; AGRAWAL, P.; ARAÚJO, E. M.; MÉLO, T. J. A. Biopolímeros, polímeros biodegradáveis e polímeros verdes. **Revista Eletrônica de Materiais e Processos**, v. 6, n. 2, p. 127-139, 2011. ISSN (online) 1809-8797.

BRODY, A. L.; STRUPINSKY, E. R.; KLINE, L. R. Oxygen scavengers. In: BRODY, A. L.; STRUPINSKY, E. R.; KLINE, L. R. **Active packaging for food applications**. Boca Raton: CRC Press LLC, 2001. cap. 2.

BRUNO, N. V.; FAI, A. E. C.; SOUZA, M. R. A.; GONÇALVES, E. C. B. A. Estudo de diferentes extratos na elaboração de filme biodegradável a partir de farinha de frutas e hortaliças. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE ENGENHARIA QUÍMICA, 20., 2014, Florianópolis. **Anais do XX Congresso Brasileiro de Engenharia Química**. São Paulo: Blucher, 2015. v. 1, n. 2, p. 3201-3208.

CARDOSO, L.; USERO, R.; CATANI, S. M. M. BARBO, M. L. P. ESPOSITO, A. R.; DUEK, E. A. R. Implante de membranas de PLLA/trietil-citrato como alternativa no tratamento de feridas cutâneas. **Polímeros - Ciência e Tecnologia**, v. 23, n. 6, p. 798-806, 2013. ISSN (versão impressa) 0104-1428, ISSN (versão online) 1678-5169.

CENTRO DE TECNOLOGIA DE EMBALAGENS (CTEA/ITAL). **Relatório CETEA A069-1/16: PS, XPS E EPS para contato com alimentos**. São Paulo, 2017.

CHANDRA, R.; RUSTGI, R. Biodegradable polymers. **Progress in polymer science**, v. 23, n. 7, p. 1273-1335, 1998. ISSN (versão impressa) 0079-6700, ISSN (versão online) 1873-1619.

CODEX ALIMENTARIUS. INTERNATIONAL FOOD STANDARDS. **General Standard for Food Additives**. Disponível em: <<http://www.fao.org/fao-who-codexalimentarius/codex-texts/dbs/gafa/en/>>. Acesso em: 19 de jun. de 2018.

COMITÊ CIENTÍFICO SOBRE TOXICIDADE, ECOTOXICIDADE E MEIO AMBIENTE (CSTEE). CSTEE/98/17. **Opinion on the toxicological characteristics and risks of certain citrates and adipates used as a substitute for phthalates as plasticisers in certain soft PVC products**. Plenário em 28 de setembro de 1999.

COSTA, S. S.; SILVA, R. P. D.; ALVES, A. R. C.; GUARIEIRO, L. L. N.; MACHADO, B. A. S. Estudo prospectivo sobre a obtenção e incorporação de nanocristais de celulose em filmes biodegradáveis. **Revista Virtual de Química**, v. 8, n. 4, p. 1104-1114, 2016. ISSN (online) 1984-6835.

COUTO, M. A. L.; CANNIATTI-BRAZACA, S. G. Quantificação de vitamina C e capacidade antioxidante de variedades cítricas. **Food Science and Technology - Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 30, n. suppl 1, p. 15-19, 2010. ISSN (versão impressa) 0101-2061, ISSN (versão online) 1678-457X.

CUTRALE. **Farelo**. Disponível em: <<http://www.cutrale.com.br/farelo.xhtml>>. Acesso em: 12 de set. de 2016.

DA SILVA L. J. A.; RAO, M. A. Pectins: structure, functionality, and uses. In: STEPHEN, A. M.; PHILLIPS, G. O. WILLIAMS, P. A. (Eds.). **Food polysaccharides and their applications**. 2. ed. Boca Raton: CRC Press, 2016. cap. 11. p. 353-412.

DE DICASTILLO, C. L.; BUSTOS, F.; GUARDA, A.; GALOTTO, M. J. Cross-linked methyl cellulose films with murta fruit extract for antioxidant and antimicrobial active food packaging. **Food Hydrocolloids**, v. 60, p. 335–344, 2016a. ISSN (versão impressa) 0268-005X, ISSN (versão online) 1873-7137.

DE DICASTILLO, C. L.; RODRÍGUEZ, F.; GUARDA, A.; GALOTTO, M. J. Antioxidant films based on cross-linked methyl cellulose and native Chilean berry for food packaging applications. **Carbohydrate Polymers**, v. 136, p. 1052–1060, 2016b. ISSN (versão impressa) 0144-8617, ISSN (versão online) 1879-1344.

DE GUADALUPE, O. G. E. **Estudio teórico de polímeros biodegradables sustituyentes de polímeros sintéticos para un mejor ecosistema**. 2013. 77 f. Tese (Engenharia Química Industrial) - Instituto Politécnico Nacional, México, 2013.

DE PAOLI, M.-A. **Degradação e estabilização de polímeros**. 2. ed. [S.l.]: Chemkeys, 2008. 221 p.

DEPARTAMENTO DE AGRICULTURA DOS ESTADOS UNIDOS (USDA). **Citrus: World Markets and Trade**. Disponível em: <<https://www.fas.usda.gov/data/citrus-world-markets-and-trade>>. Acesso em: 11 de jun. de 2018.

DOPPALAPUDI, S.; JAIN, A.; KHAN, W.; DOMB, A. J. Biodegradable polymers - an overview. **Polymers for Advanced Technologies**, v. 25, p. 427-435, 2014. Número especial. ISSN (versão impressa) 1042-7147, ISSN (versão online) 1099-1581.

EINHORN-STOLL, U. Pectin-water interactions in foods - from powder to gel. **Food Hydrocolloids**, v. 78, p. 109-119, 2018. ISSN (versão impressa) 0268-005X, ISSN (versão online) 1873-7137.

EL-OTMANI, M.; AIT-OUBAHOU, A.; ZACARIÁS, L. *Citrus spp.*: orange, mandarin, tangerine, clementine, grapefruit, pomelo, lemon and lime. In: YAHIA, E. M. (Ed.). **Postharvest Biology and Technology of Tropical and Subtropical Fruits: Açai to Citrus**. 2011. p. 437-514, 515e-516e.

ENDRES, H.-J.; KITZLER, A.-S.; NELLES, M.; RATHS, A. S. Biopolímeros, uma alternativa sustentável? **Plástico Industrial**, São Paulo: Aranda, ano 16, n. 191, jul. 2014.

ESPITIA, P. J. P.; DU, W.-X.; AVENA-BUSTILLOS, R. J.; SOARES, N. F. F.; MCHUGH, T. H. Edible films from pectin: physical-mechanical and antimicrobial properties - a review. **Food Hydrocolloids**, v. 35, p. 287-296, 2014. ISSN (versão impressa) 0268-005X, ISSN (versão online) 1873-7137.

ESTATÍSTICAS DA ORGANIZAÇÃO DAS NAÇÕES UNIDAS PARA A ALIMENTAÇÃO E AGRICULTURA (FAOSTAT). Disponível em: <<http://faostat.fao.org/>>. Acesso em: 04 de fev. de 2017.

ETEBU, E.; NWAUZOMA, A. B. A review on sweet orange (*Citrus sinensis* L Osbeck): health, diseases and management. **American Journal of Research Communication**, v. 2, n. 2, p. 33-70, 2014. ISSN (online) 2325-4076.

FAI, A. E. C.; SOUZA, M. R. A. de; BRUNO, N. V.; GONÇALVES, E. C. B. A. Produção de revestimento comestível à base de resíduo de frutas e hortaliças: aplicação em cenoura (*Daucus carota* L.) minimamente processada. **Scientia Agropecuaria**, v. 6, n. 1, p. 59-68, 2015. ISSN (versão impressa) 2077-9917, ISSN (versão online) 2306-6741.

FECHINE, G. J. M. **Polímeros biodegradáveis: tipos, mecanismos, normas e mercado mundial**. São Paulo: SciELO-Editora Mackenzie, 2013.

FERRAZ, M. S. O Mercado de Frutas. Sessão - Mercado e Tendências. In: FERREIRA, M. D. (Ed.). **Tecnologias pós-colheita em frutas e hortaliças**. São Carlos: Embrapa Instrumentação, 2011. cap. 1, p. 19-31. Disponível em: <<http://poscolheita.cnpdia.embrapa.br/livros;jsessionid=A95DE5E9E02E048F218DA0EF7130D453>>. Acesso em: 20 de nov. de 2016.

FERREIRA, M. S. L.; FAI, A. E. C.; ANDRADE, C. T.; PICCIANI, P. H.; AZERO, E. G.; GONÇALVES, E. C. B. A. Edible films and coatings based on biodegradable residues applied to acerolas (*Malpighia puniceifolia* L.). **Journal of the science of food and agriculture**, v. 96, p.1634–1642, 2016. ISSN (versão impressa) 0022-5142, ISSN (versão online) 1097-0010.

FIorentin, L. D.; Menon, B. T.; ALVES, J. A.; DE BARROS, S. T. D.; PEREIRA, N. C.; DA LIMA, O. C. M.; MODENES, A. N. Análise da secagem do bagaço de laranja em camada fina utilizando modelos semi-teóricos e empíricos. **Engevista**, v. 14, n. 1, p. 22-33, 2012. ISSN (versão impressa) 1415-7314, ISSN (versão online) 2317-6717.

FIUME, M. M.; HELDRETH, B. A. **Citric acid and its inorganic salts and alkyl and glycol esters as used in cosmetics**. Nova York: Cosmetic Ingredient Review, 2011.

GARCIA, K. C. A.; MARTINS, L. M.; SILVA, W. A. da. Embalagem ativa antioxidante na conservação de maçã cv. Fuji minimamente processada. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE ALIMENTOS, 25., SIMPÓSIO INTERNACIONAL DE ALIMENTOS DA COMISSÃO INTERNACIONAL DE ENGENHARIA AGRÍCOLA E DE ALIMENTOS, 10., 2016, Gramado. **Anais do XXV Congresso Brasileiro de Ciência e Tecnologia de Alimentos**. Gramado: SBCTA Regional, 2016.

GARNA, H.; MABON, N.; WATHELET, B.; PAQUOT, M. New method for a two-step hydrolysis and chromatographic analysis of pectin neutral sugar chains. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 52, n. 15, p. 4652-4659, 2004. ISSN (versão impressa) 0021-8561, ISSN (versão online) 1520-5118.

GERÊNCIA GERAL DE ALIMENTOS; GERÊNCIA DE AVALIAÇÃO DE RISCO E EFICÁCIA DE ALIMENTOS. Agência Nacional de Vigilância Sanitária - ANVISA. **Perguntas e respostas - materiais em contato com alimentos**. 2. ed. Brasília, 2017.

GERHARDT, C.; WIEST, J. M.; GIROLOMETTO, G.; SILVA, M. A. S. da; WESCHENFELDER, S. Aproveitamento da casca de citros na perspectiva de alimentos: prospecção da atividade antibacteriana. **Brazilian Journal of Food Technology**, IV SSA, p. 11–17, 2012. Edição especial. ISSN (versão online) 1981-6723, ISSN (versão CD-room) 1519-0900, ISSN (versão impressa até 2002) 1516-7275, ISSN (séries de pré-impressão até 2001) 1517-7645.

GHANBARZADEH, B.; ALMASI, H.; ENTEZAMI, A. A. Physical properties of edible modified starch/carboxymethyl cellulose films. **Innovative Food Science & Emerging Technologies**, v. 11, n. 4, p. 697-702, 2010. ISSN (versão impressa) 1466-8564, ISSN (versão online) 1878-5522.

GÓMEZ-ESTACA, J.; LÓPEZ-DE-DICASTILLO, C.; HERNÁNDEZ-MUÑOZ, P.; CATALÁ, R.; GAVARA, R. Advances in antioxidant active food packaging. **Trends in Food Science & Technology**, v. 35, n. 1, p. 42–51, 2014. ISSN (versão impressa) 0924-2244, ISSN (versão online) 1879-3053.

GORINSTEIN, S.; CVIKROVÁ, M.; MACHACKOVA, I.; HARUENKIT, R.; PARK, Y-S.; JUNG, S-T.; YAMAMOTO, K.; AYALA, A. L. M.; SIMON, E. K. Characterization of antioxidant compounds in Jaffa sweets and white grapefruits. **Food Chemistry**, v. 84, p. 503-510, 2004. ISSN (versão impressa) 0308-8146, ISSN (versão online) 1873-7072.

GUILLET, J. E. HUBER, H. X.; SCOTT, J. Studies of The Biodegradation of Synthetic Plastics. In: VERT, M., FEIJEN, J.; ALBERTSON, A.; SCOTT, G.; CHIellini, E. (Eds.). **Biodegradable Polymers and Plastics**. Cambridge: Royal Society of Chemistry, 1992. p. 55-72.

HAN, J. H. Antimicrobial food packaging. In: AHVENAINEN, R. (Ed.). **Novel food packaging techniques**. 1. ed. Cambridge: Woodhead Publishing Limited, Boca Raton: CRC Press LLC, 2003. cap. 4, p. 50-70.

HAN, L.; QIN, Y.; LIU, D.; CHEN, H.; LI, H.; YUAN, M. Evaluation of biodegradable film packaging to improve the shelf-life of *Boletus edulis* wild edible mushrooms. **Innovative Food Science & Emerging Technologies**, v. 29, p. 288-294, 2015. ISSN (versão impressa) 1466-8564, ISSN (versão online) 1878-5522.

HAWLEY, G. G. **The Condensed Chemical Dictionary**. 8. ed. New York: Van Nostrand Reinhold Company, 1971. 971 p.

HE, A.; LI, S.; MA, J.; YANG, Z. Environmental Friendly Polymer Materials for Sustainable Development. **International Journal of Polymer Science**, v. 2014, 2014. 2 p. ISSN (versão impressa) 1687-9422, ISSN (versão online) 1687-9430.

HEFEI TNJ[®] CHEMICAL INDUSTRY. **Triethyl Citrate - Technical Data Sheet**. Disponível em: <http://pt.tnjchem.com/buy-triethyl-citrate-99-5-at-factory-price-from-china-suppliers_p1521.html>. Acesso em: 28 de jun. de 2018.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA (IBGE). SIDRA - Sistema IBGE de Recuperação Automática - Banco de Tabelas Estatísticas. **LSPA - Levantamento Sistemático da Produção Agrícola**. Disponível em: <<https://sidra.ibge.gov.br/tabela/1618>>. Acesso em: 12 de jun. de 2018.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA (IBGE). **LSPA - Levantamento Sistemático da Produção Agrícola. Dezembro, 2017**. Disponível em: <<https://biblioteca.ibge.gov.br/index.php/biblioteca-catalogo?view=detalhes&id=76>>. Acesso em: 09 de jul. de 2018.

IZQUIERDO, L.; SENDRA, J. M. Citrus fruits. Composition and Characterization. In: CABALLERO, B. (Ed.). **Encyclopedia of Food Sciences and Nutrition**. 2 ed. p. 1335-1341. 2003.

JAYAPRAKASHA, G. K.; PATIL, B. S. *In vitro* evaluation of the antioxidant activities in fruit extracts from citron and blood orange. **Food Chemistry**, v. 101, p. 410-418, 2007. ISSN (versão impressa) 0308-8146, ISSN (versão online) 1873-7072.

KHAN, M.; BIBI, N.; ZEB, A. Optimization of process conditions for pectin extraction from citrus peel. **Science, Technology and Development**, v. 34, n. 1, p. 9-15, 2015. ISSN 0254-6418.

KHATRI, P. DESAI, D.; SHELKE, N. MINKO, T. Role of plasticizer in membrane coated extended release oral drug delivery system. **Journal of Drug Delivery Science and Technology**, v. 44, p.231-243, 2018. ISSN (versão impressa) 1773-2247, ISSN (versão online) 2588-8943.

KOLLER, O. C. Características Botânicas das Laranjeiras. In: KOLLER, O. C. (Org.). **Citricultura: 1. Laranja: Tecnologia de Produção, Pós-colheita, Industrialização e Comercialização.** / Editado por I. Manica. – Porto Alegre: Cinco Continentes, 2006a.

KOLLER, O. C. Origem e Importância Econômica da Cultura da Laranjeira. In: KOLLER, O. C. (Org.). **Citricultura: 1. Laranja: Tecnologia de Produção, Pós-colheita, Industrialização e Comercialização.** / Editado por I. Manica. – Porto Alegre: Cinco Continentes, 2006b.

LADANYIA, M. S. **Citrus fruit: biology, technology and evaluation.** Academic Press, 2010.

LANDIM, A. P. M.; BERNARDO, C. O.; MARTINS, I. B. A.; FRANCISCO, M. R.; SANTOS, M. B.; MELO, N. R. Sustentabilidade quanto às embalagens de alimentos no Brasil. **Polímeros: Ciência e Tecnologia**, v. 26, p. 82-92, 2016. Número especial. ISSN (versão impressa) 0104-1428, ISSN (versão online) 1678-5169.

MAIZA, M.; BENANIBA, M. T.; MASSARDIER-NAGEOTTE, V. Plasticizing effects of citrate esters on properties of poly (lactic acid). **Journal of Polymer Engineering**, v. 36, n. 4, p. 371-380, 2016. ISSN (versão impressa) 0334-6447, ISSN (versão online) 2191-0340.

MALI, S.; GROSSMANN, M. V. E.; GARCÍA, M. A.; MARTINO, M. N.; ZARITZKY, N. E. Barrier, mechanical and optical properties of plasticized yam starch films. **Carbohydrate Polymers**, v. 56, n. 2, p. 129-135, 2004. ISSN (versão impressa) 0144-8617, ISSN (versão online) 1879-1344.

MANIGLIA, B. C.; DOMINGOS, J. R.; PAULA, R. L. de; TAPIA-BLÁCIDO, D. R. Development of bioactive edible film from turmeric dye solvent extraction residue. **LWT - Food Science and Technology**, v. 56, n. 2, p. 269–277, 2014. ISSN (versão impressa) 0023-6438, ISSN (versão online) 1096-1127.

MAY, C. D. Industrial pectins: sources, production and applications. **Carbohydrate polymers**, v. 12, n. 1, p. 79-99, 1990. ISSN (versão impressa) 0144-8617, ISSN (versão online) 1879-1344.

MEDEIROS, E. A. A.; MORAES, M. C. B.; SARAIVA, C. S.; CARIOCA, L. J.; RUSCIOLELLI, L. B.; MACANZE, L. J. M.; SOARES, N. F. F. Avaliação de filme de acetato de celulose incorporado com óleo essencial de orégano para conservação de presunto fatiado. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE ALIMENTOS, 25., SIMPÓSIO INTERNACIONAL DE ALIMENTOS DA COMISSÃO INTERNACIONAL DE ENGENHARIA AGRÍCOLA E DE ALIMENTOS, 10., 2016, Gramado. **Anais do XXV Congresso Brasileiro de Ciência e Tecnologia de Alimentos.** Gramado: SBCTA Regional, 2016.

MOHANTY, A. K.; MISRA, M.; DRZAL, L. T.; SELKE, S. E.; HARTE, B. R.; HINRICHSEN, G. Natural fibers, biopolymers, and biocomposites: an introduction. In: MOHANTY, A. K.; MISRA, M.; DRZAL, L. T. (Eds.). **Natural fibers, biopolymers and biocomposites**. Boca Raton: CRC Press, 2005. cap. 1, p. 1–36.

MOHANTY, A. K.; WIBOWO, A.; MISRA, M.; DRZAL, T. Development of renewable resource-based cellulose acetate bioplastic: Effect of process engineering on the performance of cellulosic plastics. **Polymer Engineering & Science**, v. 43, n. 5, p. 1151-1161, 2003. ISSN (versão impressa) 0032-3888, ISSN (versão online) 1548-2634.

NETTO, C. G. Química desenvolve etanol a partir do bagaço da laranja. **Jornal da Unicamp**, Campinas, n. 559, abr./maio. 2013.

NOVOSEL'SKAYA, I. L. VOROPAEVA, N. L.; SEMENOVA, L. N.; RASHIDOVA, S. SH. Trends in the science and applications of pectins. **Chemistry of Natural Compounds**, v. 36, n. 1, p. 1-10, 2000. ISSN (versão impressa) 0009-3130, ISSN (versão online) 1573-8388.

OLIVEIRA, A. C.; Valentim, I. B.; Goulart, M. O. F.; SILVA, C. A.; BECHARA, E. J. H.; TREVISAN, M. T. S. Fontes vegetais naturais de antioxidantes. **Química Nova**, v. 32, n. 3, p. 689-702, 2009. ISSN (versão impressa) 0100-4042. ISSN (versão online) 1678-7064.

OLIVEIRA, A. do N.; MARTINS, M. C. P.; OLIVEIRA, C. G. de; LOPES, M. L. de S.; MATTOS, J. C. S. DE; ESPITIA, P. J. P.; TEIXEIRA, J. M. de A.; PEREIRA, K.; MELO, N. R. de; SOARES, N. de F. F. Avaliação de filme ativo aromatizante e sua aplicação em presunto cozido. **Brazilian Journal of Food Technology**, v. 13, n. 4, p. 299-305, 2010. ISSN (versão online) 1981-6723, ISSN (versão CD-room) 1519-0900, ISSN (versão impressa até 2002) 1516-7275, ISSN (séries de pré-impressão até 2001) 1517-7645.

OLIVEIRA, L. M. de; OLIVEIRA P. A. P. L. V de. Revisão: Principais agentes antimicrobianos utilizados em embalagens plásticas. **Brazilian Journal of Food Technology**, Campinas, v. 7, n. 2. p. 161-165, jul./dez., 2004. ISSN (versão online) 1981-6723, ISSN (versão CD-room) 1519-0900, ISSN (versão impressa até 2002) 1516-7275, ISSN (séries de pré-impressão até 2001) 1517-7645.

ORTIZ, J. M. Botany: taxonomy, morphology and physiology of fruits, leaves and flowers In: DUGO, G.; DI GIACOMO, A. (Ed.). **Citrus: The genus Citrus**. London: Taylor & Francis, 2002.

OTONI, C. G.; SOARES, N. F. F.; SILVA, W. A. da; MEDEIROS, E. A. A.; JÚNIOR, J. C. B. Use of allyl isothiocyanate-containing sachets to reduce *Aspergillus flavus* sporulation in peanuts. **Packaging Technology and Science**, v. 27, n. 7, p. 549–558, 2014. ISSN (versão impressa) 0894-3214, ISSN (versão online) 1099-1522.

PARK, H.-M.; MISRA, M.; DRZAL, L. T.; MOHANTY, A. K. “Green” nanocomposites from cellulose acetate bioplastic and clay: effect of eco-friendly triethyl citrate plasticizer. **Biomacromolecules**, v. 5, n. 6, p. 2281-2288, 2004. ISSN (versão impressa) 1525-7797, ISSN (versão online) 1526-4602.

PELLEGRINI, N.; COLOMBI, B.; SALVATORE, S.; BRENNAN, O. V.; GALAVERNA, G.; DEL RIO, D.; BIANCHI, M.; BENNETT, R. N. BRIGHENTI, F. Evaluation of antioxidant capacity of some fruit and vegetable foods: efficiency of extraction of a sequence of solvents. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 87, p. 103-111, 2007. ISSN (versão impressa) 0022-5142, ISSN (versão online) 1097-0010.

POLA, C. C.; MEDEIROS, E. A. A.; PEREIRA, O. L.; SOUZA, V. G. L.; OTONI, C. G.; CAMILLOTO, G. P.; SOARES, N. F. F. Cellulose acetate active films incorporated with oregano (*Origanum vulgare*) essential oil and organophilic montmorillonite clay control the growth of phytopathogenic fungi. **Food Packaging and Shelf Life**, v. 9, p. 69–78, 2016. ISSN (online) 2214-2894.

PORTAL SAÚDE DIRETA. **Bula Dexador**. Disponível em: <<http://www.saudedireta.com.br/catinc/drugs/bulas/dexador.pdf>>. Acesso em: 29 de jun. de 2018.

RABELLO, M. Plastificantes. In: RABELLO, M. **Aditivação de polímeros**. Artliber, cap. 3, p. 63-86. 2000.

REALINI, C. E.; MARCOS, B. Active and intelligent packaging systems for a modern society. **Meat Science**, v. 98, n. 3, p. 404–419, 2014. ISSN (versão impressa) 0309-1740, ISSN (versão online) 1873-4138.

REIS, D.; FRIEDE, R.; LOPES, F. H. P. Política nacional de resíduos sólidos (Lei nº 12.305/2010) e educação ambiental. **Revista Interdisciplinar de Direito**, Valença, v. 14, n. 1, p. 99-111, jan./jun. 2017. ISSN (versão impressa) 1518-8167, ISSN (versão online) 2447-4290.

RESENDE, J. C.; SOUZA, V. G. L.; SOARES, N. F. F.; MEDEIROS, E. A. A.; COSTA, A. F. R.; DOMENEZ, L. P.; RUSCIOLELLI, L. B. Avaliação de filmes celulósicos, com função ativa antioxidante, como embalagem para carne cozida. In: WORKSHOP DE NANOTECNOLOGIA APLICADA AO AGRONEGÓCIO, 8., 2014, Juiz de Fora. **Anais do VIII Workshop de Nanotecnologia Aplicada ao Agronegócio**. Juiz de Fora: Rede AgroNano, 2014. p. 171-175. ISSN 2175-8395.

RODOLFO JR, A.; NUNES, L. R.; ORMANJI, W. Tecnologia do PVC. **Proeditores/Braskem, São Paulo**, v. 2, 447 p., 2006.

RUVIARO, L.; NOVELLO, D.; ALMEIDA, J. M. de; QUINTILIANO, D. A. Análise sensorial de sobremesa acrescida a farelo de casca e bagaço de laranja entre universitários de Guarapuava (PR). **Revista Salus**, v.2, n.2, p.41-50, 2008. ISSN (impressa) 1980-2404.

SANTOS, C. M.; DWECK, J.; VIOTTO, R. S.; ROSA, A. H.; DE MORAIS, L. C. Application of orange peel waste in the production of solid biofuels and biosorbents. **Bioresource Technology**, v. 196, p. 469–479, 2015. ISSN (versão impressa) 0960-8524, ISSN (versão online) 1873-2976.

SANTOS, T. C.; GOMES, D. P. P.; FILHO, G. A.; FRANCO, M. Enriquecimento proteico dos resíduos sólidos do processamento de frutas. **Enciclopédia Biosfera**, Goiânia, v. 6, n. 11, 2010. ISSN (versão impressa) 1809-0583, ISSN (versão online) 2317-2606.

SCHELLER, H. V.; JENSEN, J. K. SØRENSEN, S. O. HARHOLT, J.; GESHI, N. Biosynthesis of pectin. **Physiologia Plantarum**, v. 129, n. 2, p. 283-295, 2007. ISSN (versão impressa) 0031-9317, ISSN (versão online) 1399-3054.

SCHNEIDER, V. E.; PERESIN, D.; TRENTIN, A. C.; BORTOLIN, T. A.; SAMBUICHI, R. H. R. **Diagnóstico dos resíduos orgânicos do setor agrossilvopastoril e agroindústrias associadas: relatório de pesquisa**. Brasília: Ipea, 2012.

SERVIÇO BRASILEIRO DE APOIO ÀS MICRO E PEQUENAS EMPRESAS (SEBRAE). **Agronegócio - Fruticultura**. SIM – Serviço de Inteligência de Mercado. Boletim de Inteligência. Out. 2015.

SEJIDOV, F. T.; MANSOORI, Y.; GOODARZI, N. Esterification reaction using solid heterogeneous acid catalysts under solvent-less condition. **Journal of Molecular Catalysis A: Chemical**, v. 240, n. 1-2, p. 186-190, 2005. ISSN (versão impressa) 1381-1169, ISSN (versão online) 1873-314X.

SIGMA-ALDRICH®. **Triethyl citrate**. Disponível em: <<http://www.sigmaaldrich.com/catalog/product/aldrich/w308307?lang=pt®ion=BR>> Acesso em: 28 de jun. de 2018.

SOARES, N. D. F. F.; SILVA, W. A. da; PIRES, A. C. dos S.; CAMILLOTO, G. P.; SILVA, P. S. Novos desenvolvimentos e aplicações em embalagens de alimentos. **Ceres**, v. 56, n. 4, p. 370–378, 2009. ISSN (versão impressa) 0034-737X, ISSN (versão online) 2177-3491.

SOCIEDADE AMERICANA DE TESTES E MATERIAIS (ASTM). **ASTM D 6400 - 04. Standard Specification for Compostable Plastics**, 2004.

SOUZA, A. C.; DITCHFIELD, C.; TADINI, C. C. Biodegradable films based on biopolymers for food industries. In: PASSOS, M. L.; RIBEIRO, C. P. (Eds.). **Innovation in Food Engineering: New techniques and products**. Boca Raton: CRC Press, 2010. cap. 17. p. 511-537.

SWINGLE, W. T.; REECE, P. C. **The botany of *Citrus* and its wild relatives**. Disponível em: <<http://websites.lib.ucr.edu/agnic/webber/Vol1/Chapter3.html>>. Acesso em: 5 de set. de 2016.

TABELA DE COMPOSIÇÃO QUÍMICA DOS ALIMENTOS (TABNUT). Departamento de Informática em Saúde. Escola Paulista de Medicina. Universidade Federal de São Paulo. Disponível em: <<http://tabnut.dis.epm.br/>>. Acesso em: 22 de maio de 2018.

THARANATHAN, R. N. Biodegradable films and composite coatings: past, present and future. **Trends in Food Science & Technology**, v. 14, n. 3, p. 71-78, 2003. ISSN (versão impressa) 0924-2244, ISSN (versão online) 1879-3053.

VANDERROOST, M.; RAGAERT, P.; DEVLIEGHERE, F.; MEULENAER, B. de. Intelligent food packaging: The next generation. **Trends in Food Science & Technology**, v. 39, n. 1, p. 47-62, set. 2014. ISSN (versão impressa) 0924-2244, ISSN (versão online) 1879-3053.

WYPYCH, G. (Ed.). **Handbook of plasticizers**. ChemTec Publishing, 2017. 870 p.

Capítulo 1

ELABORAÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DA FARINHA A PARTIR DOS RESÍDUOS SÓLIDOS DO PROCESSAMENTO INDUSTRIAL DE LARANJA

RESUMO

Objetivou-se com este estudo elaborar uma farinha a partir dos resíduos industriais do processamento de laranja após a extração do suco dessa fruta e caracterizar a mesma para posterior utilização como matéria-prima na elaboração de filmes biodegradáveis ativos. O bagaço de laranja utilizado foi doado por uma empresa processadora da fruta. O material foi armazenado em embalagens de polietileno de baixa densidade e mantido a $-18\text{ }^{\circ}\text{C}$ em freezer doméstico. No momento da sua utilização, o mesmo foi descongelado, seco em estufa a $40\text{ }^{\circ}\text{C}$ e submetido à moagem em moinho de facas rotativo. A farinha obtida foi armazenada em potes plásticos e mantida a $-18\text{ }^{\circ}\text{C}$. Foram determinados o rendimento do processo de obtenção, a granulometria, os teores de carotenoides, de ácido ascórbico, de compostos fenólicos totais e de pectina, o pH, a acidez, a atividade de água e a microestrutura da farinha. O rendimento do processo de obtenção da farinha apresentou valor satisfatório para aplicações que visem o aproveitamento dos resíduos do processamento de laranja na forma seca e triturada. A maior fração da mesma apresentou granulometrias entre 0,500 e 0,600 mm ($28,27 \pm 6,15\%$) e menor do que 0,355 mm ($25,61 \pm 6,37\%$). Os teores de carotenoides, de ácido ascórbico, de fenólicos totais e de pectina da farinha foram, respectivamente, $14,70 \pm 0,66\text{ }\mu\text{g de carotenoides.g}^{-1}$ de farinha, $35,17 \pm 4,63\text{ mg de ácido ascórbico.100 g}^{-1}$ de farinha, $553,40 \pm 30,4\text{ mg de ácido gálico.100 g}^{-1}$ de farinha (extrato aquoso) e $557,32 \pm 21,69\text{ mg de ácido gálico.100 g}^{-1}$ de farinha (extrato hidroalcoólico) e $11,32 \pm 0,50\%$. Os valores de pH, acidez e atividade de água obtidos foram respectivamente $3,42 \pm 0,02$; $0,26 \pm 0,01\text{ g de ácido cítrico.100 g}^{-1}$ de farinha e $0,468 \pm 0,006$. A análise de microestrutura indicou que as partículas da farinha apresentaram tamanho e forma heterogêneos. A farinha de resíduos do processamento industrial de laranja obtida e caracterizada neste trabalho apresentou características físico-químicas, granulométricas e estruturais satisfatórias para utilização como matéria-prima no desenvolvimento de processos tecnológicos.

Palavras-chave: bagaço industrial de laranja; caracterização físico-química; classificação granulométrica; microestrutura.

ABSTRACT

It was aimed with this study to elaborate a flour from the industrial orange processing waste after the juice extraction of this fruit and to characterize it for later use as base material in the elaboration of active biodegradable films. The orange bagasse used was provided by a company that processes the fruit. The material was stored in low density polyethylene packages and kept at $-18\text{ }^{\circ}\text{C}$ in a domestic freezer. At the time of its use, it was thawed, dried at $40\text{ }^{\circ}\text{C}$ and grinded in a rotary knife mill. The obtained flour was stored in plastic pots and maintained at $-18\text{ }^{\circ}\text{C}$. The yield of the flour obtaining process, its granulometry, its carotenoids, ascorbic acid, total phenolic compounds and pectin contents, pH, acidity, water activity and microstructure were determined. The yield of the flour obtaining process presented satisfactory value for applications that aim the use of the orange processing waste at the dry and powdered form. The largest flour fraction presented granulometry between 0.500 and 0.600 mm ($28.27 \pm 6.15\%$) and less than 0.355 mm ($25.61 \pm 6.37\%$). The flour carotenoids, ascorbic acid, total phenolics compounds and pectin contents were $14.70 \pm 0.66\text{ }\mu\text{g}$ of carotenoids. g^{-1} of flour, $35.17 \pm 4.63\text{ mg}$ of ascorbic acid. 100 g^{-1} of flour, $553.40 \pm 30.4\text{ mg}$ of gallic acid. 100 g^{-1} of flour (aqueous extract) and $557.32 \pm 21.69\text{ mg}$ of gallic acid. 100 g^{-1} of flour (hydroalcoholic extract) and $11.32 \pm 0.50\%$ respectively. The obtained pH, acidity and water activity values were respectively equal to 3.42 ± 0.02 ; $0.26 \pm 0.01\text{ g}$ of citric acid. 100 g^{-1} of flour and 0.468 ± 0.006 . The microstructure analysis indicated that the particles had heterogeneous size and shape. The flour from industrial orange processing waste obtained and characterized in this work presented satisfactory physical-chemical, granulometric and structural characteristics for use as raw material in the development of technological processes.

Keywords: orange processing waste; physicochemical characterization; granulometric classification; microstructure.

1 INTRODUÇÃO

O grande volume de resíduos gerados com o processamento de laranja após a extração industrial do suco dessa fruta e a variedade de compostos presentes nesse material têm despertado o interesse de pesquisadores para o desenvolvimento de novas tecnologias que permitam o melhor aproveitamento dos mesmos, pois apesar de existirem muitas possibilidades de uso desses resíduos, a quantidade diária gerada ainda é muito elevada.

Trabalhos que envolvem o uso desses resíduos na forma de farinha, produzida por meio da secagem e posterior moagem desse material, podem ser encontrados na literatura (BOFF et al., 2013; MACAGNAN et al., 2014; STORCK et al., 2015). Uma das vantagens de se utilizar os resíduos originados do processamento de frutas na forma de farinha é a estabilidade que a mesma apresenta por possuir teor de umidade baixo em relação ao material *in natura*, o que, associado a outros fatores como baixo pH, dificulta o crescimento de micro-organismos como fungos e bactérias no meio (ABUD; NARAIN, 2009), podendo possibilitar o armazenamento desses resíduos por um período de tempo maior.

A farinha de resíduos do processamento de laranja, por ser rica em nutrientes e apresentar fibras solúveis (como a pectina) e outros compostos funcionais em sua constituição, tem sido avaliada como fibra dietética (MACAGNAN et al., 2015) e nas formulações de produtos alimentícios como os de panificação (SANTOS et al., 2011; SILVA et al., 2012; TOZATTI et al., 2013), cárneos (NERES et al., 2016), sobremesas (RUVIARO et al., 2008; BOFF et al., 2013), entre outros, como substituto de algum ingrediente (MACAGNAN et al., 2014; STOLL; FLÔRES; THYS, 2015) ou mesmo como ingrediente adicional aos mesmos com o objetivo de enriquecer nutricionalmente o produto final (RUVIARO et al., 2008).

Os resíduos do processamento de laranja secos e triturados também já foram estudados como matéria-prima em processos fermentativos para a obtenção de produtos como o etanol 2G, enzimas, aromas, ácidos orgânicos, açúcares redutores, nanocelulose entre outros por meio do cultivo de micro-organismos em estado sólido e semi-sólido ou por hidrólises ácidas e enzimáticas (SILVA et al., 2014; CYPRIANO et al., 2016; NOGUEIRA, 2016; SILVA et al., 2016), na extração de compostos como a pectina, polifenóis, óleo essencial de laranja, óleo das sementes, entre outros (MORENO; JORGE, 2005; ARORA, KAUR, 2013, CYPRIANO et al., 2016; SILVA et al., 2016), na elaboração, juntamente com resíduos de outras frutas e hortaliças, de filmes

biodegradáveis (BRUNO et al., 2014; FAI et al., 2015; ANDRADE; FERREIRA; GONÇALVES, 2016; FERREIRA et al., 2016), entre outras avaliações.

Assim, objetivou-se com o presente trabalho elaborar uma farinha utilizando resíduos do processamento industrial de laranja e caracterizar a mesma quanto às suas características físico-químicas, granulométricas e microestruturais para posterior uso na elaboração de filmes biodegradáveis ativos para alimentos.

2 MATERIAL E MÉTODOS

As análises experimentais foram conduzidas no Laboratório de Embalagens, no Laboratório de Análise de Alimentos e no Laboratório de Panificação e Massas do Departamento de Tecnologia de Alimentos e no Laboratório de Instrumentação e Química Ambiental do Departamento de Química da Universidade Federal de Viçosa em Viçosa – Minas Gerais.

2.1 Delineamento experimental

Os experimentos realizados foram conduzidos sob o delineamento inteiramente casualizado (DIC).

2.2 Matéria-prima: bagaço industrial de laranja

O bagaço industrial de laranja foi obtido por meio de doação por uma empresa de suco de laranja (variedade Pêra Rio) localizada no município de Belo Horizonte – Minas Gerais. O material foi coletado no momento do processamento das laranjas em janeiro de 2017 utilizando-se baldes plásticos previamente sanitizados. Em seguida, foi armazenado em embalagens de polietileno de baixa densidade e congelado em freezer doméstico a -18 °C. O bagaço congelado foi transportado até a cidade de Viçosa – Minas Gerais em caixas térmicas e foi mantido em freezer doméstico a -18 °C até o momento da sua utilização, quando foi descongelado, pesado e cortado manualmente em fragmentos menores.

2.3 Obtenção da farinha de bagaço industrial de laranja (FBIL)

Para a obtenção da farinha de bagaço industrial de laranja, foi utilizada a metodologia de Benelli (2010) com algumas modificações. O bagaço úmido manualmente cortado em fragmentos menores foi distribuído em fôrmas de alumínio e, em seguida, foi submetido à secagem a 40 °C em estufa de esterilização e secagem (Ethik Technology Produtos e Equipamentos Científicos Ltda., modelo 400/*ND 400/*ND-300) até a obtenção de massa constante, a qual foi monitorada com o auxílio de uma balança semi-analítica (Shimadzu, modelo UX6 200H).

O bagaço seco foi triturado em um moinho de facas rotativo (Brabender) utilizando-se uma peneira de 18 mesh Tyler (1,0 mm de abertura). Toda a farinha obtida (tanto a de granulometria inferior a 18 mesh Tyler quanto a remanescente no interior do moinho, cuja granulometria era superior a 18 mesh Tyler) foi coletada com o intuito de se garantir maior rendimento no processo de obtenção da mesma. Em seguida, a farinha obtida foi pesada e armazenada em potes plásticos em freezer doméstico a -18 °C até o momento da realização das análises.

2.4 Rendimento do processo de obtenção da FBIL

Foram utilizados 15,104 kg de bagaço industrial de laranja úmido para a elaboração da FBIL. O rendimento do processo de obtenção da FBIL foi calculado por meio da Equação 1 e expresso em percentual.

$$R = \left(\frac{m_f}{m_i} \right) * 100 \quad (1)$$

Em que:

R = rendimento do processo de obtenção da FBIL (%);

m_f = massa final do bagaço após secagem e moagem do mesmo (farinha) (g);

m_i = massa inicial do bagaço antes da secagem e moagem do mesmo (g).

2.5 Caracterização da FBIL

A farinha de bagaço industrial de laranja foi caracterizada quanto à sua granulometria, teores de carotenoides, ácido ascórbico, compostos fenólicos totais e pectina, pH, acidez, atividade de água e microestrutura.

2.5.1 Granulometria

A determinação da granulometria da FBIL foi realizada a fim de se avaliar o tamanho das partículas da mesma. A análise foi realizada com o auxílio de um agitador de peneiras eletromagnético (Bertel, Brasil) segundo a metodologia de Andrade, Ferreira e Gonçalves (2016) com algumas modificações. Uma alíquota da farinha (100 g) foi peneirada por 20 minutos em um conjunto de seis peneiras com os seguintes tamanhos: 14, 24, 28, 32, 35 e 42 mesh Tyler, considerando-se também a base de fundo do equipamento. O material retido em cada peneira e na base foi pesado e expresso em percentagem de retenção. A análise foi realizada em três repetições.

2.5.2 Teor de carotenoides

A determinação do teor de carotenoides da FBIL foi realizada por análise espectrofotométrica conforme procedimento descrito por Rodriguez-Amaya (2001) com algumas modificações.

A extração dos carotenoides presentes na FBIL foi realizada pesando-se 2,0 g da mesma e adicionando-se 10,0 mL de acetona (Vetec) refrigerada ao material. A mistura foi levada a um homogeneizador (ULTRA-TURRAX IKA[®] T25 digital) na velocidade de 10.000 rpm durante 60 s e foi filtrada em funil de Büchner utilizando-se papel filtro qualitativo. O material remanescente no papel filtro foi coletado e novamente submetido à extração dos carotenoides conforme descrito anteriormente. O procedimento de extração e filtragem foi repetido por mais três vezes (totalizando quatro extrações) até a acetona se apresentar incolor.

O filtrado (extrato de acetona) foi transferido para um funil de separação contendo 50 mL de éter de petróleo (Vetec) e ao mesmo foram adicionados, lentamente, 25 mL de água ultra pura. A fase inferior formada (água + acetona) foi descartada e o resíduo no funil (éter + carotenoides) foi lavado outras três vezes com água ultra pura até que toda a acetona residual fosse removida. O extrato presente no éter de petróleo foi filtrado em papel filtro qualitativo contendo sulfato de sódio anidro (Vetec) e transferido para um balão volumétrico de 100 mL, completando-se o volume do mesmo com éter de petróleo. A leitura da amostra foi realizada em espectrofotômetro UV/VIS (modelo UV-1800, Shimadzu, Japão) em comprimento de onda de 450 nm e o teor de carotenoides foi calculado por meio da Equação 2. A análise foi realizada em três repetições e em duplicata.

$$CT = \frac{Abs * V * 10^4}{A_{1cm}^{1\%} * m} \quad (2)$$

Em que:

CT = carotenoides totais ($\mu\text{g/g}$);

Abs = absorbância da solução no comprimento de onda de 450 nm;

V = volume final da solução (mL);

$A_{1cm}^{1\%}$ = coeficiente de absorção do carotenoide no solvente utilizado ($A_{1cm}^{1\%} = 2.592$ para o β -caroteno em éter de petróleo);

m = massa da amostra (g).

2.5.3 Teor de ácido ascórbico

O teor de ácido ascórbico da FBIL foi determinado segundo o Método Oficial 967.21 da Associação de Analistas Químicos Oficiais (AOAC) (Ácido Ascórbico em Preparações Vitamínicas e Sucos - Método Titrimétrico 2,6-dicloroindofenol) (AOAC, 1998) e o método 365/IV (Determinação de vitamina C pelo método de Tillmans) do Instituto Adolfo Lutz (ZENEBO; PASCUET; TIGLEA, 2008a) com algumas modificações realizadas por Gomes e Oliveira (2011).

Foram preparadas soluções de ácido metafosfórico (Vetec) e de 2,6-diclorofenolindofenol (sal sódico) (Vetec) pouco tempo antes do uso e uma solução-padrão de ácido ascórbico (Alphatec) imediatamente antes da realização da análise.

Uma alíquota de 5,0 mL da solução de ácido metafosfórico adicionada de 2,0 mL da solução-padrão de ácido ascórbico (amostra padrão) foi titulada com a solução de 2,6-diclorofenolindofenol até coloração rósea mantida por cinco segundos.

Uma alíquota de 7,0 mL da solução de ácido metafosfórico adicionada do volume de água ultra pura igual à média do volume da solução de 2,6-diclorofenolindofenol gasto na titulação do padrão (branco) também foi titulada conforme descrito anteriormente e o cálculo do fator da solução de Tillmans (F) foi feito de acordo com a Equação 3.

$$F = \frac{m \text{ (mg de ácido ascórbico)}}{V_p \text{ (mL)} - V_b \text{ (mL)}} \quad (3)$$

Em que:

F = fator da solução de Tillmans;

m = massa de ácido ascórbico utilizada na titulação (mg);

V_p = volume gasto na titulação do padrão (mL);

V_b = volume gasto na titulação do branco (mL).

Para a determinação do teor de ácido ascórbico da FBIL, 10,0 mL da solução de ácido metafosfórico foram adicionados a 250 mg do material. A mistura foi homogeneizada e transferida para um balão volumétrico de 25 mL, cujo volume foi completado com a solução de ácido metafosfórico e homogeneizado. Uma alíquota de 7,0 mL da amostra foi titulada com a solução de 2-6-diclorofenolindofenol até que a coloração róseo-clara persistisse por 5 segundos.

O cálculo do teor de ácido ascórbico presente na farinha foi realizado por meio da Equação 4. A análise foi realizada em três repetições e em duplicata.

$$m = (X - B) * \frac{F}{E} * \frac{V}{Y} \quad (4)$$

Em que:

m = massa de ácido ascórbico presente em 1 g de farinha (mg de ácido ascórbico.1 g⁻¹ de farinha);

X = volume médio gasto na titulação da amostra (mL);

B = volume médio gasto na titulação do branco (mL);

F = fator da solução de Tillmans (mg de ácido ascórbico equivalente para 1,0 mL da solução padrão de 2-6-diclorofenolindofenol);

E = massa de farinha ensaiada (g);

V = volume inicial de solução ensaiado (mL);

Y = alíquota de volume da amostra titulada (mL).

2.5.4 Teor de compostos fenólicos totais

A determinação do teor de compostos fenólicos totais da FBIL foi realizada por método espectrofotométrico de *Folin-Ciocalteu* segundo a metodologia de Swain e Hills (1959) conforme descrito por Sousa et al. (2011) com algumas modificações.

Dois extratos da FBIL foram preparados: um aquoso e um hidroalcoólico. Foram pesados 2,5 g da FBIL aos quais foram adicionados 25 mL de água ultra pura (para a obtenção do extrato aquoso) ou 20 mL de água ultra pura + 5 mL de álcool etílico absoluto 99,5 % (Dinâmica) (para a obtenção do extrato hidroalcoólico). A mistura foi

submetida à agitação em agitador magnético (Fisatom Brasil Mod. 753 A Série 1542911) por 1 h à temperatura ambiente ($25\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$) e, em seguida, foi centrifugada a 3.000 rpm por 5 min ($T = 25\text{ }^{\circ}\text{C}$) em centrífuga (Sigma® Laboratory Centrifuges 4K15). O sobrenadante foi filtrado e armazenado em frasco de vidro âmbar.

Os extratos obtidos foram diluídos (diluição 1:10) e alíquotas de 0,5 mL dos mesmos foram transferidas para tubos de ensaio onde foram adicionados 8 mL de água ultra pura e 0,5 mL do reagente *Folin-Ciocalteu* (Sigma-Aldrich). As soluções foram homogeneizadas e armazenadas ao abrigo da luz por três minutos. Transcorrido esse tempo, foi adicionado 1 mL da solução saturada de carbonato de sódio (Synth) às mesmas, deixando-as em repouso ao abrigo da luz por uma hora. A leitura da absorbância das amostras foi realizada em espectrofotômetro UV-VIS a 720 nm.

Foi preparada uma curva analítica utilizando-se soluções diluídas ácido gálico (Sigma-Aldrich) cujas concentrações variaram de 0 a $200\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$. Para o cálculo do teor de fenólicos totais presentes na amostra, foi utilizada a equação da curva analítica (Equação 5) ($R^2 = 0,9979$).

$$y = 0,0017x - 0,0033 \quad (5)$$

Em que:

y = absorbância a 720 nm;

x = concentração de ácido gálico equivalente ($\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$).

O teor de compostos fenólicos totais presentes na FBIL foi expresso em mg de ácido gálico.100 g^{-1} de farinha. A análise foi realizada em três repetições e em duplicata.

2.5.5 Teor de pectina

O teor de pectina da FBIL foi determinado segundo a metodologia de Rangana (1979), na forma de pectato de cálcio.

Uma mistura de 20 g da FBIL e 400 mL de solução de HCl 0,05 M foi aquecida por duas horas a $80\text{-}90\text{ }^{\circ}\text{C}$ (repondo-se a água perdida por evaporação quando necessário), resfriada a $25\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$ e transferida para uma proveta de 500 mL, cujo volume foi completado com água destilada e filtrado em papel filtro qualitativo.

A 200 mL do filtrado foram acrescentados 250 mL de água destilada. As soluções foram neutralizadas com NaOH 1 M com o auxílio de um peagâmetro de bancada (PG1800, Gehaka) e foram adicionados mais 10 mL de NaOH 1 M às mesmas, as quais foram mantidas sob agitação constante em agitador magnético (Fisatom Brasil Mod. 753 A Série 1542911). Em seguida, foram deixadas em repouso durante uma noite (*overnight*).

Uma alíquota de 50 mL de ácido acético 1 M foi adicionada às soluções e, após 5 minutos, foram acrescentados 25 mL de solução de CaCl₂ 1 M às mesmas, sob agitação. As soluções foram aquecidas, mantendo-se a ebulição por 2 minutos, e foram deixadas em repouso por 3 horas. As suspensões foram filtradas a vácuo utilizando-se papel filtro qualitativo previamente seco (em estufa a 105 °C até massa constante) e pesado. O material retido no papel filtro foi lavado com água destilada fervente até que ficasse livre de cloretos, cuja presença foi verificada acrescentando-se 1 mL de uma solução de nitrato de prata a 1 % ao filtrado (turbidez indica presença de cloretos).

O papel filtro contendo o pectato de cálcio foi seco em estufa a 105 °C até massa constante e a pectina foi expressa em percentagem de pectato de cálcio conforme a Equação 6. A análise foi realizada em três repetições e em duplicata.

$$P_{pc} = \frac{(m_{\text{pectato de cálcio}} - m_{\text{papel filtro}}) * 500}{m_{\text{amostra}} * V_{\text{filtrado}}} * 100 \quad (6)$$

Em que:

P_{pc} = Percentual de pectato de cálcio (%);

$m_{\text{pectato de cálcio}}$ = massa do papel filtro contendo o pectato de cálcio (g);

$m_{\text{papel filtro}}$ = massa do papel filtro (g);

m_{amostra} = massa da amostra (g);

V_{filtrado} = volume do filtrado (mL).

2.5.6 pH

O pH da FBIL foi avaliado segundo metodologia descrita pelo Instituto Adolfo Lutz para a determinação do pH de farinhas e produtos similares (ZENEBO; PASCUET; TIGLEA, 2008b). Foram pesados 10 g da amostra e, a essa massa, foram adicionados 100 mL de água ultra pura. O conteúdo foi agitado em agitador magnético (Fisatom Brasil Mod. 753 A Série 1542911) até que as partículas ficassem

uniformemente suspensas. Em seguida, o pH da amostra foi medido utilizando-se um peagâmetro de bancada (PG1800, Gehaka) previamente calibrado. A análise foi realizada em três repetições e em duplicata.

2.5.7 Acidez

A acidez total titulável da FBIL foi avaliada de acordo com o método descrito pelo Instituto Adolfo Lutz para a determinação da acidez álcool-solúvel de farinhas e produtos similares (ZENEBO; PASCUET; TIGLEA, 2008b). Foram pesados 2,5 g da FBIL em um erlenmeyer de 125 mL onde foram adicionados 50 mL de álcool etílico absoluto 99,5 % (Dinâmica) neutralizado. Após repouso de 24 horas, procedeu-se com a titulação do sobrenadante (20 mL) utilizando-se solução de hidróxido de sódio 0,01 M (Vetec) e solução de fenolftaleína 1 % (Vetec) como indicador, monitorando-se o pH da solução até que o mesmo atingisse valor igual a 8,3 (ponto final da titulação com a fenolftaleína). Uma prova em branco foi feita utilizando-se 20 mL do etanol absoluto neutralizado, em duplicata.

A acidez da FBIL foi expressa em função do ácido cítrico (ácido predominante em frutas). A análise foi realizada em três repetições e em duplicata.

2.5.8 Atividade de água

A atividade de água da FBIL foi determinada utilizando-se um medidor de atividade de água (*Dew Point Water Activity Meter 4TE*, AquaLab) a 25 °C. A análise foi realizada em três repetições e em duplicata.

2.5.9 Microestrutura

A estrutura superficial das amostras da FBIL foi avaliada através de observações feitas a partir das imagens obtidas por meio de um Microscópio Eletrônico de Varredura (*Model TM3000*, Hitachi).

Adesivos contendo uma camada de carbono foram fixados (um por vez) em um *stub* e pequenas porções das amostras foram colocadas sobre os mesmos a fim de se proceder com a obtenção das imagens em diferentes aumentos. Foi utilizado vácuo baixo e modo *Analy*.

2.6 Análise estatística

Os dados obtidos com a análise de determinação da granulometria da FBIL foram submetidos à análise de variância (ANOVA) em nível de 5 % de significância ($p < 0,05$) e as médias foram comparadas pelo teste de Tukey, também em nível de 5 % de significância ($p < 0,05$). Para a análise estatística dos dados foi utilizado o programa estatístico Minitab[®] 17 (versão 17.1.0, Minitab, Inc., 2013). Os resultados das demais análises foram expressos em médias e desvios padrões e calculados utilizando-se o programa Microsoft[®] Office Excel[®] 2007 (versão 12.0.6787.5000, Microsoft Corporation, 2008). A microestrutura da FBIL foi avaliada por meio da análise visual das imagens obtidas por microscopia eletrônica de varredura.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 Rendimento do processo de obtenção da FBIL

O rendimento do processo de obtenção da FBIL foi de 21,74 % (3,283 kg de farinha). Esse valor foi maior do que o obtido por Bublitz et al. (2013), que elaboraram uma farinha de albedo de laranja para utilização no enriquecimento nutricional em formulações de produtos de panificação e obtiveram rendimento igual a 5 %.

Também foi maior do que o valor obtido por Ferreira et al. (2015), que produziram uma farinha a partir de resíduos de frutas e hortaliças obtiveram rendimento de 10 % em relação à quantidade inicial de material utilizada. Essa diferença pode ser explicada pelo total aproveitamento da farinha presente no interior do moinho no presente trabalho.

O rendimento do processo de obtenção da farinha foi relativamente baixo não em virtude do processo em si utilizado, mas devido ao alto teor de água apresentado pelo bagaço industrial de laranja. A umidade do bagaço de laranja utilizado por Fiorentin et al. (2010), o qual foi cedido por uma empresa processadora do suco da fruta, apresentou valor igual a 85 %. Cypriano et al. (2016) verificaram que o bagaço industrial de laranja avaliado apresentou umidade de 78,23 %. Cavichiolo, Biagi e Junior (2014) caracterizaram o bagaço industrial de laranja úmido e seco e verificaram que o material úmido apresentou umidade de 68,73 %. Assim, grande parte da massa inicial do bagaço industrial de laranja perdida no processo de obtenção da FBIL utilizado foi devido à evaporação da água com o processo de secagem.

Dessa forma, avaliando-se o rendimento do processo de obtenção da FBIL considerando-se a massa inicial seca do bagaço industrial de laranja (3,386 kg), o mesmo apresentou valor igual a 96,96 %.

3.2 Caracterização da FBIL

3.2.1 Granulometria

Na Tabela 4, podem-se verificar as médias da massa de farinha retida e as porcentagens de retenção médias de farinha em cada uma das peneiras utilizadas em função da granulometria da FBIL.

Tabela 4 – Distribuição granulométrica da farinha de bagaço industrial de laranja (100 g).

Peneira (mesh Tyler)	Abertura (mm)	Massa média de farinha retida (g)*	Porcentagem de retenção média (%)*
14	1,180	0,28 ± 0,28 ^d	0,28 ^d
24	0,710	16,23 ± 1,97 ^c	16,23 ^c
28	0,600	16,97 ± 2,57 ^{bc}	16,97 ^{bc}
32	0,500	28,27 ± 6,15 ^a	28,27 ^a
35	0,425	5,63 ± 2,29 ^d	5,63 ^d
42	0,355	5,61 ± 2,68 ^d	5,61 ^d
Fundo	-	25,61 ± 6,37 ^{ab}	25,61 ^{ab}

*As médias seguidas pela mesma letra não diferem significativamente entre si em nível de 5 % de significância pelo teste de Tukey.

Pode-se perceber que a FBIL ficou retida significativamente em maior quantidade ($p < 0,05$) na peneira de 32 mesh Tyler (abertura de 0,500 mm de diâmetro) e na base de fundo do equipamento, ou seja, apresentou, em sua maior parte, granulometria entre 0,500 e 0,600 mm ($28,27 \pm 6,15$ %) e menor do que 0,355 mm ($25,61 \pm 6,37$ %).

É importante salientar que a farinha retida em algumas das peneiras utilizadas apresentou porções com características distintas quando visualmente comparadas entre si. A heterogeneidade apresentada pelo material possivelmente ocorreu em virtude da presença de diferentes partes da fruta (flavedo, albedo, membranas e sementes) no bagaço, as quais apresentam constituição distinta. Também foi percebida ligeira aglomeração de parte do material analisado, o que pode ter impossibilitado a passagem de outras partículas que apresentassem granulometria inferior à abertura da peneira e influenciado os resultados obtidos nessa análise. Acredita-se que essa porção da farinha

tenha sofrido aglomeração em virtude da presença do óleo fixo proveniente das sementes no material analisado (o qual pode ter contribuído para a geração de um material relativamente mais compacto) e também devido à umidade da farinha.

Na Figura 4 pode-se visualizar o aspecto apresentado pelas frações da FBIL submetida à classificação granulométrica retidas no conjunto de peneiras utilizado para a realização da análise.

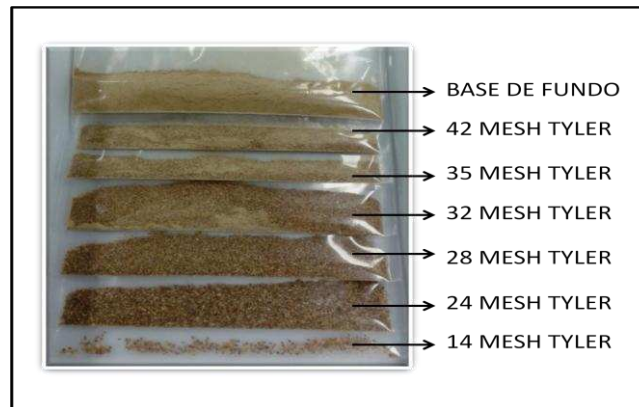


Figura 4 - Foto das diferentes frações da farinha de bagaço industrial de laranja obtidas após a classificação granulométrica da mesma em peneiras de aberturas de 14, 24, 28, 32, 35 e 42 mesh Tyler e na base de fundo do equipamento.

Andrade, Ferreira e Gonçalves (2016) caracterizaram uma farinha proveniente de resíduos de frutas e hortaliças e também verificaram heterogeneidade quanto à granulometria das partículas. De acordo com os autores, mesmo após vigorosa moagem do material, houve significativa retenção do mesmo na peneira de 20 mesh Tyler, justificada pela presença de talos e aparas.

Storck et al. (2015) avaliaram farinhas elaboradas a partir de resíduos da produção de diferentes sucos de frutas (utilizando um macromoinho de facas com apenas uma passagem) e verificaram que a maior fração da farinha de resíduos da produção de suco de laranja apresentou granulometria $> 0,600$ mm (farinha que não passou na peneira de $0,600$ mm), valor próximo ao encontrado no presente trabalho para uma das maiores frações obtidas da FBIL.

O diâmetro médio das partículas irá variar, por exemplo, com o tipo de moinho e com a abertura da peneira utilizada na moagem do material e exerce grande influência em algumas das propriedades apresentadas pelas farinhas.

Borges et al. (2003) afirmam que o tamanho das partículas da farinha pode influenciar na capacidade de absorção de água pela mesma e também no tempo de mistura, nas características sensoriais (como aparência, sabor e textura) e no tempo de cozimento de massas alimentícias. Mira et al. (1999), ao estudarem a extração do óleo

essencial de laranja por fluido supercrítico, verificaram que o tamanho das partículas da farinha elaborada em seu trabalho a partir da casca de laranja desidratada influenciou no processo de extração do óleo essencial.

Assim, o conhecimento do diâmetro das partículas de farinhas é de fundamental importância no desenvolvimento de novos processos tecnológicos que visem a sua utilização.

3.2.2 Teor de carotenoides

O teor de carotenoides médio da FBIL foi de $14,70 \pm 0,66 \mu\text{g}$ de carotenoides.g⁻¹ de farinha, valor superior ao encontrado por Crizel et al. (2013) para fibra de laranja elaborada a partir da casca, bagaço (membranas e polpa residual) e sementes de laranja ($9,5 \pm 0,9 \mu\text{g}$ de carotenoides.g⁻¹ de fibra) e a partir somente da casca da fruta ($12,1 \pm 1,1 \mu\text{g}$ de carotenoides.g⁻¹ de fibra) e inferior ao encontrado por Clemente et al. (2012), que obtiveram valor igual a $29 \mu\text{g}$ de carotenoides.g⁻¹ farinha de resíduos do processamento de laranja.

As variações observadas para os teores de carotenoides encontrados nos diferentes trabalhos podem ser explicadas por diferenças de clima e da composição dos solos das regiões de cultivo das laranjeiras, das variedades e do grau de maturação das frutas utilizadas (o que pode influenciar na composição das mesmas) e por diferenças nos processos de obtenção da farinha (como uso de temperaturas distintas no processo de secagem da matéria-prima).

Diferentes métodos de extração do suco das frutas (manual ou industrial) também podem ter promovido variações nos resultados obtidos, uma vez que o processo industrial de extração é capaz de remover maior quantidade do suco das frutas, o qual também contém substâncias como carotenoides, ácido ascórbico e compostos fenólicos, o que faz com que a quantidade de polpa residual remanescente no resíduo industrial seja menor, resultando em menores teores desses compostos na farinha elaborada a partir desse material.

Diferenças nos métodos de determinação do teor de um composto de interesse também podem exercer influência nos resultados obtidos. Cada método de extração tem sua especificidade e fatores como pressão, temperatura e tempo além de diferenças na polaridade e concentração dos solventes utilizados podem promover maior ou menor eficiência no processo de extração (BENELLI et al., 2010; OZTURK; PARKINSON; GONZALEZ-MIQUEL, 2018).

A granulometria da farinha também é um fator importante que deve ser levado em consideração para explicar diferenças verificadas entre os valores obtidos, uma vez que o tamanho da partícula também pode interferir no processo de extração e determinação de compostos e, conseqüentemente, nas propriedades físico-químicas do material de interesse avaliado (MIRA et al., 1999; MA; MU, 2016).

3.2.3 Teor de ácido ascórbico

O teor de ácido ascórbico da FBIL apresentou valor médio de $35,17 \pm 4,63$ mg de ácido ascórbico.100 g⁻¹ farinha, valor semelhante ao obtido por Leite Filho et al. (2015) para farinha de albedo de toranja, igual a $33,41 \pm 0,23$ mg de ácido ascórbico.100 g⁻¹ farinha.

Silva et al. (2016) avaliaram farinhas obtidas a partir somente da casca, somente do albedo e do albedo + sementes de laranja lima e encontraram teores de ácido ascórbico iguais a $21,20 \pm 0,73$ mg de ácido ascórbico.100 g⁻¹ de farinha; $105,78 \pm 16,66$ mg de ácido ascórbico.100 g⁻¹ de farinha e $115,73 \pm 0,00$ mg de ácido ascórbico.100 g⁻¹ de farinha respectivamente.

Clemente et al. (2012) obtiveram teor de ácido ascórbico igual a $145,83 \pm 2,2$ mg de ácido ascórbico.100 g⁻¹ farinha obtida a partir de resíduos do processamento de laranja.

Assim como mencionado no item anterior, as diferenças verificadas entre os valores dos teores de ácido ascórbico encontrados para as farinhas elaboradas nos diferentes trabalhos pode ser devida a fatores como tipo de extração do suco das frutas utilizado, diferenças de variedade e do grau de maturação das laranjas, clima e solo de cultivo, granulometria do material, entre outros.

É importante salientar que o não armazenamento da FBIL sob vácuo pode ter influenciado no resultado obtido. Embora a farinha tenha sido armazenada a baixa temperatura (-18 °C) e protegida da luz (temperatura elevada e incidência de luz são fatores que podem promover a oxidação do ácido ascórbico), a presença de oxigênio no interior dos potes plásticos utilizados para o acondicionamento da mesma pode ter contribuído para a oxidação desse composto presente no meio.

3.2.4 Teor de compostos fenólicos totais

O teor médio de compostos fenólicos totais da FBIL foi de $553,40 \pm 30,40$ mg de ácido gálico.100 g⁻¹ de farinha para o extrato aquoso e $557,32 \pm 21,69$ mg de ácido gálico.100 g⁻¹ de farinha para o extrato hidroalcoólico, valores relativamente próximos ao obtido por Storck et al. (2013), que avaliaram a composição de folhas, talos, cascas e sementes de frutas e hortaliças e encontraram, na casca de laranja seca e moída, teor de polifenóis igual a $631,25$ mg.100 g⁻¹ de casca utilizando metanol 80 % como solvente de extração.

Macagnan et al. (2015) avaliaram o teor de compostos fenólicos totais em bagaço de laranja seco e moído e obtiveram valor igual a $862,11 \pm 8,85$ mg de ácido gálico.100 g⁻¹ de material seco.

Storck et al. (2015) encontraram valores distintos de polifenóis em farinha de resíduos da produção de suco de laranja para diferentes granulometrias: 1.156 ± 29 mg de ácido gálico.100 g⁻¹ de farinha para a fração que apresentou granulometria $> 0,600$ mm e 2.352 ± 49 mg de ácido gálico.100 g⁻¹ de farinha para fração que apresentou granulometria $\leq 0,250$ mm, indicando que a granulometria do material analisado pode interferir significativamente no valor final obtido para o teor de compostos fenólicos totais.

O tipo de solvente utilizado na realização da análise, a granulometria apresentada pelo material, bem como outros fatores já citados anteriormente podem explicar as variações observadas para os resultados obtidos nos diferentes trabalhos.

3.2.5 Teor de pectina

O teor de pectina apresentado pela FBIL foi de $11,32 \pm 0,50$ % (base úmida). Macagnan et al. (2014) determinaram o teor de pectina em farinha de bagaço de laranja e obtiveram valor de $12,38$ % (base seca), valor próximo ao encontrado no presente trabalho. Esse resultado também foi semelhante ao encontrado por Silva et al. (2014), que determinaram o teor de pectina em bagaço de laranja desidratado e moído e obtiveram valor de $12,03 \pm 0,55$ % (em material seco e desengordurado).

Espachs-Barroso, Soliva-Fortuny e Martín-Belloso (2005) realizaram a caracterização físico-química de cascas de laranja (*in natura*) fornecidas por uma indústria de sucos de frutas e verificaram que o teor de pectina presente nas mesmas foi de 17 ± 4 % (base seca).

O tipo e a proporção dos solventes utilizados no processo de extração da pectina também pode influenciar na obtenção de maiores ou menores valores de rendimento. Silva et al. (2011) realizaram a extração de pectina de albedo de laranja e do maracujá em diferentes condições utilizando ácido cítrico e etanol e obtiveram diferentes valores de rendimento de extração de acordo com a proporção de etanol utilizada. Também verificaram que o uso do material analisado na forma seca (farinha) apresentou maiores valores de rendimento em relação ao material analisado na forma *in natura*.

3.2.6 pH

O pH da FBIL apresentou valor de $3,42 \pm 0,02$, semelhante ao encontrado por Bortoluzzi e Marangoni (2006) para fibra dietética desidratada de laranja, que foi de 3,47.

Grigelmo-Miguel e Martín-Belloso (1999) avaliaram uma fibra dietética obtida a partir de resíduos industriais do processamento de laranjas variedades Navel, Salustiana e Valencia Late secos e moídos e encontraram valores também próximos aos obtidos nesse trabalho: $3,63 \pm 0,03$; $3,86 \pm 0,01$ e $3,64 \pm 0,01$ respectivamente.

Clemente et al. (2012) verificaram que a farinha de bagaço de laranja elaborada apresentou valor de pH igual a $4,44 \pm 0,18$, valor superior ao encontrado nesse trabalho e próximo ao obtido por Ruviaro et al. (2008) para o farelo elaborado a partir de resíduos da produção de suco de laranja de um restaurante (pH = 4,41).

Storck et al. (2015) avaliaram resíduos da produção industrial de sucos de frutas (uva, maçã, laranja e acerola) na forma de farinha em diferentes granulometrias e obtiveram, para a farinha obtida a partir de resíduo de laranja, valores de pH iguais a $4,14 \pm 0,03$ (granulometria $> 0,600$ mm) e $4,24 \pm 0,02$ (granulometria $\leq 0,250$ mm).

De um modo geral, pode-se dizer que farinhas elaboradas a partir de resíduos do processamento de laranja apresentam baixo pH, o que pode se dar pela presença de compostos ácidos nos mesmos, como o ácido cítrico e o ácido ascórbico.

Valores de pH mais baixos associados a outros fatores como baixa umidade são interessantes para a conservação de farinhas do ponto de vista microbiológico, uma vez que não são favoráveis para o crescimento de micro-organismos como fungos (cujo crescimento ideal ocorre, em geral, na faixa de pH de 4,5-5,0) e bactérias (cujo crescimento ideal ocorre, em geral, em valores de pH próximos da neutralidade, na faixa de 6,5-7,0) (UCHOA et al., 2008; ABUD; NARAIN, 2009).

3.2.7 Acidez

A acidez total titulável da FBIL apresentou valor de $0,26 \pm 0,01$ g de ácido cítrico.100 g⁻¹ de farinha. Silva et al. (2016) obtiveram valores de acidez, expressos em g de ácido cítrico.100 g⁻¹ de farinha, iguais a $0,11 \pm 0,00$; $0,06 \pm 0,00$ e $0,08 \pm 0,01$ para farinhas obtidas a partir somente da casca, somente do albedo e do albedo + sementes de laranja Lima respectivamente.

Storck et al. (2015) verificaram que a acidez da farinha elaborada a partir dos resíduos da produção de suco de laranja apresentou valores de $0,91 \pm 0,05$ g ácido cítrico.100 g⁻¹ de farinha (farinha de granulometria > 0,600 mm) e de $0,88 \pm 0,04$ g ácido cítrico.100 g⁻¹ de farinha (farinha de granulometria $\leq 0,250$ mm).

A acidez é um importante índice que pode ser usado como parâmetro de qualidade de alimentos como as farinhas (UCHOA et al., 2008; ABUD; NARAIN, 2009). Segundo Abud e Narain (2009) quanto maior for a acidez da farinha de trigo menor será a sua qualidade, o que pode interferir diretamente no produto final quando a mesma for utilizada como matéria-prima.

Os autores avaliaram a acidez de farinhas de resíduos do processamento de diferentes frutas (goiaba, acerola, umbu e maracujá) e obtiveram valores de acidez, expressos em g de ácido cítrico.100 g⁻¹ de farinha, iguais a $0,08 \pm 0,03$; $0,14 \pm 0,02$; $0,27 \pm 0,08$ e $0,15 \pm 0,04$ respectivamente. Uma vez que a acidez máxima permitida pela legislação para farinha de trigo comum apresenta valor de 3 %, concluíram que as farinhas de resíduos de frutas apresentaram acidez adequada. A acidez da FBIL foi inferior a 3 %, indicando que a mesma apresenta acidez aceitável para farinhas.

3.2.8 Atividade de água

A FBIL apresentou atividade de água igual a $0,468 \pm 0,006$. Sankalpa et al. (2017) avaliaram a atividade de água à temperatura ambiente de pós elaborados a partir da casca de laranja (*Citrus sinensis* L. Osbeck) submetida a diferentes métodos de secagem e moagem e obtiveram valores que variaram de 0,35 a 0,44. Garau et al. (2007) submeteram cascas de laranjas (*Citrus aurantium* v. Canoneta) a diferentes temperaturas de secagem e obtiveram atividade de água final de cerca de 0,35 a 25 °C.

A atividade de água é uma propriedade usada para medir a disponibilidade da água livre no meio para agir como solvente ou participar de reações químicas. Varia de 0 a 1 e o valor considerado como limite para o crescimento microbiano é 0,600.

Processos como a desidratação e o congelamento de alimentos, bem como a adição de sais, açúcar e outras substâncias, promovem a redução da atividade de água e podem, portanto, favorecer a sua conservação, uma vez que limitam o crescimento dos micro-organismos no meio. Sendo assim, o conhecimento da atividade de água de alimentos é de fundamental importância para a manutenção da qualidade desses produtos.

3.2.9 Microestrutura

Na Figura 5 podem-se visualizar as imagens obtidas por microscopia eletrônica de varredura da FBIL em diferentes aumentos.

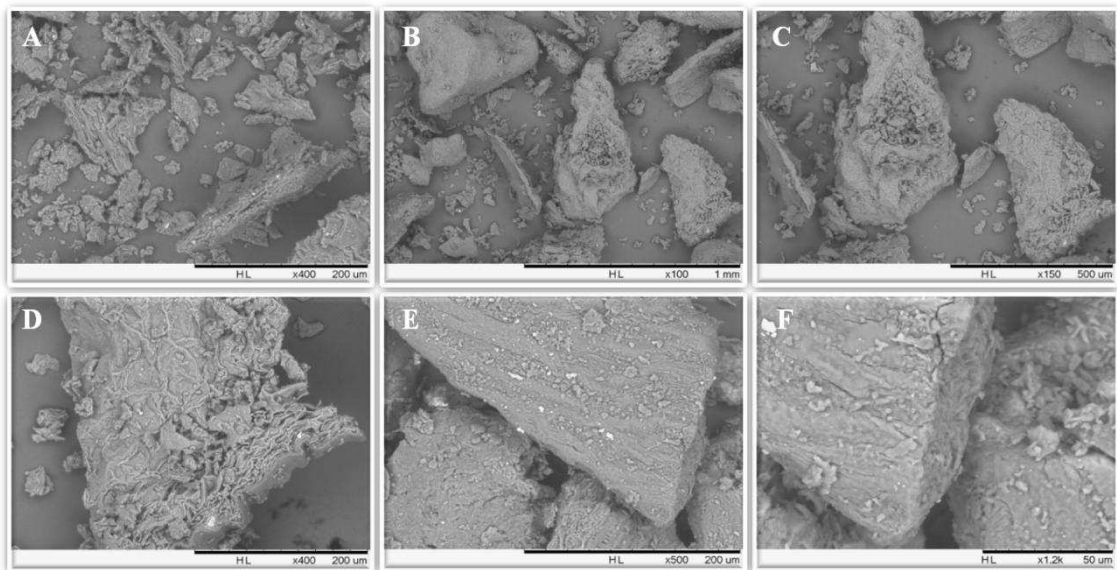


Figura 5 - Micrografias da farinha de bagaço industrial de laranja em aumentos de (A) x400, (B) x100, (C) x150, (D) x400, (E) x500 e (F) x1.200.

Conforme esperado, verificou-se a presença de partículas de tamanhos irregulares nas amostras analisadas. Foi observado que as mesmas também apresentaram heterogeneidade na morfologia. Nas imagens A, B e C pode-se visualizar claramente a disparidade de tamanhos e formatos apresentada pelas partículas analisadas. Algumas delas apresentaram aspecto granular, outras se apresentaram levemente abauladas e outras ainda apresentaram aspecto alongado. Além disso, algumas partículas se mostraram mais rugosas, com aspecto esponjoso e quebradiço e outras mais compactas, o que pode ser verificado mais facilmente nas imagens D, E e F, em que em D foi possível visualizar uma partícula com maior porosidade e mais

quebradiça, enquanto em **E** e **F** verificou-se que as superfícies das partículas evidenciadas se apresentaram mais lisas e compactas.

O'Shea et al. (2015) avaliaram a microestrutura de bagaço de laranja liofilizado e verificaram a presença de partículas de formato irregular além de uma estrutura fibrosa laminar possivelmente derivada da parede celular.

Irem et al. (2013) estudaram o uso do resíduo de laranja seco e triturado para a adsorção de corante têxtil sintético e verificaram que a superfície das partículas do material elaborado mostrou um padrão irregular com poros heterogêneos, o que proporcionou maior área superficial para a adsorção das moléculas do corante.

4 CONCLUSÃO

O rendimento do processo de obtenção da FBIL apresentou valor satisfatório, indicando que a conversão desse resíduo agroindustrial em farinha é viável para aplicações que visem o seu aproveitamento.

A FBIL elaborada apresentou baixo valor de pH e atividade de água inferior ao valor limite de crescimento microbiano, o que favorece a sua conservação. Além disso, apresentou teores consideráveis de carotenoides, ácido ascórbico, compostos fenólicos totais e pectina para uso como matéria-prima no desenvolvimento de processos tecnológicos.

A análise de microestrutura da FBIL permitiu verificar que as suas partículas apresentaram formas e tamanhos distintos, o que está fortemente relacionado às diferentes granulometrias das suas partículas.

A presença de compostos que possuem ação antioxidantes na FBIL aliada a valores de pH e atividade de água adequados para a sua conservação indica que a mesma pode ser utilizada como matéria-prima para a produção de filmes biodegradáveis ativos antioxidantes para a conservação de alimentos.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABUD, A. K. de S.; NARAIN, N. Incorporação da farinha de resíduo do processamento de polpa de fruta em biscoitos: uma alternativa de combate ao desperdício. **Brazilian Journal of Food Technology**, v. 12, n. 4, p. 257–265, out./dez. 2009. ISSN (versão online) 1981-6723, ISSN (versão CD-room) 1519-0900, ISSN (versão impressa até 2002) 1516-7275, ISSN (séries de pré-impressão até 2001) 1517-7645.
- ANDRADE, R. M. S.; FERREIRA, M. S. L.; GONÇALVES, E. C. B. A. Development and characterization of edible films based on fruit and vegetable residues. **Journal of Food Science**, v. 81, n. 2, p. E412–E418, 2016. ISSN (versão impressa) 0022-1147, ISSN (versão online) 1750-3841.
- ARORA, M.; KAUR, P. Antimicrobial & antioxidant activity of orange pulp and peel. **International Journal of Science and Research (IJSR)**, v. 2, n. 11, p. 412–415, nov. 2013. ISSN (online) 2319-7064.
- ASSOCIAÇÃO DE ANALISTAS QUÍMICOS OFICIAIS (AOAC). **AOAC Official Method 967.21 - Ascorbic Acid in Vitamin Preparations and Juices (2,6-Dichloroindophenol Titrimetric Method)**, 1998.
- BENELLI, P. **Agregação de valor ao bagaço de laranja (*Citrus sinensis* L. Osbeck) mediante obtenção de extratos bioativos através de diferentes técnicas de extração**. 2010. 233 p. Dissertação (Mestrado em Engenharia de Alimentos) - Centro Tecnológico da Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2010.
- BENELLI, P.; RIEHL, C. A. S.; SMÂNIA, A.; SMÂNIA, E. F. A.; FERREIRA, S. R. S. Bioactive extracts of orange (*Citrus sinensis* L. Osbeck) pomace obtained by SFE and low pressure techniques: Mathematical modeling and extract composition. **The Journal of Supercritical Fluids**, v. 55, n. 1, p. 132–141, nov. 2010. ISSN (versão impressa) 0896-8446, ISSN (versão online) 1872-8162.
- BOFF, C. C. E; CRIZEL, T. de M.; ARAUJO, R. R. de; RIOS, A. de O.; FLÔRES, S. H. Desenvolvimento de sorvete de chocolate utilizando fibra de casca de laranja como substituto de gordura. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 43, n. 10, p. 1892–1897, out. 2013. ISSN (versão impressa) 0103-8478, ISSN (versão online) 1678-4596.
- BORGES, J. T. D. S.; ASCHERI, J. L. R.; ASCHERI, D. R.; NASCIMENTO, R. E. do; FREITAS, A. S. Propriedades de cozimento e caracterização físico-química de macarrão pré-cozido à base de farinha integral de quinoa (*Chenopodium quinoa*, Willd) e de farinha de arroz (*Oryza sativa*, L) polido por extrusão termoplástica. **Boletim do Centro de Pesquisa de Processamento de Alimentos**, Curitiba, v. 21, n. 2, p. 303–322, jul./dez. 2003. ISSN (versão impressa) 0102-0323, ISSN (versão online) 1983-9774.
- BORTOLUZZI, R. C.; MARANGONI, C. Caracterização da fibra dietética obtida da extração do suco de laranja. **Revista Brasileira de Produtos Agroindustriais**, Campina Grande, v. 8, n. 1, p. 61–66, 2006. ISSN (impressa) 1517-8595.

BRUNO, N. V.; FAI, A. E. C.; SOUZA, M. R. A.; GONÇALVES, E. C. B. A. Estudo de diferentes extratos na elaboração de filme biodegradável a partir de farinha de frutas e hortaliças. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE ENGENHARIA QUÍMICA, 20., 2014, Florianópolis. **Anais do XX Congresso Brasileiro de Engenharia Química**. São Paulo: Blucher, 2015. v. 1, n. 2, p. 3201-3208.

BUBLITZ, S.; EMMANOUILIDIS, P.; OLIVEIRA, M. S. R. de; ROHLFES, A. L. B.; BACCAR, N. de M.; CORBELLINI, V. A.; MARQUARDT, L. Produção de uma farinha de albedo de laranja como forma de aproveitamento de resíduo. **Revista Jovens Pesquisadores**, Santa Cruz do Sul, v. 3, n. 2, p. 112–121, 2013. ISSN (online) 2237-048X.

CAVICHIOLO, J. R.; BIAGI, J. D.; JUNIOR, A. M. Caracterização do bagaço de laranja úmido e seco. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE ENGENHARIA AGRÍCOLA, 43., 2014, Campo Grande. **Anais do XLIII Congresso Brasileiro de Engenharia Agrícola**. Jaboticabal: ABEA, 2014.

CLEMENTE, E.; FLORES, A. C.; ROSA, C. I. L. F.; OLIVEIRA, D. M. Características da farinha de resíduos do processamento de laranja. **Revista Ciências Exatas e Naturais**, v. 14, n. 2, p. 257–269, jul./dez. 2012. ISSN (versão impressa) 1518-0352, ISSN (versão online) 2175-5620.

CRIZEL, T. de M.; JABLONSKI, A.; RIOS, A. de O. RECH, R.; FLÔRES, S. H. Dietary fiber from orange byproducts as a potential fat replacer. **LWT-Food Science and Technology**, v. 53, n. 1, p. 9-14, set. 2013. ISSN (versão impressa) 0023-6438, ISSN (versão online) 1096-1127.

CYPRIANO, D. Z.; SILVA, L. L. da; MARIÑO, M. A.; TASIC, L. A Biomassa de laranja e seus Subprodutos. **Revista Virtual de Química**, v. 9, n. 1, p. 176–191, nov. 2016. ISSN (online) 1984-6835.

ESPACHS-BARROSO, A.; SOLIVA-FORTUNY, R. C.; MARTÍN-BELLOSO, O. A natural clouding agent from orange peels obtained using polygalacturonase and cellulase. **Food Chemistry**, v. 92, n. 1, p. 55–61, ago. 2005. ISSN (versão impressa) 0308-8146, ISSN (versão online) 1873-7072.

FAI, A. E. C.; SOUZA, M. R. A. de; BRUNO, N. V.; GONÇALVES, E. C. B. A. Produção de revestimento comestível à base de resíduo de frutas e hortaliças: aplicação em cenoura (*Daucus carota* L.) minimamente processada. **Scientia Agropecuaria**, v. 6, n. 1, p. 59–68, 2015. ISSN (versão impressa) 2077-9917, ISSN (versão online) 2306-6741.

FERREIRA, M. S. L.; FAI, A. E. C.; ANDRADE, C. T.; PICCIANI, P. H.; AZERO, E. G.; GONÇALVES, E. C. B. A. Edible films and coatings based on biodegradable residues applied to acerolas (*Malpighia puniceifolia* L.). **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 96, n. 5, p. 1634–1642, mar. 2016. ISSN (versão impressa) 0022-5142, ISSN (versão online) 1097-0010.

FERREIRA, M. S. L.; SANTOS, M. C. P.; MORO, T. M. A.; BASTO, G. J.; ANDRADE, R. M. S.; GONÇALVES, É. C. B. A. Formulation and characterization of functional foods based on fruit and vegetable residue flour. **Journal of Food Science and Technology**, v. 52, n. 2, p. 822–830, fev. 2015. ISSN (versão impressa) 0022-1155, ISSN (versão online) 0975-8402.

FIorentin, L. D.; MENON, B. T.; BARROS, S. T. D. de; PEREIRA, N. C.; LIMA, O. C. da M.; MODENES, A. N. Isotermas de sorção do resíduo agroindustrial bagaço de laranja. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, Campina Grande, v. 14, n. 6, p. 653–659, 2010. ISSN (versão impressa) 1415-4366, ISSN (versão online) 1807-1929.

GARAU, M. C. SIMAL, S. ROSSELLO', C. FEMENIA, A. Effect of air-drying temperature on physico-chemical properties of dietary fibre and antioxidant capacity of orange (*Citrus aurantium* v. Canoneta) by-products. **Food Chemistry**, v. 104, n. 3, p., 2007. ISSN (versão impressa) 0308-8146, ISSN (versão online) 1014-1024.

GOMES, J. C.; OLIVEIRA, G. F. Determinação de alguns índices em alimentos. In: GOMES, J. C.; OLIVEIRA, G. F. **Análises físico-químicas de alimentos**. Viçosa: UFV, 2011. cap. 3.

GRIGELMO-MIGUEL, N.; MARTÍN-BELLOSO, O. Characterization of dietary fiber from orange juice extraction. **Food Research International**, v. 31, n. 5, p. 355–361, 1999. ISSN (versão impressa) 0963-9969, ISSN (versão online) 1873-7145.

IREM, S. KHAN, Q. M. ISLAM, E.; HASHMAT, A. J. HAQ, M. A. ul, AFZAL, M. MUSTAFA, T. Enhanced removal of reactive navy blue dye using powdered orange waste. **Ecological Engineering**, v. 58, p. 399-405, set. 2013. ISSN (versão impressa) 0925-8574, ISSN (versão online) 1872-6992.

LEITE FILHO, M. T. PEREIRA, E. M. SANTOS, Y. M. G. MARTINS, J. J. A. CAVALCANTI-MATA, M. E. R. M. OLIVEIRA, J. G. Elaboração e qualidade físico-química de farinha do albedo de toranja como forma de reaproveitamento de resíduo. In: SIMPÓSIO NORDESTINO DE QUÍMICA, 1., 2015, Natal. **Anais Virtuais do 1º Simpósio Nordeste de Química**. Rio de Janeiro: ABQ, 2015. Disponível em: <<http://www.abq.org.br/sinequi/2015/trabalhos/100/6550-20273.html>>. Acesso em: 12 de jul. de 2018.

MA, M.-M.; MU, T.-H. Effects of extraction methods and particle size distribution on the structural, physicochemical, and functional properties of dietary fiber from deoiled cumin. **Food chemistry**, v. 194, p. 237-246, mar. 2016. ISSN (versão impressa) 0308-8146, ISSN (versão online) 1014-1024.

MACAGNAN, F. T.; MOURA, F. A. de; SANTOS, L. R. dos; BIZZANI, M.; SILVA, L. P. da. Caracterização nutricional e resposta sensorial de pães de mel com alto teor de fibra alimentar elaborados com farinhas de subprodutos do processamento de frutas. **Boletim do Centro de Pesquisa de Processamento de Alimentos**, v. 32, n. 2, p. 201–210, jul./dez. 2014. ISSN (versão impressa) 0102-0323, ISSN (versão online) 1983-9774.

MACAGNAN, F. T.; SANTOS, L. R. dos; ROBERTO, B. S.; MOURA, F. A. de; BIZZANI, M.; SILVA, L. P. da. Biological properties of apple pomace, orange bagasse and passion fruit peel as alternative sources of dietary fibre. **Bioactive Carbohydrates and Dietary Fibre**, v. 6, n. 1, p. 1–6, jul. 2015. ISSN (online) 2212-6198.

MIRA, B.; BLASCO, M.; BERNA, A.; SUBIRATS, S. Supercritical CO₂ extraction of essential oil from orange peel. Effect of operation conditions on the extract composition. **The Journal of Supercritical Fluids**, v. 14, n. 2, p. 95–104, jan. 1999. ISSN (versão impressa) 0896-8446, INSS (versão eletrônica) 1872-8162.

MORENO, D. M.; JORGE, N. Caracterização do óleo extraído das sementes de laranja, variedade Pêra. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE PLANTAS OLEAGINOSAS, ÓLEOS, GORDURAS E BIODIESEL, 2., 2005, Varginha. **Anais do II Congresso Brasileiro de Plantas Oleaginosas, Óleos, Gorduras e Biodiesel**. Lavras: UFLA, 2005. p. 488-492.

NERES, L. S.; JÚNIOR, J. de B. L.; SOUZA, F. F. de; JOELE, M. R. S. P.; COSTA, V. V. L.; NORONHA, G. N. Desenvolvimento e determinação da qualidade de hambúrguer de carne de búfalo enriquecido com fibra de laranja. **Revista Brasileira de Tecnologia Agroindustrial**, Ponta Grossa, v. 10, n. 1, p. 2052–2063, jan./jun. 2016. ISSN (online) 1981-3686.

NOGUEIRA, D. P. **Estudo da obtenção de açúcares redutores totais a partir do bagaço de laranja (*Citrus sinenses*) por hidrólises ácida diluída e enzimática**. 2016. 74 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Química) - Instituto de Química, Universidade Federal de Goiás, Goiânia, 2016.

O'SHEA, N. K TENIOUDAKI, A.; SMYTH, T. P.; MCLOUGHLIN, P.; DORAN, L.; AUTY, M. A. E.; ARENDT, E.; GALLAGHER, E. Physicochemical assessment of two fruit by-products as functional ingredients: Apple and orange pomace. **Journal of Food Engineering**, v. 153, p. 89-95, maio 2015. ISSN (versão impressa) 0260-8774, ISSN (versão online) 1873-5770.

OZTURK, B.; PARKINSON, C.; GONZALEZ-MIQUEL, M. Extraction of polyphenolic antioxidants from orange peel waste using deep eutectic solvents. **Separation and Purification Technology**, v. 206, p. 1-13, nov. 2018. ISSN (versão impressa) 1383-5866, ISSN (versão online) 1873-3794.

RANGANA, S. **Manual of analysis of fruit and vegetable products**. New Delhi: Tata McGraw-Hill. 1979. 634 p.

RODRIGUEZ-AMAYA, D. B. **A guide to carotenoid analysis in foods**. Washington: ILSI press, 2001.

RUVIARO, L.; NOVELLO, D.; ALMEIDA, J. M. de; QUINTILIANO, D. A. Análise sensorial de sobremesa acrescida a farelo de casca e bagaço de laranja entre universitários de Guarapuava (PR). **Revista Salus**, Guarapuava, v. 2, n. 2, p. 41–50, jul./dez. 2008. ISSN (impressa) 1980-2404.

SANKALPA, K. B. RAMACHANDRA, C. T.; DINESHA, B. L. NIDONI, U. K. Effect of different drying and grinding methods on biochemical properties of sweet orange peel powder. **Asian Journal of Dairy & Food Research**, v. 36, n. 3, p. 260-263, 2017. ISSN (versão impressa) 0971-4456, ISSN (versão online) 0976-0563.

SANTOS, A. A. O.; SILVA, I. V. C. E; SANTOS, J. P. A. dos; SANTANA, D. G.; ALMEIDA, M. L.; MARCELLINI, P. S. Elaboração de biscoitos de chocolate com substituição parcial da farinha de trigo por polvilho azedo e farinha de albedo de laranja. **Ciência Rural**, v. 41, n. 3, p. 531–536, mar. 2011. ISSN (versão impressa) 0103-8478, ISSN (versão online) 1678-4596.

SILVA, C. E. F.; GAMA, B. M. V.; OLIVEIRA, L. M. T. M.; ARAÚJO, L. T.; ARAÚJO, M. L.; JUNIOR, A. M. O.; ABUD, A. K. S. Uso de laranja Lima e seus resíduos no desenvolvimento de novos produtos. **Brazilian Journal of Biosystems Engineering**, v. 10, n. 1, p. 69–96, 2016. ISSN (versão impressa) 1981-7061, ISSN (versão online) 2359-6724.

SILVA, C. E. F.; GOIS, G. N. S. B.; SILVA, I. C. C.; SILVA, L. M. O.; ALMEIDA, R. M. R. G.; ABUD, A. K. S. Avaliação do potencial de uso do bagaço de laranja visando a produção de etanol 2G. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE ENGENHARIA QUÍMICA, 20., 2014, Florianópolis. **Anais do XX Congresso Brasileiro de Engenharia Química**. São Paulo: Blucher, 2015. v. 1, n. 2, p. 1139-1146.

SILVA, I. C. V.; SANTOS, A. A. O.; ALVES, A. R.; BATISTA, M. C. de A.; MARCELLINI, P. S. Fécula de mandioca e farinha de albedo de laranja na formulação de bolos de chocolate. **Revista do Instituto Adolfo Lutz**, v. 71, n. 1, p. 111–117, 2012. ISSN (versão impressa) 0073-9855, ISSN (versão online) 1983-3814.

SILVA, G. D. da; LOCATELLI, G. O.; FARO, Z. P. de; FINKLER, L.; FINKLER, C. L. L. Extração e precipitação de pectina de laranja e maracujá. In: SIMPÓSIO DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE ALIMENTOS, 3.; CONGRESSO DO INSTITUTO NACIONAL DE FRUTAS TROPICAIS, 2.; SEMINÁRIO DE CIÊNCIA DE ALIMENTOS, 4., 2011, Recife. **Anais do III Simpósio de Ciência e Tecnologia de Alimentos**, 2011.

SOUSA, M. S. B.; VIEIRA, L. M.; LIMA, A. Fenólicos totais e capacidade antioxidante in vitro de resíduos de polpas de frutas tropicais. **Brazilian Journal of Food Technology**, Campinas, v. 14, n. 3, p. 202-210, jul./set. 2011. ISSN (versão online) 1981-6723, ISSN (versão CD-room) 1519-0900, ISSN (versão impressa até 2002) 1516-7275, ISSN (séries de pré-impressão até 2001) 1517-7645.

STOLL, L.; FLÔRES, S. H.; THYS, R. C. S. Fibra de casca de laranja como substituto de gordura em pão de forma. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 45, n. 3, p. 567–573, mar. 2015. ISSN (versão impressa) 0103-8478, ISSN (versão online) 1678-4596.

STORCK, C. R.; BASSO, C.; FAVARIN, F. R.; RODRIGUES, A. C. Qualidade microbiológica e composição de farinhas de resíduos da produção de suco de frutas em diferentes granulometrias. **Brazilian Journal of Food Technology**, v. 18, n. 4, p. 277-284, out./dez. 2015. ISSN (versão online) 1981-6723, ISSN (versão CD-room) 1519-0900, ISSN (versão impressa até 2002) 1516-7275, ISSN (séries de pré-impressão até 2001) 1517-7645.

STORCK, C. R.; NUNES, G. L.; OLIVEIRA, B. B. de; BASSO, C. Folhas, talos, cascas e sementes de vegetais: composição nutricional, aproveitamento na alimentação e análise sensorial de preparações. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 43, n. 3, p. 537–543, mar. 2013. ISSN (versão impressa) 0103-8478, ISSN (versão online) 1678-4596.

SWAIN, T.; HILLS, W. The phenolic constituents of *Prunus domestica*. I. - The quantitative analysis of phenolic constituents. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 19, n. 1, p. 63–68, 1959. ISSN (versão impressa) 0022-5142, ISSN (versão online) 1097-0010.

TOZATTI, P.; RIGO, M.; BEZERRA, J. R. M. V.; CÓRDOVA, K. R. V.; TEIXEIRA, Â. M. Utilização de resíduo de laranja na elaboração de biscoitos tipo cracker. **Revista Ciências Exatas e Naturais**, v. 15, n. 1, p. 135–150, jan./jun. 2013. ISSN (versão impressa) 1518-0352, ISSN (versão online) 2175-5620.

UCHOA, A. M. A.; COSTA, J. M. C.; MAIA, G. A.; SILVA, E. M. C.; CARVALHO, A. F. F. U.; MEIRA, T. R. Parâmetros físico-químicos, teor de fibra bruta e alimentar de pós alimentícios obtidos de resíduos de frutas tropicais. **Segurança Alimentar e Nutricional**, Campinas, v. 15, n. 2, p. 58-65, 2008. ISSN (versão impressa) 1808-8023, ISSN (versão online) 2316-297X.

ZENEBON; O.; PASCUET, N. S.; TIGLEA, P. Vitaminas. In: ZENEBON; O.; PASCUET, N. S.; TIGLEA, P. (Coord.). **Métodos físicos-químicos para análise de alimentos**. 4. ed. São Paulo: Instituto Adolfo Lutz, 2008a. cap. 19.

ZENEBON; O.; PASCUET, N. S.; TIGLEA, P. Cereais, amiláceos e extrato de soja. In: ZENEBON; O.; PASCUET, N. S.; TIGLEA, P. (Coord.). **Métodos físicos-químicos para análise de alimentos**. 4. ed. São Paulo: Instituto Adolfo Lutz, 2008b. cap. 26.

Capítulo 2

OBTENÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DO EXTRATO AQUOSO DA FARINHA DE BAGAÇO INDUSTRIAL DE LARANJA

RESUMO

Os resíduos gerados com o processamento das frutas, bem como os seus extratos, podem ser ricas fontes de compostos antioxidantes e antimicrobianos. Assim, objetivou-se com o presente trabalho obter e caracterizar o extrato aquoso da farinha de bagaço industrial de laranja para posterior uso na elaboração de um filme biodegradável antioxidante e antimicrobiano para embalagem de alimentos. A caracterização do extrato foi realizada por meio das seguintes análises: determinação da concentração do extrato, massa específica, teores dos sólidos solúveis, carotenoides, ácido ascórbico, compostos fenólicos totais e pectina, avaliação da capacidade antioxidante (DPPH e ABTS) e avaliação da atividade antimicrobiana sobre os micro-organismos *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli* e *Staphylococcus aureus* (teste de concentração mínima inibitória (CMI) por macrodiluição em caldo). Os valores médios obtidos para a concentração do extrato, massa específica, teores de sólidos solúveis, carotenoides, ácido ascórbico, compostos fenólicos totais e pectina foram $43,53 \pm 3,83 \text{ mg.mL}^{-1}$, $1,031 \pm 0,003 \text{ g.mL}^{-1}$, $4,0 \pm 0,1 \text{ °Brix}$, $2,01 \pm 0,31 \text{ µg de carotenoides.g}^{-1}$ de extrato, $0,62 \pm 0,08 \text{ mg de ácido ascórbico.100 mL}^{-1}$ de extrato, $469,74 \pm 18,22 \text{ mg de ácido gálico.L}^{-1}$ de extrato e $0,54 \pm 0,09 \text{ \% (m/m)}$ respectivamente. As porcentagens de inibição médias pela captura dos radicais livres DPPH• e ABTS•+ foram respectivamente $17,01 \pm 1,24 \text{ \%}$, $4,25 \pm 0,79 \text{ \%}$, $2,52 \pm 0,23 \text{ \%}$, $1,40 \pm 0,36 \text{ \%}$ e $0,79 \pm 0,39 \text{ \%}$ e de $43,00 \pm 3,98 \text{ \%}$, $10,78 \pm 2,74 \text{ \%}$, $4,88 \pm 1,61 \text{ \%}$, $3,15 \pm 1,77 \text{ \%}$ e $2,38 \pm 1,73 \text{ \%}$ para as diferentes concentrações do extrato testadas iguais a $8,71 \text{ mg.mL}^{-1}$; $1,74 \text{ mg.mL}^{-1}$; $0,87 \text{ mg.mL}^{-1}$; $0,44 \text{ mg.mL}^{-1}$ e $0,17 \text{ mg.mL}^{-1}$ respectivamente. O valor médio da capacidade antioxidante equivalente ao Trolox (TEAC) por ABTS foi de $107,95 \pm 11,84 \text{ µM de Trolox.(mg.mL}^{-1} \text{ do extrato)}^{-1}$. Não foi verificada inibição do crescimento microbiano pelo extrato sobre *P. aeruginosa*, entretanto, o extrato na concentração de $21,77 \text{ mg.mL}^{-1}$ foi capaz de promover redução do crescimento de *E. coli* e de *S. aureus*.

Palavras-chave: caracterização físico-química; capacidade antioxidante; atividade antimicrobiana.

ABSTRACT

Residues generated from fruits processing, as well as their extracts, can be rich sources of antioxidant and antimicrobial compounds. It was aimed with the present work to obtain and to characterize the aqueous extract of the industrial orange bagasse flour for its later use in the elaboration of a biodegradable antioxidant and antimicrobial film for food packaging. The extract characterization was carried out through the following analyzes: determination of its concentration, specific mass, soluble solids, carotenoids, ascorbic acid, total phenolic compounds and pectin contents, evaluation of antioxidant capacity (DPPH and ABTS) and antimicrobial activity on the microorganisms *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus* (minimum inhibitory concentration (MIC) test by broth macrodilution). The mean values obtained for extract concentration, specific mass, soluble solids, carotenoids, ascorbic acid, total phenolic compounds and pectin contents were $43.53 \pm 3.83 \text{ mg.mL}^{-1}$, $1.031 \pm 0.003 \text{ g.mL}^{-1}$, $4.0 \pm 0.1 \text{ }^\circ\text{Brix}$, $2.01 \pm 0.31 \text{ } \mu\text{g of carotenoids.g}^{-1} \text{ extract}$, $0.62 \pm 0.08 \text{ mg of ascorbic acid.100 mL}^{-1} \text{ extract}$, $469.74 \pm 18.22 \text{ mg of gallic acid.L}^{-1} \text{ extract}$ and $0.54 \pm 0.09 \text{ \% (w/w)}$ respectively. The mean inhibition percentages by DPPH• and ABTS•+ free radical capture were respectively $17.01 \pm 1.24 \text{ \%}$, $4.25 \pm 0.79 \text{ \%}$, $2.52 \pm 0.23 \text{ \%}$, $1.40 \pm 0.36 \text{ \%}$ and $0.79 \pm 0.39 \text{ \%}$ and $43.00 \pm 3.98 \text{ \%}$, $10.78 \pm 2.74 \text{ \%}$, $4.88 \pm 1.61 \text{ \%}$, $3.15 \pm 1.77 \text{ \%}$ and $2.38 \pm 1.73 \text{ \%}$ for the different extract concentrations tested equal to 8.71 mg.mL^{-1} ; 1.74 mg.mL^{-1} ; 0.87 mg.mL^{-1} ; 0.44 mg.mL^{-1} and 0.17 mg.mL^{-1} respectively. The mean value of Trolox equivalent antioxidant capacity (TEAC) per ABTS was $107.95 \pm 11.84 \text{ } \mu\text{M Trolox (mg.mL}^{-1} \text{ extract)}^{-1}$. No inhibition of the microbial growth was detected by the extract on *P. aeruginosa*; however, the extract at the concentration of 21.77 mg.mL^{-1} was able to promote reduction of *E. coli* and *S. aureus* growth.

Keywords: physical-chemical characterization; antioxidant capacity; antimicrobial activity.

1 INTRODUÇÃO

O uso de aditivos sintéticos em alimentos, como o antioxidante hidroxitolueno butilado (BHT), é questionado em decorrência da maior exigência dos consumidores com relação ao consumo de produtos com menor quantidade de aditivos e mais naturais, bem como devido a problemas de solubilidade, ao aparecimento de sabores estranhos e ao caráter toxicológico, o que aumenta o interesse em se utilizar os antioxidantes naturais em substituição aos antioxidantes sintéticos ou mesmo em reduzir o uso desse últimos (AHN; GRÜN; FERNANDO, 2002; GALVÃO et al., 2008).

As frutas e outras partes das plantas (como folhas e flores), bem como os seus extratos, contêm substâncias como óleos essenciais, compostos fenólicos, entre outros de reconhecida ação antioxidante e/ou antimicrobiana (ARORA; KAUR, 2013; TRABELSI et al., 2014; RAMADAN et al., 2015; SAYARI et al., 2015). Em virtude disso, os extratos obtidos a partir desses materiais têm sido bastante estudados por pesquisadores para aplicações tecnológicas nas áreas alimentícia, cosmética e farmacêutica, e já podem ser encontrados no mercado, por exemplo, na forma de produtos fitoterápicos (OLIVEIRA; PETROVICK, 2010; ARORA; KAUR, 2013; TRABELSI et al., 2014).

Os resíduos do processamento das frutas podem, muitas vezes, conter quantidades superiores de compostos bioativos em relação aos teores dos mesmos presentes na própria polpa (AYALA-ZAVALA, et al., 2011; BARROS; FERREIRA; GENOVESE, 2012; REBELLO et al., 2013) e, por essa razão, seus extratos também já foram estudados como fontes de compostos antioxidantes e antimicrobianos (SOUSA; VIEIRA; LIMA, 2011; GERHARDT et al., 2012; ARORA; KAUR, 2013).

Os extratos de origem vegetal também têm sido estudados na elaboração de embalagens de alimentos na forma de filmes e de revestimentos comestíveis por meio da incorporação dos mesmos nas matrizes poliméricas (MANIGLIA et al., 2014; FERREIRA et al., 2016; ADILAH et al., 2018). O uso de embalagens que apresentam ação ativa antioxidante e antimicrobiana em alimentos se faz interessante por possibilitarem a extensão da vida de útil desses produtos sem a necessidade de se adicionar conservantes sintéticos aos mesmos ou por permitirem a utilização desses aditivos em quantidades reduzidas.

Sendo assim, objetivou-se com esse estudo obter e caracterizar o extrato aquoso da farinha de bagaço industrial da laranja para posterior uso no desenvolvimento de um

filme biodegradável ativo com possível ação antioxidante e antimicrobiana para aplicação em alimentos.

2 MATERIAL E MÉTODOS

As análises experimentais foram conduzidas no Laboratório de Embalagens e no Laboratório de Análise de Alimentos do Departamento de Tecnologia de Alimentos da Universidade Federal de Viçosa em Viçosa – MG.

2.1 Delineamento experimental

Os experimentos realizados foram conduzidos sob o delineamento inteiramente casualizado (DIC).

2.2 Obtenção do extrato aquoso da farinha de bagaço industrial de laranja (EAFBIL)

O extrato aquoso da farinha de bagaço industrial de laranja, produzida e caracterizada conforme descrito no Capítulo 1, foi obtido segundo a metodologia de Andrade, Ferreira e Gonçalves (2016) com algumas modificações conforme segue: a mistura farinha + água ultra pura 10 % (m/v) foi aquecida a 70 °C em banho-maria tipo *Dubnoff* (Modelo 145, Fanem) sob constante agitação (velocidade 9) por 45 minutos, interrompendo-se a mesma após 20 minutos, homogeneizando-se a mistura com o auxílio de uma espátula e agitando-se novamente por mais 25 minutos. Após resfriada à temperatura ambiente, a mistura foi filtrada manualmente em funil de Büchner utilizando-se papel filtro qualitativo. O extrato (filtrado) foi armazenado em frascos âmbar sob refrigeração até o momento da sua utilização (dia seguinte).

2.3 Caracterização do EAFBIL

2.3.1 Concentração do extrato

A concentração do EAFBIL (extrato seco expresso em massa de sólidos totais solúveis em um volume do extrato) foi determinada pipetando-se 10,0 mL do mesmo a (25 °C) em cadinho de porcelana (previamente seco), pesando-se esse volume em

balança semi-analítica (Shimadzu, modelo UX6 200H) e submetendo-se o mesmo à secagem a 105 °C até a obtenção de massa constante. O cálculo da concentração do EAFBIL foi realizado por meio da Equação 7. A análise foi realizada em três repetições e em duplicata.

$$CE = \frac{m}{V} \quad (7)$$

Em que:

CE = concentração do extrato (mg.mL⁻¹);

m = massa final da amostra obtida após o processo de secagem (mg);

V = alíquota pipetada da amostra ensaiada (mL).

2.3.2 Massa específica

A massa específica do EAFBIL foi determinada pipetando-se 3,0 mL do mesmo (a 25 °C) com o auxílio de um pipetador automático e pesando-se esse volume em balança analítica (BEL, MARK M 214A). O cálculo da massa específica do EAFBIL foi realizado por meio da Equação 8. A análise foi realizada em três repetições e em duplicata.

$$\rho = \frac{m}{V} \quad (8)$$

Em que:

ρ = massa específica do extrato (g.mL⁻¹);

m = massa do extrato obtida pela pesagem da alíquota pipetada do mesmo (g);

V = alíquota do extrato pipetada (mL).

2.3.3 Teor de sólidos solúveis

O teor de sólidos solúveis do EAFBIL foi determinado por refratometria a 25 °C utilizando-se um refratômetro digital (ATAGO) segundo metodologia descrita pelo Instituto Adolfo Lutz (ZENEBO; PASCUET; TIGLEA, 2008a). A análise foi realizada em três repetições e em duplicata.

2.3.4 Teor de carotenoides

A determinação do teor de carotenoides do EAFBIL foi realizada por análise espectrofotométrica conforme procedimento descrito por Rodriguez-Amaya (2001) com algumas modificações.

A extração dos carotenoides foi realizada pesando-se 3,0 mL do EAFBIL e adicionando-se 30,0 mL de acetona (Vetec) refrigerada a esse volume, homogeneizando-se com bastão de vidro.

Esse material foi transferido para um funil de separação contendo 50 mL de éter de petróleo (Vetec). Em seguida, foram lentamente adicionados 25 mL de água ultra pura ao funil e a fase inferior formada (água + acetona) foi descartada. O resíduo no funil (éter + carotenoides) foi lavado outras duas vezes com água ultra pura (totalizando três lavagens) até que toda a acetona residual fosse removida.

O extrato presente em éter de petróleo foi filtrado em papel filtro qualitativo contendo sulfato de sódio anidro (Vetec) e foi transferido para um balão de fundo redondo, sendo em seguida levado a um evaporador rotativo (Fisatom, Mod. 801, Série 596202) até completa evaporação do solvente utilizando banho-maria (Fisatom Brasil Série 585963 Mod. 550) a 40 °C. O material remanescente no balão de fundo redondo foi transferido para um balão volumétrico de 5 mL utilizando-se éter de petróleo, sendo o volume do balão completado com esse solvente. A leitura da amostra foi realizada em espectrofotômetro UV/VIS (Modelo UV-1800, Shimadzu, Japão) em comprimento de onda de 450 nm e o teor de carotenoides foi calculado por meio da Equação 9. A análise foi realizada em três repetições e em duplicata.

$$CT = \frac{Abs * V * 10^4}{A_{1\text{ cm}}^{1\%} * m} \quad (9)$$

Em que:

CT = carotenoides totais ($\mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$);

Abs = absorvância da solução no comprimento de onda de 450 nm;

V = volume final da solução (mL);

$A_{1\text{ cm}}^{1\%}$ = coeficiente de absorção do carotenoide no solvente utilizado ($A_{1\text{ cm}}^{1\%} = 2.592$ para o β -caroteno em éter de petróleo);

m = massa da amostra (g).

2.3.5 Teor de ácido ascórbico

O teor de ácido ascórbico do EAFBIL foi determinado segundo o Método Oficial 967.21 da Associação de Analistas Químicos Oficiais (AOAC) (Ácido Ascórbico em Preparações Vitamínicas e Sucos – Método Titrimétrico 2,6-dicloroindofenol) (AOAC, 1998) e o método 365/IV (Determinação de vitamina C pelo método de Tillmans) do Instituto Adolfo Lutz (ZENEBO; PASCUET; TIGLEA, 2008b) com algumas modificações realizadas por Gomes e Oliveira (2011). As soluções usadas na realização da análise foram preparadas e o fator (F) da solução de Tillmans foi calculado conforme descrito no item 2.5.3 do Capítulo 1.

O teor de ácido ascórbico do EAFBIL foi determinado titulando-se 2 mL do mesmo + 5 mL da solução de ácido metafosfórico com a solução de 2-6-diclorofenolindofenol até que a coloração róseo-clara persistisse por 5 segundos.

Para o cálculo do teor de ácido ascórbico presente no EAFBIL foi utilizada a Equação 10. A análise foi realizada em três repetições e em duplicata.

$$m = (V_{\text{tit. amostra}} - V_{\text{tit. branco}}) * \frac{F}{V_{\text{amostra}}} * 100 \quad (10)$$

Em que:

m = massa de ácido ascórbico presente em 100 mL de extrato (mg ácido ascórbico.100 mL⁻¹ de extrato);

V_{tit. amostra} = volume médio gasto na titulação da amostra (mL);

V_{tit. branco} = volume médio gasto na titulação do branco (mL);

F = fator da solução de Tillmans (mg de ácido ascórbico equivalente para 1,0 mL da solução padrão de 2-6-diclorofenolindofenol);

V_{amostra} = volume de extrato ensaiado (mL).

2.3.6 Teor de compostos fenólicos totais

A determinação do teor de compostos fenólicos totais do EAFBIL foi realizada por método espectrofotométrico de *Folin-Ciocalteu* segundo a metodologia de Swain e Hills (1959) conforme descrito por Sousa et al. (2011).

O EAFBIL foi diluído com água ultra pura (diluição 1:10) e procedeu-se com a realização da análise conforme descrito no item 2.5.4 do Capítulo 1.

O teor de compostos fenólicos totais presentes no EAFBIL foi expresso em mg de ácido gálico.L⁻¹ de extrato. A análise foi realizada em três repetições e em duplicata.

2.3.7 Teor de pectina

O teor de pectina do EAFBIL foi determinado de acordo com a metodologia de Rangana (1979), na forma de pectato de cálcio. Foram pesados 20 g do EAFBIL em béqueres de 1.000 mL e procedeu-se com a análise conforme descrito no item 2.5.5 do Capítulo 1. A análise foi realizada em três repetições e em duplicata.

2.3.8 Capacidade antioxidante

A capacidade antioxidante do EAFBIL foi avaliada pelos métodos DPPH (2,2-difenil-1-picril-hidrazila) e ABTS (ácido 2,2'-azino-bis (3-etilbenzotiazolina-6-sulfônico)), os quais se baseiam na captura dos radicais livres DPPH• e ABTS•+ por compostos antioxidantes presentes no meio, promovendo o decréscimo da absorvância em comprimentos de onda específicos. Os ensaios foram realizados em três repetições e em duplicata.

2.3.8.1 Método DPPH

A determinação da capacidade antioxidante do EAFBIL pela captura do radical livre DPPH• foi realizada de acordo com a metodologia de Brand-Williams, Cuvelier e Berset (1995) com algumas modificações.

Foram preparadas diferentes diluições do EAFBIL com água ultra pura (1:5; 1:25; 1:50; 1:100 e 1:250 v/v) e uma alíquota de 0,1 mL de cada uma delas foi transferida para tubos de ensaio com tampa contendo 3,9 mL de solução etanólica de DPPH• 0,06 mM (2,2-difenil-1-picril-hidrazila, Sigma-Aldrich) (álcool etílico absoluto 99,5 %, Dinâmica). As amostras foram homogeneizadas em agitador de tubos (Fisatom Mod. 771, Série 1044768) e mantidas por 15 min ao abrigo da luz e à temperatura ambiente (25 °C ± 2 °C). A leitura da absorvância foi realizada em espectrofotômetro UV/VIS (UV-1800, Shimadzu, Japão) no comprimento de onda de 517 nm.

Um controle negativo foi preparado utilizando-se água ultra pura em substituição ao EAFBIL. Álcool etílico absoluto foi utilizado como branco para calibrar o espectrofotômetro.

Os resultados foram calculados por meio da Equação 11 e expressos em porcentagem de inibição.

$$CA = \frac{Abs_{\text{controle negativo}} - Abs_{\text{amostra}}}{Abs_{\text{controle negativo}}} * 100 \quad (11)$$

Em que:

CA = capacidade antioxidante da amostra ensaiada (%);

Abs_{controle negativo} = absorbância do controle negativo;

Abs_{amostra} = absorbância da amostra ensaiada.

2.3.8.2 Método ABTS

A determinação da capacidade antioxidante *in vitro* do EAFBIL pela captura do radical livre ABTS•+ foi realizada de acordo com a metodologia de Re et al. (1999), detalhada por Rufino et al. (2007), com algumas modificações.

O radical ABTS•+ foi obtido por meio da reação de 2,5 mL de uma solução estoque de ABTS 7 mM (Sigma-Aldrich) com 44 µL de uma solução de persulfato de potássio 140 mM (Vetec). A mistura foi armazenada em frasco de vidro âmbar à temperatura ambiente por 12 a 16 horas e uma alíquota de 1 mL do radical ABTS•+ foi diluída em álcool etílico absoluto 99,5 % (Dinâmica) até se obter uma absorbância de $0,700 \pm 0,050$ a 734 nm.

Foram preparadas diferentes diluições do EAFBIL (1:5; 1:25; 1:50; 1:100 e 1:250 v/v) e uma alíquota de 30 µL de cada uma delas foi transferida para tubos de ensaio contendo 3,0 mL do radical ABTS•+. As misturas foram homogeneizadas em agitador de tubos (Fisatom Mod. 771, Série 1044768) e mantidas ao abrigo da luz e à temperatura ambiente por 6 min. A leitura foi realizada a 734 nm.

Um controle negativo foi preparado utilizando-se água ultra pura em substituição ao EAFBIL. Álcool etílico absoluto 99,5 % foi utilizado como branco para calibrar o espectrofotômetro.

Os resultados foram calculados por meio da Equação 5 (item 2.3.8.1) e expressos em porcentagem de inibição. Também foi determinada a capacidade antioxidante equivalente ao Trolox (TEAC), a qual foi calculada por meio da obtenção

da curva analítica utilizando-se diferentes concentrações de Trolox (Sigma-Aldrich) (100 μM a 2.000 μM) nas mesmas condições da amostra.

2.3.9 Atividade antimicrobiana

2.3.9.1 Micro-organismos

A atividade antimicrobiana do EAFBIL foi avaliada sobre os micro-organismos *Escherichia coli* (ATCC 11229), *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 15442) e *Staphylococcus aureus* (ATCC 6538).

Cepas congeladas de cada micro-organismo foram ativadas conforme metodologia descrita pelo Instituto de Normas Clínicas e Laboratoriais (CLSI, 2012).

Após ativação, foram realizadas sucessivas diluições em tubos contendo solução salina 0,9 % até que se obtivesse concentração final de micro-organismos igual a $10^5 \text{ UFC} \cdot \text{mL}^{-1}$ (CLSI, 2012), a qual foi utilizada na determinação da concentração mínima inibitória (CMI) do extrato sobre os micro-organismos de interesse e na análise da atividade antimicrobiana do filme elaborado a partir do EAFBIL (Capítulo 3).

2.3.9.2 Concentração mínima inibitória (CMI)

A determinação da concentração mínima inibitória (CMI) do EAFBIL foi realizada por meio do método de macrodiluição em caldo conforme padronizado pelo CLSI (CLSI, 2012).

O teste foi realizado variando-se a concentração do EAFBIL por meio de diluições seriadas. Para a determinação da CMI de cada micro-organismo, foram preparados 10 tubos de ensaio contendo, cada um, 1,0 mL de caldo Mueller Hinton (Difco Laboratories). No primeiro tubo foi adicionado 1,0 mL do EAFBIL, homogeneizou-se a mistura extrato + caldo em agitador de tubos (Fisatom Mod. 771, Série 1044768) e transferiu-se uma alíquota de 1,0 mL do volume total da mesma para o segundo tubo, procedendo-se dessa maneira sucessivamente até que no décimo tubo uma alíquota de 1,0 mL do volume presente no mesmo fosse descartada. Foram adicionados 100 μL da solução salina 0,9 % contendo o inóculo de cada micro-organismo na concentração de $10^5 \text{ UFC} \cdot \text{mL}^{-1}$ em cada um dos tubos e os mesmos foram homogeneizados e incubados a $35 \text{ }^\circ\text{C} \pm 2 \text{ }^\circ\text{C}$ por 24 horas.

Como controle negativo, foram realizadas diluições seriadas do EAFBIL em outros 10 tubos de ensaio contendo 1,0 mL de caldo Mueller Hinton e, aos mesmos, foram adicionados 100 μ L de solução salina 0,9 % estéril.

Como controle positivo do crescimento de cada micro-organismo, foi preparado um tubo contendo 1 mL de caldo Mueller Hinton e 100 μ L da solução salina 0,9 % com inóculo na concentração de 10^5 UFC.mL⁻¹.

Após o período de incubação, os tubos foram submetidos à comparação visual e o crescimento microbiano foi observado avaliando-se a turvação do meio. A análise foi realizada em duas repetições.

2.4 Análise estatística

Os resultados das análises foram expressos em médias e desvios padrões e calculados utilizando-se o programa Microsoft® Office Excel® 2007 (versão 12.0.6787.5000, Microsoft Corporation, 2008). Os resultados obtidos com a análise de determinação da concentração mínima inibitória (CMI) dos micro-organismos de interesse foram avaliados por meio da análise visual da turbidez apresentada pelo meio de crescimento dos micro-organismos contendo o EAFBIL em diferentes concentrações.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 Concentração do extrato

A concentração média do EAFBIL apresentou valor de $43,53 \pm 3,83$ mg.mL⁻¹. O conhecimento da concentração do extrato é importante para a realização dos cálculos da capacidade antioxidante do extrato referentes à TEAC (capacidade antioxidante equivalente ao Trolox) e na determinação da concentração inibitória mínima do mesmo sobre os micro-organismos de interesse testados.

3.2 Massa específica

A massa específica média apresentada pelo EAFBIL a 25 °C foi de $1,031 \pm 0,003$ g.mL⁻¹.

A determinação da massa específica do EAFBIL foi realizada para, além de se ter conhecimento dessa propriedade, possibilitar a realização de cálculos de conversão de unidades dos resultados obtidos com a realização das análises subsequentes.

3.3 Teor de sólidos solúveis

O teor médio de sólidos solúveis do EAFBIL foi de $4,0 \pm 0,1$ °Brix. Stork et al. (2015) avaliaram o teor de sólidos solúveis da farinha de resíduos do processamento de laranja por refratometria e obtiveram valor igual a $3,50 \pm 0,52$ °Brix para a farinha de granulometria $> 0,600$ e de $3,77 \pm 0,40$ °Brix para a farinha de granulometria $\leq 0,250$, valores próximos aos obtidos para o EAFBIL.

Simpkins et al. (2000) obtiveram valores em torno de 3-4 °Brix para o teor de sólidos solúveis de extratos de cascas de tangerina, limão, toranja, lima, tangelo, laranja de Sevilha e pomelo.

Bortoluzzi e Marangoni (2006) elaboraram uma fibra dietética desidratada a partir dos resíduos gerados após a extração do suco de laranjas variedades Pêra e Valência e, ao avaliar o teor de sólidos solúveis da polpa remanescente obtida junto à extratora, verificaram que o mesmo apresentou valor de 4,0 °Brix.

3.4 Teor de carotenoides

O teor de carotenoides médio do EAFBIL foi de $2,01 \pm 0,31$ $\mu\text{g carotenoides.g}^{-1}$ de extrato. A FBIL avaliada no Capítulo 1 apresentou teor de carotenoides igual a $14,70 \pm 0,66$ $\mu\text{g carotenoides.g}^{-1}$ de farinha. Levando-se em consideração a massa específica média do extrato ($1,031 \pm 0,003$ g/mL), calcula-se que em 100 mL do EAFBIL há 201,00 $\mu\text{g carotenoides}$ e, considerando-se que em 16,7 g da FBIL (quantidade necessária para se obter cerca de 100 mL do EABIL) há 245,49 $\mu\text{g de carotenoides}$, pode-se dizer que 81,9 % dos carotenoides presentes na FBIL estão presentes no EAFBIL, indicando que o processo utilizado na sua obtenção foi eficiente na extração dos carotenoides presentes na farinha.

Shukla, Gawande e Thorat (2013) avaliaram o teor de carotenoides totais presentes em cascas na forma de pó de laranja azeda (*Citrus aurantium*) e grapefruit (*Citrus paradisi*) utilizando diferentes solventes de extração (acetato de etila, acetona 85 %, éter de petróleo, n-hexano e etanol 90 %) e obtiveram valores de 535; 423; 356;

455 e 300 μg de carotenóides totais. 100 mL^{-1} de extrato e 118; 123; 105; 45 e 31 μg de carotenóides totais. 100 mL^{-1} de extrato respectivamente.

A redução do teor dos carotenoides presentes no EAFBIL em relação aos presentes na farinha pode ser devida ao efeito da temperatura utilizada no processo de obtenção do extrato, uma vez que os carotenoides são sensíveis à luminosidade, temperatura, acidez e reações de oxidações, o que ocorre devido à ausência de insaturações em sua cadeia carbônica (AMBRÓSIO, 2005).

3.5 Teor de ácido ascórbico

O teor de ácido ascórbico encontrado no EAFBIL foi de $0,62 \pm 0,08$ mg de ácido ascórbico. 100 mL^{-1} de extrato (ou $6,014\ \mu\text{g}$ de ácido ascórbico. g^{-1} de extrato). Levando-se em consideração que o teor de ácido ascórbico encontrado na FBIL foi de $35,17 \pm 4,63$ mg de ácido ascórbico. 100 g^{-1} farinha e que para a obtenção de 100 mL do extrato é necessária a utilização de aproximadamente 16,7 g de farinha, pode-se dizer que o extrato contém aproximadamente 11 % do ácido ascórbico presente inicialmente na mesma (há $0,62 \pm 0,08$ mg de ácido ascórbico em 100 mL do extrato obtidos a partir de $5,87 \pm 0,77$ mg ácido ascórbico presentes em 16,7 g de farinha).

Ahmad et al. (2013) encontraram, para o extrato etanólico de casca de laranja doce (*Citrus sinensis*), teor de ácido ascórbico igual a $665,0 \pm 11,5\ \mu\text{g.g}^{-1}$ extrato. Guimarães et al. (2010) obtiveram, para o extrato metanólico de casca liofilizada de laranja doce (*Citrus sinensis* cv. 'Valencia'), teor de ácido ascórbico de igual a $766,80 \pm 20,20\ \mu\text{g.g}^{-1}$ extrato.

O menor teor de ácido ascórbico presente no EAFBIL em relação à sua quantidade inicial na farinha pode ser explicado pela alta temperatura utilizada no seu processo de obtenção ($70 \pm 2\ ^\circ\text{C}$), fator que contribuiu para a degradação desse composto, já que o mesmo é termossensível.

3.6 Teor de compostos fenólicos totais

O teor de compostos fenólicos totais presentes no EAFBIL foi de $469,74 \pm 18,22$ mg de ácido gálico. L^{-1} de extrato (ou $0,455 \pm 0,018$ mg de ácido gálico. g^{-1} de extrato). Os teores obtidos para a FBIL foram de $553,40 \pm 30,40$ mg de ácido gálico. 100 g^{-1} de farinha (extrato aquoso) e $557,32 \pm 21,69$ mg de ácido gálico. 100 g^{-1} de farinha (extrato hidroalcoólico).

Levando-se em consideração que o teor de compostos fenólicos totais presentes em 100 mL do EAFBIL é de $46,97 \pm 1,82$ mg de ácido gálico e que em 16,7 g da FBIL (quantidade necessária para se obter cerca de 100 mL do EABIL) há $92,42 \pm 3,04$ mg de ácido gálico.100 g⁻¹ de farinha (extrato aquoso) e $93,07 \pm 3,62$ mg de ácido gálico.100 g⁻¹ de farinha (extrato hidroalcoólico), pode-se dizer que o extrato apresenta teor de compostos fenólicos totais aproximadamente igual a 50 % do valor encontrado na farinha.

Safdar et al. (2017) obtiveram teores de compostos fenólicos que variaram de 8,64 a 32,48 mg de ácido gálico equivalente.g⁻¹ extrato obtido de casca de mandarina 'Kinnow' (*Citrus reticulata* L.) por diferentes técnicas e solventes de extração em diferentes concentrações. Afsharnejad et al. (2017) obtiveram valor de $13,17 \pm 0,268$ mg de ácido gálico equivalente.g⁻¹ de extrato metanólico de casca de laranja (*Citrus sinensis*).

3.7 Teor de pectina

O teor de pectina do EAFBIL na forma de pectato de cálcio foi de $0,54 \pm 0,09$ % (m/m) (ou $0,56 \pm 0,09$ % (m/v)).

Considerando-se que para se obter 100 mL de extrato (os quais contêm 0,56 g de pectina na forma de pectato de cálcio) são necessários aproximadamente 16,7 g de farinha (os quais contêm 1,89 g de pectina na forma de pectato de cálcio) pode-se dizer que no extrato há em torno de 29,3 % (m/m) do teor de pectina presente inicialmente na FBIL.

Oliveira e Willms (2016) encontraram diferentes valores de rendimento de extração da pectina de albedo de laranja de acordo com o tipo de solvente utilizado e com a forma em que o material analisado se encontrou (seco - na forma de farinha ou úmido - *in natura*). Os autores obtiveram valores de rendimento de extração de 49,03 % (ácido cítrico), 25,53 % (HCl), 24,78 % (HNO₃) e 6,16 % (água) avaliando o albedo de laranja na forma de farinha e 5,72 % (ácido cítrico), 2,56 % (HCl), 1,85 % (HNO₃) e 0,30 % (água) avaliando o albedo de laranja na forma *in natura*.

3.8 Capacidade antioxidante

A porcentagem de inibição média dos radicais livres DPPH• e ABTS•+ pelo EAFBIL nas diferentes concentrações testadas pode ser visualizada na Tabela 5.

Tabela 5 - Porcentagem de inibição média dos radicais livres DPPH• e ABTS•+ pelos compostos antioxidantes presentes no extrato aquoso da farinha de bagaço industrial de laranja (EAFBIL) em diferentes concentrações (mg.mL⁻¹).

Diluição	Concentração do EAFBIL (mg.mL ⁻¹)	Porcentagem de inibição média do radical livre DPPH• (%)	Porcentagem de inibição média do radical livre ABTS•+ (%)
1:5	8,71	17,01 ± 1,24	43,00 ± 3,98
1:25	1,74	4,25 ± 0,79	10,78 ± 2,74
1:50	0,87	2,52 ± 0,23	4,88 ± 1,61
1:100	0,44	1,40 ± 0,36	3,15 ± 1,77
1:250	0,17	0,79 ± 0,39	2,38 ± 1,73

Levando-se em consideração a porcentagem de inibição média dos radicais livres DPPH• e ABTS•+ apresentada pelo EAFBIL em sua maior concentração testada (8,71 mg.mL⁻¹), pode-se dizer que o mesmo apresentou capacidade antioxidante expressiva, uma vez que os valores obtidos (17,01 ± 1,24 % e 43,00 ± 3,98 %, respectivamente) demonstram a capacidade antioxidante do extrato diluído cinco vezes, indicando que o EAFBIL apresenta potencial de redução de radicais livres considerável.

As porcentagens de inibição médias do radical livre ABTS•+ se apresentaram superiores em relação às médias obtidas para as porcentagens de inibição do radical livre DPPH• pelo EAFBIL.

Arora e Kaur (2013) avaliaram a capacidade antioxidante de extratos da polpa e da casca de laranja utilizando diferentes solventes (acetona, metanol, hexano e água destilada) pelo método DPPH e verificaram que a capacidade antioxidante do extrato da casca apresentou melhor resultado quando o solvente utilizado foi a água (acima de 90 %) e a capacidade antioxidante do extrato obtido a partir da polpa apresentou melhor resultado quando os solventes utilizados foram hexano e água (aproximadamente 90 %).

Trabelsi et al. (2014) avaliaram a capacidade antioxidante dos óleos essenciais e dos extratos orgânicos obtidos a partir da casca, das folhas e das flores da *Citrus aurantium* Tunisiana e verificaram que os extratos orgânicos apresentaram maior capacidade antioxidante em relação aos óleos essenciais e que o extrato orgânico obtido da casca apresentou maior capacidade antioxidante em relação às outras partes da planta avaliadas, tanto por DPPH quanto por ABTS.

Melo et al. (2008) avaliaram a capacidade antioxidante de extratos aquosos e acetônicos de 15 frutas e verificaram que a laranja variedade Pêra, exibiu ação antioxidante estatisticamente semelhante ($p > 0,05$) à do BHT e integrou o grupo das

frutas com forte capacidade antioxidante, apresentando percentual de sequestro do radical DPPH• superior a 70 %.

A capacidade antioxidante de frutas e hortaliças (bem como dos extratos obtidos a partir das mesmas) pode ser atribuída à presença de centenas de compostos presentes nesses alimentos, como as vitaminas antioxidantes C e E, aos carotenoides, às clorofilas e a diversos e variados fitoquímicos, como os compostos fenólicos simples, os glicosídeos flavonoides e, em alguns alimentos, a taninos poliméricos complexos, como procianidinas e galotaninos (PELLEGRINI et al., 2007). No caso das frutas cítricas, exemplos de fitoquímicos que apresentam capacidade antioxidante conhecida são: vitaminas (A, C e E), minerais (manganês, ferro, cobre, zinco e selênio), compostos fenólicos (flavonoides, ácidos fenólicos e cumarinas), terpenoides (limonoides e carotenoides) e pectinas (ZOU et al., 2016).

Alguns estudos demonstram que existe correlação entre a capacidade antioxidante apresentada por extratos de frutas e a presença de compostos fenólicos no meio (MELO et al., 2008; HEGAZY; IBRAHIUM, 2012). Assim, a capacidade antioxidante apresentada pelo EAFBIL possivelmente foi devida, em sua maior parte, à presença dos compostos fenólicos presentes no mesmo, uma vez que foram os compostos presentes em maior quantidade em relação ao ácido ascórbico e aos carotenoides.

Além dos compostos determinados nesse trabalho, possivelmente outros compostos com ação antioxidante presentes na farinha podem ter se difundido para a água no processo de obtenção do extrato, o que pode ter contribuído para o resultado encontrado.

A capacidade antioxidante equivalente ao Trolox (TEAC) média encontrada para o EAFBIL pelo método ABTS apresentou valor igual a $107,95 \pm 11,84 \mu\text{M}$ de Trolox.(mg.mL⁻¹ do extrato)⁻¹. Esse resultado indica que a capacidade antioxidante apresentada pelo EAFBIL na concentração igual a 1 mg.mL⁻¹ sobre o radical livre ABTS•+ equivale à capacidade antioxidante apresentada pelo Trolox na concentração igual a $107,95 \pm 11,84 \mu\text{M}$.

3.9 Atividade antimicrobiana

A atividade antimicrobiana apresentada pelo EAFBIL nas diferentes concentrações testadas pelo método CMI sobre os micro-organismos avaliados pode ser visualizada na Figura 6.

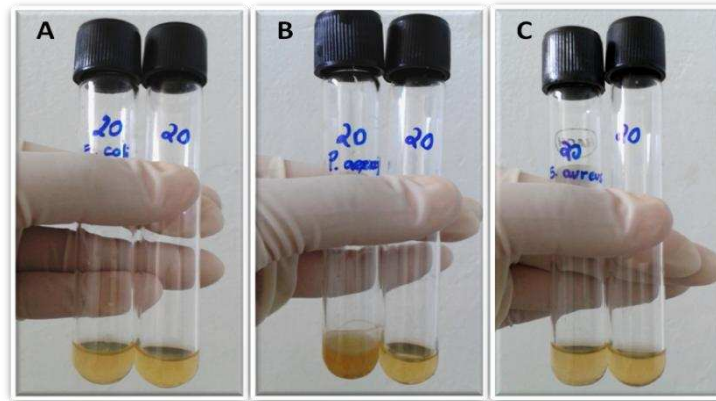


Figura 6 - Concentração mínima inibitória (CMI) do extrato aquoso da farinha de bagaço industrial de laranja sobre (A) *Escherichia coli*, (B) *Pseudomonas aeruginosa* e (C) *Staphylococcus aureus*. À esquerda, amostra contendo caldo Mueller Hinton, inóculo em solução salina 0,9 % e o extrato na concentração de $21,77 \text{ mg.mL}^{-1}$ e, à direita, controle negativo correspondente à amostra, contendo caldo Mueller Hinton, solução salina 0,9 % estéril e o extrato na concentração de $21,77 \text{ mg.mL}^{-1}$.

Com relação à *E. coli*, a amostra contendo o EAFBIL na concentração de $21,77 \text{ mg.mL}^{-1}$ apresentou aspecto semelhante ao seu respectivo controle negativo, entretanto, percebeu-se pequena turvação e sedimentação no fundo do tubo, indicando que houve crescimento microbiano.

Apesar de ter havido crescimento microbiano, o micro-organismo apresentou certa sensibilidade ao EAFBIL nessa concentração. O mesmo foi observado para *S. aureus*, entretanto, esse último apresentou menor turvação e sedimentação no fundo do tubo em relação ao primeiro na concentração de $21,77 \text{ mg.mL}^{-1}$.

Quanto à *P. aeruginosa*, percebeu-se claramente a turvação do meio contendo o extrato na concentração de $21,77 \text{ mg.mL}^{-1}$, indicando que o EAFBIL nessa concentração não foi eficiente na inibição do seu crescimento.

Os tubos contendo o EAFBIL nas demais concentrações se apresentaram turvos para todos os micro-organismos testados.

Revisão de literatura realizada sobre a inibição do crescimento microbiano por extratos de resíduos do processamento de laranja mostrou que extratos obtidos com diferentes solventes (ou associação entre eles) (metanol, etanol, água, acetona, hexano, diclorometano e acetato de etila) em diferentes concentrações e utilizando-se diferentes métodos de extração, apresentaram efeito antimicrobiano sobre, *S. aureus* resistente à meticilina, *Listeria monocytogenes*, *P. fluorescens*, *S. aureus*, *S. epidermis*, *Bacillus subtilis*, *P. aeruginosa*, *E. coli* e *Shigella flexneri* (BENELI, 2010; DUBEY et al., 2011; ARORA; KAUR, 2013; RAMADAN et al., 2015).

Contrariamente, Trabelsi et al., 2014 avaliaram o efeito antimicrobiano do óleo essencial e do extrato metanólico obtidos a partir da casca, folhas e flores de *Citrus aurantium* L. e não verificaram ação antimicrobiana dos extratos contra os micro-organismos de interesse nas condições testadas (exceto para o extrato de flores que foi ativo somente contra *S. aureus*), constatando efeito inibitório apenas do óleo essencial.

As diferentes condições testadas nos diferentes trabalhos podem explicar a variação dos resultados observada, uma vez que fatores como tempo, temperatura, tipo e concentração do solvente de extração utilizados podem ter contribuído para a maior ou menor presença de compostos antimicrobianos no meio.

Beneli (2010) identificou a presença de compostos sesquiterpênicos oxigenados em extratos de bagaço de laranja por cromatografia gasosa associada à espectrometria de massa, os quais podem estar associados à atividade antimicrobiana dos extratos obtidos a partir de plantas (BOUSSAADA et al., 2008). Possivelmente, esses e outros compostos que já possuem atividade antimicrobiana comprovada, como compostos fenólicos (PEREIRA et al., 2006) e os componentes do óleo essencial presentes na casca de citros (PATTNAIK et al., 1997; TAO; LIU; ZHANG, 2009; DJENANE, 2015) foram os principais responsáveis pela ação antimicrobiana do EAFBIL.

Assim, pode-se perceber que os extratos de resíduos de laranja bem como de outras frutas, podem ser efetivos no controle do crescimento microbiano de certos micro-organismos.

4 CONCLUSÃO

A caracterização do EAFBIL permitiu verificar a presença de compostos de reconhecida atividade antioxidante e/ou antimicrobiana no mesmo, como o ácido ascórbico, carotenoides, compostos fenólicos e pectina.

O EAFBIL apresentou efeito expressivo quanto à capacidade antioxidante avaliada por meio da captura dos radicais livres DPPH• e ABTS•+. Quanto à atividade antimicrobiana, foi verificado que o extrato promoveu redução visual do crescimento de *E. coli* e *S. aureus*, não exercendo influência sobre o crescimento de *P. aeruginosa*.

Os resultados obtidos indicam que o EAFBIL pode ser utilizado como fonte de compostos que apresentam ação antioxidante e antimicrobiana em aplicações diversas, dentre elas na elaboração de embalagens biodegradáveis com possível ação ativa.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ADILAH, A. N.; JAMILAH, B.; NORANIZAN, M. A.; HANANI, Z. A. N. Utilization of mango peel extracts on the biodegradable films for active packaging. **Food Packaging and Shelf Life**, v. 16, p. 1-7, jun. 2018. ISSN (impresso) 2214-2894.

AFSHARNEZHAD, M.; SHAHANGIAN, S. S.; PANAH, E.; SARIRI, R. Evaluation of the antioxidant activity of extracts from some fruit peels. **Caspian Journal of Environmental Sciences.**, v. 15, n. 3, p. 213-222, 2017. ISSN (versão impressa) 1735-3033, ISSN (versão online) 1735-3866.

AHMAD, M.; ANSARI, M. N.; ALAM, A.; KHAN, T. H. Oral dose of citrus peel extracts promotes wound repair in diabetic rats. **Pakistan Journal of Biological Sciences**, v. 16, n. 20, p. 1086-1094, 2013. ISSN (versão impressa) 1028-8880, ISSN (versão online) 1812-5735.

AHN, J.; GRÜN, I. U.; FERNANDO, L. N. Antioxidant properties of natural plant extracts containing polyphenolic compounds in cooked ground beef. **Journal of Food Science**, v. 67, n. 4, p. 1364-1369, 2002. ISSN (versão impressa) 0022-1147, ISSN (versão online) 1750-3841.

AMBRÓSIO, C. L. B. **Flocos desidratados de abóbora na prevenção e controle da carência de vitamina A**. 2005. 87 f. Tese (Doutorado em Nutrição) - Universidade Federal de Pernambuco, Recife, 2005.

ANDRADE, R. M. S.; FERREIRA, M. S. L.; GONÇALVES, É. C. B. A. Development and characterization of edible films based on fruit and vegetable residues. **Journal of Food Science**, v. 81, n. 2, p. E412–E418, fev. 2016. ISSN (versão impressa) 0022-1147, ISSN (versão online) 1750-3841.

ARORA, M.; KAUR, P. Antimicrobial & antioxidant activity of orange pulp and peel. **International Journal of Science and Research (IJSR)**, v. 2, n. 11, p. 412-415, nov. 2013. ISSN (online) 2319-7064.

ASSOCIAÇÃO DE ANALISTAS QUÍMICOS OFICIAIS (AOAC). **AOAC Official Method 967.21 - Ascorbic Acid in Vitamin Preparations and Juices (2,6-Dichloroindophenol Titrimetric Method)**, 1998.

AYALA-ZAVALA, J. F.; VEGA-VEGA, V.; ROSAS-DOMÍNGUEZ, C.; PALAFOX-CARLOS, H.; VILLA-RODRIGUEZ, J. A. SIDDIQUI, Md. W.; DÁVILA-AVIÑA, J. E.; GONZÁLEZ-AGUILAR, G. A. Agro-industrial potential of exotic fruit byproducts as a source of food additives. **Food Research International**, v. 44, n. 7, p. 1866-1874, ago. 2011. ISSN (versão impressa) 0963-9969, ISSN (versão online) 1873-7145.

BARROS, H. R. M.; FERREIRA, T. A. P. C.; GENOVESE, M. I. Antioxidant capacity and mineral content of pulp and peel from commercial cultivars of citrus from Brazil. **Food Chemistry**, v. 134, n. 4, p. 1892-1898, out. 2012. ISSN (versão impressa) 0308-8146, ISSN (versão online) 1873-7072.

BENELLI, P. **Agregação de valor ao bagaço de laranja (*Citrus sinensis* L. Osbeck) mediante obtenção de extratos bioativos através de diferentes técnicas de extração.** 2010. 233 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia de Alimentos) - Centro Tecnológico da Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2010.

BORTOLUZZI, R. C.; MARANGONI, C. Caracterização da fibra dietética obtida da extração do suco de laranja. **Revista Brasileira de Produtos Agroindustriais**, Campina Grande, v. 8, n. 1, p. 61-66, 2006. ISSN (impressa) 1517-8595.

BOUSSAADA, O. AMMAR, S.; SAIDANA, D.; CHRILAA, J.; CHRAIF, I.; DAAMI, M.; HELAL, A. N.; MIGHRI, Z. Chemical composition and antimicrobial activity of volatile components from capitula and aerial parts of *Rhaponticum acaule* DC growing wild in Tunisia. **Microbiological Research**, v. 163, n. 1, p. 87-95, 2008. ISSN (versão impressa) 0944-5013, ISSN (versão online) 1618-0623.

BRAND-WILLIAMS, W.; CUVELIER, M. E.; BERSET, C. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. **LWT - Food Science and Technology**, v. 28, n. 1, p. 25-30, 1995. ISSN (versão impressa) 0023-6438, ISSN (versão online) 1096-1127.

DJENANE, D. Chemical profile, antibacterial and antioxidant activity of algerian citrus essential oils and their application in *Sardina pilchardus*. **Foods**, v. 4, n. 2, p. 208-228, 2015. ISSN (online) 2304-8158.

DUBEY, D.; BALAMURUGAN, K.; AGRAWAL, R. C.; VERMA, R.; JAIN, R.. Evaluation of antibacterial and antioxidant activity of methanolic and hydromethanolic extract of sweet orange peels. **Recent Research in Science and Technology**, v. 3, n. 11, p. 22-25, 2011. ISSN (online) 2076-5061.

FERREIRA, M. S.; FAI, A. E. C.; ANDRADE, C. T.; PICCIANI, P. H.; AZERO, E. G.; GONÇALVES, É. C. Edible films and coatings based on biodegradable residues applied to acerolas (*Malpighia puniceifolia* L.). **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 96, n. 5, p. 1634-1642, mar. 2016. ISSN (versão impressa) 0022-5142, ISSN (versão online) 1097-0010.

GALVÃO, E. L.; SILVA, D. C. F. DA; SILVA, J. O. DA; MOREIRA, A. V. B.; SOUSA, E. M. B. D. de. Avaliação do potencial antioxidante e extração subcrítica do óleo de linhaça. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 28, n. 3, p. 551-557, jul./set. 2008. ISSN (versão impressa) 0101-2061, ISSN (versão online) 1678-457X.

GERHARDT, C.; WIEST, J. M.; GIROLOMETTO, G.; SILVA, M. A. S. DA; WESCHENFELDER, S. Aproveitamento da casca de citros na perspectiva de alimentos: prospecção da atividade antibacteriana. **Brazilian Journal of Food Technology**, IV SSA, p. 11-17, maio 2012. Edição especial. ISSN (versão online) 1981-6723, ISSN (versão CD-room) 1519-0900, ISSN (versão impressa até 2002) 1516-7275, ISSN (séries de pré-impressão até 2001) 1517-7645.

GOMES, J. C.; OLIVEIRA, G. F. Determinação de alguns índices em alimentos. In: GOMES, J. C.; OLIVEIRA, G. F. **Análises físico-químicas de alimentos**. Viçosa: UFV, 2011. cap. 3.

GUIMARÃES, R.; BARROS, L.; BARREIRA, J. C. M.; SOUZA, M. J.; CARVALHO, A. M.; FERREIRA, I. C. F. R. Targeting excessive free radicals with peels and juices of citrus fruits: grapefruit, lemon, lime and orange. **Food and Chemical Toxicology**, v. 48, n. 1, p. 99-106, jan. 2010. ISSN (versão impressa) 0278-6915, ISSN (versão online) 1873-6351.

HEGAZY, A. E.; IBRAHIUM, M. I. Antioxidant activities of orange peel extracts. **World Applied Sciences Journal**, v. 18, n. 5, p. 684-688, 2012. ISSN (versão impressa) 1818-4952, ISSN (versão online) 1991-6426.

INSTITUTO DE NORMAS CLÍNICAS E LABORATORIAIS (CLSI). **Methods for dilution antimicrobial susceptibility tests for bacteria that grow aerobically; approved standard - ninth edition**. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute, v. 32. 2012.

JAYAPRAKASHA, G. K.; PATIL, B. S. In vitro evaluation of the antioxidant activities in fruit extracts from citron and blood orange. **Food Chemistry**, v. 101, n. 1, p. 410-418, 2007. ISSN (versão impressa) 0308-8146, ISSN (versão online) 1873-7072.

MANIGLIA, B. C.; DOMINGOS, J. R.; de PAULA, R. L.; TAPIA-BLÁCIDO, D. R. Development of bioactive edible film from turmeric dye solvent extraction residue. **LWT - Food Science and Technology**, v. 56, n. 2, p. 269-277, maio, 2014. ISSN (versão impressa) 0023-6438, ISSN (versão online) 1096-1127.

MELO, E. A.; MACIEL, M. I. S.; LIMA, V. L. A. G. DE; NASCIMENTO, R. J. DO. Capacidade antioxidante de frutas. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, v. 44, n. 2, p. 193-201, abr./jun. 2008. ISSN (versão impressa) 1516-9332, ISSN (versão online) 1809-4562.

OLIVEIRA, M. D.; DORS, G. C.; SOUZA-SOARES, L. A.; BADIALE-FURLONG, E. Atividade Antioxidante E Antifúngica De Extratos Vegetais. **Alimentos e Nutrição**, v. 18, n. 3, p. 267-275, 2007. ISSN (versão impressa) 0103-4235, ISSN (versão online) 2179-4448.

OLIVEIRA, M. S. R. de; WILLMS, A. Extração diferenciada de pectina de frutas cítricas. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE ALIMENTOS, 25., SIMPÓSIO INTERNACIONAL DE ALIMENTOS DA COMISSÃO INTERNACIONAL DE ENGENHARIA AGRÍCOLA E DE ALIMENTOS, 10., 2016, Gramado. **Anais do XXV Congresso Brasileiro de Ciência e Tecnologia de Alimentos**. Gramado: SBCTA Regional, 2016.

OLIVEIRA, O. W.; PETROVICK, P. R. Secagem por aspersão (*spray drying*) de extratos vegetais: bases e aplicações. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 20, n. 4, p. 641-650, ago./set. 2010. ISSN (versão impressa) 0102-695X, ISSN (versão online) 1981-528X.

PATTNAIK, S., SUBRAMANYAM, V. R.; BAPAJI, M.; KOLE, C. R. Antibacterial and antifungal activity of aromatic constituents of essential oils. **Microbios**, v. 89, n. 358, p. 39-46, 1997. ISSN (impresso) 0026-2633.

PELLEGRINI, N.; COLOMBI, B.; SALVATORE, S.; BRENN, O. V.; GALAVERNA, G.; RIO, D. DEL; BIANCHI, M.; BENNETT, R. N.; BRIGHENTI, F. Evaluation of antioxidant capacity of some fruit and vegetable foods: efficiency of extraction of a sequence of solvents. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 87, n. 1, p. 103-111, jan. 2007. ISSN (versão impressa) 0022-5142, ISSN (versão online) 1097-0010.

PEREIRA, J. A.; PEREIRA, A. P.; FERREIRA, I. C.; VALENTÃO, P.; ANDRADE, P. B.; SEABRA, R.; ESTEVINHO, L.; BENTO, A. Table olives from Portugal: phenolic compounds, antioxidant potential, and antimicrobial activity. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 54, n. 22, p. 8425-8431, 2006. ISSN (versão impressa) 0021-8561, ISSN (versão online) 1520-5118.

RAMADAN, H.; MIN, B.; TIWARI, A. K.; REDDY, G.; ADESIYUN, A.; JR., A. H.; ABDELA, W. Antibacterial activity of pomegranate, orange and lemon peel extracts against food-borne pathogens and spoilage bacteria in vitro and on poultry skin. **International Journal of Poultry Science**, v. 14, n. 4, p. 229-239, 2015. ISSN (versão impressa) 1682-8356, ISSN (versão online) 1994-7992.

RANGANA, S. **Manual of analysis of fruit and vegetable products**. New Delhi: Tata McGraw-Hill. 1979. 634 p.

RE, R. PELLEGRINI, N.; PROTEGGENTE, A.; PANNALA, A.; YANG, M.; RICE-EVANS, C. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. **Free Radical Biology & Medicine**, v. 26, n. 9-10, p. 1231-1237, 1999. ISSN (versão impressa) 0891-5849, ISSN (versão online) 1873-4596.

REBELLO, L. P. G.; LAGO-VANZELA, E. S.; BARCIA, M. T.; RAMOS, A. M.; STRINGHETA, P. C.; DA-SILVA, R.; CASTILLO-MUÑOZ, N.; GÓMEZ-ALONSO, S.; HERMOSÍN-GUTIÉRREZ, I. Phenolic composition of the berry parts of hybrid grape cultivar BRS Violeta (BRS Rubra × IAC 1398-21) using HPLC–DAD–ESI-MS/MS. **Food Research International**, v. 54, n. 1, p. 354-366, nov. 2013. ISSN (versão impressa) 0963-9969, ISSN (versão online) 1873-7145.

RODRIGUEZ-AMAYA, D. B. **A guide to carotenoid analysis in foods**. Washington: ILSI press, 2001.

RUFINO, M. D. S. M.; ALVES, R. E.; BRITO, E. S. de; MORAIS, S. M. de; Sampaio, C. de G.; PÉREZ-JIMÉNEZ, J.; SAURA-CALIXTO, F. D. Metodologia científica: determinação da atividade antioxidante total em frutas pela captura do radical livre ABTS•+. **Embrapa Agroindústria Tropical - Comunicado Técnico online 128**, Fortaleza, jul. 2007. ISSN (online) 1679-6535.

SAFDAR, M. N.; KAUSAR, T.; JABBAR, S.; MUMTAZ, A.; AHAD, K.; SADDIZAI, A. A. Extraction and quantification of polyphenols from kinnow (*Citrus reticulata* L.) peel using ultrasound and maceration techniques. **Journal of Food and Drug Analysis**, v. 25, n. 3, p. 488-500, jul. 2017. ISSN (versão impressa) 1021-9498, ISSN (versão online) 2224-6614.

SAYARI, N.; SILA, A.; BALTI, R.; ABID, E.; HAJLAOUI, K.; NASRI, M.; BOUGATEF, A. Antioxidant and antibacterial properties of *Citrus paradisi* barks extracts during turkey sausage formulation and storage. **Biocatalysis and Agricultural Biotechnology**, v. 4, n. 4, p. 616-623, out. 2015. ISSN (online) 1878-8181.

SHUKLA, P. S.; GAWANDE, S. S.; THORAT, A. V. Extraction, identification and utilization of pigments extracted from citrus wastes. **International Journal of Science and Research**. v. 5, n. 2, maio 2016. ISSN (online) 2319-7064.

SILVA, C. E. DE F.; DA GAMA, B. M. V.; OLIVEIRA, L. M. T. DE M.; DE ARAUJO, L. T.; DE ARAUJO, M. L.; JUNIOR, A. M. DE O.; ABUD, A. K. DE S. Uso da laranja lima e seus resíduos no desenvolvimento de novos produtos. **Revista Brasileira de Engenharia de Biosistemas**, v. 10, n. 1, p. 69-96, 2016. ISSN (versão impressa) 1981-7061, ISSN (versão online) 2359-6724.

SIMPKINS, W. A.; LOUIE, H.; WU, M.; HARRISON, M.; GOLDBERG, D. Trace elements in Australian orange juice and other products. **Food Chemistry**, v. 71, n. 4, p. 423-433, dez. 2000. ISSN (versão impressa) 0308-8146, ISSN (versão online) 1873-7072.

SOUSA, M.; VIEIRA, L.; LIMA, A. de. Fenólicos totais e capacidade antioxidante in vitro de resíduos de polpas de frutas tropicais. **Brazilian Journal of Food Technology**, Campinas, v. 14, n. 13, p. 202-210, jul./set. 2011. ISSN (versão online) 1981-6723, ISSN (versão CD-room) 1519-0900, ISSN (versão impressa até 2002) 1516-7275, ISSN (séries de pré-impressão até 2001) 1517-7645.

STORCK, C. R.; BASSO, C.; FAVARIN, F. R.; RODRIGUES, A. C. Qualidade microbiológica e composição de farinhas de resíduos da produção de suco de frutas em diferentes granulometrias. **Brazilian Journal of Food Technology**, v. 18, n. 4, p. 277-284, out./dez. 2015. ISSN (versão online) 1981-6723, ISSN (versão CD-room) 1519-0900, ISSN (versão impressa até 2002) 1516-7275, ISSN (séries de pré-impressão até 2001) 1517-7645.

SWAIN, T.; HILLS, W. The phenolic constituents of *Prunus domestica*. I. - The quantitative analysis of phenolic constituents. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 19, n. 1, p. 63-68, 1959. ISSN (versão impressa) 0022-5142, ISSN (versão online) 1097-0010.

TAO, N.-G.; LIU, Y.-J.; ZHANG, M.-L. Chemical composition and antimicrobial activities of essential oil from the peel of bingtang sweet orange (*Citrus sinensis* Osbeck). **International Journal of Food Science & Technology**, v. 44, n. 7, p. 1281-1285, jul. 2009. ISSN (versão impressa) 0950-5423, ISSN (versão online) 1365-2621.

TRABELSI, D.; AMMAR, A. H.; BOUABDALLAH, F.; ZAGROUBA, F. Antioxidant and antimicrobial activities of essential oils and methanolic extracts of Tunisian *Citrus aurantium* L. **IOSR Journal of Environmental Science, Toxicology and Food Technology**, v. 8, n. 5, p. 18-27, maio 2014. ISSN (versão impressa) 2319-2399, ISSN (versão online) 2319-2402.

ZENEBON; O.; PASCUET, N. S.; TIGLEA, P. Conservas vegetais, frutas e produtos de frutas. In: ZENEBON; O.; PASCUET, N. S.; TIGLEA, P. (Coord.). **Métodos físicos-químicos para análise de alimentos**. 4. ed. São Paulo: Instituto Adolfo Lutz, 2008a. cap. 15.

ZENEBON; O.; PASCUET, N. S.; TIGLEA, P. Vitaminas. In: ZENEBON; O.; PASCUET, N. S.; TIGLEA, P. (Coord.). **Métodos físicos-químicos para análise de alimentos**. 4. ed. São Paulo: Instituto Adolfo Lutz, 2008b. cap. 19.

Capítulo 3

DESENVOLVIMENTO E CARACTERIZAÇÃO DE FILME BIODEGRADÁVEL ATIVO À BASE DO EXTRATO DA FARINHA DE RESÍDUO DO PROCESSAMENTO INDUSTRIAL DE LARANJA

RESUMO

A busca por alternativas que envolvem o aproveitamento dos resíduos agroindustriais tem sido alvo de interesse de pesquisadores de diversas áreas, dentre elas a de embalagens. Objetivou-se com o presente estudo desenvolver e caracterizar um filme biodegradável antioxidante e antimicrobiano para embalagem de alimentos utilizando-se o resíduo do processamento industrial de laranja. O filme foi elaborado à base do extrato aquoso da farinha de bagaço industrial de laranja, pectina e do plastificante trietilcitrate em diferentes concentrações (0, 10, 20 e 30 %) e foi caracterizado quanto às suas características visuais, propriedades ópticas, perfil de distribuição de componentes, microestrutura, espessura, propriedades mecânicas, capacidade antioxidante e atividade antimicrobiana. Quanto às características visuais, os filmes apresentaram boa manuseabilidade, ausência de partículas insolúveis, rupturas ou zonas quebradiças e presença de poucas bolhas. Quanto às propriedades ópticas, a análise de cor demonstrou que o aumento da concentração do plastificante promoveu o incremento ($p < 0,05$) nos valores de a^* , b^* e YI E313 e a redução ($p < 0,05$) nos valores de L^* e WI E313 do filme, a opacidade aumentou ($p < 0,05$) com o incremento da concentração de trietilcitrate e os espectros de varredura obtidos indicaram que o filme bloqueou a transmitância da luz UV. O perfil de distribuição dos componentes no filme indicou que não houve homogeneidade na distribuição dos mesmos nas áreas analisadas. A análise da microestrutura possibilitou verificar a presença de pequenas partículas e vesículas nas áreas analisadas dos filmes. A espessura aumentou ($p < 0,05$) com o incremento da concentração do plastificante. Não foi possível obter um modelo capaz de prever o comportamento das propriedades mecânicas do filme em função da concentração do plastificante utilizada. O filme apresentou capacidade antioxidante pela captura dos radicais livres DPPH• e ABTS•+ ao longo do tempo, mas não apresentou atividade antimicrobiana sobre *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* e *Staphylococcus aureus*, indicando que pode ser utilizado como embalagem ativa antioxidante.

Palavras-chave: embalagem biodegradável ativa, bagaço industrial de laranja, pectina, trietilcitrate, capacidade antioxidante.

ABSTRACT

The search for alternatives that involve the use of agroindustrial waste has been the subject of interest of researchers in several areas, including packaging. It was aimed with the present study to develop and to characterize a biodegradable antioxidant and antimicrobial film for food packaging using industrial orange processing waste. The film was prepared based on the aqueous extract of the industrial orange bagasse flour, pectin and the triethyl citrate plasticizer in different concentrations (0, 10, 20 and 30 %) and was characterized in terms of its visual characteristics, optical properties, components distribution profile, microstructure, thickness, mechanical properties, antioxidant capacity and antimicrobial activity. According to the visual characteristics, the films presented good handling, absence of insoluble particles, ruptures or brittle zones and presence of few bubbles. As for the optical properties, the color analysis demonstrated that the increase of the plasticizer concentration promoted the increase ($p < 0,05$) in the values of a^* , b^* and YI E313 and the reduction ($p < 0,05$) in the values of L^* and WI E313 of the film, the opacity grew up ($p < 0,05$) with the increase in the concentration of triethylcitrate and the obtained sweep spectra indicated that the film blocked the UV light transmittance. The components distribution profile in the film indicated that there was no homogeneity in their distribution at the analyzed areas. The microstructure analysis allowed to verify the presence of small particles and vesicles at the analyzed areas of the films. The thickness enhanced ($p < 0,05$) with increasing concentration of the plasticizer. It was not possible to obtain a model capable of predicting the behavior of the film mechanical properties as a function of the plasticizer concentration used. The film presented antioxidant capacity for the capture of the free radicals DPPH• and ABTS•+ over time, but did not present antimicrobial activity on *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* and *Staphylococcus aureus*, indicating that it can be used as active antioxidant packaging.

Keywords: Active biodegradable packaging, orange industrial bagasse, pectin, triethylcitrate, antioxidant capacity.

1 INTRODUÇÃO

O uso de embalagens biodegradáveis é uma das alternativas encontradas para se reduzir o acúmulo de lixo plástico na natureza.

As vantagens de se utilizar essas embalagens são que as mesmas levam menor tempo para se degradarem no meio ambiente, podem ser produzidas a partir de materiais naturais renováveis de ciclo curto, como os derivados de matérias-primas agrícolas reutilizáveis ou resíduos da indústria de processamento de alimentos marinhos (THARANATHAN, 2003; PAOLI, 2008). Uma vantagem adicional dos materiais de embalagem biodegradáveis é que na biodegradação ou desintegração e compostagem há a possibilidade de atuação dos mesmos como fertilizantes e condicionadores do solo, o que pode melhorar o rendimento das lavouras (THARANATHAN, 2003).

Os resíduos do processamento de produtos vegetais como frutas e hortaliças apresentam composição variada, podendo conter biopolímeros como fibras, proteínas, carboidratos e lipídeos que podem atuar como matrizes poliméricas ou mesmo como plastificantes na elaboração de embalagens biodegradáveis (ROBERTA; MARIANA; ÉDIRA, 2014; FERREIRA et al., 2016). Esses materiais também podem conter compostos como óleos essenciais, vitaminas, carotenoides, compostos fenólicos, entre outros que podem atuar como agentes antimicrobianos, antioxidantes e aromáticos na elaboração de embalagens ativas para alimentos (PITAK; RAKSHIT, 2011; MANIGLIA et al., 2014; REBELLO et al., 2014; SHARMA et al., 2017).

Em virtude disso, esses materiais têm sido alvo de estudos por pesquisadores para o desenvolvimento de embalagens visando o aproveitamento desses compostos, o que, além de fornecer uma nova alternativa de uso desses resíduos, minimiza os problemas de descarte dos mesmos na natureza, que também podem causar grande impacto ambiental.

Assim, objetivou-se com este estudo desenvolver e caracterizar um filme biodegradável ativo antioxidante e antimicrobiano obtido do extrato aquoso do resíduo industrial do processamento da laranja transformados em farinha com o intuito de fornecer uma nova alternativa de gerenciamento desses resíduos além de possibilitar a conservação de produtos alimentícios por um período de tempo maior.

2 MATERIAL E MÉTODOS

As análises experimentais foram conduzidas no Laboratório de Embalagens do Departamento de Tecnologia de Alimentos da Universidade Federal de Viçosa em Viçosa – Minas Gerais e no Laboratório do Grupo de Instrumentação e Automação em Química Analítica (GIA) do Instituto de Química da Universidade Estadual de Campinas (Unicamp) em Campinas – São Paulo.

2.1 Delineamento experimental

Os experimentos realizados foram conduzidos sob o delineamento inteiramente casualizado (DIC).

2.2 Elaboração do filme biodegradável ativo

O filme biodegradável ativo à base do extrato aquoso da farinha de bagaço industrial de laranja (EAFBIL obtido e caracterizado no Capítulo 2) foi elaborado pelo método *casting* conforme metodologia descrita por Batista, Tanada-Palmu e Grosso (2005) com algumas modificações. O extrato aquoso (150 mL) foi aquecido a 50 ± 2 °C sob agitação constante em agitador magnético (Fisatom Brasil Mod. 753 A Série 1542911) e ao mesmo foram adicionados, lentamente, 3 % (m/v) de pectina cítrica (Vetec) em relação ao volume de extrato utilizado. Após a dispersão do polímero no extrato, adicionou-se o plastificante trietilcitrate (Sigma-Aldrich) em diferentes concentrações (0 %, 10 %, 20 % e 30 % (m/m)) em relação à massa do polímero (pectina) utilizada e as dispersões poliméricas foram mantidas sob agitação constante por 5 minutos. A fim de se minimizar a presença de bolhas nos filmes, os béqueres contendo as dispersões poliméricas foram levados a banho ultrassônico (Modelo SONI-TOP 412) a 25 °C por 20 minutos e, em seguida, as mesmas foram vertidas em placas retangulares de vidro com dimensões de 32 cm x 20 cm (comprimento x largura) e foram submetidas à secagem em câmara climática à temperatura de 35 °C e umidade relativa de 60 % por 20 h.

A Tabela 6 contém a denominação atribuída a cada tratamento de acordo com a concentração de trietilcitrate usada na elaboração do filme biodegradável ativo.

Tabela 6 - Tratamentos empregados na síntese dos filmes em função do volume (mL) de extrato aquoso, pectina (%) (m/v) (expressa em massa de polímero por volume de extrato aquoso) e concentração do trietilcitrate (%) (m/m) (expressa em massa de plastificante por massa de pectina) utilizados.

Tratamento	Volume de extrato aquoso (mL)	Pectina (%) (m/v)	Trietilcitrate (TEC) (%) (m/m)
E1	150	3	0
E2	150	3	10
E3	150	3	20
E4	150	3	30

2.3 Caracterização do filme biodegradável ativo

2.3.1 Aspecto visual

A avaliação visual do filme foi realizada com base nos aspectos visuais e táteis do mesmo, levando-se em consideração a cor, a presença de partículas insolúveis, a continuidade (presença ou não de rupturas ou zonas quebradiças), a facilidade na remoção do mesmo da superfície utilizada para a sua elaboração (placas de vidro) e a manuseabilidade apresentadas.

2.3.2 Propriedades ópticas

2.3.2.1 Cor

A análise instrumental de cor dos filmes foi realizada por meio de um colorímetro de bancada (COLORQUEST XE HunterLab, Reston, Virginia, EUA) utilizando-se o Universal Software V4.10, área de medição de 9,5 mm de diâmetro, iluminante D-65 (luz do dia) e ângulo de observação de 10 graus em conformidade com a norma ASTM E 308 – 08 (Prática Padrão para Computar as Cores dos Objetos Usando o Sistema CIE) da Sociedade Americana de Testes e Materiais (ASTM, 2008).

As medições foram realizadas em cinco pontos aleatórios de cada filme utilizando-se a escala CIELAB, em que L^* indica a luminosidade e varia de 0 a 100 (de preto puro a branco puro), a^* representa o nível de tonalidade e varia de -a (cor verde) a +a (cor vermelha) e b^* representa o nível de saturação e varia de -b (cor azul) a +b (cor amarela) (RAMOS; GOMIDE, 2007; ASTM, 2008).

Os valores da diferença total (global) de cor (ΔE^*) entre os diferentes tratamentos foram calculados por meio da Equação 12, utilizando-se as diferenças de

cor ΔL^* ($L_1^* - L_0^*$), Δa^* ($a_1^* - a_0^*$) e Δb^* ($b_1^* - b_0^*$), entre as amostras, considerando-se L_1^* , a_1^* e b_1^* e L_0^* , a_0^* e b_0^* os parâmetros das amostras de filmes de dois tratamentos de interesse a serem comparados entre si (RAMOS; GOMIDE, 2007). Também foram obtidos os índices de amarelecimento (YI E313) e brancura (WI E313) dos filmes em conformidade com a norma ASTM E 313 – 10 (Prática Padrão para Calcular os Índices de Amarelecimento e Brancura de Coordenadas de Cor Medidas de Forma Instrumental) da ASTM (ASTM, 2010). A análise foi realizada em cinco repetições.

$$\Delta E^* = \sqrt{(\Delta L^*)^2 + (\Delta a^*)^2 + (\Delta b^*)^2} \quad (12)$$

Em que:

ΔE^* = diferença total de cor;

$\Delta L^* = L_1^* - L_0^*$;

$\Delta a^* = a_1^* - a_0^*$;

$\Delta b^* = b_1^* - b_0^*$.

2.3.2.2 Opacidade

A opacidade do filme biodegradável ativo foi determinada por meio de colorímetro de bancada (COLORQUEST XE HunterLab, Reston, Virginia, EUA) utilizando-se o Universal Software V4.10, área de medição de 9,5 mm de diâmetro, iluminante D-65 (luz do dia) e ângulo de observação de 10 graus. A análise foi realizada em cinco repetições.

2.3.2.3 Espectro de varredura

Espectros de varredura no intervalo de comprimento de onda de 190 nm a 800 nm foram obtidos por meio da leitura direta de amostras retangulares de cada tratamento em espectrofotômetro UV/VIS (modelo UV-1800, Shimadzu, Japão). As amostras foram posicionadas diretamente em um suporte para análises de filmes considerando-se o ar como referência. Os resultados foram expressos em porcentagem de transmitância (%) de acordo com Kanatt et al. (2012).

2.3.3 Perfil de distribuição de componentes por imagem hiperespectral NIR

A distribuição espacial dos componentes químicos do filme foi verificada por meio da obtenção de imagens hiperespectrais das amostras de filmes dos diferentes tratamentos na região do infravermelho próximo (NIR-HIS) e de curvas multivariadas de resolução alternando mínimos quadrados (MCR-ALS) (JAUMOT; DE JUAN; TAULER, 2015; SOUZA et al., 2016) segundo metodologia desenvolvida por Terra (2018) conforme segue.

As imagens hiperespectrais na região do infravermelho próximo foram adquiridas acomodando as mesmas em um suporte de teflon e utilizando o sistema de imagem química *Specim*[®] *SisuCHEMA XL* (*Specim, Spectral Imaging Ltd., Oulu, Finlândia, 2011*). O sistema emprega uma lente OLE15 com campo de visão de 200 mm e resolução espacial de aproximadamente 625 μm . A faixa espectral utilizada foi de 928 - 2.524 nm, com uma resolução espectral de 6,3 nm. Esse intervalo de comprimento de onda foi segmentado em 256 partes, resultando em um cubo de imagem NIR-HSI com 256 imagens (uma imagem por comprimento de onda). Os dados foram importados para o Matlab (Mathworks R2016a Inc., versão 9.0). Os picos foram removidos e o pré-tratamento com espectros foi realizado usando MIA-Toolbox (Eigenvector, versão 3.03) e PLS_Toolbox (Eigenvector, CA, versão 8.2). Foram aplicados dados *binning* (*pixels*), filtro Savitzky-Golay e correção de dispersão multiplicativa. O hipercubo foi então desdobrado em uma matriz e cada linha correspondeu a um pixel e as colunas corresponderam aos espectros NIR. A decomposição de valores singulares (SVD) indicou três fontes e os espectros padrão dos componentes EAFBIL, pectina, trietilcitrato e do teflon foram utilizados como estimativa inicial dos espectros de componentes puros. Uma restrição de não negatividade foi aplicada na concentração e o algoritmo ALS foi realizado. Os vetores de concentração relativa obtidos pelo MCR-ALS foram reconstruídos em matrizes e foi possível analisar a homogeneidade dos constituintes do filme através das imagens formadas.

2.3.4 Espessura

A espessura média (mm) do filme biodegradável ativo foi obtida realizando-se a mensuração da mesma em 10 pontos aleatórios dos corpos de prova dos diferentes tratamentos com o auxílio de um micrômetro digital (*Mitutoyo, Modelo 547-401, resolução de 0,001 mm*) e, em seguida, calculando-se a média dos valores obtidos. A

análise foi realizada em cinco repetições.

2.3.5 Propriedades mecânicas

As propriedades mecânicas do filme biodegradável ativo foram avaliadas de acordo com a norma ASTM D882 – 12 (Método de Teste Padrão para Propriedades de Tração de Folhas de Plástico Finas) da ASTM (ASTM, 2012). Foram avaliados a resistência à tração (MPa), o alongamento na ruptura (%) e o módulo de elasticidade (MPa) do filme desenvolvido. Para a realização do teste foi utilizada a Máquina Universal de Testes Mecânicos (INSTRON Corporation, Modelo 3367) utilizando-se cinco corpos de prova (17,5 cm de comprimento x 2,5 cm de largura) de cada tratamento. A máquina foi operada com carga de 1 kN, velocidade de separação das garras de 12,5 mm·min⁻¹ e distância inicial entre as garras de 125 mm. A análise foi realizada em cinco repetições.

2.3.6 Microestrutura

A microestrutura do filme biodegradável ativo foi avaliada por meio de observações feitas a partir das imagens obtidas utilizando um Microscópio Eletrônico de Varredura (*Model TM3000*, Hitachi).

Amostras de 0,5 cm² de filmes dos diferentes tratamentos foram submetidas a cortes transversais e foram fixadas em adesivos contendo uma camada de carbono que foram colocados (um por vez) em um *stub* para obtenção das imagens em diferentes aumentos. Foi utilizado vácuo baixo e modo *Analy*.

2.3.7 Capacidade antioxidante *in vitro*

O filme biodegradável ativo foi avaliado quanto à sua capacidade antioxidante *in vitro* pelos métodos DPPH e ABTS. Como filme controle para a realização dessa análise, foi sintetizado um filme nas mesmas condições do filme à base do EAFBIL substituindo-se o extrato por água ultra pura.

2.3.7.1 Método DPPH

A capacidade antioxidante *in vitro* do filme biodegradável ativo pelo método DPPH foi avaliada de acordo com a metodologia de Brand-Williams, Cuvelier e Berset (1995) com modificações. Foram diluídos 1,25 mg de DPPH (Sigma-Aldrich) em 50 mL de etanol (Dinâmica) e, em seguida, a absorvância desta solução foi medida em espectrofotômetro UV/VIS (modelo UV-1800, Shimadzu, Japão) a 517 nm. A concentração da solução foi ajustada até que a absorvância da mesma estivesse entre 0,7 e 0,8. Um filme com área de 1 cm² foi colocado em 3 mL de solução de DPPH deixando-se reagir no escuro. As absorvâncias das soluções de DPPH com filme e da solução de DPPH sem filme foram lidas ao longo do tempo (270 min) em intervalos de tempo de 10 minutos (de 0 a 90 min) e de 30 min (de 90 a 270 min) a 517 nm e a capacidade antioxidante do filme foi determinada calculando-se a percentagem de inibição por meio da Equação 13. A análise foi realizada em três repetições e em duplicata.

$$\% \text{ inibição} = \frac{\text{abs branco} - \text{abs amostra}}{\text{abs branco}} * 100 \quad (13)$$

Em que:

abs branco = valor da absorvância do radical DPPH sem a amostra (filme);

abs amostra = valor da absorvância do radical DPPH com a amostra (filme).

2.3.7.2 Método ABTS

A capacidade antioxidante *in vitro* do filme biodegradável ativo pelo método ABTS foi avaliada de acordo com a metodologia de Re et al. (1999), detalhada por Rufino et al. (2007), com modificações. O radical ABTS+• foi preparado a partir da reação entre uma solução de ABTS (Sigma-Aldrich) 7 mM e uma solução de persulfato de potássio (Vetec) 140 mM durante 12-16 horas na ausência de luz e à temperatura ambiente. Foi diluído 1 mL da solução de ABTS+• em etanol absoluto (Dinâmica) e, em seguida, a absorvância desta solução foi lida em espectrofotômetro UV/VIS (modelo UV-1800, Shimadzu, Japão) a 734 nm. A concentração da solução foi ajustada de modo que se obtivesse valores de absorvância entre 0,7 e 0,8. Um filme com área de 1 cm² foi colocado em 3 mL de solução de ABTS+• e foi deixado para reagir em ausência de luz.

A absorvância das soluções de ABTS+• com filme e sem filme foi lida ao longo do tempo (80 min) no intervalo tempo de 10 min a 734 nm. A capacidade antioxidante dos filmes foi determinada calculando-se a percentagem de inibição por meio da Equação 2 (item 2.3.7.1). A análise foi realizada em três repetições e em duplicata.

2.3.8 Atividade antimicrobiana *in vitro*

A atividade antimicrobiana *in vitro* dos filmes dos diferentes tratamentos foi avaliada por meio do método de difusão em ágar sobre os micro-organismos *Escherichia coli* (ATCC 11229), *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 15442) e *Staphylococcus aureus* (ATCC 6538), conforme metodologia descrita pelo Instituto de Normas Clínicas e Laboratoriais (CLSI, 2012).

Para a avaliação da atividade antimicrobiana *in vitro* dos filmes, foram preparados inóculos de cada micro-organismo conforme descrito no item 2.9.1 do Capítulo 2 e foram inoculados 100 µL dos mesmos (10^5 UFC·mL⁻¹) sobre a superfície de placas de Petri descartáveis contendo ágar Mueller Hinton (Difco Laboratories) solidificado. Discos de 1 cm de diâmetro dos filmes dos diferentes tratamentos foram colocados no centro das placas e as mesmas foram incubadas a 35 °C por 24 h. A atividade antimicrobiana dos filmes foi determinada avaliando-se a zona de inibição do desenvolvimento microbiano (cm) ao redor do mesmo. A análise foi realizada em duas repetições e em duplicata.

2.4 Análise estatística

A avaliação dos resultados das análises de cor, opacidade e espessura do filme foi realizada por meio da análise de regressão em nível de 5 % de significância ajustando-se o modelo mais apropriado para cada uma delas. O programa estatístico utilizado foi o Minitab[®] 17 (versão 17.1.0, Minitab Inc., 2013). Os resultados das propriedades mecânicas foram expressos em médias e desvios padrões calculados utilizando-se o programa Microsoft[®] Office Excel[®] 2007 (versão 12.0.6787.5000, Microsoft Corporation, 2008). O aspecto visual, o perfil de distribuição de componentes no filme, além da microestrutura do mesmo foram avaliados por meio de análise visual.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 Aspecto visual

Na Figura 7 pode-se observar o aspecto visual apresentado pelos filmes desenvolvidos dos diferentes tratamentos.

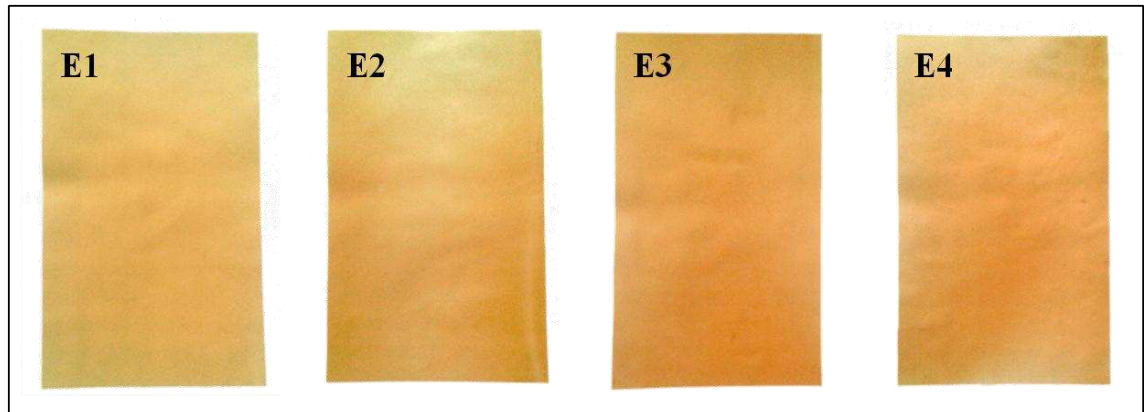


Figura 7 - Fotos dos filmes (E1, E2, E3 e E4) desenvolvidos à base do extrato aquoso da farinha de bagaço industrial de laranja e pectina em função das diferentes concentrações do plastificante trietilcitrate utilizadas.

Os filmes dos diferentes tratamentos apresentaram cor amarela bastante semelhante, entretanto o filme do tratamento E1 apresentou tonalidade relativamente mais clara em relação aos demais. Percebeu-se que os filmes que receberam a adição do plastificante trietilcitrate ficaram mais opacos em relação ao filme do tratamento E1, o qual apresentou brilho relativamente maior em relação aos demais.

Quanto à facilidade de remoção do filme da superfície utilizada na sua elaboração (placa de vidro), os filmes dos tratamentos que receberam a adição do trietilcitrate foram retirados com maior facilidade da mesma em relação ao filme que não recebeu a adição do plastificante (tratamento E1). Todos os filmes exibiram boa manuseabilidade, não se apresentando quebradiços. Visualmente, não foram percebidas partículas insolúveis em nenhum dos filmes avaliados e foi percebida a presença de poucas bolhas nos mesmos.

Quanto à continuidade, não foram verificadas rupturas ou zonas quebradiças nos filmes, entretanto, no momento em que as dispersões poliméricas foram vertidas nas placas, percebeu-se que houve formação de uma massa mais densa em determinadas regiões, a qual pareceu ser mais evidente nos filmes que receberam a adição do

plastificante. Essa heterogeneidade observada nas dispersões poliméricas também foi percebida nos filmes formados após o processo de secagem das mesmas.

3.2 Propriedades ópticas

3.2.1 Cor

Na Tabela 7 é possível observar os modelos ajustados para os parâmetros L^* , a^* e b^* e para os índices de amarelecimento (YI E313) e brancura (WI E313) avaliados na análise de cor em função da concentração do plastificante utilizada na elaboração dos filmes biodegradáveis.

Tabela 7 - Modelos ajustados para os parâmetros L^* , a^* e b^* e para os índices de amarelecimento (YI E313) e brancura (WI E313) obtidos com a análise de cor dos filmes produzidos em função da variação da concentração do plastificante trietilcitrate utilizada bem como o p-valor da regressão, o p-valor da falta de ajuste e o coeficiente de determinação dos respectivos modelos.

Resposta	Modelo ajustado	p-valor Regressão	p-valor Falta de ajuste	R ²
L^*	$L^* = 81,063 - 0,1828 * CTEC$	0,000	0,105	0,6062
a^*	$a^* = -0,630 + 0,1116 * CTEC$	0,000	0,140	0,5968
b^*	$b^* = 33,418 + 0,0746 * CTEC$	0,016	0,934	0,2819
YI E313	$YI E313 = 59,48 + 0,3047 * CTEC$	0,001	0,590	0,4874
WI E313	$WI E313 = -112,18 - 0,946 * CTEC$	0,001	0,517	0,4767

Na Figura 8 é possível observar o comportamento dos parâmetros L^* , a^* e b^* e dos índices de amarelecimento e brancura do filme em função da concentração do plastificante trietilcitrate utilizada.

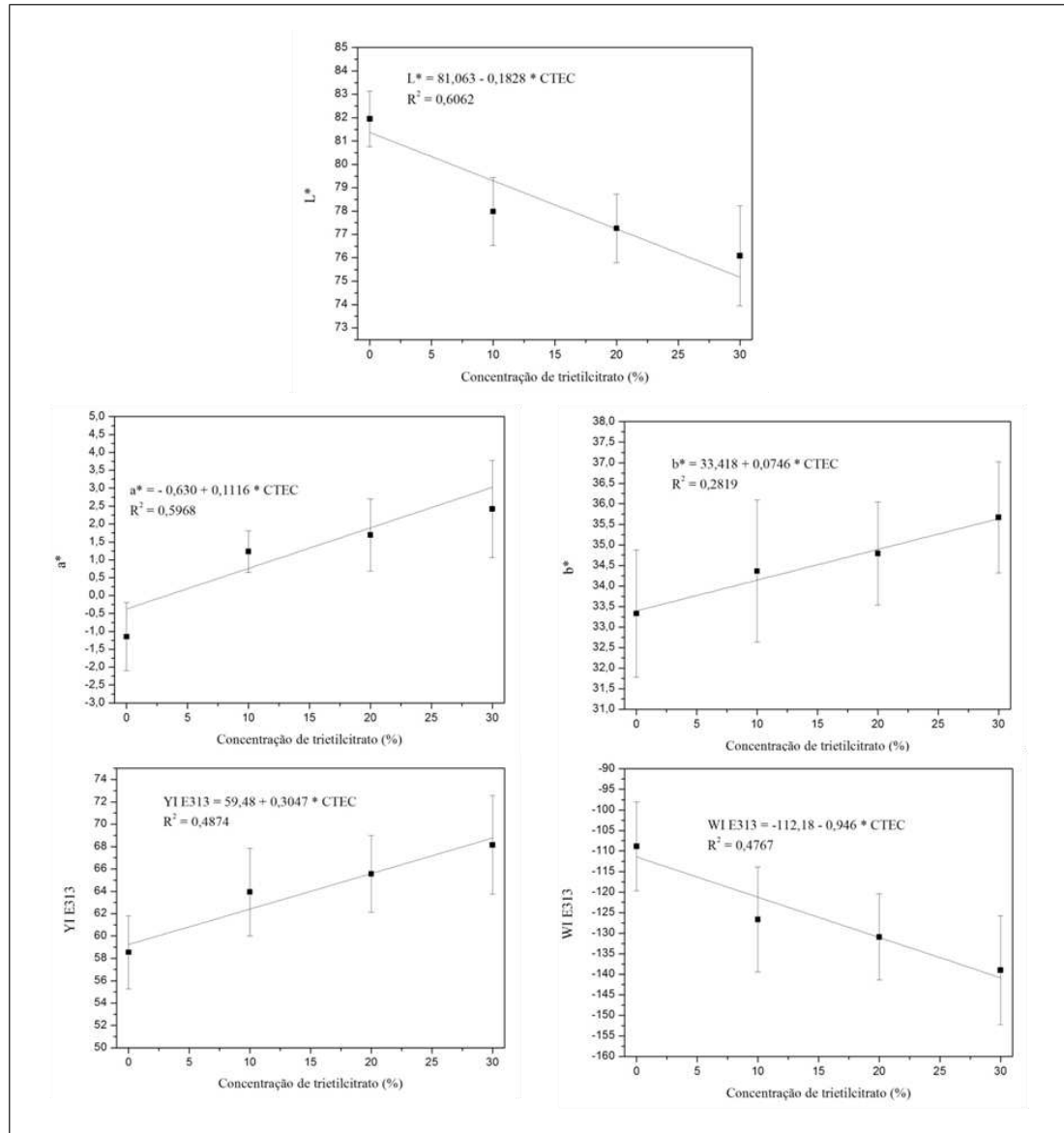


Figura 8 - Gráficos da variação dos parâmetros L^* , a^* e b^* e dos índices de amarelecimento (YI E313) e brancura (WI E313) do filme biodegradável ativo em função da concentração de trietilcitrato utilizada.

Quanto ao parâmetro L^* , o resultado obtido indica que o aumento da concentração do plastificante trietilcitrato promoveu redução significativa ($p < 0,05$) da luminosidade do filme desenvolvido. Isso pôde ser percebido claramente com a análise visual do mesmo: o filme do tratamento E1 apresentou maior brilho em relação aos demais, os quais tiveram o brilho reduzido à medida que se aumentou a concentração do trietilcitrato no processo de elaboração.

De maneira contrária, o aumento da concentração do trietilcitrato promoveu o incremento significativo ($p < 0,05$) no valor de a^* , indicando que a cor do filme tendeu ao vermelho com o aumento da concentração do plastificante.

A resposta observada para o parâmetro b^* indica que o aumento da concentração do trietilcitrato promoveu o incremento significativo ($p < 0,05$) em seu valor, ou seja, quanto maior foi a concentração do plastificante, mais o filme tendeu ao amarelo.

Quanto ao índice de amarelecimento (YI E313), foi verificado que seu valor aumentou significativamente ($p < 0,05$) com o incremento na concentração do plastificante, ou seja, quanto maior foi a concentração do plastificante utilizada, mais amarelo o filme se apresentou.

Quanto ao índice de brancura (WI E313), foi constatado que o aumento da concentração do trietilcitrato promoveu a redução significativa ($p < 0,05$) em seu valor, ou seja, quanto maior foi a concentração do plastificante utilizada, menos o filme tendeu ao branco.

Beigomi, Mohsenzadeh e Salari (2018) verificaram que a variação da concentração do plastificante glicerol (10 – 40 %) no processo de elaboração de filme à base de mucilagem de semente de *Dracocephalum moldavica* promoveu alterações nos parâmetros de cor avaliados. Os resultados indicaram que houve aumento significativo ($p < 0,05$) nos valores de b^* e de L^* com o incremento na concentração de glicerol utilizada na elaboração do filme, corroborando com as observações visuais feitas pelos autores de que os filmes apresentaram uma aparência ligeiramente amarelada.

Quanto ao parâmetro a^* , os autores verificaram que seu valor diminuiu significativamente ($p < 0,05$) com aumento na concentração do plastificante, indicando que o filme apresentou cor mais próxima do verde. Os valores referentes ao índice de brancura (WI) foram superiores para os tratamentos que receberam a adição do glicerol e aumentaram significativamente ($p < 0,05$) com o incremento da concentração do plastificante, indicando que o filme ficou mais amarelado, porém transparente.

O comportamento observado para aos parâmetros de cor do filme à base do EAFBIL com relação ao aumento da concentração de plastificante utilizada foi semelhante ao percebido pelos autores apenas quanto aos valores de b^* , o que pode ser devido às diferentes interações que podem ocorrer entre os plastificantes e os compostos extraídos da matéria-prima vegetal utilizada.

Paschoalick et al. (2003) variaram a concentração do plastificante glicerol na elaboração de filmes comestíveis à base de proteínas musculares da tilápia do Nilo e perceberam mudanças nas propriedades de cor dos filmes, sugerindo que as variações observadas ocorreram em virtude apenas do efeito da diluição do plastificante no meio e não devido ao efeito plastificante em si do glicerol.

Na Tabela 8 podem ser observados os valores da diferença total de cor (ΔE^*) obtidos comparando-se os diferentes filmes avaliados e na Tabela 9 verificam-se os valores da diferença global de cor e a percepção subjetiva dessa diferença pelo olho humano.

Tabela 8 - Diferença total de cor (ΔE^*) entre os filmes dos diferentes tratamentos.

Tratamentos comparados	ΔE^*
E2-E1	4,75 \pm 0,49
E3-E1	5,67 \pm 0,41
E4-E1	7,25 \pm 1,05
E3-E2	0,95 \pm 0,64
E4-E3	1,63 \pm 0,76
E4-E2	2,58 \pm 1,10

Tabela 9 – Percepção subjetiva da diferença de cor de amostras com diferenças globais (ΔE^*) determinadas.

Diferença global (ΔE^*)	Avaliação da diferença de cor
< 0,2	Não perceptível
0,2 a 0,5	Muito pouco perceptível
0,5 a 1,5	Pouco perceptível
1,5 a 3,0	Percepção clara
3,0 a 6,0	Percepção muito clara
6,0 a 12	Percepção bastante clara
> 12	Facilmente perceptível

Fonte: Prändl et al. (1994) com modificações feitas por Ramos e Gomide (2007).

A percepção subjetiva da diferença de cor entre o tratamento E1 e os tratamentos E2 e E3 foi muito clara a olho nu e a percepção entre os tratamentos E1 e E4 foi considerada bastante clara, o que se deve à maior concentração do plastificante no tratamento E4 em relação ao tratamento E1. A percepção subjetiva da diferença de cor entre os tratamentos E3 e E2 a olho nu foi considerada pouco perceptível, e entre o tratamento E4 e os tratamentos E3 e E2 foi considerada clara.

Pode-se perceber que a utilização do plastificante em diferentes concentrações pode alterar as características de cor perceptíveis pelo olho humano, o que deve ser levado em consideração, por exemplo, em testes de aceitação do consumidor do produto no qual a embalagem for aplicada.

3.2.2 Opacidade

O modelo ajustado para a opacidade do filme foi o quadrático ($OP = 18,846 + 0,4083 C1 - 0,00623 * CTEC^2$) ($p\text{-valor}_{regressão} = 0,000$; $p\text{-valor}_{falta\ de\ ajuste} = 0,144$; $R^2 = 0,9012$). O resultado encontrado indicou que o aumento da concentração do trietilcitrate promoveu o incremento significativo ($p < 0,05$) da opacidade, mas a partir de determinada concentração do plastificante a opacidade continua aumentando a uma taxa menor (Figura 9).

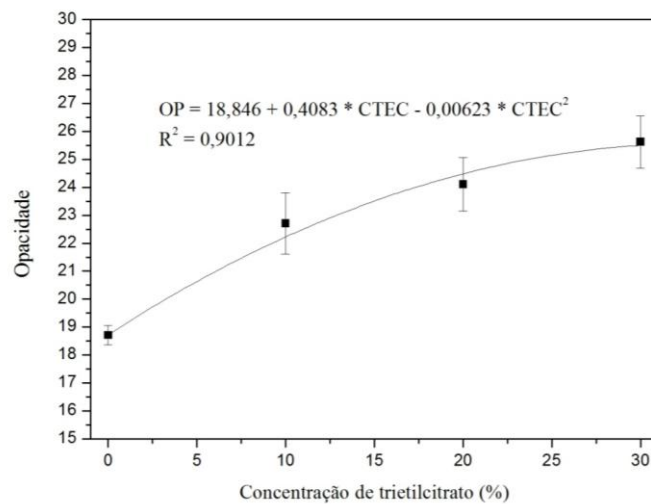


Figura 9 - Gráfico da variação da opacidade do filme biodegradável ativo em função da concentração do plastificante trietilcitrate utilizada.

Paschoalick et al. (2003) verificaram que o aumento da concentração do plastificante glicerol promoveu a redução do valor da opacidade em filmes constituídos de proteínas musculares de tilápia-do-Nilo e associaram esse resultado ao efeito da diluição do plastificante no meio, uma vez que é um produto transparente (de baixa opacidade).

Paula (2016) verificou que o filme à base de resíduo do processamento de cúrcuma elaborado com o plastificante glicerol apresentou valores de opacidade maiores do que os filmes plastificados com sorbitol. A autora associou esse resultado ao maior número de hidroxilas presentes no sorbitol, o qual promoveu maior interação entre esse material e as moléculas da farinha utilizada na elaboração do filme, causando um efeito de diluição, o qual tornou a opacidade menor.

Contrariamente, o valor da opacidade dos filmes à base do EAFBIL aumentou com o incremento da concentração do trietilcitrate.

Yank e Paulson (2004) incorporaram diferentes ácidos graxos na formulação de filmes de gelana e constataram que a adição de lipídios na formulação fez com que os filmes se tornassem esbranquiçados (mais opacos), sendo o filme sem a adição de lipídeos bastante transparente. Segundo os autores, o aumento na opacidade do filme provavelmente ocorreu em virtude do espalhamento da luz pelas gotículas lipídicas que foram dispersas na emulsão e distribuídas continuamente por toda a rede do polímero após a formação do filme. Batista, Tanada-Palmu e Grosso (2005) encontraram resultado semelhante para a opacidade de filmes de pectina adicionados de ácidos graxos, em que filmes incorporados com esses compostos apresentaram-se mais opacos.

Nizar et al. (2018) observaram que a adição de óleo essencial em filmes de pectina tornou os mesmos significativamente mais opacos ($p < 0,05$) em relação aos filmes controle, os quais se apresentaram mais claros e transparentes, e atribuíram esse comportamento ao efeito de coalescência, espalhamento de luz e efeito cremoso provocado pela distribuição de partículas lipídicas durante o processo de secagem dos filmes.

O comportamento observado para a opacidade do filme à base do EAFBIL possivelmente se deu pela maior distribuição das gotículas do trietilcitrate na extensão do filme com o aumento da concentração do plastificante, o que pode ter exercido influência na dispersão da luz.

O efeito da diluição do plastificante na redução da opacidade não foi observado, indicando que, possivelmente, não houve boa interação entre o trietilcitrate e a matriz polimérica nas condições testadas. Entretanto, como a opacidade aumentou a uma taxa menor com o incremento da concentração do trietilcitrate, possivelmente o efeito da diluição poderá ser favorecido em concentrações maiores do plastificante, podendo haver maior interação entre o mesmo e os demais componentes da dispersão polimérica.

3.2.3 Espectro de varredura

O espectro de varredura dos filmes dos diferentes tratamentos indicou que a transmitância da luz através dos mesmos no intervalo de comprimento de onda de 190 a aproximadamente 400 nm foi totalmente bloqueada (Figura 10). Esse resultado indica que o filme foi capaz de inibir a passagem da luz UV, o que é bastante interessante, por exemplo, para a conservação de produtos alimentícios sujeitos a sofrer fotoxidação.

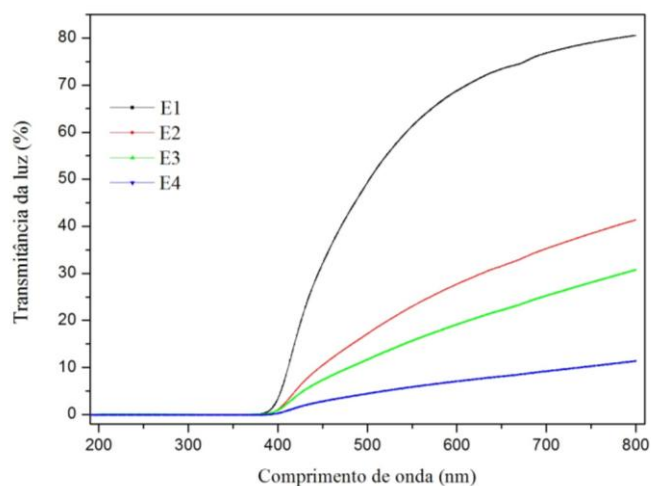


Figura 10 - Transmitância da luz (%) através dos filmes dos diferentes tratamentos no intervalo de comprimento de onda de 190 nm a 800 nm.

Segundo McClements e Decker (2010) a luz ultravioleta e a luz visível podem promover a decomposição de hidroperóxidos e, conseqüentemente, produzir radicais livres. Entretanto, a radiação UV possui menor comprimento de onda e, portanto, maior energia de radiação em relação à visível, sendo capaz de induzir maior taxa de oxidação (COLTRO, 2002). Embalagens que são capazes de reduzir a incidência de luz podem atenuar a velocidade da oxidação lipídica no meio (McCLEMENTS; DECKER, 2010). Em virtude disso, compostos orgânicos denominados de estabilizadores de luz são incorporados em grande variedade de resinas plásticas com o intuito de prevenir a fotodegradação provocada pela luz solar e pela luz UV artificial (COLTRO, 2002).

Vilela et al. (2017) desenvolveram filme de quitosana incorporado com ácido elágico em diferentes concentrações com o intuito de avaliar suas propriedades bloqueadoras-UV e verificaram que o mesmo foi capaz de bloquear a radiação UVA e UVB.

Pascall et al. (1995) incorporaram Tinuvin 326 (2-(3'ert-butyl-2'-hydroxy'5'-methylphenyl)-5-chlorobenzo-triazole), um absorvedor de radiação ultravioleta, em embalagem para acondicionamento de óleo de soja e verificaram que o óleo acondicionado nos recipientes contendo o Tinuvin 326 sofreu menor fotoxidação do que o óleo armazenado em recipientes que não continham o absorvedor UV quando os mesmos foram expostos a luz fluorescente a 21 e 35 °C por 35 dias.

3.3 Perfil de distribuição de componentes por imagem hiperespectral NIR

Com essa análise foi possível verificar se houve ou não homogeneidade da distribuição dos componentes químicos na área analisada dos filmes. Segundo Terra et al. (2017), a principal vantagem em se utilizar a imagem hiperespectral no infravermelho próximo (NIR-HIS) associada ao uso da curva multivariada de resolução alternando mínimos quadrados (MCR-ALS) é que é possível se obter uma informação química e espacial de forma rápida e simples, sem a necessidade de qualquer preparação da amostra.

Nas Figuras 11, 13 e 15 foi possível visualizar o perfil dos espectros no infravermelho próximo recuperados pela MCR-ALS em comparação com os padrões dos espectros do EAFBIL, da pectina, do trietilcitrato e do teflon utilizado na base do equipamento, bem como os coeficientes de determinação dos mesmos. A distribuição espacial do EAFBIL, da pectina e do trietilcitrato utilizados na elaboração do filme pode ser visualizada nos mapas de concentrações relativas dos componentes nas Figuras 12, 14, e 16. A MCR-ALS e a NIR-HIS do teflon utilizado como suporte para o filme durante a realização da análise também foram obtidas a fim de se eliminar os componentes do mesmo que pudessem vir a ser interferentes na interpretação das imagens.

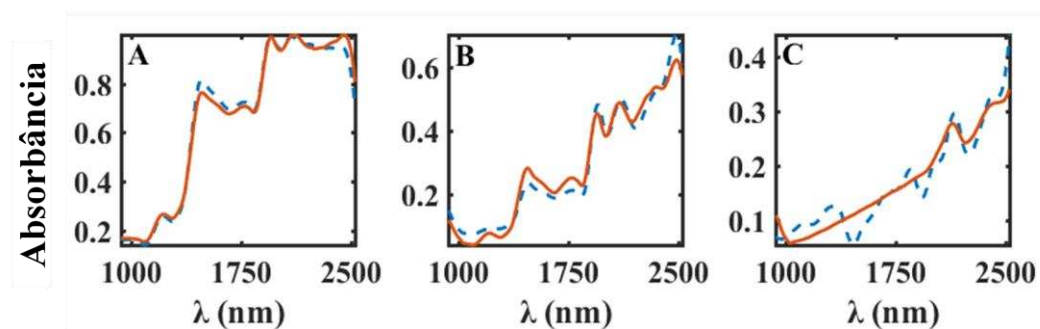


Figura 11 - Perfil dos espectros no infravermelho próximo recuperados pela curva multivariada de resolução alternando mínimos quadrados (linhas de traço azul) em comparação com os padrões dos espectros (linhas contínuas vermelhas) (A) do extrato ($R^2 = 0,9924$), (B) da pectina ($R^2 = 0,9717$) e (C) do teflon ($R^2 = 0,9141$).

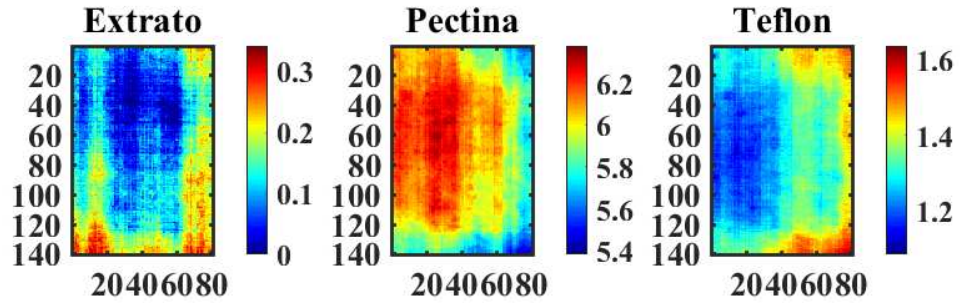


Figura 12 - Mapas de concentrações relativas do extrato e da pectina no filme obtido sem a adição do plastificante trietilcitrato (tratamento E1) e do teflon.

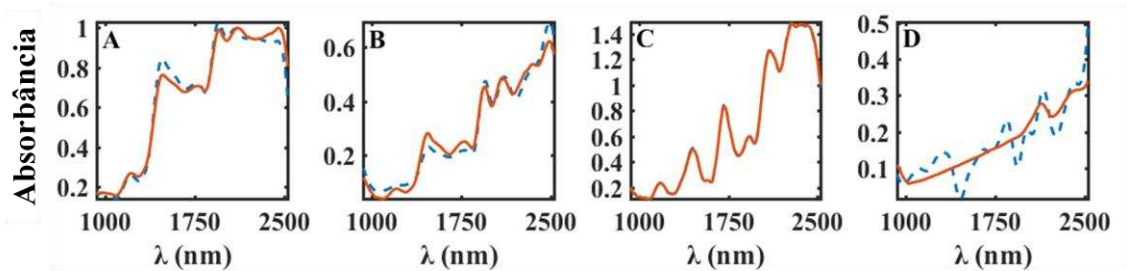


Figura 13 - Perfil dos espectros no infravermelho próximo recuperados pela curva multivariada de resolução alternando mínimos quadrados (linhas de traço azul) em comparação com os padrões dos espectros (linhas contínuas vermelhas) (A) do extrato ($R^2 = 0,9847$), (B) da pectina ($R^2 = 0,9759$), (C) do trietilcitrato (10 %) ($R^2 = 0,9998$) e (D) do teflon ($R^2 = 0,8050$).

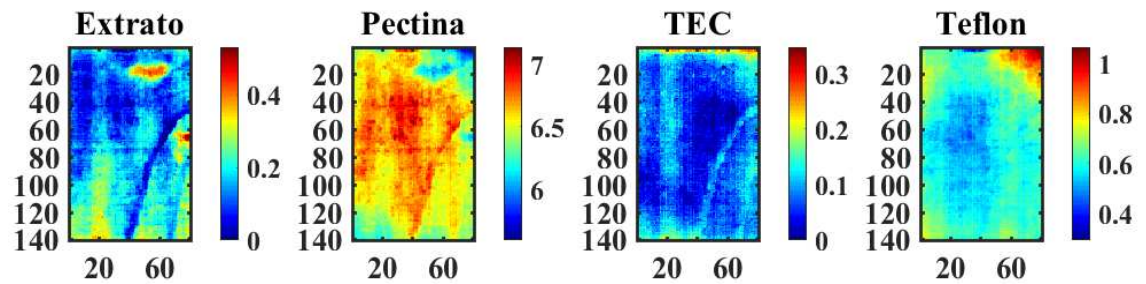


Figura 14 - Mapas de concentrações relativas do extrato, da pectina e do trietilcitrato (TEC) no filme obtido com extrato, pectina e 10 % de trietilcitrato (tratamento E2) e do teflon.

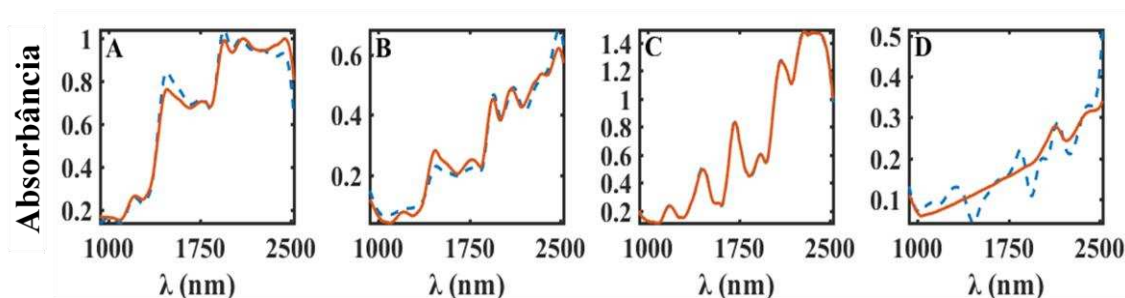


Figura 15 - Perfil dos espectros no infravermelho próximo recuperados pela curva multivariada de resolução alternando mínimos quadrados (linhas de traço azul) em comparação com os padrões dos espectros (linhas contínuas vermelhas) (A) do extrato ($R^2 = 0,9821$), (B) da pectina ($R^2 = 0,9792$), (C) do trietilcitrate (20 %) ($R^2 = 0,9998$) e (D) do teflon ($R^2 = 0,8488$).

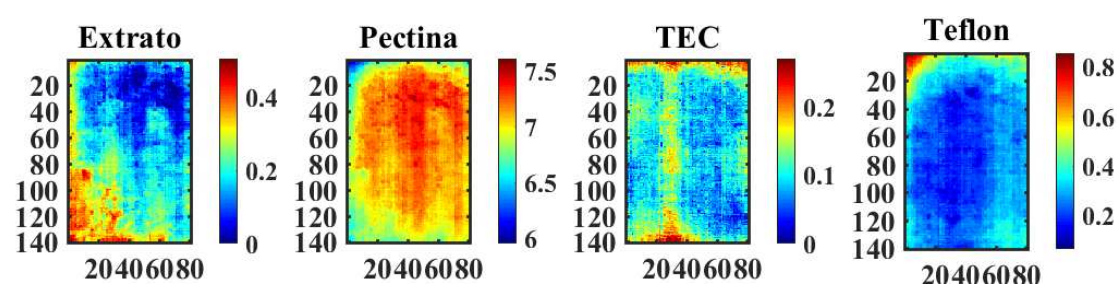


Figura 16 - Mapas de concentrações relativas do extrato, da pectina e do trietilcitrate (TEC) no filme obtido com extrato, pectina e 20 % de trietilcitrate (tratamento E3) e do teflon.

Os coeficientes de determinação dos espectros no infravermelho próximo recuperados pela MCR-ALS em comparação com os padrões dos espectros do extrato, da pectina, do trietilcitrate e do teflon apresentaram valores altos, indicando que houve relação satisfatória entre os mesmos.

Terra et al. (2017) avaliaram a distribuição espacial de quatro diferentes plastificantes (dioctil ftalato, glicerol, polietilenoglicol e trietilcitrate) em filme de acetato de celulose utilizando a NIR-HIS combinada com o método MCR-ALS e verificaram que foi possível recuperar com precisão os espectros puros de cada componente do filme.

Os autores reconstruíram os vetores de concentração relativa obtidos pelo MCR-ALS em matrizes e foi possível analisar a homogeneidade dos constituintes do filme através das imagens formadas. Com o uso da técnica, foi possível verificar que o filme contendo glicerol como plastificante apresentou maior heterogeneidade em relação aos demais e que o dioctilftalato apresentou distribuição mais homogênea no filme elaborado com a incorporação desse plastificante.

Os resultados obtidos com a realização dessa análise nos filmes à base do EAFBIL permitiram verificar que não houve homogeneidade na distribuição do extrato, da pectina e do trietilcitrato nos mesmos.

Pode-se perceber nas imagens obtidas para o extrato e para a pectina nas Figuras 12, 14 e 16 que as mesmas se sobrepõem, estando o EAFBIL concentrado em determinadas regiões do filme onde havia menor concentração do polímero (quanto mais próximo do vermelho, maior é a concentração do componente no meio e quanto mais próximo do azul, menor é a sua concentração no meio).

Analisando-se as imagens obtidas para o EAFBIL, para a pectina e para o trietilcitrato (Figuras 14 e 16), verificou-se que o plastificante também se concentrou onde havia menor concentração do polímero e que houve certa distribuição do trietilcitrato em regiões onde havia maior concentração do extrato.

Esses resultados explicam a heterogeneidade percebida visualmente nos filmes quanto à região mais densa localizada em determinadas áreas dos mesmos, indicando que ela se formou em virtude da maior concentração dos componentes em locais específicos dos filmes, os quais não ficaram distribuídos de forma homogênea em toda a dispersão polimérica.

A distribuição heterogênea dos componentes dos filmes pode ser devida à saturação do meio em virtude da possível presença de polímeros naturais no extrato, os quais possivelmente sofreram polimerização, além de açúcares que podem ter atuado como plastificantes. De acordo com Mchugh, Huxsoll e Krochta (1996) as frutas são ricas em polissacarídeos sendo os principais deles substâncias pécticas e celulose e, dessa forma, a matriz polimérica de filmes à base de frutas apresenta principalmente esses componentes em sua constituição. Também possuem variedades de açúcares que podem atuar como agente plastificante em filmes à base de frutas (McHUGH, HUXSOLL e KROCHTA, 1996).

Assim, sugere-se que a redução na concentração do polímero e do trietilcitrato, a substituição do plastificante utilizado ou mesmo a não utilização desse aditivo associada à redução da concentração do polímero possam promover melhorias na distribuição dos componentes do filme desenvolvido à base do EAFBIL.

3.4 Espessura

O comportamento da espessura do filme com relação à concentração do plastificante trietilcitrato utilizada na elaboração do mesmo seguiu o modelo linear ($ESP = 0,11486 + 0,000419 * CTEC$) ($p\text{-valor}_{regressão} = 0,031$; $p\text{-valor}_{falta\ de\ ajuste} = 0,518$ e $R^2 = 0,2342$). A Figura 17 ilustra o comportamento da espessura do filme em função da concentração do trietilcitrato utilizada.

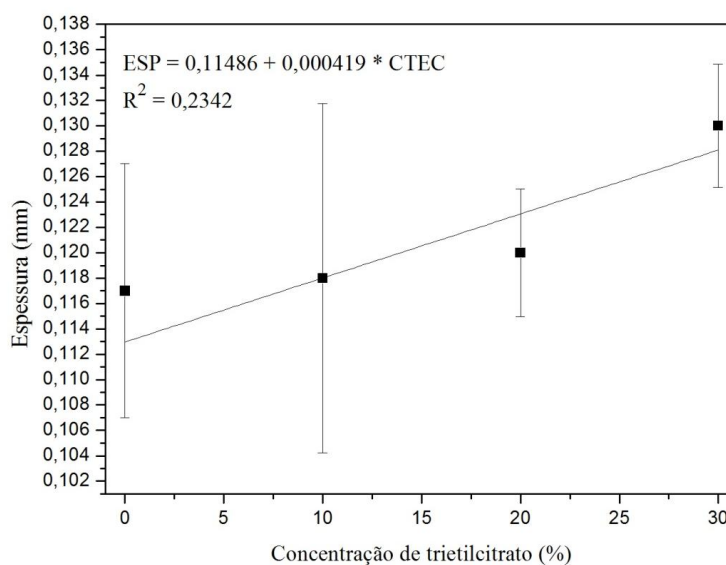


Figura 17 - Gráfico da variação da espessura (mm) do filme biodegradável ativo em função da concentração de trietilcitrato (%) utilizada.

A análise de espessura demonstrou que o aumento da concentração do trietilcitrato na elaboração do filme promoveu o incremento significativo ($p < 0,05$) no seu valor, o que era esperado, uma vez que a presença de maior quantidade de material no meio promoveu o aumento do volume da dispersão polimérica.

Cuq et al., (1996) variaram a espessura de filmes à base de proteínas miofibrilares de peixe modificando a quantidade de solução formadora de filme adicionada na placa utilizada no processo *casting* e verificaram que a variação da espessura dos filmes foi diretamente proporcional à quantidade de material utilizada no processo de síntese dos filmes. Os autores concluíram que os possíveis arranjos moleculares que se formaram durante o processo de secagem da solução não exerceram influência na variação da espessura dos filmes e atribuíram essa variação à quantidade de material seco depositada por unidade de superfície da solução formadora de filme.

Beigomi, Mohsenzadeh e Salari (2018) utilizaram a mucilagem de sementes de *Dracocephalum moldávica* na elaboração de filmes comestíveis e, ao variarem a

concentração de glicerol (10 - 40 %), obtiveram filmes com espessura de 0,052 a 0,055 mm, tendo sido observado um incremento no valor dessa propriedade com o aumento da concentração do plastificante, corroborando com os resultados obtidos no presente estudo.

Nogueira, Fakhouri e Oliveira (2018) variaram a concentração de glicerol (9,95 - 24,08 %) em filmes elaborados com amido de araruta e obtiveram filmes cuja espessura variou de $0,026 \pm 0,008$ mm a $0,082 \pm 0,011$ mm, tendo sido observado efeito linear positivo. Os autores atribuíram o incremento na espessura dos filmes ao aumento da quantidade de matéria nas dispersões poliméricas formadoras dos mesmos.

3.5 Propriedades mecânicas

Não foi possível ajustar modelos capazes de prever o comportamento da resistência máxima à tração, do alongamento na ruptura e do módulo de elasticidade do filme em função da variação da concentração do plastificante trietilcitrate utilizada, o que possivelmente ocorreu em função da distribuição heterogênea dos componentes do filme, o que corrobora com os resultados observados com a análise das imagens hiperespectrais no infravermelho próximo.

Na Tabela 10 é possível observar as médias e os desvios padrões obtidos para a resistência máxima à tração, o alongamento na ruptura e o módulo de elasticidade do filme desenvolvido e na Tabela 11 podem-se verificar os resultados obtidos com a análise de variância da regressão.

Tabela 10 - Médias e desvios padrões da resistência máxima à tração (MPa), do alongamento na ruptura (%) e do módulo de elasticidade (MPa) do filme à base do extrato aquoso da farinha de bagaço industrial de laranja.

Tratamento	Resistência máxima à tração (MPa)	Alongamento na ruptura (%)	Módulo de elasticidade (MPa)
E1	$6,067 \pm 2,065$	$20,270 \pm 4,367$	$55,967 \pm 47,070$
E2	$7,834 \pm 3,173$	$21,039 \pm 5,625$	$74,685 \pm 44,263$
E3	$7,683 \pm 2,526$	$20,819 \pm 2,247$	$76,444 \pm 47,235$
E4	$6,183 \pm 1,370$	$17,471 \pm 7,647$	$80,735 \pm 66,595$

Tabela 11 – Análise de variância da regressão da resistência máxima à tração (RMT), do alongamento na ruptura (AR) e do módulo de elasticidade (ME) do filme à base do extrato aquoso da farinha de bagaço industrial de laranja em função da concentração de plastificante.

Resposta	Coefficientes/Modelo	p-valor Regressão	p-valor Falta de ajuste	R²
RMT (MPa)	CTEC	0,968	0,330	0,0001
	CTEC * CTEC	0,310	0,906	0,1287
AR (%)	CTEC	0,415	0,683	0,0373
	CTEC * CTEC	0,493	0,844	0,0798
ME (MPa)	CTEC	0,450	0,937	0,0320
	CTEC * CTEC	0,721	0,854	0,0378

Segundo Rabello (2000) os plastificantes promovem a separação das macromoléculas poliméricas e reduzem a energia necessária para os movimentos moleculares, o que caracteriza a flexibilidade, sendo observados, em geral, aumento na alongação e diminuição na resistência tênsil e no módulo elástico dos materiais poliméricos.

Os filmes elaborados apresentaram valores mais baixos para a resistência máxima à tração e valores relativamente mais altos para o alongamento na ruptura em relação à primeira propriedade. Apesar de não ter sido possível ajustar um modelo que previsse o comportamento das propriedades mecânicas do filme biodegradável ativo em função da concentração do plastificante utilizada, pôde-se verificar que os valores obtidos para as duas propriedades mecânicas em questão se apresentaram próximos entre os diferentes tratamentos.

Sugere-se que o EAFBIL possa ter atuado como plastificante, uma vez que os valores obtidos para o filme desenvolvido sem a adição do trietilcitrato se apresentaram próximos aos valores obtidos para as propriedades mecânicas dos filmes em que houve a incorporação desse composto.

Quanto ao módulo de elasticidade, percebeu-se que houve o aumento dos valores dessa propriedade com o incremento na concentração do plastificante, comportamento oposto ao esperado pela incorporação desse aditivo no meio. A causa provável para esse comportamento foi a ocorrência do fenômeno da antiplastificação, que, segundo Rabello (2000), geralmente ocorre quando são utilizadas pequenas concentrações do plastificante e pode ser explicado pela plastificação intraestrutural, em que as moléculas do plastificante são fisicamente adsorvidas nas interfaces das estruturas dos polímeros.

Segundo o autor, quando ocorre o fenômeno da antiplastificação o plastificante atua como uma substância ativadora de superfície, formando camadas de adsorção que exercem a função de um lubrificante e facilita a deslocação mútua das estruturas, o que favorece a

orientação e aumenta a resistência mecânica. Outro fenômeno que também é colocado como possível causa da antiplastificação é a formação de cristalinos, que ocorre em virtude da maior liberdade de movimento das macromoléculas e ou/interações polares fortes entre os componentes, atuando assim como reticuladores físicos.

Dessa forma, sugere-se que para que o trietilcitrate apresentasse função plastificante, sua concentração utilizada na elaboração dos filmes à base do EAFBIL nas condições testadas deveria ser maior.

Fishman et al. (2004) avaliaram propriedades mecânicas de filmes de pectina e glicerol extrusados com várias combinações de albedo de laranja e amido e encontraram valores semelhantes aos obtidos no presente trabalho para a resistência máxima à tração, o alongamento na ruptura e o módulo de elasticidade dos mesmos. Os autores verificaram que os filmes de pectina, albedo, amido e glicerol extrusados proporcionaram melhores propriedades mecânicas em relação aos filmes elaborados com pectina, albedo e glicerol e foram comparáveis em propriedades mecânicas com os filmes extrusados de pectina, amido e glicerol.

3.6 Microestrutura

Na Figura 18 podem-se visualizar as imagens das micrografias eletrônicas de varredura obtidas para as amostras dos diferentes tratamentos avaliados.

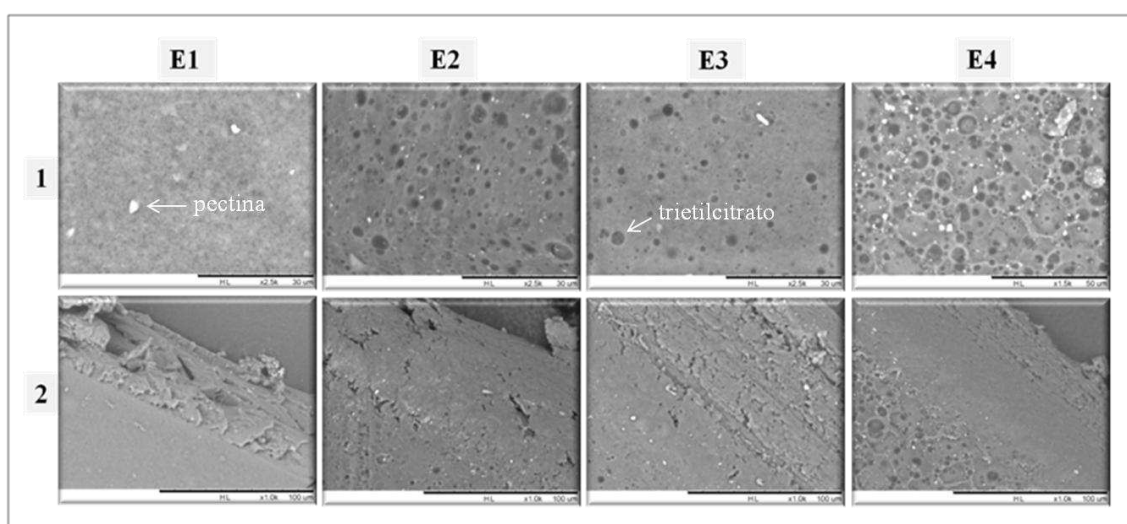


Figura 18 - Micrografias eletrônicas de varredura dos filmes dos diferentes tratamentos elaborados à base do extrato aquoso da farinha de bagaço industrial de laranja. E1, E2 e E3 em aumentos de (1) 2.500x e (2) 1.000x e E4 em aumentos de (1) 1.500x e (2) 1.000x. As micrografias eletrônicas de varredura localizadas na parte superior da figura (1) foram obtidas em uma região dos filmes onde não foi realizado o corte transversal nos mesmos e as micrografias eletrônicas de varredura localizadas na parte inferior da figura (2) foram obtidas em uma região dos filmes onde foi realizado o corte transversal nos mesmos.

A análise da microestrutura dos filmes dos diferentes tratamentos avaliados permitiu a visualização de pequenos pontos brancos em todas as imagens obtidas para as amostras analisadas. Acredita-se que essas partículas sejam uma pequena fração da pectina que não sofreu solubilização. Isso pode ter ocorrido em virtude da saturação do meio devido à presença de polímeros naturais no extrato, como a própria pectina.

Crizel et al. (2016) também observaram pequenas partículas insolúveis em filme biodegradável ativo antioxidante à base de resíduos da produção de cápsulas de gelatina e da fibra e do extrato etanólico obtidos a partir de resíduos do processamento de mirtilos. Os autores associaram essas partículas à gelatina que não se dissolveu completamente no meio ou às partículas de óleo originárias do resíduo das cápsulas que podem ter sido suspensas.

Foi possível verificar com essa análise que não houve boa interação entre o plastificante trietilcitrate e os demais componentes utilizados na elaboração do filme, uma vez que foram percebidas gotículas nas imagens obtidas para os tratamentos em que o mesmo foi incorporado, acreditando-se que as mesmas apresentaram o plastificante em seu interior, já que a imagem obtida para o tratamento E1 não apresentou as gotículas visualizadas nas demais imagens.

O tratamento E3 apresentou menor quantidade de vesículas formadas contendo o trietilcitrate em relação aos tratamentos E2 e E4. Entretanto, esse fator pode ser devido a área analisada conter menor quantidade do plastificante, já que o mesmo não se distribuiu de forma homogênea ao longo de toda a extensão do filme conforme foi constatado na análise de perfil de distribuição dos componentes.

A presença de vesículas contendo o plastificante e a sua distribuição nos filmes podem explicar os resultados observados para a opacidade, uma vez que o valor dessa propriedade tendeu a aumentar com a adição de maiores teores do plastificante, o que se deve à menor dispersão da luz nos mesmos em relação ao tratamento que não recebeu o aditivo. Esse efeito também pode explicar os resultados observados nos espectros de varredura dos filmes, em que os tratamentos que receberam a adição do plastificante possibilitaram menor transmitância da luz visível.

Foi verificado que as vesículas de plastificante se concentraram na superfície dos filmes, indicando que, possivelmente, ocorreu o fenômeno da adsorção que pode ter contribuído para a ocorrência da antiplastificação que exerceu influência suas propriedades mecânicas dos filmes.

Não foram percebidas fissuras nas áreas analisadas dos filmes, os quais se apresentaram lisos, uniformes e homogêneos quanto à continuidade. Também não foram percebidos poros na superfície dos filmes dos diferentes tratamentos avaliados.

Nas imagens em que foram realizados os cortes transversais, foi possível perceber que a estrutura dos filmes se apresentou compacta e contínua. Resultado semelhante foi encontrado por Adilah et al. (2018) para filme biodegradável ativo à base de extrato de manga. Beigomi, Mohsenzadeh e Salari (2018) verificaram que a seção transversal do filme elaborado a partir de mucilagem de sementes de *Dracocephalum moldavica* utilizando glicerol mostrou uma estrutura coesa, com redes poliméricas fechadas e sem poros, ao contrário da superfície do filme não plastificado, que mostrou fissuras e uma rede polimérica aberta.

3.7 Capacidade antioxidante *in vitro*

Na Figura 19 é possível observar os frascos utilizados na avaliação da capacidade antioxidante *in vitro* dos filmes por DPPH. A porcentagem de inibição apresentada pelos filmes ao longo do tempo pode ser visualizada na Figura 20 e na Tabela 12 podem-se verificar os modelos ajustados para a capacidade antioxidante dos filmes dos diferentes tratamentos avaliados pelo método DPPH.

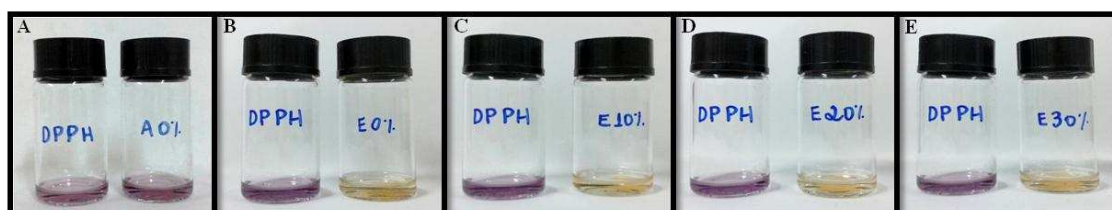


Figura 19 - Solução do radical DPPH• (frascos à esquerda nas imagens) e solução do radical DPPH• + o filme biodegradável avaliado de área igual a 1 cm² (frascos à direita nas imagens) após 6 h de realização da análise. (A) Solução do radical DPPH• e solução do radical DPPH• + filme de pectina e água (controle); (B) solução do radical DPPH• e solução do radical DPPH• + filme E1; (C) solução do radical DPPH• e solução do radical DPPH• + filme E2; (D) solução do radical DPPH• e solução do radical DPPH• + filme E3; (E) solução do radical DPPH• e solução do radical DPPH• + filme E4.

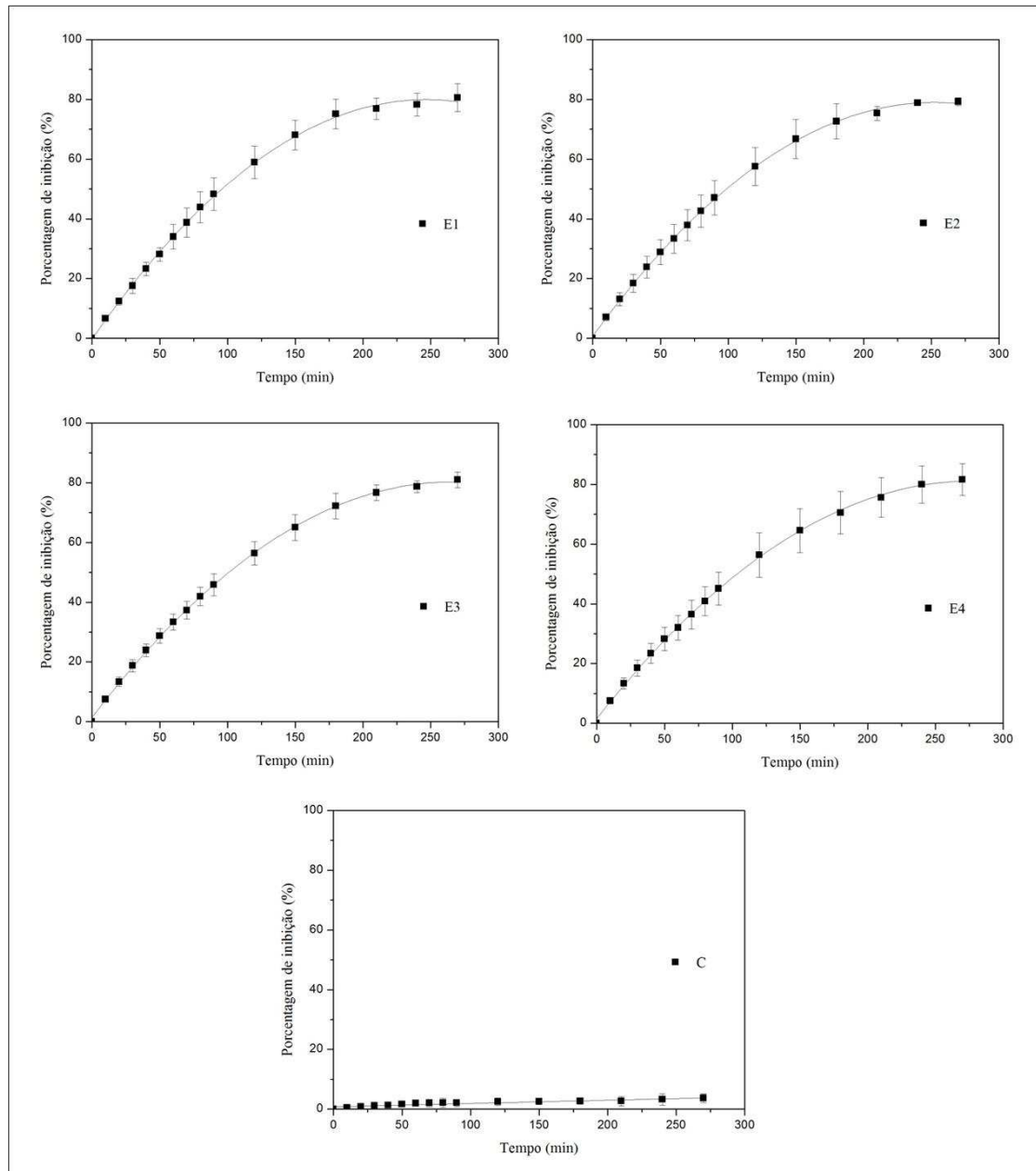


Figura 20 – Gráficos da capacidade antioxidante *in vitro* dos filmes à base do extrato (E1, E2, E3 e E4) e do filme controle à base de pectina e água (C) em porcentagem de inibição (%) do radical livre DPPH• em função do tempo (min).

Tabela 12 - Modelos ajustados para a capacidade antioxidante (porcentagem de inibição (PI) do radical livre DPPH• (%)) em função do tempo (t) dos filmes dos diferentes tratamentos avaliados, bem como o p-valor da regressão, o p-valor da falta de ajuste e o coeficiente de determinação dos respectivos modelos.

Tratamento	Modelo ajustado	p-valor regressão	p-valor falta de ajuste	R ²
C	$PI = 0,01082 * t + 0,851$	0,000	0,978	0,4605
E1	$PI = - 0,001317 * t^2 + 0,6496 * t - 0,17$	0,000	1,000	0,9848
E2	$PI = - 0,001228 * t^2 + 0,6197 * t + 0,82$	0,000	1,000	0,9821
E3	$PI = - 0,001119 * t^2 + 0,5938 * t + 1,484$	0,000	1,000	0,9916
E4	$PI = - 0,001039 * t^2 + 0,5748 * t + 1,63$	0,000	1,000	0,9748

Na Figura 21 é possível observar os frascos utilizados na avaliação da capacidade antioxidante *in vitro* dos filmes por ABTS. Na Figura 22 pode-se visualizar a porcentagem de inibição média apresentada pelo filme controle e pelos filmes à base do extrato ao longo do tempo e na Tabela 13 encontram-se p-valor da regressão, o p-valor da falta de ajuste e o coeficiente de determinação obtidos com a análise dos dados.

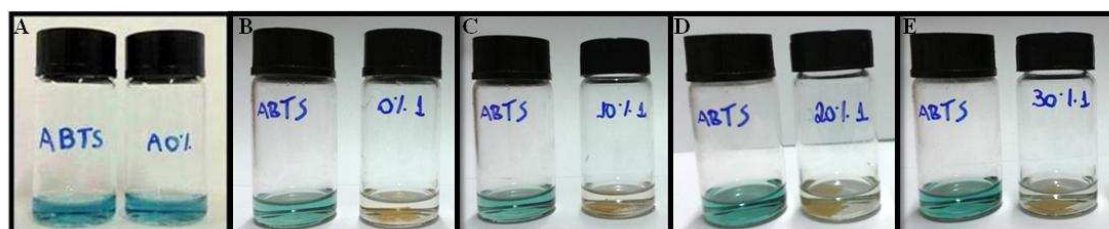


Figura 21 - Solução do radical ABTS•+ (frascos à esquerda nas imagens) e solução do radical ABTS•+ + o filme biodegradável avaliado de área igual a 1 cm² (frascos à direita nas imagens) após 30 min de realização da análise. (A) Solução do radical ABTS•+ e solução do radical ABTS•+ + filme de pectina e água (controle); (B) solução do radical ABTS•+ e solução do radical ABTS•+ + filme E1; (C) solução do radical ABTS•+ e solução do radical ABTS•+ + filme E2; (D) solução do radical ABTS•+ e solução do radical ABTS•+ + filme E3; (E) solução do radical ABTS•+ e solução do radical ABTS•+ + filme E4.

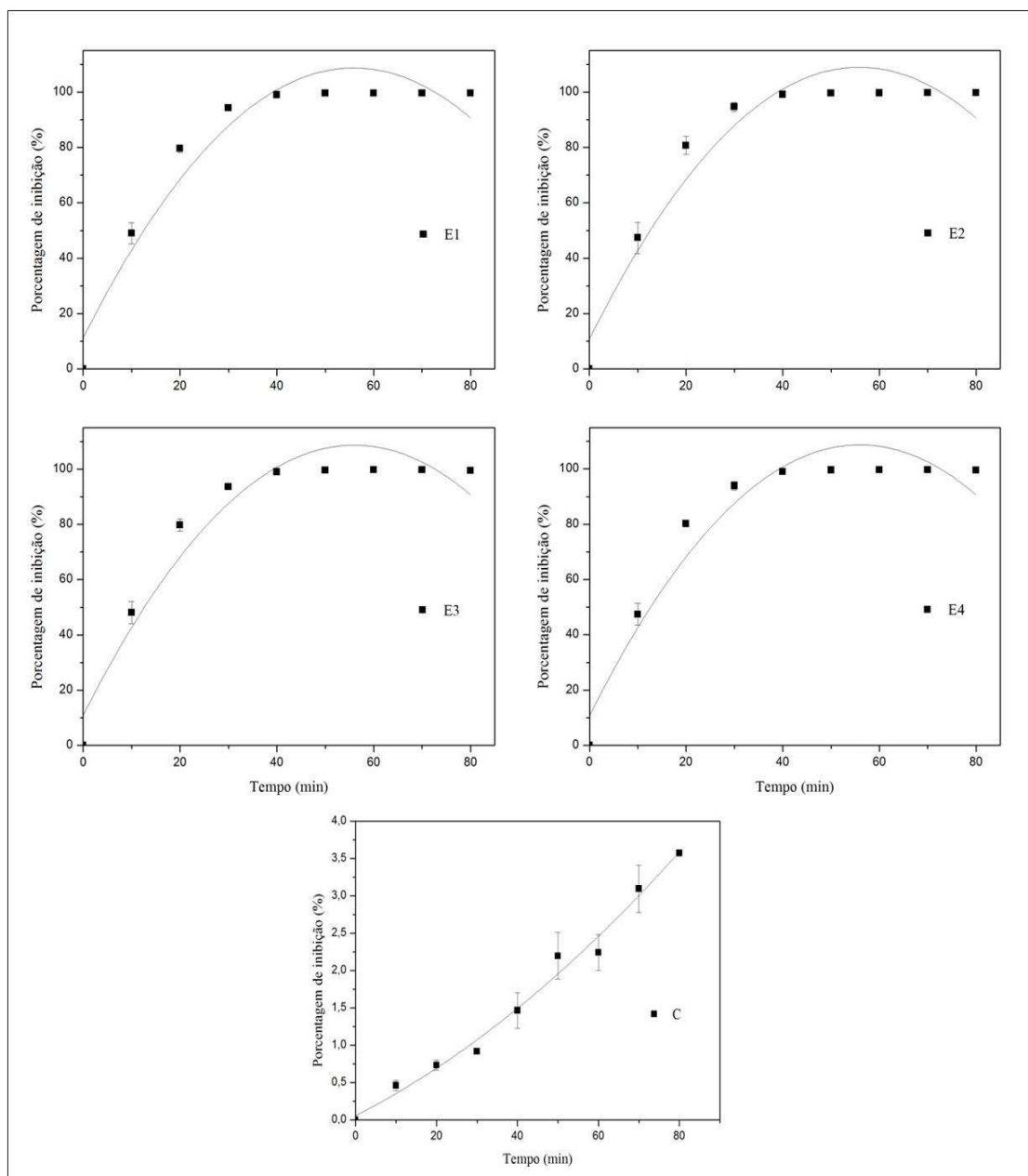


Figura 22 - Gráficos da capacidade antioxidante *in vitro* dos filmes à base do extrato (E1, E2, E3 e E4) e do filme controle à base de pectina e água (C) em porcentagem de inibição (%) do radical livre ABTS•+ em função do tempo (min).

Tabela 13 – Modelos ajustados para a capacidade antioxidante (porcentagem de inibição (PI) do radical livre ABTS•+ (%)) em função do tempo (t) dos filmes dos diferentes tratamentos avaliados, bem como o p-valor da regressão, o p-valor da falta de ajuste e o coeficiente de determinação dos respectivos modelos.

Tratamento	Modelo	p-valor regressão	p-valor falta de ajuste	R ²
C	$0,000205 t^2 + 0,02777t + 0,057$	0,000	0,097	0,9696
E1	$PI = - 0,03116 t^2 + 3,485 t + 11,24$	0,000	0,000	0,9396
E2	$PI = - 0,03146 t^2 + 3,514 t + 10,79$	0,000	0,000	0,9373
E3	$PI = - 0,03116 t^2 + 3,490 t + 10,89$	0,000	0,000	0,9418
E4	$PI = - 0,03129 t^2 + 3,502 t + 10,72$	0,000	0,000	0,9411

A análise da capacidade antioxidante *in vitro* dos filmes permitiu verificar que os mesmos foram capazes de reduzir os radicais livres DPPH• e ABTS•+ ao longo do tempo de análise (270 min e 80 min respectivamente), indicando o seu potencial de uso como embalagem ativa antioxidante. Os modelos ajustados permitiram verificar que a capacidade antioxidante sofre influência direta do tempo de contato dos radicais com o filme, ou seja, aumenta com o incremento do tempo de análise. No caso dos filmes à base do extrato, verificou-se que a capacidade antioxidante inicialmente atingiu altos níveis de inibição seguida de uma etapa de tendência ao equilíbrio, possivelmente atribuída à neutralização dos radicais livres no meio pelos compostos antioxidantes presentes no filme.

A falta de ajuste apresentada pelos modelos quadráticos utilizados para explicar o comportamento da capacidade antioxidante dos filmes à base do EAFBIL pelo método ABTS foi significativa. Entretanto, isso pode ser explicado pelo fato das somas de quadrados do erro puro (37,2; 92,1; 44,3 e 38,6 para os filmes E1, E2, E3 e E4 respectivamente) terem sido muito menores comparativamente às somas de quadrados da falta de ajuste (1.676,3; 1.716,5; 1.616,3 e 1.652,6 para os filmes E1, E2, E3 e E4 respectivamente), o que indica que o experimento apresentou boa repetibilidade. Além disso, o coeficiente de determinação (R²) apresentou valores elevados (próximos de 1,0), indicando que houve relação satisfatória entre a capacidade antioxidante dos filmes e o tempo de análise. Assim, é possível considerar o modelo utilizado para o ajuste dos dados.

A adição do plastificante trietilcitrate no processo de elaboração dos filmes à base do EAFBIL não influenciou o comportamento apresentado pela porcentagem de inibição dos radicais livres ao longo do tempo, o qual foi semelhante para os diferentes

tratamentos em ambos os métodos. Assim como foi verificado com a análise da capacidade antioxidante do EAFBIL, a porcentagem de inibição do radical ABTS•+ foi maior em relação à inibição do radical DPPH• pelos filmes dos diferentes tratamentos considerando-se o mesmo intervalo de tempo.

O filme do tratamento controle apresentou capacidade antioxidante, entretanto muito inferior em relação aos filmes dos demais tratamentos à base do EAFBIL.

Resultado semelhante foi encontrado por Ferreira (2012) que avaliou filmes de quitosana incorporados com extratos do bagaço de uva e verificou rápida cinética de reação entre os filmes desenvolvidos e o ABTS•+ em relação à análise realizada com o DPPH•. A porcentagem de inibição do radical livre ABTS•+ em meio etanólico pelos filmes de quitosana incorporados com óleo obtido por extração com n-hexano (constituído por ácido linoleico e ácido oleico) (1:5) ao final de 48 h de reação foi de 92 %, valor superior ao obtido para o filme incorporado com ceras extraídas com clorofórmio e com extrato aquoso de polissacarídeos, proteínas e compostos fenólicos totais. Quanto à análise realizada com o radical DPPH•, os filmes adicionados de ceras e de óleo na proporção de 1:5 foram os que apresentaram maior porcentagem de inibição (48 %) ao final de 360 h de reação.

Maniglia et al. (2014) avaliaram a capacidade antioxidante de filme à base de resíduo da extração do corante de cúrcuma e verificaram que o filme apresentou porcentagem de inibição do radical DPPH• de 50,8 % após extração dos compostos antioxidantes do mesmo com metanol por 30 min, o qual foi posteriormente submetido à leitura em espectrofotômetro.

Dessa forma, é possível verificar que resíduos do processamento de produtos de origem vegetal, por serem ricas fontes de compostos antioxidantes, são promissores na elaboração de embalagens capazes de reduzir os processos oxidativos que ocorrem em alimentos.

3.8 Atividade antimicrobiana *in vitro*

Não houve formação de halo de inibição do crescimento microbiano ao redor das amostras circulares dos filmes dos diferentes tratamentos testados para nenhum dos micro-organismos avaliados (*Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* e *Staphylococcus aureus*) na concentração utilizada dos mesmos (10^5 UFC·mL⁻¹). Dessa forma, o filme biodegradável desenvolvido não apresentou ação antimicrobiana sobre os micro-organismos de interesse (Figura 23).

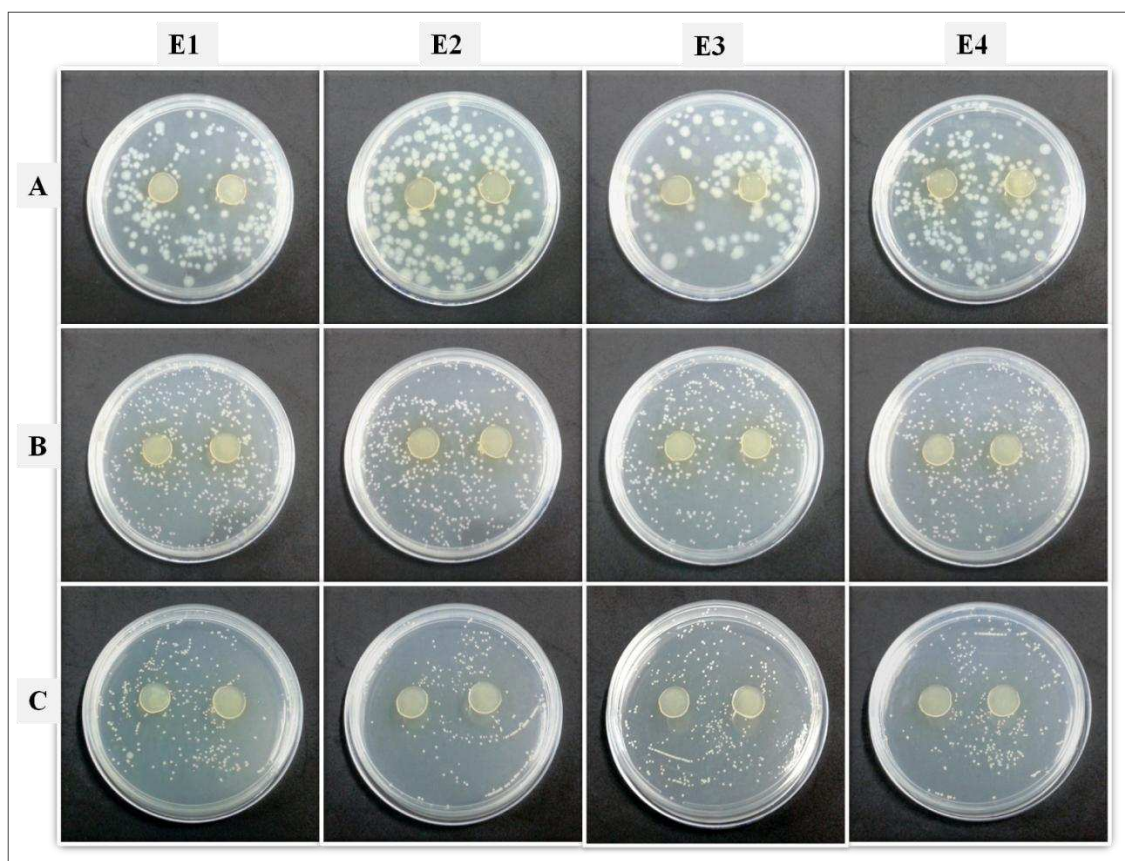


Figura 23 - Atividade antimicrobiana *in vitro* (teste do halo de inibição do crescimento microbiano) dos filmes dos diferentes tratamentos elaborados com o extrato aquoso da farinha de bagaço industrial de laranja (E1, E2, E3 e E4) sobre (A) *Escherichia coli*, (B) *Pseudomonas aeruginosa* e (C) *Staphylococcus aureus* na concentração de 10^5 UFC·mL⁻¹.

Esperava-se que o uso do extrato em sua concentração inicial de $43,53 \text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ (concentração superior às avaliadas no teste CMI - item 3.9 do Capítulo 2) fornecesse resultados positivos quanto à inibição do crescimento dos micro-organismo de interesse (especialmente *E. coli* e *S. aureus*), uma vez que foi verificado com o teste CMI que a concentração de $21,77 \text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ promoveu certa inibição do crescimento microbiano de *E. coli* e *S. aureus*.

Sugere-se que, durante o processo de elaboração do filme biodegradável ativo, houve perda dos agentes provenientes do EAFBIL que tinham ação antimicrobiana, estando os mesmos em concentrações baixas na estrutura do filme, não inibindo o crescimento dos micro-organismos testados.

Outra hipótese para a não inibição do crescimento microbiano, não havendo a formação de halos de inibição, foi a de que houve baixa difusão dos possíveis compostos antimicrobianos presentes no filme, ficando retidos na matriz polimérica.

4 CONCLUSÃO

O filme biodegradável desenvolvido, apesar de ter apresentado heterogeneidade quanto à distribuição da dispersão polimérica nas placas de vidro, apresentou boa maleabilidade e não foram verificadas rupturas ou zonas quebradiças em toda a sua extensão.

Quanto à cor e à opacidade, foi possível ajustar modelos capazes de prever o comportamento dessas propriedades de acordo com as concentrações do plastificante trietilcitrate testadas na elaboração do filme, permitindo a escolha de concentrações específicas do plastificante em análises futuras considerando-se o intervalo estudado.

A distribuição dos componentes no filme por meio da análise das imagens hiperespectrais por infravermelho próximo possibilitou verificar que os componentes não se distribuíram de forma homogênea no mesmo.

A espessura do filme desenvolvido aumentou significativamente com o incremento da concentração do plastificante, mas não foi possível ajustar um modelo capaz de prever o perfil das propriedades mecânicas do mesmo.

A microestrutura indicou a presença de partículas de pectina não dissolvidas e de vesículas contendo o plastificante na superfície dos filmes, o que pode estar relacionado aos resultados obtidos nas análises das propriedades ópticas, mecânicas e de distribuição dos componentes.

O filme apresentou capacidade antioxidante *in vitro* satisfatória para uso como embalagem ativa antioxidante para alimentos, sendo necessária a realização de estudos adicionais para melhoria da distribuição dos componentes no filme além de análises envolvendo a determinação da capacidade antioxidante *in loco* em matrizes alimentícias.

Não foi constatada atividade antimicrobiana pelo filme biodegradável desenvolvido sobre os micro-organismos *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, e *Staphylococcus aureus*, indicando que o filme não apresentou função ativa antimicrobiana nas condições testadas.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ADILAH, A. N.; JAMILAH, B.; NORANIZAN, M. A.; HANANI, Z. A. N. Utilization of mango peel extracts on the biodegradable films for active packaging. **Food Packaging and Shelf Life**, v. 16, p. 1–7, jun. 2018. ISSN (online) 2214-2894.

BATISTA, J. A.; TANADA-PALMU, P. S.; GROSSO, C. R. F. Efeito da adição de ácidos graxos em filmes à base de pectina. **Food Science and Technology - Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 25, n. 4, p. 781-788, out./dez. 2005. ISSN (versão impressa) 0101-2061, ISSN (versão online) 1678-457X.

BEIGOMI, M.; MOHSENZADEH, M.; SALARI, A. Characterization of a novel biodegradable edible film obtained from *Dracocephalum moldavica* seed mucilage. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 108, p. 874–883, mar. 2018. ISSN (versão impressa) 0141-8130, ISSN (versão online) 1879-0003.

BRAND-WILLIAMS, W.; CUVELIER, M. E.; BERSET, C. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. **LWT - Food Science and Technology**, v. 28, n. 1, p. 25–30, 1995. ISSN (versão impressa) 0023-6438, ISSN (versão online) 1096-1127.

COLTRO, L. **Embalagens plásticas transparentes: com ou sem barreira à luz?** Disponível em: <<http://www.jorplast.com.br/jpout02/pag09.html>>. Acesso em: 08 fev. 2018.

CRIZEL, T. DE M.; COSTA, T. M. H.; RIOS, A. DE O.; FLÔRES, S. H. Valorization of food-grade industrial waste in the obtaining active biodegradable films for packaging. **Industrial Crops and Products**, v. 87, p. 218–228, set. 2016. ISSN (versão impressa) 0926-6690, ISSN (versão online) 1872-633X.

CUQ, B. GONTARD, N.; CUQ, J.-L.; GUILBERT, S. Functional properties of myofibrillar protein-based biopackaging as affected by film thickness. **Journal of Food Science**, v. 61, n. 3, p. 580-584, 1996. ISSN (versão impressa) 0022-1147, ISSN (versão online) 1750-3841.

DE PAOLI, M.-A. **Degradação e estabilização de polímeros**. 2. ed. [S.l.]: Chemkeys, 2008. 221 p.

FERREIRA, A. F. S. **Filmes à base de quitosana enriquecidos com extratos de bagaço de uva**. 2012. 125 f. (Mestrado em Biotecnologia Alimentar) - Universidade de Aveiro, Aveiro, 2012.

FERREIRA, M. S.; FAI, A. E. C.; ANDRADE, C. T.; PICCIANI, P. H.; AZERO, E. G.; GONÇALVES, É. C. Edible films and coatings based on biodegradable residues applied to acerolas (*Malpighia puniceifolia* L.). **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 96, n. 5, p. 1634–1642, mar. 2016. ISSN (versão impressa) 0022-5142. ISSN (versão online) 1097-0010.

FISHMAN, M. L. COFFIN, D. R.; ONWULATA, C. I.; KONSTANCE, R. P. Extrusion of pectin and glycerol with various combinations of orange albedo and starch. **Carbohydrate Polymers**, v. 57, n. 4, p. 401-413, set. 2004. ISSN (versão impressa) 0144-8617, ISSN (versão online) 1879-1344.

JAUMOT, J.; DE JUAN, A.; TAULER, R. MCR-ALS GUI 2.0: new features and applications. **Chemometrics and Intelligent Laboratory Systems**, v. 140, p. 1-12, jan. 2015. ISSN (versão impressa) 0169-7439, ISSN (versão online) 1873-3239.

KANATT, S. R.; RAO, M. S.; CHAWLA, S. P.; SHARMA, A. Active chitosan-polyvinyl alcohol films with natural extracts. **Food Hydrocolloids**, v. 29, n. 2, p. 290-297, dez. 2012. ISSN (versão impressa) 0268-005X, ISSN (versão online) 1873-7137.

MANIGLIA, B. C.; DOMINGOS, J. R.; PAULA, R. L. DE; TAPIA-BLÁCIDO, D. R. Development of bioactive edible film from turmeric dye solvent extraction residue. **LWT - Food Science and Technology**, v. 56, n. 2, p. 269-277, maio 2014. ISSN (versão impressa) 0023-6438, ISSN (versão online) 1096-1127.

MCCLEMENTS, D. J.; DECKER, E. A. Parte I - Componentes principais dos alimentos. Lipídeos. In: DAMODARAN, S.; PARKIN, K. L.; FENNEMA, O. R. (Eds.). **Química de Alimentos de Fennema**. 4. ed. Porto Alegre: Artmed, 2010. p. 23-342.

MCHUGH, T. H.; HUXSOLL, C. C.; KROCHTA, J. M. Permeability Properties of Fruit Puree Edible Films. **Journal of Food Science**, v. 61, n. 1, p. 88-91, 1996. ISSN (versão impressa) 0022-1147, ISSN (versão online) 1750-3841.

NISAR, T. WANG, Z.-C.; YANG, X.; TIAN, Y.; IQBAL, M.; GUO, Y. Characterization of citrus pectin films integrated with clove bud essential oil: Physical, thermal, barrier, antioxidant and antibacterial properties. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 106, p. 670-680, jan. 2018. ISSN (versão impressa) 0141-8130, ISSN (versão online) 1879-0003.

NOGUEIRA, G. F.; FAKHOURI, F. M.; OLIVEIRA, R. A. de. Extraction and characterization of arrowroot (*Maranta arundinaceae* L.) starch and its application in edible films. **Carbohydrate Polymers**, v. 186, p. 64-72, abr. 2018. ISSN (versão impressa) 0144-8617, ISSN (versão online) 1879-1344.

PASCALL, M. A.; HARTE, B. R.; GIACIN, J. R.; GRAY, J. I. Decreasing lipid oxidation in soybean oil by a UV absorber in the packaging material. **Journal of Food Science**, v. 60, n. 5, p. 1116-1119, 1995. ISSN (versão impressa) 0022-1147, ISSN (versão online) 1750-3841.

PASCHOALICK, T. M. GARCIA, F. T.; SOBRAL, P. J. A.; HABITANTE, A. M. Q. B. Characterization of some functional properties of edible films based on muscle proteins of Nile Tilapia. **Food Hydrocolloids**, v. 17, n. 4, p. 419-427, 2003. ISSN (versão impressa) 0268-005X, ISSN (versão online) 1873-7137.

PAULA, R. L. **Filmes e coberturas a base do resíduo da extração de corante de cúrcuma**. 2016. 141 p. Dissertação (Mestrado em Ciências) - Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 2016.

PITAK, N.; RAKSHIT, S. K. Physical and antimicrobial properties of banana flour/chitosan biodegradable and self sealing films used for preserving Fresh-cut vegetables. **LWT - Food Science and Technology**, v. 44, n. 10, p. 2310–2315, dez. 2011. ISSN (versão impressa) 0023-6438, ISSN (versão online) 1096-1127.

RABELLO, M. S. **Aditivação de Polímeros**, São Paulo: Artliber Editora, 2000.

RAMOS, E. M.; GOMIDE, L. A. M. Avaliação objetiva da cor. In: RAMOS, E. M.; GOMIDE, L. A. M. **Avaliação da qualidade de carnes: fundamentos e tecnologias**. Viçosa: Ed. UFV, 2007.

RE, R. PELLEGRINI, N.; PROTEGGENTE, A.; PANNALA, A.; YANG, M.; RICE-EVANS, C. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. **Free Radical Biology & Medicine**, v. 26, n. 9-10, p. 1231-1237, 1999. ISSN (versão impressa) 0891-5849, ISSN (versão online) 1873-4596.

REBELLO, L. P. G., RAMOS, A. M.; PERTUZATTI, P. B.; BARCIA, M. T.; CASTILLO-MUÑOZ, N.; HERMOSÍN-GUTIÉRREZ, I. Flour of banana (*Musa AAA*) peel as a source of antioxidant phenolic compounds. **Food Research International**, v. 55, p. 397-403, jan. 2014. ISSN (versão impressa) 0963-9969, ISSN (versão online) 1873-7145.

ROBERTA, M. S. A.; MARIANA, S. L. F.; ÉDIRA, C. B. A. G. Functional capacity of flour obtained from residues of fruit and vegetables. **International Food Research Journal**, v. 21, n. 4, p. 1675–1681, 2014. ISSN (versão impressa) 1985-4668, ISSN (versão online) 2231-7546.

RUFINO, M. D. S. M.; ALVES, R. E.; BRITO, E. S. de; MORAIS, S. M. de; Sampaio, C. de G.; PÉREZ-JIMÉNEZ, J.; SAURA-CALIXTO, F. D. Metodologia científica: determinação da atividade antioxidante total em frutas pela captura do radical livre ABTS•+. **Embrapa Agroindústria Tropical - Comunicado Técnico online 128**, Fortaleza, jul. 2007. ISSN (online) 1679-6535.

SHARMA, K.; MAHATO, N.; CHO, M. H.; LEE, Y. R. Converting citrus wastes into value-added products: Economic and environmently friendly approaches. **Nutrition**, v. 34, p. 29–46, fev. 2017. ISSN (versão impressa) 0899-9007, ISSN (versão online) 1873-1244.

SOCIEDADE AMERICANA DE TESTES E MATERIAIS (ASTM). **ASTM D882 – 12: Método de Teste Padrão para Propriedades de Tração de Folhas de Plástico Finas**. 2012.

SOCIEDADE AMERICANA DE TESTES E MATERIAIS (ASTM). **ASTM E 313 – 10: Prática Padrão para Calcular os Índices de Amarelecimento e Brancura de Coordenadas de Cor Medidas de Forma Instrumental**. 2010.

SOCIEDADE AMERICANA DE TESTES E MATERIAIS (ASTM). **ASTM E 308 – 08: Prática Padrão para Computar as Cores dos Objetos Usando o Sistema CIE**. 2008.

SOUZA, T. S.; ZANIN, H. G.; PETERLEVISTZ, A.; BARANAUSKAS, V.; SILVA, G. A., REIS, C.; REIS, E. L.; TEÓFILO, R. F. **Química Nova**, São Paulo, v. 39, n. 2, p. 137-145, 2016. ISSN (versão impressa): 0100-4042, ISSN (versão online) 1678-7064.

TERRA, L. R. **NIR hyperspectral image and MCR-ALS applied in study of chemical compounds spatial distribution in biodegradable active films**. 2018. 36 f. Dissertação (Mestrado em Agroquímica) - Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 2018.

TERRA, L. R.; SOUZA, M. M.; SOARES, N. de F. F.; MEDEIROS, E. A. A.; TEÓFILO, R. F. Use of NIR hyperspectral image and MCR-ALS in study of the spatial distribution of chemical compounds in biodegradable films. In: ESCOLA DE INVERNO EM QUIMIOTERAPIA, 3., 2017, Araraquara. **Livro de Resumos da III Escola de Inverno em Quimioterapia**. Araraquara: Unesp/IQ-CAr, 2017. p. 28.

THARANATHAN, R. N. Biodegradable films and composite coatings: past, present and future. **Trends in Food Science & Technology**, v. 14, n. 3, p. 71-78, mar. 2003. ISSN (versão impressa) 0924-2244, ISSN (versão online) 1879-3053.

VILELA, C.; PINTO, R. J. B.; COELHO, J.; DOMINGUES, M. R. M.; DAINA, S.; SADOCCO, P.; SANTOS, S. A. O.; FREIRE, C. S. R. Bioactive chitosan/ellagic acid films with UV-light protection for active food packaging. **Food Hydrocolloids**, v. 73, p. 120–128, dez. 2017. ISSN (versão impressa) 0268-005X, ISSN (versão online) 1873-7137.

YANG, L.; PAULSON, A. T. Effects of lipids on mechanical and moisture barrier properties of edible gellan film. **Food Research International**, v. 33, n. 7, p. 571-578, ago. 2000. ISSN (versão impressa) 0963-9969, ISSN (versão online) 1873-7145.

CONCLUSÕES GERAIS E SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS

A farinha obtida a partir do bagaço industrial de laranja (FBIL) avaliada nesse trabalho demonstrou ser adequada para uso como matéria-prima no desenvolvimento de embalagens biodegradáveis ativas antioxidantes com potencial de uso em alimentos. Estudos envolvendo o uso integral da farinha no processo de elaboração de filmes biodegradáveis ativos se fazem necessários, uma vez que para a obtenção dos filmes elaborados nesse trabalho foi utilizado apenas o extrato aquoso da mesma. O material remanescente do processo de filtração utilizado na obtenção do extrato pode ser caracterizado e, possivelmente, ser usado como matéria-prima para a obtenção de nanofibras e nanocristais que podem ser incorporados ao próprio filme como material de reforço. Estudos envolvendo o uso e a caracterização de frações isoladas da FBIL também podem fornecer resultados variados e interessantes.

O extrato aquoso da farinha de bagaço industrial de laranja (EAFBIL) foi visualmente efetivo na redução do crescimento de alguns dos micro-organismos de interesse nas condições avaliadas nesse trabalho. Entretanto, estudos adicionais envolvendo o uso de maiores e mais variadas concentrações do extrato bem como a quantificação da inibição do crescimento microbiano pelo mesmo em termos de redução do número de unidades formadoras de colônias se fazem necessários, o que poderia ser usado como ponto de partida para novos estudos visando o melhor aproveitamento da ação antimicrobiana do extrato na elaboração de filmes desenvolvidos futuramente.

Estudos envolvendo a caracterização do extrato quanto aos seus constituintes também são necessários.

O filme biodegradável ativo desenvolvido nesse trabalho apresentou propriedades relativamente adequadas para uso em determinados alimentos, uma vez que apresentou, por exemplo, boa maleabilidade e certo brilho. Entretanto, novos estudos se fazem necessários no sentido de melhorar a interação dos componentes do filme.

A avaliação da FBIL como matéria-prima para a elaboração de filmes biodegradáveis ativos que apresentem potencial de uso como embalagem ativa aromatizante para alimentos bem como estudos envolvendo a avaliação dos mesmos como filmes comestíveis também podem ser realizados, uma vez que a mesma apresentou aroma frutal.

Uma vez que as matérias-primas utilizadas na elaboração do filme podem ser ingeridas pelo homem, o mesmo também apresenta potencial de uso como embalagem

comestível. Entretanto, mais estudos são necessários no sentido de avaliar a viabilidade de uso nesse aspecto.