

---

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

**APLICAÇÃO DOS COMPONENTES DO PINHÃO NO  
DESENVOLVIMENTO DE PRODUTOS INOVADORES NAS  
INDÚSTRIAS COSMÉTICA E DE ALIMENTOS**

- Tese -

Renata Moschini Daudt

Porto Alegre

2016



---

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

**APLICAÇÃO DOS COMPONENTES DO PINHÃO NO  
DESENVOLVIMENTO DE PRODUTOS INOVADORES NAS  
INDÚSTRIAS COSMÉTICA E DE ALIMENTOS**

Renata Moschini Daudt

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

**Orientadoras:**

**Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Ligia Damasceno Ferreira Marczak**

**Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Irene Clemes Külkamp-Guerreiro**

Porto Alegre

2016



---

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

A Comissão Examinadora, abaixo assinada, aprova a Tese *Aplicações dos componentes do pinhão no desenvolvimento de produtos inovadores nas indústrias cosméticas e de alimentos*, elaborada por Renata Moschini Daudt, como requisito parcial para obtenção do Grau de Doutora em Engenharia.

Comissão Examinadora:

---

Prof. Dr. Luiz Alberto Kanis

---

Prof. Dr. Alessandro de Oliveira Rios

---

Dr<sup>a</sup>. Luci Kelin de Menezes Kines



---

## ***AGRADECIMENTOS***

As minhas orientadoras Ligia Damasceno Ferreira Marczak e Irene Cleme Kulkamp-Guerreiro pela confiança, incentivo e amizade durante a realização desta tese.

Aos orientadores durante o período de doutorado sanduíche, Tara McHugh e Roberto Avena Bustillos do ARS, USDA, Albany, California, USA; aos colegas do laboratório 1107/1111 e a todo grupo do *Healthy Processed Foods Research* por todo o apoio, ideias e bons momentos compartilhados.

Aos professores colaboradores que participaram desta tese Nilo, Florencia e Roberta.

A todas as bolsistas que trabalharam em alguma etapa deste trabalho: Patrícia e Katherine, da Faculdade de Farmácia da UFRGS, Valentina e Isadora da Engenharia de Alimentos da UFRGS e Amanda de *College of Chemistry, University of California, Berkeley, CA, USA*.

Aos colegas do LATEPA e do LASEM pelo convívio e amizade nesses quatro anos de doutorado.

Ao Departamento de Engenharia da Química, Faculdade de Farmácia e Instituto de Ciência e Tecnologia de Alimentos pela estrutura física dos laboratórios disponibilizada.

Ao Programa de Pós-Graduação em Engenharia Química, a Capes e ao PDSE pelo suporte e financiamento.

A minha família e amigos que compreenderam minha ausência e sempre estiveram ao meu lado me apoiando e me incentivando. Em especial ao meu pai, a quem dedico esta tese.

E a todos que de alguma forma contribuíram para a realização deste trabalho.

Muito obrigada!



---

## Resumo

O pinhão é a semente do Pinheiro do Paraná (*Araucaria angustifolia*) que cresce naturalmente nos Estados do Sul do Brasil, sendo consumido normalmente cozido durante a época de safra. Existem alguns estudos com pinhão, mas pouco se tem feito para aumentar sua aplicabilidade como ingrediente em desenvolvimento de novos produtos. O objetivo deste trabalho foi utilizar os componentes do pinhão na forma de amido, farinha, extrato fenólico da casca e casca em pó, como ingredientes naturais para o desenvolvimento de produtos inovadores nas indústrias farmacêutica e de alimentos. Este trabalho está dividido em duas etapas: desenvolvimento de formulações para uso tópico na área da indústria farmacêutica, e desenvolvimento de filmes comestíveis na área da indústria de alimentos. Na primeira etapa do trabalho foram desenvolvidos dois tipos de formulações de uso tópico, gel e emulgel, com amido de pinhão e extrato fenólico da casca. Foi analisada a estabilidade em curto prazo, através de ciclos de estresse térmico, e durante seis meses de armazenamento. Além disso, foi realizada uma análise sensorial discriminativa comparando as formulações com seus controles e análise de eritema e pH da pele através de sondas não invasivas. Ainda, foram estudadas possíveis correlações entre parâmetros físicos e reológicos das formulações ao longo do tempo de armazenamento através da matriz de correlações de Pearson. Os resultados desta etapa do trabalho demonstraram que as formulações cosméticas mantiveram seu aspecto físico e comportamento pseudoplástico após os ciclos de estresse e durante os seis meses de armazenamento, com uma boa estabilidade. A adição de amido de pinhão manteve a espalhabilidade e aumentou a viscosidade das formulações em comparação com seus controles. O extrato fenólico da casca mostrou-se uma boa fonte de compostos fenólicos com atividade antioxidante, a qual se manteve estável mesmo após estresse térmico. Nos estudos em voluntários humanos, as formulações não apresentaram quaisquer sinais de irritação cutânea ou alteração de pH da pele. A formulação tipo emulgel foi considerada como tendo maior capacidade de se espalhar na pele e sensação de filme aveludado, menor pegajosidade e percepção na pele após 5 minutos da aplicação, o que sugere que a formulação, além de melhor espalhamento, não deixa sensação residual na pele. Através das análises de correlação concluiu-se que quanto maior o conteúdo de umidade maior o índice de consistência, índice de qualidade e viscosidade aparente, e, por outro lado, menor o índice de fluxo e, quanto maior o tamanho médio de partícula, menor o índice de consistência, índice de qualidade e viscosidade aparente. Na segunda etapa do trabalho foram desenvolvidos filmes comestíveis à base de amido e farinha de pinhão, com e sem adição de casca de pinhão moída. Primeiramente foi avaliada a possibilidade da utilização de glicerol, sorbitol, sacarose e xarope de glicose como plastificantes no desenvolvimento de filmes de amido. Foi avaliado o efeito da quantidade de amido de pinhão e sorbitol na formação dos filmes através de um planejamento experimental  $2^2$  com pontos axiais e a influência destas variáveis foi avaliada nas propriedades mecânicas, de cor e opacidade, solubilidade e espessura dos biofilmes formados. Foram desenvolvidos também filmes à base de amido e farinha de pinhão plastificados com diferentes quantidades de glicerol. Estes filmes foram caracterizados e comparados entre si em relação à espessura, permeabilidade a vapor d'água (PVA), temperatura de transição vítrea, microscopia eletrônica de varredura (MEV), porosidade aparente ( $\emptyset$ ), cor, opacidade e espectroscopia de infravermelho por transformada de Fourier (FTIR). Além disso, as matérias-primas foram analisadas através da umidade, atividade de água ( $A_w$ ),  $\emptyset$  e propriedades de pasta. Após, foram desenvolvidos filmes à base de farinha de pinhão, utilizando a concentração de glicerol que se julgou mais adequada a partir dos dados estudados anteriormente. A estes filmes foram adicionadas diferentes concentrações de casca de pinhão moída e avaliada a influência da adição da casca nas propriedades físico-químicas,

---

na morfologia por MEV, na estrutura química por FTIR, fenólicos solúveis totais e capacidade antioxidante. Por fim, foi realizada a comparação do filme formado a partir de amido de pinhão com filmes desenvolvidos com amidos comerciais com diferentes razões de amilose/amilopectina. Para comparação, foram utilizados o amido de mandioca e dois tipos de amido de milho com alto teor de amilose, Hylon V e Hylon VII. Os filmes foram caracterizados quanto à densidade, volume total de poro, parâmetros de cor e opacidade, análise de estrutura por MEV, permeabilidade a vapor de água, isotermas de sorção, propriedades mecânicas, FTIR e estabilidade térmica por analisador termogravimétrico (TGA). A partir das respostas do planejamento foram obtidos modelos significativos para espessura, solubilidade, módulo de Young, tensão máxima, deformação no momento da ruptura e para os parâmetros de cor  $b^*$  e  $h$ . Os filmes produzidos à base de amido de pinhão e sorbitol apresentaram transparência adequada e valores altos de solubilidade. A espessura dos filmes foi maior com a utilização das maiores concentrações de amido e sorbitol e os maiores valores de solubilidade foram alcançados nas maiores concentrações de sorbitol e menores concentrações de amido. No geral, os filmes apresentaram baixa resistência mecânica, porém, com tendência de aumento de acordo com a maior concentração de amido e diminuição da concentração de sorbitol. O amido e a farinha de pinhão não apresentaram diferença significativa no conteúdo de umidade e o amido de pinhão apresentou  $A_w$  e  $\Delta E$  menores que a farinha de pinhão, mas com pico de viscosidade maior. Os filmes feitos com amido de pinhão apresentaram valores menores para espessura,  $\Delta E$ , PVA e opacidade e valores maiores para módulo de Young, resistência à tração e deformação na ruptura. Além disso, filmes com maiores concentrações de glicerol apresentaram maior PVA e deformação na ruptura, e menor resistência à tração e módulo de Young. A estrutura dos filmes de farinha de pinhão apresentaram irregularidades e superfície mais rugosa que os filmes de amido de pinhão. As diferenças na concentração de glicerol não afetaram os valores de  $T_g$  dos filmes. Os filmes de farinha de pinhão demonstraram ser mais amarelados e mais opacos. No geral, os filmes de amido e farinha de pinhão não apresentaram mudanças estruturais através da análise de FTIR. A adição de casca de pinhão aos filmes de farinha de pinhão gerou filmes com compostos fenólicos, atividade antioxidante e fibras. O aumento da concentração de casca formou filmes com maior espessura, porosidade aparente, permeabilidade a vapor d'água, compostos fenólicos solúveis totais, capacidade antioxidante, módulo de Young, fibra dietética e de coloração mais avermelhada ( $a^*$ ) e amarelada ( $b^*$ ). Ainda, a presença da casca de pinhão diminuiu a deformação na ruptura e luminosidade ( $L^*$ ). A casca de pinhão deixou os filmes mais ásperos e com algumas falhas na superfície, visíveis pelas imagens de MEV. A intensidade dos picos do espectro no infravermelho (FTIR) diminuiu com o aumento da concentração de casca nos filmes. A comparação do filme feito com amido de pinhão e demais filmes de amidos comerciais com diferentes razões de amilose/amilopectina demonstrou que esta característica tem efeito apenas sobre a força do filme e tensão superficial da solução filmogênica. No geral, todos os filmes demonstraram transparência com baixos valores de  $\Delta E$  e opacidade, superfícies lisas com aspecto homogêneo, isotermas do tipo III, ajustáveis pelo modelo de GAB, permeabilidade a vapor d'água adequada para filmes de amido, padrões de infravermelho similares entre si e degradação térmica seguindo o mesmo padrão. Por fim, através dos testes e produtos desenvolvidos pôde-se demonstrar a aplicabilidade do pinhão, criando alternativas para valorização do produto e aproveitamento da semente inteira, diminuindo a geração de resíduos. Foi possível perceber também um grande potencial da utilização da semente em produtos que utilizem amido, farinha com grande quantidade de carboidrato, fibras e compostos fenólicos com atividade antioxidante.

**Palavras-chave:** pinhão; amido; farinha; extrato fenólico; casca de pinhão; desenvolvimento de produtos; formulações tópicas; estabilidade; filme comestível.

---

## Abstract

*Pinhão* is the Parana pine seed (*Araucaria angustifolia*), which grows naturally in the southern states of Brazil, and is usually consumed cooked during the harvest season. There are some studies with *pinhão*, but there are a few efforts to increase its applicability as an ingredient in the development of new products. The main goal of this work is to use the *pinhão* components such as starch, flour, phenolic extract of the husk and husk powder, as natural ingredients for the development of innovative products in the pharmaceutical and food industries. This work is divided into two stages: development of topical formulations in the pharmaceutical industry area, and development of edible films in the food industry area. In the first stage, there were developed two types of topical formulations, gel and emulgel with *pinhão* starch and phenolic extract of the husk. The stability was analyzed through thermal stress cycles, and along six months of storage. In addition, a discriminative sensory analysis was performed comparing formulations with their controls and an analysis of erythema and skin pH through non-invasive probes was also made. Furthermore, possible correlation between physical and rheological parameters of formulations over time through storage Pearson correlation matrix was studied. The results of this step showed that the cosmetic formulations maintained their physical appearance and the pseudoplastic behavior after stress cycles and six months of storage, showing good stability. The addition of *pinhão* starch kept spreadability and increased the formulations' viscosity when comparing with their controls. The coat phenolic extract proved to be a good source of phenolic compounds with antioxidant activity, which remained stable even after thermal stress. The formulations showed no signs of skin irritation or pH skin alteration in the studies with human volunteers. The emulgel type formulation was considered to have greater spread ability on the skin and better feeling of peachy film, lower stickiness and perception on the skin after 5 minutes of application, suggesting that the formulation spreads better and leaves no residual sensation on the skin. Through the correlation analysis it was concluded that the higher the moisture content the higher the consistency index, quality index and apparent viscosity and, on the other hand, the lower the flow rate; the greater the average particle size, smaller the consistency index, quality index and apparent viscosity. In the second stage of the work, there were developed edible films based on *pinhão* starch and flour, with or without grounded *pinhão* husk addition. Initially, the possibility of the use of glycerol, sorbitol, sucrose and glucose syrup as plasticisers in starch films development was evaluated. The effect of the *pinhão* starch and sorbitol amounts in the films formation was evaluated through a  $2^2$  experimental design with axial points and these variables influence was evaluated by the mechanical properties, color and opacity, solubility and thickness of films. *Pinhão* starch-based films and *pinhão* flour-based films with different amounts of glycerol have also been developed, characterized and compared each other to the thickness, water vapor permeability (WVP), glass transition temperature ( $T_g$ ), scanning electron microscopy (SEM), apparent porosity ( $\emptyset$ ), color, opacity, and Fourier transform infrared spectroscopy (FTIR). In addition, the raw materials were analyzed for moisture content, water activity ( $A_w$ ), apparent porosity and pasting profile. Subsequently, *pinhão* flour films were developed using the glycerol concentration which is judged the most appropriate from the data previously studied. Different concentrations of *pinhão* husk were added to the films and the *pinhão* husk addition influence on the physicochemical properties, morphology by SEM, chemical structure by FTIR, total soluble phenolic (TSP), and antioxidant capacity were analyzed. Finally, a comparison of the film formed from *pinhão* starch and from commercial starches with different amylose/amylopectin ratio was performed. The commercial starches used were the cassava starch and two types of corn starch with high amylose content, Hylon V and Hylon VII. The films were characterized

---

for density, total pore volume (TPV), color parameters, and opacity, structure analysis by SEM, WVP, sorption/desorption isotherms, mechanical properties, FTIR and thermal stability by thermogravimetric analyzer (TGA) and they were compared to each other. The experimental design demonstrated that the thickness, solubility, Young's modulus, maximum stress, elongation at break, and color parameters  $b^*$  and  $h$  presented significant models. *Pinhão* starch and sorbitol films showed adequate transparency and high solubility values. The film thickness was greater with the use of higher starch and sorbitol concentrations, and higher solubility values were reached in higher sorbitol amounts and lower starch concentrations. In general, the films had low tensile strength, but with a tendency to increase with starch concentration increasing and sorbitol concentrations decreasing. *Pinhão* starch and flour did not show differences in moisture content and *pinhão* starch presented lower  $A_w$ ,  $\Delta E$ , but higher peak viscosity than *pinhão* flour. Films made with *pinhão* starch exhibited lower thickness,  $\Delta E$ , WVP and opacity than *pinhão* flour films, but higher Young's modulus, tensile strength and elongation at break. In addition, films with higher amounts of glycerol exhibited higher WVP and elongation at break, with lower tensile strength and Young's modulus. The *pinhão* flour films structure presented irregularities and were rougher than *pinhão* starch films. Differences in glycerol content did not affect  $T_g$  values of these films. Flour films were yellowish and also had a higher opacity value. The FTIR spectra of *pinhão* starch and *pinhão* flour films showed similar IR absorbance patterns, with no structural change in the presence or absence of glycerol. The increase of *pinhão* husk concentration formed films with greater thickness, porosity, WVP, TSP, antioxidant capacity, Young's modulus, dietary fiber and more intense color parameters for red ( $a^*$ ) and yellow ( $b^*$ ). The *pinhão* husk presence decreased the elongation at break and lightness ( $L^*$ ), made rougher films and with imperfections on the surface, visible by SEM images. The intensity of the peaks in the infrared spectrum (FTIR) decreased when *pinhão* husk concentration increased. The comparison made between *pinhão* starch films and films made with commercial starches with different amylose/amylopectin ratios showed that this characteristic takes effect only on the film strength and surface tension of the film solution. In general, all the films demonstrated transparency with low  $\Delta E$  values and opacity, a smooth surface with homogeneous appearance. They also showed Type III isotherm, adjustable by the GAB model, adequate WVP, IR patterns similar to each other and thermal degradation following the same pattern. Finally, through the tests and developed products it can be demonstrate the applicability of the *pinhão* and create alternatives for the whole seed utilization, reducing the waste generation. In addition, it can be noticed a great potential of seed uses in such products that use starch, flour with lots of carbohydrates, fiber and phenolic compounds with antioxidant activity.

**Keywords:** *pinhão*; starch; flour; *pinhão* husk, products development; topical formulations; stability; edible film.

---

## LISTA DE FIGURAS

<b>Figura 1.</b> Araucária (a) e pinha com os pinhões (b). .....	7
<b>Figura 2.</b> Partes do pinhão: casca (a), endosperma primário (b) e embrião (c). .....	10
<b>Figura 3.</b> Representação esquemática da micela formada durante a formação da emulsão. ....	22
<b>Figura 4.</b> Representação esquemática da estrutura dos flavon-3-óis. ....	26
<b>Figura 5.</b> Processos de desestabilização de emulsões. ....	28
<b>Figura 6.</b> Curvas de fluxo (a) e curvas de viscosidade (b) características de cada tipo de fluido .....	31
<b>Figura 7.</b> Resposta típica de uma varredura de deformação ou tensão mostrando a região viscoelástica linear (RVL) definida pelo valor crítico do parâmetro de varredura. ....	32
<b>Figura 8.</b> Curvas de frequência representando uma emulsão estável ( $G' > G''$ ) .....	33
<b>Figura 9.</b> Representação das propriedades funcionais de filmes e coberturas .....	38
<b>Figura 10.</b> Classificação de polímeros biodegradáveis e sua nomenclatura .....	40
<b>Figura 11.</b> Fluxograma da extração do amido de pinhão nativo .....	52
<b>Figura 12.</b> Comportamento pseudoplástico das formulações semissólidas. ....	82
<b>Figura 13.</b> Testes de varredura de frequência para as formulações tipo gel (A) e emulgel (B). .....	83
<b>Figura 14.</b> Microscopia das formulações GC (A), GP (B), EC (C), e EP (D). .....	93
<b>Figura 15.</b> Fotos dos filmes à base de amido de pinhão com diferentes plastificantes .....	98
<b>Figura 16.</b> Superfície de resposta da espessura (a) e solubilidade (b). .....	100
<b>Figura 17.</b> Superfície de resposta do módulo de Young (MY) (a), tensão máxima (TM) (b) e deformação no momento da ruptura (E%) (c). .....	102
<b>Figura 18.</b> Superfície de resposta dos parâmetros de cor $b^*$ (a) e $h$ (b) .....	104
<b>Figura 19.</b> Gráfico de Pareto da opacidade (a) e dos parâmetros de cor $L^*$ (b), $a^*$ (c) e $C^*$ (d) .....	105
<b>Figura 20.</b> Perfil das propriedades de pasta do amido e farinha de pinhão. ....	109

---

<b>Figura 21.</b> Imagens de microscopia eletrônica de varredura (MEV) das seções transversais dos filmes S5, SG5:1, FG5:1, SG5:2 e FG5:2. ....	113
<b>Figura 22.</b> Espectros de FTIR dos filmes à base de amido de pinhão e farinha de pinhão. .	117
<b>Figura 23.</b> Fotografias dos filmes H0 (A), H05 (B), H10 (C), H15 (D), H20 (E) e H25 (F). .....	119
<b>Figura 24.</b> Imagens de MEV da superfície (A) e seção transversal (B) do filme H0 e da superfície (C) e seção transversal (D) do filme H20.....	123
<b>Figura 25.</b> Espectro de FTIR dos filmes à base de farinha de pinhão com e sem pó de casca de pinhão.....	124
<b>Figura 26.</b> Tensão superficial das soluções filmogênicas de amidos com diferentes razões de amilose/amilopectina. ....	126
<b>Figura 27.</b> Imagens de MEV das superfícies e seções transversais dos filmes de amido.....	128
<b>Figura 28.</b> Isotermas de sorção dos filmes de amido na temperatura de 25°C. ....	129
<b>Figura 29.</b> Espectros de FTIR dos filmes à base de amido com diferentes razões de amilose/amilopectina. ....	132
<b>Figura 30.</b> Termogramas dos filmes de amido com diferentes razões de amilose/amilopectina. .....	133

---

## LISTA DE TABELAS

<b>Tabela 1.</b> Valores obtidos nas análises físico-químicas do pinhão cru e cozido (com casca).	11
<b>Tabela 2.</b> Composição físico-química do amido de pinhão nativo (valores expressos em percentual (g/100g)).	13
<b>Tabela 3.</b> Valores obtidos para a composição centesimal de amido nativo de pinhão extraído de 4 diferentes coleções de germoplasma.	14
<b>Tabela 4.</b> Conteúdo fenólico total (mg.100 g <sup>-1</sup> semente <i>in natura</i> ) e capacidade antioxidante (μmol Trolox eq/g semente <i>in natura</i> ) das sementes	27
<b>Tabela 5.</b> Atributos utilizados em análise sensorial discriminativa.	35
<b>Tabela 6.</b> Coberturas comerciais, componentes e aplicações.	49
<b>Tabela 7.</b> Composição em percentual (m/m) das formulações tipo gel.	54
<b>Tabela 8.</b> Composição em percentual (m/m) das formulações tipo emulsão-gel.	55
<b>Tabela 9.</b> Proporções de amido de pinhão e plastificante utilizados no desenvolvimento dos biofilmes	65
<b>Tabela 10.</b> Níveis codificados e reais de amido de pinhão e sorbitol para o planejamento experimental composto central 2 <sup>2</sup> com pontos axiais.	65
<b>Tabela 11.</b> Variação das propriedades entre as amostras no tempo inicial (amostras frescas) e final (após os seis ciclos de aquecimento/congelamento) *	80
<b>Tabela 12.</b> Análise sensorial discriminativa com voluntários para as formulações semissólidas tipo gel.	85
<b>Tabela 13.</b> Análise sensorial discriminativa com voluntários para as formulações semissólidas tipo emulgel.	86
<b>Tabela 14.</b> Parâmetros reológicos das formulações semissólidas ao longo do tempo de armazenamento*. Números após os símbolos das amostras indicam o tempo de armazenamento em meses.	89
<b>Tabela 15.</b> Parâmetros físicos das formulações semissólidas ao longo do tempo de armazenamento*. Números após os símbolos das amostras indicam o tempo de armazenamento em meses.	92
<b>Tabela 16.</b> Matriz de correlação de Pearson entre parâmetros reológicos e físicos considerando todos os tempos avaliados.	94

---

<b>Tabela 17.</b> Espessura, solubilidade e propriedades mecânicas dos biofilmes à base de amido de pinhão e sorbitol. ....	99
<b>Tabela 18.</b> Propriedades de cor dos biofilmes à base de amido de pinhão e sorbitol .....	104
<b>Tabela 19.</b> Características das matérias-primas (amido e farinha de pinhão) utilizadas como base para formar os filmes. ....	107
<b>Tabela 20.</b> Características físicas dos filmes à base de amido e farinha de pinhão. ....	112
<b>Tabela 21.</b> Espessura, parâmetros de cor, porosidade e permeabilidade a vapor d'água (PVA) dos filmes à base de farinha de pinhão e diferentes concentrações de pó de casca de pinhão. ....	120
<b>Tabela 22.</b> Propriedades mecânicas, fenólicos solúveis totais e capacidade antioxidante dos filmes comestíveis à base de farinha de pinhão com diferentes concentrações de casca de pinhão em pó. ....	121
<b>Tabela 23.</b> Densidade, porosidade e parâmetros de cor dos filmes feitos com diferentes amidos. ....	126
<b>Tabela 24.</b> Parâmetros de ajuste para o modelo de GAB e área específica da superfície dos filmes. ....	130
<b>Tabela 25.</b> Permeabilidade a vapor d'água e propriedades mecânicas dos filmes feitos com diferentes amidos. ....	131

---

## Lista de siglas, abreviaturas e símbolos

$a^*$	parâmetro de cor (do verde (-) ao vermelho (+))
ABTS	2,2'-azino-bis(3- etilbenzoiltiazolina-6-sulfônico)
$A_m$	área ocupada por uma molécula de água (utilizado no modelo de GAB)
$A_w$	atividade de água
$b^*$	parâmetro de cor (do azul (-) ao amarelo (+))
b.u.	base úmida
b.s.	base seca
$\dot{\gamma}$	taxa de cisalhamento ( $s^{-1}$ )
$C$	constante de Guggenheim (representa o calor de sorção da primeira camada)
$C^*$	Chroma (saturação da cor)
CE	Catecol Equivalente
CEP	Comitê de Ética em Pesquisa
$\Delta E$	diferença total de cor
DPPH	2,2-difenil-1-picril-hidrazila
DSC	do inglês, <i>Differential Scanning Calorimetry</i>
$d$	diâmetro
$d_{0,1}$	diâmetro da partícula em 10% da distribuição dos volumes acumulados ( $\mu m$ )
$d_{0,5}$	diâmetro da partícula em 50% da distribuição dos volumes acumulados ( $\mu m$ )
$d_{0,9}$	diâmetro da partícula em 90% da distribuição dos volumes acumulados ( $\mu m$ )
D[4,3]	diâmetro da partícula médio ( $\mu m$ )
DVS	do inglês, <i>Dynamic Vapor Sorption</i> (vapor dinâmico de sorção)
E	elongação na ruptura (%)
$E_i$	espalhabilidade (mm) para cada peso $i$ (g) adicionado ( $S_i$ - <i>spreadability</i> )
EO/A	emulsão óleo em água
$f$	frequência (Hz)
FE	fator de espalhabilidade ( $mm^2/g$ )
FST	fenólicos solúveis totais
FTIR	do inglês, <i>Fourier transformed infrared spectroscopy</i> (espectroscopia no infravermelho de transformada de Fourier)
$G'$	módulo de armazenamento ou elástico
$G''$	módulo de perda ou viscoso
$G_0'$	módulo de armazenamento (elástico) a $1 \text{ rad s}^{-1}$
$G_0''$	módulo de perda (viscoso) a $1 \text{ rad s}^{-1}$

---

GAB	Guggenheim-Anderson-de Boer (GAB)
GAE	ácido gálico equivalente (do inglês: <i>galic acid equivalent</i> )
$\emptyset$	porosidade aparente
$h$	ângulo de hue (tonalidade da cor)
$K$	índice de consistência (Pa.s)
$k$	calor de sorção da multicamada
$L^*$	parâmetro de cor (luminosidade; do preto (0) ao branco (100))
$m$	massa (g)
$M$	peso molecular
MEV	Microscopia Eletrônica de Varredura
m/m	massa por massa
m/v	massa por volume
MY	Módulo de Young
$\eta_{100}$	viscosidade aparente a $\dot{\gamma} = 100 \text{ s}^{-1}$
$N$	número de Avogadro
$n$	índice de fluxo (adimensional)
$n'$ e $n''$	parâmetros que relacionam a influência da frequência nos módulos viscoelásticos
NaOH	hidróxido de sódio
$p_{A1}$	pressão parcial de vapor na parte de dentro do filme no porta amostras
$p_{A2}$	pressão parcial de vapor na parte de fora do filme no porta amostras
PVA	permeabilidade a vapor de água
$Q$	fator de qualidade (adimensional)
q.s.p	quantidade suficiente para
$\rho_b$	densidade aparente ( <i>bulk density</i> )
$\rho_t$	densidade real ( <i>true density</i> )
$R^2$	coeficiente de determinação
RLV	região linear viscoelástica
$S$	área de superfície específica
$Span$	distribuição de tamanho de partícula
$\sum mi$	somatório do peso acumulado das placas de vidro adicionadas
$\sum Ei$	somatório da espalhabilidade
$\tau$	tensão de cisalhamento (N.m <sup>2</sup> ou Pa)
$\tau_0$	tensão de cisalhamento inicial (N.m <sup>2</sup> ou Pa)
T	temperatura (°C)
TCLE	Termo de Consentimento Livre e Esclarecido

---

TEAC	<i>Trolox Equivalent Antioxidant Capacity</i> (Trolox: 6-hydroxy-2,5,7,8-tetramethylchroman-2-carboxylic acid)
$T_g$	temperatura de transição vítrea
TGA	do inglês, <i>Thermogravimetric analysis</i>
TM	Tensão máxima
TTVA	Taxa de Transmissão de Vapor de Água
UR	umidade relativa
UV	ultravioleta
v/v	volume por volume
$\omega$	frequência (rad/s)
$X_m$	umidade de monocamada
$X_w$	umidade de equilíbrio (g de água/g de massa seca)
$Y$	opacidade (%)
$Y_b$	opacidade frente ao padrão preto
$Y_w$	opacidade frente ao padrão branco



---

## SUMÁRIO

<b>Capítulo 1 - Introdução</b> .....	<b>1</b>
<b>Capítulo 2 - Objetivos</b> .....	<b>5</b>
<i>2.1. Objetivo geral</i> .....	<i>5</i>
<i>2.2. Objetivos específicos</i> .....	<i>5</i>
<b>Capítulo 3 - Fundamentos Teóricos e Revisão Bibliográfica</b> .....	<b>7</b>
<b>3.1. O pinhão como matéria-prima</b> .....	<b>7</b>
3.1.1. Situação ambiental e econômica .....	7
3.1.2. Pinhão: características físico-químicas da semente.....	10
3.1.3. Componentes de interesse .....	12
3.1.3.1. <i>Farinha de pinhão</i> .....	12
3.1.3.2. <i>Amido: propriedades e aplicação</i> .....	12
3.1.3.2. <i>Casca do pinhão</i> .....	17
<b>3.2. Indústria farmacêutica – cosméticos</b> .....	<b>18</b>
3.2.1 Mercado Cosmético - atualidades.....	18
3.2.2. Tipos de formulações cosméticas para uso tópico.....	20
3.2.3. Matérias-primas .....	23
3.2.3.1. <i>Amido em cosméticos</i> .....	23
3.2.3.2. <i>Polifenólicos e antioxidantes</i> .....	25
3.2.4. Estabilidade de formulações cosméticas .....	28
3.2.4.1. <i>Reologia</i> .....	30
3.2.5. Análise sensorial e de eficácia das propriedades cosméticas in vivo .....	34
<b>3.3. Indústria de alimentos – filmes e coberturas comestíveis</b> .....	<b>36</b>
3.3.1. Histórico e características dos filmes e coberturas comestíveis .....	37
3.3.2. Matérias-primas utilizadas como base na composição de filmes e coberturas comestíveis .....	39
3.3.2.1. <i>Filmes comestíveis contendo amido</i> .....	40
3.3.2.2. <i>Farinhas como insumo para o preparo de filmes comestíveis</i> .....	42
3.3.3. Plastificantes utilizados no desenvolvimento de filmes e coberturas comestíveis.....	44
3.3.4. Matérias-primas utilizadas para reforçar e/ou incorporar funcionalidades aos filmes e coberturas comestíveis.....	45
3.3.4. Técnicas de preparação e aplicações .....	47

---

<b>Capítulo 4 - Materiais e Métodos.....</b>	<b>51</b>
<b>4.1. Obtenção das matérias-primas oriundas do pinhão .....</b>	<b>51</b>
4.1.1. Extração do amido de pinhão.....	52
4.1.2. Obtenção do extrato aquoso da casca do pinhão.....	53
4.1.3. Obtenção da farinha de pinhão cru .....	53
4.1.4. Preparação da casca de pinhão cru moída.....	54
<b>4.2. Desenvolvimento e caracterização de formulações de uso tópico utilizando a semente de pinhão .....</b>	<b>54</b>
4.2.1. Formulações cosméticas tipo gel .....	54
4.2.2. Formulações cosméticas tipo emulgel .....	55
4.2.3. Avaliação da estabilidade físico-química e as propriedades cosméticas in vitro das formulações desenvolvidas .....	56
4.2.3.1. Resistência à centrifugação das formulações semissólidas.....	56
4.2.3.2. Determinação do pH.....	56
4.2.3.3. Determinação da espalhabilidade .....	57
4.2.3.4. Caracterização reológica das formulações semissólidas.....	57
4.2.3.5. Teor de compostos fenólicos.....	58
4.2.3.6. Determinação da atividade antioxidante dos cosméticos.....	59
4.2.4. Análise sensorial e das propriedades cosméticas in vivo das formulações semissólidas .....	59
4.2.4.1. Análise sensorial discriminativa e afetiva das formulações semissólidas.....	59
4.2.4.2. Análise das propriedades cosméticas in vivo das formulações semissólidas.....	61
4.2.5. Avaliação de possíveis correlações entre os parâmetros reológicos e os parâmetros físicos de formulações semissólidas ao longo de seis meses de armazenamento.....	61
<b>4.3. Desenvolvimento de filmes comestíveis .....</b>	<b>64</b>
4.3.1. Escolha de plastificante e desenvolvimento de filmes comestíveis à base de amido de pinhão.....	64
4.3.1.1. Caracterização dos filmes comestíveis .....	66
4.3.2. Estudo comparativo das propriedades de filmes comestíveis à base de amido e farinha de pinhão .....	68
4.3.2.1. Propriedades físicas do amido e farinha de pinhão .....	68
4.3.2.2. Desenvolvimento e caracterização dos filmes comestíveis à base de amido e farinha de pinhão.....	69
4.3.3. Influência da adição de casca de pinhão no desenvolvimento de filmes comestíveis à base de farinha de pinhão.....	72

---

4.3.4. Comparação entre filme à base de amido de pinhão e amidos comerciais com diferentes teores de amilose .....	74
<b>Apresentação aos capítulos 5 e 6 - Resultados e Discussão.....</b>	<b>77</b>
<b>Capítulo 5 - Resultados e Discussão do Desenvolvimento de Cosméticos .....</b>	<b>79</b>
<i>5.1. Amido de pinhão e extrato da casca de pinhão como novos ingredientes naturais para cosméticos: estabilidade das formulações tópicas e análise sensorial .....</i>	<i>79</i>
5.1.1. Estabilidade das formulações semissólidas .....	79
5.1.2. Análise sensorial e propriedades cosméticas.....	84
5.1.3. Conclusões.....	86
<i>5.2. Estabilidade de formulações tópicas com pinhão e correlações entre parâmetros reológicos e físicos .....</i>	<i>89</i>
5.2.1. Estabilidade das formulações ao longo de seis meses.....	89
5.2.2. Análise de possíveis correlações entre as propriedades reológicas e físicas.....	94
5.2.3. Conclusões.....	95
<b>Capítulo 6 – Resultados e Discussão do Desenvolvimento de Filmes Comestíveis .....</b>	<b>97</b>
<i>6.1. Desenvolvimento de filmes comestíveis à base de amido de pinhão.....</i>	<i>97</i>
6.1.1. Caracterização dos filmes formados.....	97
6.1.2. Conclusões.....	106
<i>6.2. Estudo comparativo das propriedades físicas de filmes comestíveis à base de amido e farinha de pinhão (Araucaria angustifolia).....</i>	<i>107</i>
6.2.1. Propriedades físicas da matéria-prima .....	107
6.2.2. Propriedades físicas dos filmes à base de amido e farinha de pinhão .....	110
6.2.2. Conclusões.....	117
<i>6.3. Influência da adição da casca de pinhão aos filmes de farinha de pinhão .....</i>	<i>119</i>
6.3.1. Caracterização dos filmes formados.....	119
6.3.2. Conclusões.....	124
<i>6.4. Comparação entre filme comestível de amido de pinhão e filmes feitos com amidos comerciais com diferentes proporções de amilose/amilopectina .....</i>	<i>125</i>
6.4.1. Caracterização dos filmes.....	125
6.4.2. Conclusões.....	134
<b>Conclusões gerais.....</b>	<b>135</b>
<b>Anexo A – Curvas de calibração .....</b>	<b>141</b>
<i>A.1. Curva de calibração dos compostos fenólicos.....</i>	<i>141</i>
<i>A.2. Curva de calibração com padrão Trolox para ABTS .....</i>	<i>141</i>

---

<i>A.3. Curva de calibração dos fenólicos solúveis totais .....</i>	<i>142</i>
<i>A.4. Curva de calibração com padrão Trolox para DPPH.....</i>	<i>142</i>
<b>Anexo B - Análise sensorial.....</b>	<b>143</b>
<i>B.1. Protocolo de Avaliação Sensorial Discriminativa e Afetiva .....</i>	<i>143</i>
<i>B.2. Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE) para análise sensorial.....</i>	<i>144</i>
<i>B.3. Termo de Consentimento Livre e Esclarecido para análise de atributos sensoriais e de atividade cosmética utilizando sondas não invasivas .....</i>	<i>146</i>
<b>Referências Bibliográficas.....</b>	<b>149</b>

## Capítulo 1 - Introdução

A semente do Pinheiro do Paraná (*Araucaria angustifolia* sin. *Araucaria angustifolia*), popularmente conhecida por pinhão, é um produto regional consumido nos Estados do Sul do Brasil. O pinheiro cresce naturalmente nesses estados e pode ser encontrado também na Argentina e Paraguai. O método de colheita é rudimentar e, como a árvore é alta, muitas vezes, os pinhões não são colhidos diretamente, mas sim, recolhidos do chão. A safra anual ocorre no início do inverno e como não é consumida totalmente costuma ser destinada à alimentação animal, o que indica um excedente de pinhão ao final das safras. No último censo agropecuário realizado em 2006 o percentual de perda entre colheita e pinhões vendidos foi acima de 12% (IBGE, 2006).

Esta árvore foi muito explorada pela qualidade de sua madeira a ponto de ser incluída na Lista Oficial das Espécies da Flora Brasileira Ameaçadas de Extinção do IBAMA (Instituto Brasileiro do Meio Ambiente) (Brasil, 1992). Para garantir a preservação das espécies ameaçadas de extinção o CONAMA (Conselho Nacional do Meio Ambiente) criou a Resolução 278/01 (Brasil, 2001) que proíbe o corte e a exploração das espécies que constam nesta lista oficial. Por isso, o uso do pinhão em pesquisas que enfatizem o uso sustentável pode auxiliar nos esforços de conservação encorajando o uso racional e o consumo moderado da espécie.

Estudos que visem à produção de pinhões podem acarretar a promoção da extensão rural através da busca de alternativas para o pequeno produtor ter outras fontes de renda. O uso do pinhão em outras épocas do ano, além da estação de produção, torna o mercado mais atrativo e incentiva a extração e comercialização dos pinhões por parte dos produtores rurais (Santos *et al.*, 2002; Figueiredo-Filho *et al.*, 2011). Somado a isso, existe uma atual tendência

e grande interesse de aproveitamento da biodiversidade regional, com ênfase no seu uso sustentável. O fortalecimento industrial dos chamados fitoprodutos pode criar condições que permitam, a médio e longo prazo, investir na exploração racional da biodiversidade brasileira para o desenvolvimento de produtos de maior valor agregado, o que pode contribuir para a identificação de oportunidades no âmbito do agronegócio.

O principal componente da semente de pinhão é o amido. O pinhão possui ainda, em menor proporção, proteínas, lipídios e fibra dietética (Cordenunsi *et al.*, 2004; Capella *et al.*, 2009; Cladera-Olivera *et al.*, 2011). A casca do pinhão é uma fração da semente ainda pouco explorada. Esta parte, normalmente considerada como resíduo, possui compostos fenólicos com atividade antioxidante, conferindo coloração marrom para a mesma (Cladera-Olivera, 2008; Silva *et al.*, 2014). Além disso, a casca poderia representar uma boa fonte de fibras, pois se sabe que, geralmente, as cascas de sementes possuem mais fibras que as próprias sementes (Rocha *et al.*, 2008).

Devido às características expostas anteriormente, tanto a semente como a casca do pinhão, são matérias-primas promissoras que justificam o seu uso integral no desenvolvimento de novos produtos para aproveitamento do excedente das safras anuais. Assim, os resultados desta tese estão apresentados em dois capítulos diferentes, um que contempla os resultados, discussões e conclusões parciais do desenvolvimento de cosméticos e o outro capítulo envolvendo os resultados, discussões e conclusões parciais do desenvolvimento de filmes comestíveis.

O crescimento do mercado e do consumo na área cosmética faz com que haja uma necessidade constante de desenvolvimento de produtos inovadores e tecnológicos, para suprir a demanda crescente por novas opções e alcançar necessidades emergentes e tendências do mercado consumidor. O interesse por ingredientes naturais em cosméticos faz com que o apelo por produtos brasileiros seja evidenciado em outros países. No exterior o Brasil é visto como exótico, sendo capaz de produzir ingredientes muito diferentes do que se vê, por exemplo, na Europa. Alguns dos ativos mais desejados por outros países são o açaí, o guaraná, o camu camu, a castanha-do-pará e a andiroba (ABIHPEC, 2013). No cenário atual, o apelo ao uso de produtos naturais em cosméticos tem apresentado bastante força e impulsionado uma parcela considerável do setor, de forma que a utilização de matérias-primas naturais é bem aceita e inclusive incentivada pelo mercado.

---

Além do estímulo aos produtos de origem natural, é crescente o incentivo ao desenvolvimento de produtos “ecologicamente corretos”, cuja produção não gere impactos ambientais consideráveis, com enfoque bastante evidente no aproveitamento máximo de recursos e matérias-primas.

Na área de alimentos, existe hoje um grande esforço para evitar resíduos de embalagem e incentivar o uso de novos materiais, tais como filmes comestíveis e biodegradáveis a partir de materiais renováveis. Embalagens biodegradáveis feitas a partir de polímeros naturais completamente renováveis podem diminuir a poluição do meio ambiente, uma vez que estes degradam após o descarte, criando novos mercados para os produtos da agricultura (Gontard & Guilbert, 1994; Xu *et al.*, 2005).

Os filmes comestíveis podem ser desenvolvidos a partir de uma grande variedade de polissacarídeos, incluindo derivados da celulose, amido, quitina, proteínas, lipídios, alginato, carragenas, pectina, entre outros (Cutter, 2006; García *et al.*, 2009). Este tipo de embalagem "ecológica" além de aumentar a vida útil de alimentos frescos e processados melhora a sustentabilidade, uma vez que não é descartado no meio ambiente, mas sim consumido junto com o alimento.

Filmes à base de amido de diferentes fontes têm sido amplamente estudados e indicam que estes carboidratos são materiais promissores neste campo. Filmes à base de amido e filmes compostos (que utilizam vários componentes que podem estar misturados naturalmente na forma de farinha ou ser adicionados durante o desenvolvimento da formulação) podem melhorar a qualidade dos alimentos, segurança e estabilidade, uma vez que podem controlar a transferência de massa entre os componentes do produto, assim como entre o produto e o ambiente (García *et al.*, 2009).

Considerando o exposto anteriormente, a proposta de desenvolvimento de novos produtos a partir do amido de pinhão e da semente integral, utilizando a casca, tem a vantagem de utilizar um produto regional, protegido por leis ambientais e que, muitas vezes, acaba sendo tratado como resíduo no final da safra, principalmente pelo excedente de produção não consumido. As pesquisas com ênfase no uso sustentável dessa espécie auxiliam sua preservação, o que pode gerar um estímulo para o plantio, uma vez que seria necessária matéria-prima para a fabricação dos novos produtos.



## **Capítulo 2 - Objetivos**

### **2.1. Objetivo geral**

Este trabalho visa a desenvolver novas aplicabilidades para o pinhão através da elaboração de produtos nas áreas cosmética e de alimentos, utilizando a semente de pinhão na forma de amido e farinha crua, além da casca do pinhão na forma de extrato aquoso e casca moída.

### **2.2. Objetivos específicos**

Os objetivos específicos relacionados ao desenvolvimento de cosméticos são:

- Avaliar a influência da adição do amido de pinhão e extrato da casca do pinhão na estabilidade acelerada e propriedades sensoriais das formulações e eleger a formulação mais adequada para veiculação dos derivados do pinhão.
- Estudar a estabilidade ao longo de seis meses de armazenamento das formulações propostas quanto às suas propriedades físicas e reológicas e avaliar a possível correlação entre estas propriedades.

Os objetivos específicos relacionados ao desenvolvimento de filmes comestíveis são:

- Avaliar a possibilidade de uso de diferentes plastificantes nos filmes à base de amido de pinhão e eleger o(s) mais adequado(s).

- Avaliar a influência do amido de pinhão e do melhor plastificante nas propriedades dos biofilmes (espessura, solubilidade, propriedades mecânicas, cor e opacidade).
- Desenvolver e caracterizar filmes de amido e farinha crua de pinhão com diferentes quantidades de plastificante, avaliando suas diferenças.
- Desenvolver e caracterizar filmes comestíveis com adição da casca do pinhão com o objetivo de incorporar fibras e compostos fenólicos ao filme comestível à base de farinha de pinhão.
- Avaliar as diferenças entre filme de amido de pinhão com filmes de amidos comerciais, considerando diferentes teores de amilose/amilopectina.

---

## Capítulo 3 - Fundamentos Teóricos e Revisão Bibliográfica

### 3.1. O pinhão como matéria-prima

#### 3.1.1. Situação ambiental e econômica

O pinhão é a semente da araucária (*Araucaria angustifolia*), espécie que está presente na formação florestal conhecida como Floresta Ombrófila Mista, ou Floresta com Araucária. A floresta das araucárias é conhecida por ser fonte de inúmeros subprodutos florestais, tanto madeiráveis como não madeiráveis. Um dos subprodutos não madeiráveis dessa floresta é o pinhão, alimento nutritivo apreciado pela fauna silvestre e pelo homem (Santos *et al.*, 2002; Figueiredo-Filho *et al.*, 2011). A Figura 1 mostra a araucária e sua semente, o pinhão.

**Figura 1.** Araucária (a) e pinha com os pinhões (b).



Fonte: Campestrini (2011) (a) e Verdi (2010) (b).

Nas últimas décadas houve uma exploração desordenada para a comercialização da madeira desta espécie, considerada de boa qualidade para fabricação de móveis e construção civil, bem como para a produção de papel e celulose (Wosiacki & Cereda, 1985; Rachwal *et al.*, 2007; Figueiredo-Filho *et al.*, 2011). Na década de 70, a araucária correspondia a 90% de cerca de um milhão de metros cúbicos de madeira exportada pelo país (Stefenon *et al.*, 2003).

Essa grande exploração levou a espécie a ser inserida na lista oficial de espécies da flora brasileira ameaçadas de extinção do Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis (IBAMA), em 1992 (Brasil, 1992). Em 2001, uma resolução do Conselho Nacional do Meio Ambiente (CONAMA) suspendeu o corte e a exploração das espécies que constam na lista oficial do IBAMA em populações naturais (Brasil, 2001).

Diante desses fatos o pequeno produtor rural precisou buscar alternativas para contornar as restrições impostas pela legislação e usufruir das qualidades que a espécie oferece. Assim, o pinhão produzido pela araucária se tornou um produto importante para a comercialização e obtenção de renda extra para os produtores através da cultura monoespecífica da araucária (Figueiredo-Filho *et al.*, 2011).

Estudos que visem à produção de pinhões podem acarretar a promoção da extensão rural através da busca de alternativas para o pequeno produtor ter outras fontes de renda. O desenvolvimento de técnicas de conservação e industrialização, comercialização e uso do pinhão em outras épocas do ano, além da estação de produção, torna o mercado mais atrativo e incentiva a extração e comercialização dos pinhões por parte dos produtores rurais (Santos *et al.*, 2002; Figueiredo-Filho *et al.*, 2011). Entretanto, muitos dos estudos que envolvem a araucária foram desenvolvidos visando a técnicas de manejo principalmente para produção de madeira. Porém, ao considerar a exploração do pinhão, a renda total corrigida seria 22% maior que a renda obtida num sistema de exploração de madeira, o que indica que a exploração dos pinhões em longo prazo é mais rentável do que a exploração da madeira, além de reduzir a pressão de corte sobre os remanescentes existentes (Silva, 2006).

A importância econômica do pinhão para os Estados de ocorrência natural da araucária é significativa, sendo o pinhão comercializado é oriundo principalmente de povoamentos naturais de araucária. De acordo com os dados divulgados pelo IBGE, a produção nacional do pinhão em 2012 totalizou 9.638 toneladas, com valor total de R\$ 14.419 milhões e preço médio de R\$ 1,50 o quilograma (IBGE, 2013). A partir de dados coletados pelo IBGE

---

observa-se a duplicação da produção nacional em pouco mais de uma década (2000 a 2012), que passou de 4.702 para 9.638 toneladas. Em relação ao valor da produção, ocorreu um aumento de 4,7 vezes, passando de R\$ 3,024 milhões para R\$ 14,419 milhões. Percebe-se, assim, uma elevação significativa no período de 2000 a 2012, tanto da produção quanto do valor da produção, sendo que o valor da produção aumentou substancialmente mais do que a quantidade produzida, o que indica uma valorização do produto. Já em relação ao preço médio, ocorreu um aumento de 2,3 vezes, passando de R\$ 0,64 para R\$ 1,50, calculado a partir da divisão simples do valor total da produção pela produção no período considerado. Ressalta-se, porém, que os preços variam bastante, de acordo com o local da venda e com a época de comercialização (CONAB, 2014). O preço de comercialização do quilograma do pinhão nos mercados atacadistas de São Paulo, Paraná, Santa Catarina e Rio Grande do Sul variaram de R\$ 1,29 a 2,32, com média de R\$ 1,97 em 2011. Porém, no mesmo ano, os valores no mercado varejista chegaram a mais de R\$ 4,00 por quilograma em Curitiba, PR, por exemplo (Danner *et al.*, 2012). Além da inflação, o preço do pinhão pode sofrer variações de acordo com o clima e a safra. No ano de 2015 o pinhão chegou ao CEASA de Blumenau, em Santa Catarina, com preço de R\$ 4,00 o quilograma, porém, no ano anterior chegou a ser vendido por R\$ 7,98 em alguns meses (Pinhão chega aos mercados com preço menor, 2015).

A perecibilidade do pinhão, aliada à falta de industrialização e à sazonalidade de produção (normalmente de março a julho) faz com que sua comercialização seja feita quase que totalmente *in natura* e na região de produção. Para mudar esta realidade é necessário implantar uma estrutura de armazenamento em câmaras frias, a temperatura de 2 °C e umidade relativa de  $90 \pm 2\%$  (Amarante *et al.*, 2007), desenvolver técnicas de industrialização do pinhão e intensificar a divulgação do pinhão como alimento nutritivo. Isto favoreceria a comercialização também fora da época de colheita e o acesso a mercados consumidores fora da área de ocorrência da Floresta com Araucária, para obter um maior valor agregado, com aumento da renda das famílias envolvidas (Danner *et al.*, 2012).

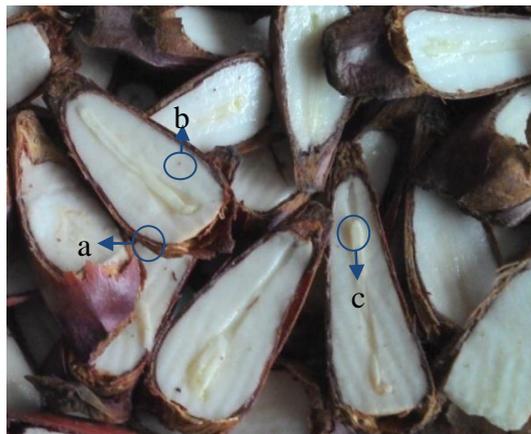
Estudos recentes da Embrapa Floresta do Paraná demonstraram que é possível obter a produção precoce de pinhões através do processo de enxertia. Quando as mudas estão com mais ou menos um ano de idade, elas estão prontas para receber o broto de uma Araucária mais velha e assume a idade da 'Araucária mãe'. Para isso é preciso pegar um broto no topo da árvore; com esta técnica pode-se escolher as características que a nova Araucária terá e é possível planejar a produção com mais eficiência. Essa alternativa de cultivar Araucárias que dão pinhões com a

metade do tempo de uma planta convencional e que produzem árvores menores que podem facilitar a colheita, pode ajudar no combate à extinção da araucária (Embrapa desenvolve araucárias que produzem pinhão em menos tempo, 2015).

### 3.1.2. Pinhão: características físico-químicas da semente

O pinhão tem sido alvo de estudos que contemplam seus componentes nutricionais, a caracterização da semente, a extração e caracterização do amido, além do uso tecnológico, visando à aplicação industrial (Cereda & Wosiacki, 1985; Wosiacki & Cereda, 1985; Wosiacki *et al.*, 1989; Datta *et al.*, 1991; Datta *et al.*, 1993; Bochi *et al.*, 2002; Lobato *et al.*, 2002; Cordenunsi *et al.*, 2004; Bello-Pérez *et al.*, 2006; Olivarez & Noreña, 2006; Conforti & Lupano, 2007; Leite, 2007; Cladera-Olivera, 2008; Cladera-Olivera *et al.*, 2008; Thys *et al.*, 2008; Capella *et al.*, 2009; Thys *et al.*, 2010; Cladera-Olivera *et al.*, 2011; Conto *et al.*, 2011; Cladera-Olivera *et al.*, 2012; Pinto *et al.*, 2012; Spada *et al.*, 2012a; Spada *et al.*, 2012b; Costa *et al.*, 2013; Klein *et al.*, 2013; Spada *et al.*, 2013; Thys *et al.*, 2013; Daudt *et al.*, 2014; Gonçalves *et al.*, 2014; Silva *et al.*, 2014). A semente do pinhão é dividida conforme ilustra a Figura 2 e as partes mais utilizadas nos estudos para a extração de amido, bem como sua caracterização e uso tecnológico, são o endosperma (2b) e o embrião (2c).

**Figura 2.** Partes do pinhão: casca (a), endosperma primário (b) e embrião (c).



O pinhão é uma boa fonte de carboidrato, principalmente amido, que é o componente presente em maior quantidade na semente (aproximadamente 36% em base úmida). As características nutricionais e tecnológicas do pinhão apresentam-se diferentes para a semente

crua e para a semente cozida. Por exemplo, os compostos fenólicos e a quercetina presentes na envoltura interna (pele) e casca migram para o endosperma após o cozimento (Cordenunsi *et al.*, 2004). A Tabela 1 apresenta os valores de análises físico-químicas do pinhão cru e cozido.

**Tabela 1.** Valores obtidos nas análises físico-químicas do pinhão cru e cozido (com casca).

Análise (%b.u.*)	Pinhão cru	Pinhão cozido <sup>1</sup>	Pinhão cozido <sup>2</sup>
Umidade	49,50 ± 0,02	50,35 ± 0,71	50,5
Proteína	3,57 ± 0,05	2,31 ± 0,05	3,0
Lipídios	1,26 ± 0,07	1,26 ± 0,09	0,7
Resíduo mineral fixo	1,60 ± 0,01	1,41 ± 0,02	1,8
Carboidrato	-	-	43,9
Amido	36,28 ± 0,11	34,48 ± 0,72	-
Fibra alimentar	-	-	15,6
Fibra dietética solúvel	0,63 ± 0,13	0,55 ± 0,18	-
Fibra dietética insolúvel	4,26 ± 0,20	5,17 ± 0,25	-
Açúcares totais solúveis	2,43	0,64	-

Fonte: <sup>1</sup>Cordenunsi *et al.* (2004); <sup>2</sup>Tabela brasileira de composição de alimentos (NEPA-UNICAMP, 2011); \*b.u., base úmida

As sementes cruas e cozidas de pinhão possuem compostos fenólicos, flavonoides e taninos condensados (protocianidinas), sendo que as maiores proporções são encontradas nas sementes cozidas devido à migração desses compostos da casca para a semente durante o cozimento. Os principais compostos fenólicos encontrados nas sementes cruas e cozidas de pinhão são catequina, ácido gálico e quercetina. As sementes cozidas apresentam aproximadamente quatro vezes mais quantidade de compostos fenólicos que as sementes cruas ( $5,92 \pm 0,09 \mu\text{g}/\text{mg}$  e  $24,06 \pm 1,3 \mu\text{g}/\text{mg}$  de fenólicos totais nos extratos de sementes cruas e cozidas, respectivamente) (Koehnlein *et al.*, 2012). Ambas as sementes, crua e cozida, contém valores elevados de catequina, sendo que a concentração desse composto também aumenta com o cozimento da semente. A semente crua apresenta valores de catequina na faixa de 17 a 23 mg/100g de sementes e o pinhão cozido de 21 a 54 mg/100g (Cordenunsi *et al.*, 2004; Koehnlein *et al.*, 2012).

As diversas estruturas de carboidratos exibidas nas superfícies das células são adaptadas para servirem de sítios de interação entre célula e seus ambientes. As proteínas denominadas lectinas são os parceiros que se ligam a estruturas de carboidratos específicos (Berg *et al.*, 2002). Esse grupo de proteínas liga açúcares e é capaz de aglutinar células e/ou precipitar glicoconjugados. O pinhão possui dois tipos de lectinas: lectina I e lectina II. As

lectinas são glicoproteínas encontradas na natureza que contém 6,3% (lectina I) e 2,9% (lectina II) de açúcares neutros. Essas lectinas diferem a partir de todas as outras lectinas de plantas no que diz respeito à sua elevada atividade específica e composição de subunidades. A composição de aminoácidos de ambas as lectinas possuem pouca diferença, mas ambas apresentaram grandes quantidades de aminoácidos ácidos e ausência de metionina nas suas moléculas (Datta *et al.*, 1991).

### **3.1.3. Componentes de interesse**

#### **3.1.3.1. Farinha de pinhão**

A farinha de pinhão pode ser obtida através do descascamento dos pinhões, corte, secagem e moagem posterior. A moagem também pode ser realizada antes da etapa de secagem e a farinha pode ser obtida a partir do pinhão cru ou cozido (Bezerra *et al.*, 2006; Cladera-Olivera, 2008; Capella *et al.*, 2009).

Farinhas obtidas a partir de pinhão cru e cozido são boas fontes de fibras (entre 5 e 6,5%), proteínas (em torno de 3%), e lipídeos entre 5 e 6%, podendo ser uma opção tecnológica para o processamento do pinhão sob os aspectos químicos e nutricionais. A diferença mais evidente entre as farinhas de pinhão cru e cozido se deve em relação à cor e à textura, sendo a primeira semelhante à farinha de trigo comum e a segunda de cor amarelada e maior densidade pela incorporação de substâncias flavonoides da casca e adsorção de água (Capella *et al.*, 2009).

A aplicação da farinha em produtos alimentícios pode conferir melhoramento na composição nutricional, além de ser uma forma tecnológica de aproveitar essa matéria prima, trazendo produtos diferenciados ao mercado consumidor. Alguns estudos sugerem a aplicação da farinha de pinhão no desenvolvimento de mistura para suflê e no preparo de pães para aumentar o teor de fibras dos pães (Bezerra *et al.*, 2006; Cladera-Olivera, 2008). A farinha de pinhão é também conhecida popularmente em preparações de uso culinário.

#### **3.1.3.2. Amido: propriedades e aplicação**

O amido é o componente em maior proporção na semente de pinhão, em média 36% em base úmida (Cordenunsi *et al.*, 2004), sendo alvo de diversos estudos. O amido de pinhão pode ser extraído de maneira simples, através de lavagens com água a baixas temperaturas

(~5 °C). O teor de amilose do amido pode ser relacionado com a retrogradação, entalpia e temperatura de gelatinização (Bello-Pérez *et al.*, 2006). No amido de pinhão já foram relatados valores de conteúdo de amilose de aproximadamente 26% (Bello-Pérez *et al.*, 2006; Thys *et al.*, 2010) e de cerca de 23% (Stahl *et al.*, 2007), enquanto que para o amido de milho o teor de amilose pode ficar entre 16,8 e 21,3% (Sandhu *et al.*, 2007).

A Tabela 2 apresenta os valores obtidos para as análises físico-químicas realizadas no amido de pinhão nativo por Thys (2009), Bello-Perez *et al.* (2006), Stahl *et al.* (2013) e Conforti & Lupano (2007). As diferenças de valores podem ser atribuídas aos diferentes locais de cultivo, uma vez que as sementes analisadas por Thys (2009) foram adquiridas de mercados locais de Porto Alegre, Stahl *et al.* (2013) adquiriram as sementes de mercado local de Santa Maria, RS, as sementes obtidas por Bello-Pérez *et al.* (2006) provinham de mercado local de São Paulo, SP e as sementes adquiridas por Conforti & Lupano (2007) provinham de San Antonio, província de Misiones na Argentina. Além disso, as diferenças podem ocorrer também em função das safras e dos tipos de análises realizadas, como, por exemplo, análises de amido, amilose e/ou carboidrato.

**Tabela 2.** Composição físico-química do amido de pinhão nativo (valores expressos em percentual (g/100g)).

Análise	Composição <sup>1*</sup>	Composição <sup>2</sup>	Composição <sup>3*</sup>	Composição <sup>4*</sup>
Umidade (b.u.)	12,21 ± 1,24	12	-	-
Amido (b.s.)	69,13 ± 0,22	86	-	-
Amilose (b.s.)	26,3 ± 0,70	25 ± 0,6	23,54 ± 1,74	22,4 ± 1,9
Carboidratos (b.s.)	-	-	97,47 ± 1,10	95,95 <sup>a</sup>
Cinzas (b.s.)	0,44 ± 0,00	0,04	0,32 ± 0,09	0,28 ± 0,02
Fibra bruta (b.s.)	0,39 ± 0,00	-	0,86 ± 0,40	-
Proteína (b.s.)	-	Não detectado	0,17 ± 0,01	3,25 ± 0,17
Lipídios (b.s.)	-	-	-	0,52 ± 0,50

Fonte: <sup>1</sup>Thys (2009), <sup>2</sup>Bello-Pérez *et al.* (2006), <sup>3</sup>Costa *et al.* (2013), <sup>4</sup>Conforti & Lupano (2007).

\*Média de três determinações (b.s.) ± desvio padrão. (b.u.): base úmida; (b.s.): base seca. <sup>a</sup>Estimado por diferença.

Em função destas diferenças, que podem ocorrer devido à localização e tipos de árvores que produzem o pinhão, Costa *et al.* (2013) caracterizaram amidos nativos de pinhão da semente de *Araucaria angustifolia* de 4 diferentes coleções de germoplasma. O germoplasma é uma fonte de variabilidade genética disponível para o melhoramento de plantas. Essas técnicas tornaram-se acessíveis e necessárias para proteger a diversidade biológica. As coleções são grupos de genótipos representativos com a variabilidade genética das espécies que são objeto de conservação. As amostras utilizadas no estudo desses autores

foram obtidas a partir de sementes de pinheiro do Paraná, fornecidas pela EMBRAPA Florestas (banco de germoplasma, localizado a 7°0'37"S e 37°20'14"W, Colombo, PR, Brasil). A Tabela 3 apresenta a composição centesimal encontrada por esses autores, sendo os diferentes germoplasma chamados de *a*, *b*, *c* e *d*.

**Tabela 3.** Valores obtidos para a composição centesimal de amido nativo de pinhão extraído de 4 diferentes coleções de germoplasma.

	Amostra			
	<i>a</i>	<i>b</i>	<i>C</i>	<i>d</i>
Umidade (g/100g)	7,47 ± 0,15 <sup>a</sup>	7,27 ± 0,35 <sup>b</sup>	6,17 ± 0,37 <sup>c</sup>	7,46 ± 0,20 <sup>a</sup>
Cinzas (g/100g)	0,33 ± 0,03 <sup>a</sup>	0,24 ± 0,06 <sup>b</sup>	0,20 ± 0,08 <sup>b</sup>	0,35 ± 0,04 <sup>a</sup>
Proteína (g/100g)	0,54 ± 0,04 <sup>c</sup>	0,67 ± 0,11 <sup>a</sup>	0,41 ± 0,01 <sup>d</sup>	0,62 ± 0,05 <sup>b</sup>
Fibra (g/100g)	2,89 ± 0,46 <sup>b</sup>	1,57 ± 0,06 <sup>c</sup>	3,35 ± 0,34 <sup>a</sup>	3,40 ± 0,08 <sup>a</sup>
Lipídio (g/100g)	0,50 ± 0,01 <sup>a</sup>	0,49 ± 0,02 <sup>a</sup>	0,46 ± 0,04 <sup>b</sup>	0,35 ± 0,08 <sup>c</sup>
Carboidrato (g/100g)	88,27	89,76	89,41	87,82
Amilose (%)	26,40 ± 0,44 <sup>a</sup>	26,67 ± 0,54 <sup>a</sup>	26,68 ± 1,40 <sup>a</sup>	23,76 ± 1,08 <sup>b</sup>
Amilopectina (%)	73,60	73,33	73,32	76,24

Fonte: Costa *et al.* (2013). Média de três determinações ± desvio padrão. Valores seguidos da mesma letra na mesma linha não apresentam diferença significativa ( $p > 0,05$ ).

Os grânulos de amido de pinhão nativo são arredondados ou ligeiramente ovais, com hilo central (Conforti & Lupano, 2007; Thys, 2009; Daudt *et al.*, 2014) e padrão de cristalinidade tipo-C, que é uma forma polimórfica cristalina considerada como sendo a mistura dos tipos 'A' e 'B' (Thys *et al.*, 2008; Pinto *et al.*, 2012; Daudt *et al.*, 2014). Normalmente, os espectros tipo A são observados em amidos de cereal, enquanto os espectros tipo B são encontrados em amidos de tuberosas como a batata e amidos com alto teor de amilose (Buléon *et al.*, 1998). Como o tipo-C é uma mistura de dois padrões, os valores dos picos em ângulos de difração  $2\theta$  podem apresentar variações conforme o processo de extração utilizado. Entretanto, Conforti & Lupano (2007) analisaram o amido extraído das espécies *Araucaria angustifolia* e *Araucaria araucana* e constataram que os amidos apresentaram padrão de difratogramas de raios-X compatíveis com o tipo-A, com maiores picos em 15°, 17° e 23°. O amido de pinhão tem estrutura semicristalina, com grau de cristalinidade que pode variar em função do tratamento utilizado para extração do amido, origem botânica, *A. angustifolia* ou *A. araucana*, e modificações químicas ou físicas do amido, atingindo valores na faixa de 19 a 39% (Conforti & Lupano, 2007; Thys *et al.*, 2008; Pinto *et al.*, 2012; Costa *et al.*, 2013).

---

A temperatura de gelatinização do amido é uma característica importante para determinar condições de processo de modificações deste constituinte, assim como avaliar o grau de retrogradação. Valores para temperatura de gelatinização de amido de pinhão nativo foram encontrados em 47 °C (Thys, 2009), 55 °C (Daudt *et al.*, 2014), 63 °C (Bello-Pérez *et al.*, 2006; Costa *et al.*, 2013) e 66-68 °C (Conforti & Lupano, 2007; Pinto *et al.*, 2012). Estes valores encontrados por diferentes autores podem sofrer variação conforme a safra, as germoplasmas, a localização, o conteúdo de amilose, entre outros.

As modificações nos amidos são normalmente propostas para melhorar seu desempenho e aplicação tecnológica. Dentre os tipos de modificações já estudadas no amido de pinhão pode-se destacar a hidrólise ácida (Thys *et al.*, 2013), a fosfatação (Bochi *et al.*, 2002; Lobato *et al.*, 2002; Costa *et al.*, 2013), a oxidação com adição de hipoclorito de sódio (Conto *et al.*, 2011), o tratamento calor-umidade (HMT: *heat-moisture treatment*) (Pinto *et al.*, 2012) e o tratamento calor-umidade simples e duplo (HTM simples e duplo) (Klein *et al.*, 2013).

Ao comparar com o amido de milho, o amido de pinhão ácido-hidrolisado tem menor tendência à retrogradação após similar período de armazenamento. O amido de pinhão, em geral, tem menor solubilidade que o amido de milho, porém, o amido de pinhão ácido-hidrolisado apresenta solubilidade significativamente mais alta que o amido de milho modificado nas mesmas condições (Thys *et al.*, 2013).

Os amidos com maiores graus de fosfatação (0,07 e  $\geq 0,12$ ) têm alta capacidade de ligação em água fria, poder de inchamento e claridade de pasta, mas menor sinerese de pasta que o amido nativo. A solubilidade do amido de pinhão aumenta em grau de fosfatação médio (0,07) e em baixo grau de substituição (0,015) as curvas de viscosidade são similares às do amido nativo (Costa *et al.*, 2013). Os resultados obtidos por Bochi *et al.* (2002) também sugerem que a fosfatação provoca um aumento na capacidade de ligação em água fria e na transparência dos géis de amido, podendo ter importante aplicação no preparo de alimentos pré-prontos.

Outro tipo de modificação já realizada no amido de pinhão foi a oxidação com hipoclorito de sódio, que tende a aumentar a solubilidade do amido, a claridade da pasta formada e diminuir o conteúdo de amilose em altos valores de cloro ativo (3,5%) (Conto *et*

*al.*, 2011). O conteúdo de amilose está relacionado com a claridade da pasta, uma vez que, quanto menor o conteúdo de amilose, maior a transmitância (Wang & Wang, 2003).

Quando modificado com HTM (*heat-moisture treatment* – tratamento com diferentes temperaturas de aquecimento e diferentes percentuais de umidade) o amido de pinhão, comparado ao amido nativo, apresenta um aumento na intensidade dos picos nos difratogramas de raio-X e força do gel e diminuição do poder de inchamento e solubilidade. Este tratamento também aumenta a temperatura de pasta, a viscosidade final e a temperatura de gelatinização e provoca diminuição na entalpia de gelatinização (Pinto *et al.*, 2012).

O amido de pinhão tem seu padrão de cristalinidade alterado do tipo-C para o tipo-A quando submetido à HTM. Normalmente, HTM promove um aumento na força do gel e diminuição na solubilidade, como função do aumento das ligações cruzadas entre as cadeias do amido. O amido de pinhão submetido ao simples e duplo HTM a 120 °C demonstra redução na força do gel quando comparado ao amido de pinhão tratado a 100 °C, o que sugere um colapso parcial da estrutura cristalina a essa temperatura; entretanto, a faixa de temperatura de gelatinização ( $T_f - T_o$ ) do amido de pinhão tratado com simples e duplo HTM a 120 °C aumenta aproximadamente 58 % comparada ao amido de pinhão nativo, o que indica a formação de novos cristais de amido com diferentes estabilidades térmicas. O aumento do pico da temperatura de gelatinização no caso do tratamento duplo, de 66 °C para 75 °C (100 °C) e 81 °C (120 °C), pode ser devido à formação de amido resistente (Klein *et al.*, 2013).

Uma possível aplicação para o amido de pinhão é sua utilização como excipiente farmacêutico. O amido de pinhão extraído por Daudt *et al.* (2014) apresentou alto grau de pureza (~95% de amido), pH na faixa adequada para utilização como excipiente (~6,5), propriedades de fluxo baixas devido à coesão das partículas, o que é comumente observado em amidos nativos de diferentes origens botânicas, assim como a baixa solubilidade. Os grânulos de amido de pinhão apresentam tamanhos homogêneos com uma estreita distribuição de tamanhos, o que favorece a aplicação farmacêutica.

O amido de pinhão pode ser utilizado também como material de parede em microcápsulas obtidas por liofilização (Spada *et al.*, 2012a), além de poder ser utilizado na obtenção de nanopartículas por spray-dryer (Gonçalves *et al.*, 2014). As microcápsulas obtidas com amido de pinhão encapsulando betacaroteno por liofilização são mais estáveis

---

quando utilizado amido hidrolisado com dextrose equivalente (DE) 12, considerando as seguintes condições: na presença de luz ultravioleta a  $25 \pm 2$  °C, no escuro a  $25 \pm 2$  °C e no escuro a  $10,0 \pm 0,2$  °C (Spada *et al.*, 2012b). As isotermas de adsorção de água dessas microcápsulas foram avaliadas a 10, 20 e 30 °C pelo método gravimétrico e o modelo de Peleg foi o modelo que melhor se ajustou aos dados de sorção de umidade (Spada *et al.*, 2013).

Gonçalves *et al.* (2014) obtiveram nanopartículas de amido de pinhão, através do método de atomização, com o uso do amido modificado por hidrólise ácida e ultrassom. Os amidos modificados por hidrólise ácida e ultrassom atingiram tamanhos nanométricos, com tamanho médio de partícula de aproximadamente 453 e 22 nm, respectivamente. A hidrólise conferiu maior solubilidade, higroscopicidade e translucidez para a nanopartícula. Estas nanopartículas de amido obtidas por hidrólise ácida e ultrassom podem ser úteis para o desenvolvimento de novos biocompósitos com propriedades melhoradas para ser empregados como materiais de revestimento ou filmes.

### 3.1.3.2. Casca do pinhão

A casca do pinhão ainda é uma fração da semente pouco explorada, mas existem estudos que evidenciam os compostos fenólicos presentes na mesma (Cladera-Olivera, 2008; Silva *et al.*, 2014). Cordenunsi *et al.* (2004) demonstraram que a quantidade de compostos fenólicos presentes na semente de pinhão crua e cozida são diferentes; não são detectáveis flavonoides na semente crua, enquanto que a casca interna da semente tem conteúdo de quercetina cinco vezes mais alto que a casca externa da semente e, durante o cozimento, a quercetina migra para a semente. A casca interna da semente tem um alto conteúdo de compostos fenólicos e as sementes cozidas em condições normais (com a casca) apresentam conteúdo de fenólicos totais cinco vezes mais alto que sementes cozidas sem a casca.

Souza *et al.* (2014) estudaram a atividade antioxidante de extrato da casca do pinhão extraído a 100 °C sob refluxo com água, liofilizado e adicionado de água para as análises. Foram encontrados altos níveis de compostos fenólicos no extrato, atingindo  $1.586 \pm 14.53$  mg GAE/100 g de casca (mg de ácido gálico equivalente por 100 g de casca de pinhão). Estes mesmos autores ainda demonstraram, através de análise de cromatografia líquida de alta eficiência, que os compostos em maior quantidade presentes no extrato da

casca de pinhão são catequina ( $140,6 \pm 2,86$  mg/100 g casca), epicatequina ( $41,3 \pm 2,73$  mg/100 g casca), quercetina ( $23,2 \pm 0,06$  mg/100 g) e apigenina ( $0,6 \pm 0,06$  mg/100 g casca).

É possível extrair os compostos fenólicos da casca do pinhão com diferentes solventes, sendo o metanol o melhor solvente testado e o etanol o segundo melhor. Para possível aplicação em alimentos a utilização de etanol na extração é mais bem aceita. Ao considerar as condições estudadas por Cladera-Olivera (2008), consegue-se a máxima concentração de compostos fenólicos e de atividade antioxidante a baixos volumes (proporção de aproximadamente 1:5, casca:solvente), com concentração de etanol de aproximadamente 55% e temperatura de aproximadamente 68 °C.

Além da possível aplicação em alimentos, a casca do pinhão pode ser utilizada com o objetivo de causar efeito inibitório na atividade de  $\alpha$ -amilases. Isso acontece porque a casca de pinhão é rica em taninos condensados que, quando extraídos e purificados, além de inibir a atividade de  $\alpha$ -amilases (salivar humana e pancreática de porco), é capaz de diminuir os níveis glicêmicos pós-prandial em ratos após administração de amido. Por isso, sugere-se que estes taninos poderiam ser utilizados para suprimir a hiperglicemia pós-prandial em pacientes diabéticos (Silva *et al.*, 2014).

A casca do pinhão poderia ser aproveitada ainda como fonte de fibras. Não foram encontrados estudos que a utilizem para este fim, mas sabe-se que, no geral, as cascas de sementes possuem mais fibras que as próprias sementes (Rocha *et al.*, 2008).

## **3.2. Indústria farmacêutica – cosméticos**

### **3.2.1 Mercado Cosmético - atualidades**

O uso de ingredientes naturais em cosméticos tem sido alvo de diversos estudos, onde se destacam os extratos vegetais (Aburjai & Natsheh, 2003). Dentre estes produtos naturais, as substâncias extraídas de plantas, flores e frutos brasileiros, que estão presentes em uma grande diversidade de produtos e ativos, estão sendo bastante exploradas. O açaí, por exemplo, é muito apreciado em uso cosmético por seus poderes antioxidantes e seu uso com esse intuito ajudou a elevar o Brasil à categoria de país lançador de tendências na área cosmética (ABIHPEC, 2013).

---

O Brasil é um dos países com maior diversidade natural do mundo em função da sua extensão territorial, tendo a caatinga, o cerrado, a Amazônia, a Mata Atlântica e um vasto território a ser explorado. Com base neste apelo brasileiro, pode-se citar alguns produtos como a linha Ekos da Natura<sup>®</sup>, que utiliza produtos com ativos extraídos da região amazônica de maneira sustentável, a L'Occitane<sup>®</sup> (marca francesa) que lançou duas linhas completas de produtos baseadas em ingredientes brasileiros, jenipapo e mandacaru, e a marca Sol de Janeiro<sup>®</sup> que apostou em uma linha de protetores solares com ativos brasileiros incluindo açaí, manga e carambola (ABIHPEC, 2013).

O interesse por ingredientes naturais em cosméticos faz com que o apelo por produtos brasileiros seja evidenciado em outros países. No exterior, o Brasil é visto como exótico, sendo capaz de produzir ingredientes muito diferentes do que se vê, por exemplo, na Europa. Além do açaí, o guaraná, o camu camu, a castanha-do-pará, e a andiroba são alguns dos ativos mais desejados por outros países (ABIHPEC, 2013).

O setor de higiene pessoal, perfumaria e cosméticos no Brasil cresce a cada ano devido às suas características inovadoras no lançamento de produtos mais específicos para cada tipo de pele, cabelo, idade e sexo. Dentre as categorias com maior potencial de crescimento está a de produtos para pele, que partiu da 7<sup>a</sup> posição em 2008 para a 5<sup>a</sup> em 2013. Diante desse cenário, lançamentos de produtos, marcas, tecnologia e profissionais mais preparados têm feito este o setor certo para impulsionar novos investimentos (ABIHPEC, 2014).

Uma das apostas para conquistar novos consumidores é oferecer ativos inovadores que, em pouco tempo, apresentam bom resultado e que facilitam o dia-a-dia, como os cremes antienvelhecimento e os produtos que trazem diversos benefícios em apenas um produto, como os multifuncionais. Atualmente, apenas 15% da população brasileira utilizam produtos anti-idade; no entanto, estes produtos ganham a cada dia mais espaço no mercado. Mulheres com idade superior a 55 anos normalmente utilizam produtos para este fim, mas já existe o consumo por parte de jovens de 16 a 24 anos (ABIHPEC, 2014).

Entre os anos de 2001 e 2010 o PIB do Brasil apresentou crescimento real de 41%, enquanto que o setor de Higiene Pessoal, Perfumaria e Cosméticos (HPPC) teve um crescimento de 70%, o que contribuiu de forma expressiva para o crescimento econômico brasileiro. É interessante ressaltar que este crescimento foi impulsionado, principalmente, por

um aumento significativo de volume de vendas e não por aumento de preços (Fernandes *et al.*, 2012). A indústria de HPPC apresentou, ao longo dos últimos anos, crescimento bem mais vigoroso que o restante da indústria: 9,2% ao ano de crescimento médio no setor contra 2,8% ao ano do PIB Total e 1,9% ao ano da Indústria Geral (dados até o ano de 2014) (ABHIPEC, 2015). Percebe-se, assim, que o setor cresceu mais que o Brasil, de forma geral, e conseguiu fazê-lo com um reajuste de preços inferior à média. Com isso, o setor ficou mais competitivo, mais acessível e conseguiu ampliar sua penetração nas classes menos favorecidas (Fernandes *et al.*, 2012).

Em relação ao mercado mundial de Higiene Pessoal, Perfumaria e Cosméticos, conforme dados do Euromonitor de 2014, o Brasil ocupa a terceira posição e representa 9,4% do consumo mundial (ABHIPEC, 2015).

### **3.2.2. Tipos de formulações cosméticas para uso tópico**

Atualmente existe uma grande variedade de produtos cosméticos para uso tópico. De acordo com o tipo, os cosméticos podem ser utilizados com o objetivo de limpar a pele, preservar sua umidade natural e estimular seu metabolismo, além de proteger a pele contra os danos causados por radiação ultravioleta. Durante o desenvolvimento de cosméticos devem ser levadas em consideração sua segurança, estabilidade, textura e funcionalidade baseado em pesquisas e entendimento das funções fisiológicas da pele (Mitsui, 1997).

Alguns dos tipos de formulações cosméticas para uso tópico mais utilizadas são as emulsões óleo em água (O/A) ou água em óleo (A/O), os géis, as misturas de emulsões e géis, que podem ser chamadas de emulgel ou emulsão gel, os cremes e as loções.

As emulsões normalmente utilizadas em produtos cosméticos são materiais semissólidos com uma porção aquosa (hidrofílica) e outra oleosa (hidrofóbica). As emulsões podem ser classificadas de duas maneiras, dependendo de suas fases interna e externa: emulsão óleo em água (O/A) e emulsão água em óleo (A/O). Na emulsão O/A o óleo é disperso em água e, de forma inversa, na emulsão A/O a água fica emulsionada (Schueller & Romanowski, 2002).

Os cremes óleo em água (O/A) são largamente utilizados na indústria farmacêutica e cosmética por suas propriedades terapêuticas e como veículo de liberação de ativos farmacêuticos e cosméticos na pele. O formulador necessita desenvolver um produto

---

dermatológico que tenha boa estabilidade física e química, uma aparência atrativa e, também, proporcionar um sistema adequado de transporte da substância ativa. O sistema deve ser não irritante para a pele e facilmente aplicado e removido, se necessário. Assim, muitas formulações são complexas, com multicomponentes com uma série de agentes emulsionantes, polímeros e outros aditivos. Uma compreensão dos emulsionantes, o efeito provocado por eles e da microestrutura de tais sistemas são essenciais para aperfeiçoar a formulação e fabricação de produtos existentes e na concepção de novos sistemas dermatológicos de distribuição (Ardelean *et al.*, 2011).

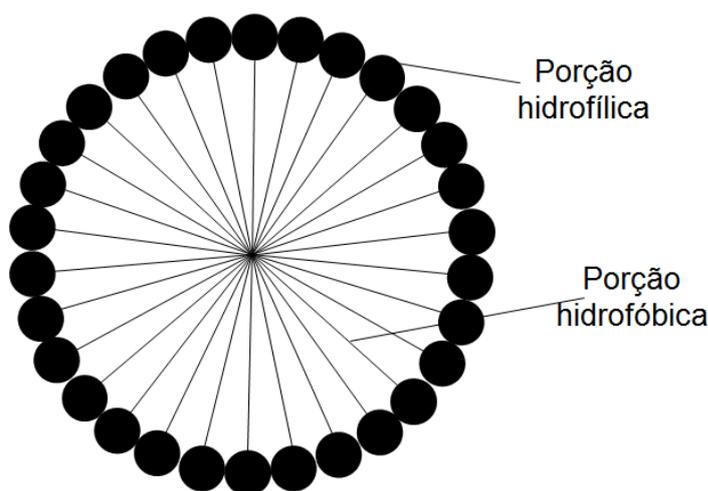
Os cremes tipo O/A estabilizados com misturas de emulsificante formam, pelo menos, quatro sistemas de fases: a) fase gel cristalino/hidrofílico, composto por camadas duplas de surfactante e gordura anfifílica; moléculas de água são inseridas entre as bicamadas, formando assim uma camada de água interlamelar; b) camada de água bruta; moléculas de água ligadas que são grandes quantidades de água em equilíbrio com a água fixada interlamelamente na fase de gel. Ambas as fases formam uma fase contínua (externa) do sistema. Supõe-se que as moléculas de água fixadas interlamelamente apresentam diferentes propriedades físico-químicas e biofarmacêuticas do que as da fase de água bruta; c) fase gel lipofílico. O excesso de gordura anfifílica, que não faz parte da fase gel hidrofílico, forma uma matriz de caráter lipofílico; d) fase óleo disperso. Esta fase interna é imobilizada mecanicamente principalmente a partir da fase gel lipofílica (Ardelean *et al.*, 2011).

Os emulsificantes são utilizados para tornar uma emulsão estável através da redução da tensão interfacial entre as duas fases naturalmente imiscíveis. Quando colocados em água os emulsificantes tendem a se alinharem para reduzir a interação entre as pontes hidrofílicas e lipofílicas. Com a quantidade suficiente de emulsificante há a formação de estruturas espirais chamadas micelas. A Figura 3 apresenta esquematicamente a micela de uma emulsão, onde as caudas lipofílicas (porção hidrofóbica) estão orientadas em direção ao centro da micela e as cabeças hidrofílicas (porção hidrofílica) formam a superfície externa (Schueller & Romanowski, 2002). As substâncias com estas características são denominadas anfifílicas (Leonardi, 2004).

Outra forma cosmética bastante utilizada em formulações tópicas são os géis. O gel é um sistema semissólido com característica coloidal, aspecto gelatinoso, e é formado por uma dispersão de partículas pequenas em um veículo líquido, sendo que estas partículas coloidais não se sedimentam, ficando dispersas. A forma gel é uma suspensão estável e adequada para

formulações de uso tópico, normalmente indicado para veicular substâncias ativas hidrossolúveis e lipossomas, sendo mais indicados para uso em peles oleosas e mistas (Leonardi, 2004).

**Figura 3.** Representação esquemática da micela formada durante a formação da emulsão.



Fonte: adaptado de Schueller & Romanowski (2002)

Geralmente as substâncias formadoras de géis são polímeros que, quando dispersos em um meio aquoso, aumentam a viscosidade da preparação. O gel pode ser formado por espessantes naturais como as gomas adraganta, carragena e xantana, ou a pectina, e por material sintético ou semissintético como os carbômeros, hidroxietilcelulose (HEC) e carboximetilcelulose (CMC), entre outros. Os amidos de milho, aveia e outras fontes também podem ser utilizados como espessantes de géis (Schueller & Romanowski, 2002; Leonardi, 2004).

Os carbômeros são muito utilizados para formação de géis, sendo o carbômero 940 o mais utilizado para formulações de uso tópico. Os carbômeros são constituídos de polímeros de ácido acrílico de alto peso molecular e com ligação cruzada. Quando dispersos em água, seu poder espessante é bem limitado. Por isso, torna-se necessária a adição de uma base orgânica ou inorgânica, como trietanolamina ou hidróxido de sódio, à dispersão aquosa do polímero para desenvolver o completo potencial de viscosidade destes polímeros. Assim, os grupos ácidos da cadeia polimérica em sua forma de sal causam o desenrolar da cadeia e

---

formam a estrutura estendida que fornece o máximo de eficiência como espessante (Leonardi, 2004).

Além das formas cosméticas já citadas, o desenvolvimento e utilização de emulsão gel, também chamada de emulgel, tem sido bem aceita. A presença de um agente gelificante na fase aquosa transforma uma emulsão clássica na forma de emulgel, aliando as vantagens das duas formas, gel e emulsão. Para o uso dermatológico a forma emulgel apresenta várias propriedades favoráveis como ser tixotrópica, ser menos oleosa, possuir maior facilidade de espalhamento sobre a pele, ter boa viscosidade, poder ser removida com facilidade, possuir propriedades emolientes, possuir longa vida de prateleira, ser transparente e possuir boa aparência (Guerra *et al.*, 2004; Panwar *et al.*, 2011).

### **3.2.3. Matérias-primas**

#### *3.2.3.1. Amido em cosméticos*

A utilidade de polímeros de carboidratos solúveis em água depende de suas propriedades, sendo que, dentre as características desejadas para aplicações industriais, destaca-se sua habilidade de modificação em meio aquoso. Essa modificação em meio aquoso fornece propriedades emulsificantes, espessantes, estabilizantes, quelantes, encapsulantes, capazes de inchar e suspender ou formar géis, filmes e membranas. Os polissacarídeos, como os amidos, são polímeros de fontes renováveis e, por isso, suas características como biocompatibilidade, biodegradabilidade, bioadesividade e não-toxicidade, juntamente com a alta disponibilidade e baixo custo, são responsáveis pela exploração cada vez maior nas formulações de produtos alimentícios, biomédicos e aplicações cosméticas (Lapasin & Pricl, 1995).

Os amidos estão ressurgindo como ingredientes em formulações cosméticas em função dos inúmeros benefícios que oferecem, incluindo o "*claim*" de ser natural, renovável e por melhorar atributos sensoriais. Os amidos podem ser utilizados de duas maneiras: amido solúvel como dispersões coloidais ou na forma granular (amido particulado). Os amidos podem ser obtidos de várias fontes, como o milho, trigo, arroz, batata e mandioca e os diferentes tipos de amido fornecem propriedades diferentes devido à variação do formato e tamanho da partícula (Lochhead, 2007).

O amido na forma solúvel é obtido através do aquecimento dos grânulos até que as pontes de hidrogênio entre a amilose e amilopectina são hidrolisadas, o que libera os polímeros de amido. Esta forma é benéfica para aumentar viscosidade, modificar a reologia e estabilizar emulsões. Quando a solução de amido seca, para formar um filme, o amido solúvel se torna resistente à umidade. Isto também proporciona uma sensação suave em formulações utilizadas para cabelo e pele (Lochhead, 2007). Os amidos nativos e modificados podem ser utilizados como espessantes, para proporcionar boa sensação à pele e são indicados para cremes e loções (Schueller & Romanowski, 2002).

A forma de grânulo de amido é atingida pela modificação de suas partículas de modo que as ligações de hidrogênio não podem ser hidrolisadas e os grânulos não podem ser rompidos. Esta forma promove um sensorial de suavidade e sedosidade, auxilia na absorção de óleo e/ou umidade e reduz a oleosidade. Os benefícios irão depender da fonte de amido assim como do tipo de modificação. Partículas de amido de arroz são esféricas e pequenas, com tendência a formar aglomerados, o que causa uma sensação de pegajosidade e de acúmulo de produto sobre a pele (chamado de *caking*). Partículas de amidos de milho e mandioca são maiores e possuem boa fluidez. As partículas de tapioca são mais truncadas e dão uma sensação na pele de ser mais macio e menos sedoso (Lochhead, 2007). As partículas do amido de pinhão tem o formato semelhante às do amido de milho, porém com a superfície mais arredondada e lisa (Bello-Pérez *et al.*, 2006; Conto *et al.*, 2011; Daudt *et al.*, 2014), o que sugere uma sensação mais suave ao aplicar sobre a pele.

Além do já conhecido poder espessante do amido e de formação de gel, esse ingrediente garante a melhora da fluidez e suavidade ao aplicá-lo sobre a pele em uma formulação cosmética. Isto porque o amido, através do seu poder espessante, garante a estabilidade da formulação e a reologia adequada para a aplicação na pele (Daudt *et al.*, 2015).

Os grânulos do amido de pinhão têm tamanho médio de partícula de aproximadamente 15 µm, apresentam formas arredondadas e ovais, com a superfície do grânulo suave, são insolúveis em água fria, mas podem gelatinizar em baixas temperaturas, entre 50 °C e 60 °C. Sua coloração é branca e apresenta cristalinidade parcial (Daudt *et al.*, 2014). Estas são boas características para utilizar o pinhão em cosméticos como melhorador de viscosidade e sensorial. Além disso, a baixa temperatura de gelatinização poderia ser uma boa alternativa

---

econômica para as indústrias de cosméticos que utilizam amido gelatinizado (Daudt *et al.*, 2015).

### 3.2.3.2. Polifenólicos e antioxidantes

Os polifenóis são conhecidos por serem os principais componentes de produtos naturais em termos de suas propriedades funcionais. Como algumas das funções exibidas por estes componentes estão a inibição da oxidação lipídica, do crescimento microbológico e da prevenção de doenças crônicas tais como câncer, diabetes e outros (Mazza, 1998).

Existem estudos que associam o uso de ingredientes naturais como fonte de antioxidantes em cosméticos e preparações semissólidas. Como exemplo podemos citar o chá verde (Byun *et al.*, 2004; Guerra *et al.*, 2004; Vayalil *et al.*, 2004), a calêndula (*Calendula officinalis*) (Borella *et al.*, 2010), óleos de cravo e de citronela (Fang *et al.*, 2013), chá preto (Aburjai & Natsheh, 2003), soja, uva e semente de uva, grãos de açaí e café, romã, samambaias tropicais, açafraão (Dreher & Thiele, 2010), entre outros.

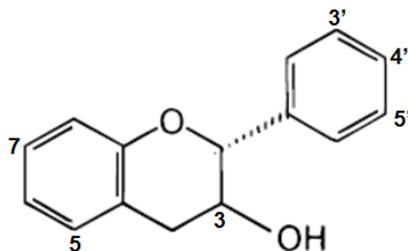
A maioria dos extratos de plantas com atividade antioxidante contém derivados fenólicos, como taninos e flavonoides. O número e localização do grupo hidroxilo fenólico sobre estes componentes químicos são fatores importantes que irão determinar o grau da atividade antioxidante (Pietta, 2000; Aburjai & Natsheh, 2003).

Os polifenóis são compostos normalmente de dois ou mais anéis aromáticos, cada um com pelo menos um grupo hidroxílico. Os flavonoides são divididos em flavonóis, flavonas, catequinas, flavanonas, antocianidinas e isoflavonoides dependendo de sua estrutura química. Eles são sintetizados pelas plantas em conjunto com o ácido ascórbico, vitamina E, glutathione e numerosas enzimas antioxidantes como uma resposta à redução dos danos celulares causados em condições oxidativas (Dreher & Thiele, 2010).

Os flavonoides são encontrados em derivados glicosilados e contribuem para os tons brilhantes de azul, vermelho e laranja em flores, folhas e frutos. Além de vários vegetais e frutas os flavonoides são encontrados também em sementes, nozes, grãos, especiarias e diferentes plantas medicinais além de bebidas como o vinho (especialmente vinho tinto), chá e cerveja (em níveis inferiores). Mais especificamente, os flavan-3-óis (+)-catequina, (-)-epicatequina, (-)-epigallocatequina, e seus ésteres de galato são amplamente distribuídos em

plantas, sendo muito encontrados em folhas de chá (Pietta, 2000). A Figura 4 apresenta a estrutura química dos flavon-3-óis citados.

**Figura 4.** Representação esquemática da estrutura dos flavon-3-óis.



(+)-epicatequina: 3 (βOH); 5 (OH); 7 (OH); 3' (OH); 4' (OH)  
 (-)-epicatequina: 3 (αOH); 5 (OH); 7 (OH); 3' (OH); 4' (OH)  
 (-)-epigallocatequina: 3 (αOH); 5 (OH); 7 (OH); 3' (OH); 4' (OH); 5' (OH)

Fonte: adaptado de Pietta (2000)

A quantidade de compostos fenólicos pode ser associada à capacidade antioxidante de sementes (Abe *et al.*, 2010). A Tabela 4 apresenta diversas sementes que são consumidas como alimento e possuem compostos fenólicos e atividade antioxidante. É importante destacar que o baixo conteúdo de compostos fenólicos do pinhão se deve ao fato desta semente ter sido avaliada crua e o maior percentual de compostos fenólicos e atividade antioxidante é encontrado em sua casca (Thys *et al.*, 2008; Silva *et al.*, 2014). O pinhão cozido possui maior quantidade de compostos fenólicos e atividade antioxidante, uma vez que esses compostos presentes em maior quantidade na casca migram da casca para a semente durante o cozimento.

Os compostos antioxidantes são utilizados para proteger as matérias-primas e o produto final. Em formulações cosméticas, componentes oleosos são amplamente utilizados, sendo muitos fáceis de sofrer oxidação. Quando ocorre oxidação nos cosméticos os parâmetros sensoriais e as formas físico-químicas podem ser alterados. Assim, a adição de antioxidantes, seja sintético ou natural, pode impedir ou retardar a oxidação dos produtos (Ratz-Lyko *et al.*, 2012).

O mercado oferece uma grande variedade de produtos cosméticos que contém antioxidantes. As substâncias ativas nestas preparações podem ser compostos isolados, como

as vitaminas, e misturas, como extratos vegetais ricos em polifenóis, triterpenos entre outros (Ratz-Lyko *et al.*, 2012).

**Tabela 4.** Conteúdo fenólico total (mg.100 g<sup>-1</sup> semente *in natura*) e capacidade antioxidante (µmol Trolox eq/g semente *in natura*) das sementes

<i>Semente</i>	<i>Fenólicos totais*</i>	<i>Capacidade antioxidante*</i>
Castanha de caju (cru)	381 ± 6 <sup>c</sup>	3,0 ± 0,1 <sup>e</sup>
Pistache (torrado)	576 ± 7 <sup>d</sup>	3,9 ± 0,1 <sup>d</sup>
Semente de pinhão (cru)	50 ± 3 <sup>i</sup>	3,1 ± 0,3 <sup>e</sup>
Avelã (tostada)	111 ± 2 <sup>f</sup>	4,2 ± 0,4 <sup>d</sup>
Amendoim (cru)	597 ± 6 <sup>c</sup>	5,9 ± 0,3 <sup>c</sup>
Castanha (crua)	92 ± 2 <sup>g</sup>	6,2 ± 0,5 <sup>c</sup>
Noz (cru)	2499 ± 94 <sup>a</sup>	120 ± 10 <sup>a</sup>
Noz pecan (crua)	703 ± 44 <sup>b</sup>	58 ± 2 <sup>b</sup>
Castanha do Brasil (crua)	106 ± 7 <sup>f</sup>	2,6 ± 0,2 <sup>f</sup>
Macadâmia (desidratada)	87 ± 2 <sup>h</sup>	4,5 ± 0,3 <sup>d</sup>
Amêndoa (tostada)	114 ± 3 <sup>f</sup>	1,2 ± 0,2 <sup>g</sup>

\*Média de 3 repetições ± desvio padrão. Letras iguais na mesma coluna não apresentam diferença significativa entre si (p < 0,05). Fonte: Abe *et al.* (2010).

Além da proteção da oxidação dos componentes presentes na formulação cosmética, a aplicação tópica de agentes antioxidantes é indicada para reduzir o dano oxidativo causado pela radiação UV, entre outros fatores. Existem vários ingredientes ativos utilizados em cosméticos com ação anti-idade, como os carotenoides, vitamina C, vitamina E, ácido lipóico, coenzima Q e extratos vegetais (Scotti *et al.*, 2007). Muitos extratos vegetais quando aplicados em animais ou culturas de células neutralizam a reatividade do radical, reduzindo o dano celular às proteínas, lipídeos e ácidos graxos devido à presença de polifenóis, que são considerados o maior grupo de antioxidantes extraídos de vegetais (F'Guyer *et al.*, 2003; Nikolic, 2006).

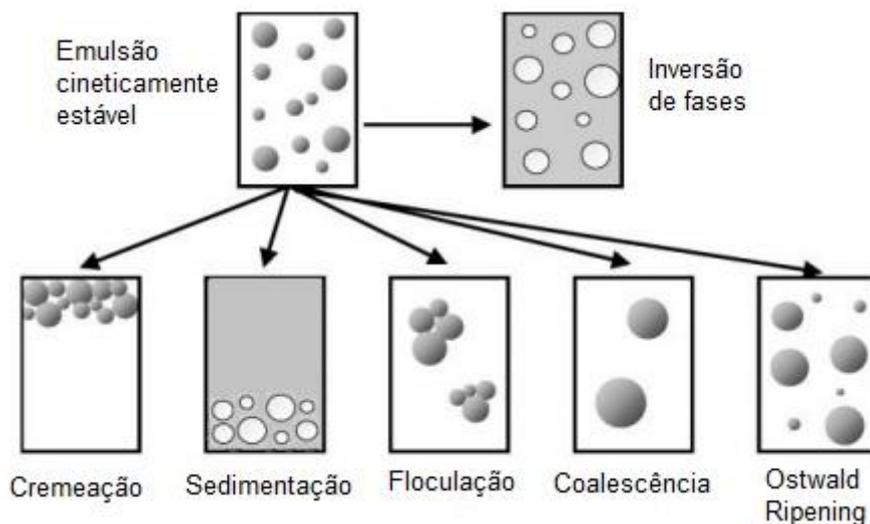
A determinação do nível de antioxidantes em materiais vegetais e alimentos pode ser realizada por vários métodos analíticos. Porém, nem todos os métodos utilizados em alimentos podem ser utilizados para analisar formulações cosméticas, devido à mistura de diversos compostos complexos com diferentes propriedades físico-químicas (Ratz-Lyko *et al.*, 2012). Dentre os métodos eficazes na avaliação da atividade antioxidante em cosméticos podemos citar a captura do radical 2,2'-azinobis (3-etilbenzotiazolina-6-ácido sulfônico) (ABTS·+) (Pelle *et al.*, 2002; Ratz-Lyko *et al.*, 2012).

### 3.2.4. Estabilidade de formulações cosméticas

A estabilidade de formulações cosméticas pode ser avaliada através das alterações físico-químicas e estruturais que ocorrem com as mesmas como, por exemplo, alteração de pH, reologia, diminuição de atividade do princípio ativo, diferenças no tamanho de partícula, separação de fases, floculação, coalescência, entre outros (Lapasin & Pricl, 1995; Schueller & Romanowski, 2002; Blijdenstein *et al.*, 2003; Leonardi, 2004; Anconi, 2008; Casteli *et al.*, 2008; Lange *et al.*, 2009; Borella *et al.*, 2010; Ardelean *et al.*, 2011; Gianeti *et al.*, 2012).

Dentre os processos responsáveis pela desestabilização de emulsões existem quatro processos primários: inversão de fases, cremação, sedimentação, floculação, coalescência e Ostwald Ripening. A Figura 5 exemplifica estes processos separadamente, porém, na parte prática eles normalmente ocorrem de forma simultânea (Schueller & Romanowski, 2002; McClements, 2007).

**Figura 5.** Processos de desestabilização de emulsões.



Fonte: adaptado de McClements (2007).

A inversão de fases ocorre quando uma emulsão óleo em água se transforma em uma emulsão água em óleo ou o contrário. Ostwald Ripening, também chamado de degradação difusional, é um processo onde gotas grandes aumentam de tamanho à custa de gotas menores. A coalescência é um processo onde duas ou mais gotas de uma emulsão fundem-se para formar uma única gota maior. A floculação, por sua vez, ocorre quando as gotas tendem

---

a formar um agregado sem perder sua identidade inicial. Nesse processo, as gotas se aproximam e ficam em equilíbrio nesta condição. A sedimentação e a cremeação podem ocorrer antes da floculação, ou após a coalescência, e são processos de separação por gravidade. As gotas sobem porque tem uma densidade menor que a do líquido em que estão dispersas (cremeação) ou sedimentam se tem uma densidade maior que a fase contínua (Schueller & Romanowski, 2002; McClements, 2007).

Esses mecanismos de instabilidade frequentemente apresentam uma relação intrínseca. Por exemplo, o aumento do tamanho das gotas devido à floculação, coalescência ou Ostwald Ripening geralmente conduz a um incremento na instabilidade das gotas na separação por gravidade. Por sua vez, se as gotas se aproximam por causa da separação por gravidade ou da floculação elas estão mais susceptíveis à coalescência (McClements, 2007).

Um teste simples e rápido de ser feito para verificar se as formulações possuem algum processo de instabilidade ocorrendo é a centrifugação. Este é um teste preliminar que auxilia na verificação da estabilidade da formulação, porém o teste isolado não é suficiente para determinar se a formulação sofreu algum processo de desestabilização. Para o teste, submete-se uma amostra do produto (por exemplo, 5 g) a centrifugação durante 30 min a 3.000 rpm. Após este teste, analise-se visualmente se a amostra apresenta separação de fases ou algum dos processos descritos anteriormente (Leonardi, 2004; Lange *et al.*, 2009).

Existem vários fatores que podem levar à desestabilização de emulsões e formulações cosméticas em geral, como a estocagem em temperaturas elevadas ou muito baixas, evaporação da fase aquosa, contaminação microbiológica, reações químicas indesejadas, reações de hidrólise de tensoativos em valores de pH extremos, processos fotoquímicos e até mesmo embalagens inadequadas (Schueller & Romanowski, 2002; Leonardi, 2004). Valores de viscosidade mais altos e tamanhos pequenos das gotículas da fase interna de emulsões são fatores que beneficiam a estabilidade das formulações cosméticas (Leonardi, 2004).

Os estudos de estabilidade podem ser classificados, de acordo com a sua duração, em estudos de curto e longo prazo (Leonardi, 2004). Os estudos de estabilidade de curto prazo, também chamados de envelhecimento acelerado, têm a finalidade de prever a vida útil do produto através de avaliação de características estruturais e reológicas (Soriano *et al.*, 2001; Leonardi, 2004). O estudo reológico e, mais precisamente, a avaliação das propriedades tixotrópicas, permite identificar as propriedades físicas e estabilidade estrutural de sistemas

semisólidos (Soriano *et al.*, 2001) e também, das matérias-primas utilizadas no desenvolvimento (Ardelean *et al.*, 2011). Os estudos de estabilidade em longo prazo, ou envelhecimento natural, têm por objetivo avaliar a vida útil real do produto sob condições habituais de estocagem e uso confirmando, normalmente, as estimativas efetuadas com os ensaios de curto prazo (Leonardi, 2004).

O estudo reológico desempenha um papel importante no controle de qualidade e otimização de processos na indústria através da análise das formulações e suas eventuais modificações, podendo avaliar tanto as matérias-primas como o produto final. O estudo reológico permite mensurar as mudanças macroscópicas de um determinado sistema ocorridas com o tempo e também suas características moleculares e/ou estruturais (Lapasin & Pricl, 1995). Por esta razão, a reologia será melhor detalhada a seguir.

#### 3.2.4.1. Reologia

A reologia tem sido assunto de grande e crescente importância para a indústria cosmética, tendo em vista que a consistência e o espalhamento dos produtos devem ser reproduzidos de lote para lote, para assegurar a qualidade do produto acabado. Além disso, a aceitação dos cosméticos por parte do consumidor depende, principalmente, da eficácia e das qualidades sensoriais do produto, ambas influenciadas pela reologia (Leonardi, 2004).

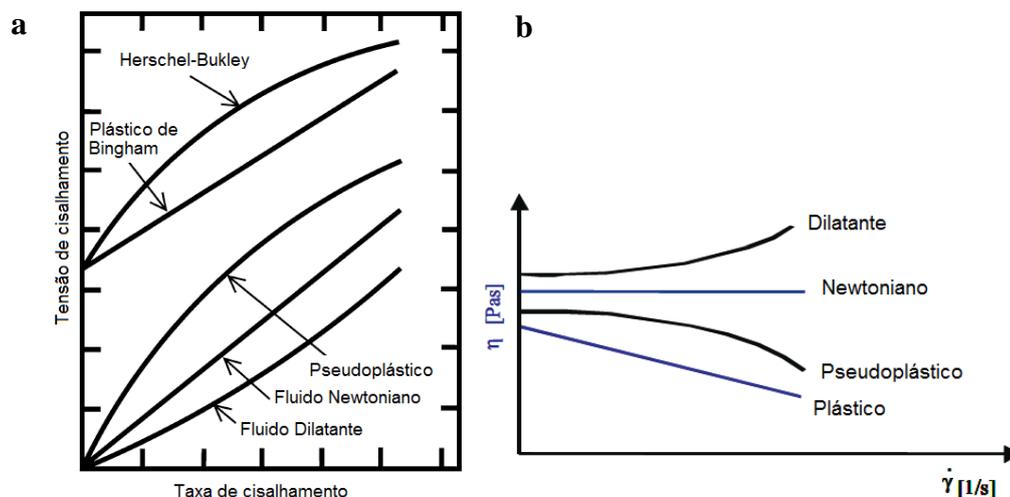
Os testes reológicos no modo estacionário são utilizados para identificar o tipo de fluido e, também, para determinar a viscosidade de formulações semisólidas. Estes testes são realizados em viscosímetros rotacionais ou em reômetros.

As curvas típicas de tensão e de viscosidade versus taxa de deformação encontradas em fluidos independentes do tempo são apresentadas na Figura 6. Para os fluidos não-Newtonianos dependentes da taxa de deformação, os tipos mais comuns são os fluidos pseudoplásticos com ou sem tensão mínima de escoamento,  $\tau_0$ , os quais podem ser descritos pelas equações de Ostwald-de-Waele (Eq.1) e Herschel-Bulkley (Eq.2).

$$\tau = K \cdot \dot{\gamma}^n \quad (1)$$

$$\tau = \tau_0 + K \cdot \dot{\gamma}^n \quad (2)$$

onde,  $\tau$ , tensão de cisalhamento (N.m<sup>-2</sup> ou Pa);  $\dot{\gamma}$ , taxa de cisalhamento (s<sup>-1</sup>);  $K$ , índice de consistência (Pa.s) e  $n$ , índice de comportamento de fluxo (adimensional).

**Figura 6.** Curvas de fluxo (a) e curvas de viscosidade (b) características de cada tipo de fluido

Fonte: Deshpande *et al.* (2010) (a) e Brummer (2006) (b).

Os cosméticos são normalmente caracterizados como pseudoplásticos (Deshpande *et al.*, 2010). Para formulações cosméticas, a pseudoplasticidade é uma característica desejada, pois diminui a viscosidade com o aumento da taxa de cisalhamento. Os materiais pseudoplásticos têm sua viscosidade aparente diminuída gradualmente, à medida que aumenta a tensão de cisalhamento e, portanto, sua viscosidade não pode ser expressa por um valor único (Leonardi, 2004). Esta característica faz com que o cosmético tenha sua aplicação melhorada e faça com que o seu espalhamento na pele provoque uma sensação agradável (Gaspar & Maia Campos, 2003; Guaratini *et al.*, 2006; Pianovski *et al.*, 2008; Külkamp-Guerreiro *et al.*, 2012).

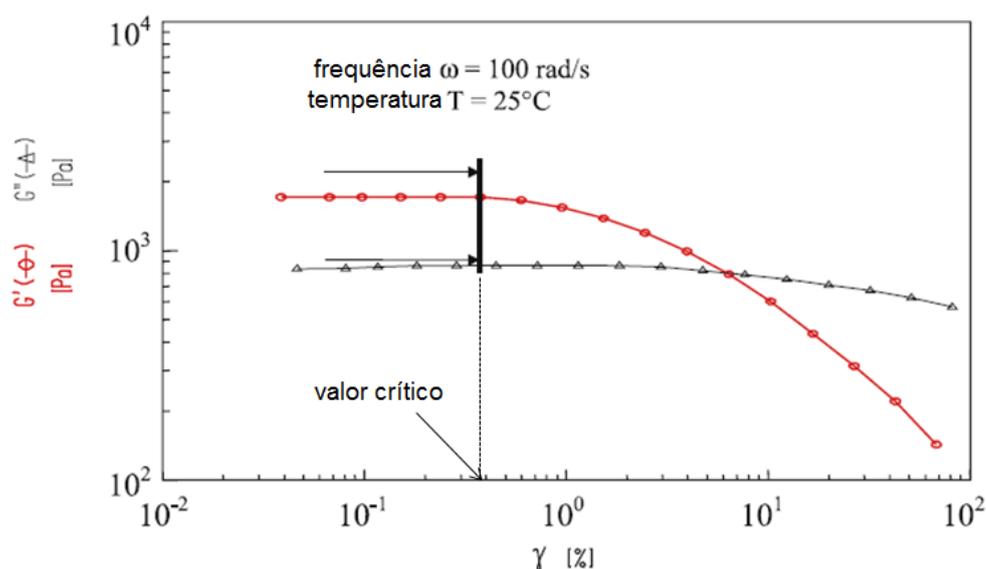
Em relação à viscosidade de formulações cosméticas, algumas emulsões, principalmente aquelas que possuem tensoativos não iônicos, adquirem consistência lentamente, e por isso, muitas vezes, apresentam aumento da viscosidade durante a estocagem de alguns dias (Pena *et al.*, 1993; Leonardi, 2004). Os géis, por sua vez, podem diminuir a viscosidade pela força de cisalhamento, sendo esta característica a tendência de se espalhar facilmente com aplicação por pressão ou fricção (Schueller & Romanowski, 2002).

Além dos testes em regime estacionário podem ser realizados testes no regime oscilatório. As análises oscilatórias são utilizadas para o estudo da viscoelasticidade de sistemas complexos através da determinação da energia elástica armazenada e da energia perdida pelo fluxo viscoso (Lippacher *et al.*, 2004; Dolz *et al.*, 2008). Estes testes irão nos dar

informações sobre as propriedades estruturais dos materiais. Os principais testes feitos em regime oscilatório correspondem às varreduras de deformação ou tensão, frequência, tempo e temperatura (Brummer, 2006).

Uma varredura de deformação ou tensão, conduzida pela variação da amplitude do sinal de entrada a uma frequência constante, é utilizada para determinar o limite da viscoelasticidade linear pela identificação do valor crítico do parâmetro de varredura. Na região viscoelástica linear, não é observada dependência das propriedades medidas ( $G'$ ,  $G''$ , etc.) em relação à deformação ou à tensão. O comportamento típico das curvas dos módulos de armazenamento e de perda em função da magnitude dos parâmetros de varredura é representado na Figura 7 (Lapasin & Pricl, 1995). O teste de deformação é realizado em temperatura e frequência constantes, começando em baixas amplitudes e a deformação aumenta em pequenos passos. Os resultados são obtidos em função dos módulos  $G'$  e  $G''$ , que se apresentam normalmente em paralelo em baixas faixas de frequência, sendo  $G'$  associado à energia elástica armazenada (módulo de armazenamento ou elástico) e  $G''$  associado à dissipação viscosa da energia (módulo de perda ou viscoso). Com uma frequência específica do produto a resposta não é mais linear. A região linear é também chamada de região viscoelástica linear (RVL) (Brummer, 2006).

**Figura 7.** Resposta típica de uma varredura de deformação ou tensão mostrando a região viscoelástica linear (RVL) definida pelo valor crítico do parâmetro de varredura.

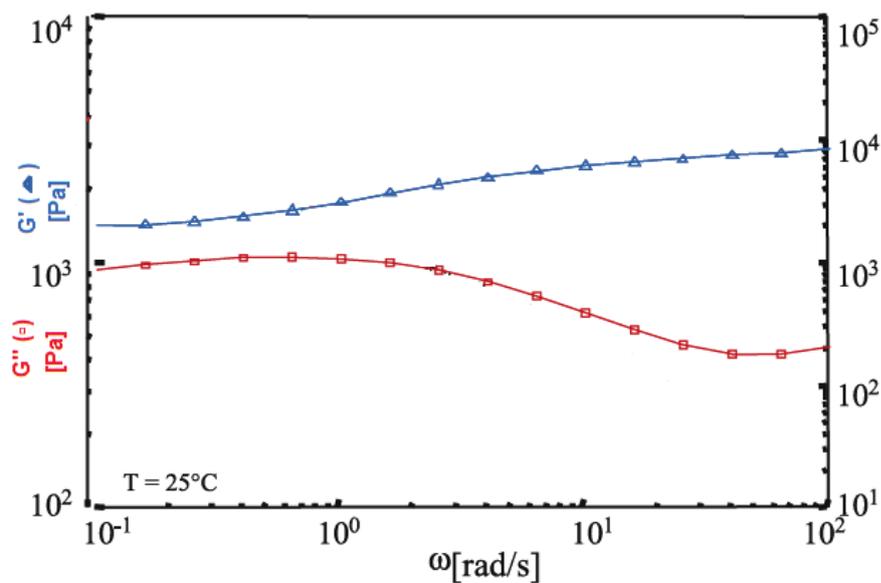


Fonte: Brummer (2006)

Informações sobre as interações partícula-partícula e a rede estrutural formada podem ser obtidas através da varredura de frequência. Nesse teste, a frequência é aumentada enquanto que a amplitude do sinal de entrada (deformação ou tensão) é mantida constante. A deformação utilizada na varredura de frequência deve estar na RLV determinada pela varredura de deformação.

A maioria das emulsões possui uma rede estrutural interna resultante de forças intermoleculares interativas. Quando uma emulsão estável é tensionada, em uma faixa de frequência, o módulo de armazenamento  $G'$  é maior que o módulo de perda  $G''$ ; em amostras estáveis a curva para ambos os módulos são aproximadamente paralelas ao eixo das abscissas em toda faixa de frequência medida, conforme Figura 8. Em emulsões instáveis, em baixas frequências o módulo elástico  $G'$  é igual ao módulo viscoso  $G''$  ou  $G' < G''$  devido à fraca estrutura interna. Com o aumento da frequência os módulos  $G'$  e  $G''$  aumentam, sendo o aumento de  $G'$  mais rápido, visto que em altas frequências as unidades estruturais não podem mais movimentar-se e o material se comporta como um sólido viscoelástico com  $G' > G''$  (Brummer, 2006).

**Figura 8.** Curvas de frequência representando uma emulsão estável ( $G' > G''$ )



Fonte: Brummer (2006)

Valores altos do módulo elástico ( $G'$ ) são um indicativo de interações partícula-partícula fortes (Hirashima *et al.*, 2004; Brummer, 2006). Conforme Lapasin & Pricl (1995), géis e emulsões podem ser classificados como fortes ou fracos com base na relação  $G'/G''$ . Considera-se um gel verdadeiro ou forte, cujas ligações intermoleculares têm alta energia de ligação, quando a relação  $G'/G''$  é igual ou maior que três.

### **3.2.5. Análise sensorial e de eficácia das propriedades cosméticas *in vivo***

A análise sensorial é uma análise multidisciplinar utilizada na interpretação e entendimento das respostas humanas às propriedades dos produtos percebidos pelos sentidos, como a visão, o olfato, o sabor, o toque e a audição (Martens, 1999). A análise sensorial é amplamente usada e aceita na indústria alimentícia e vem ganhando espaço também na indústria cosmética (Lee *et al.*, 2005; Almeida *et al.*, 2008; Parente *et al.*, 2008; Jog *et al.*, 2012; Savary *et al.*, 2013).

Os testes sensoriais são utilizados como garantia de qualidade por ser uma medida integrada capaz de mensurar o quanto os julgadores gostam ou desgostam de um determinado produto, identificar a presença ou ausência de diferenças sensoriais perceptíveis, definir características sensoriais importantes de um produto e ser capaz de detectar particularidades que não podem ser detectadas por procedimentos analíticos (Muñoz, 2002).

A análise sensorial pode ser aplicada no controle do processo de fabricação, para avaliar as matérias-primas e suas possíveis mudanças em um produto consagrado no mercado. A aplicação da análise sensorial pode estar relacionada ao controle do produto com referência ao armazenamento, à embalagem e à manutenção da qualidade sensorial em função do tempo e da temperatura. Assim como estes parâmetros podem influenciar a estabilidade de um produto, podem influenciar também na sua qualidade sensorial. A análise sensorial pode ser realizada por vários tipos de ensaios, sendo os métodos afetivos, discriminativos e descritivos os principais utilizados (Isaac *et al.*, 2012).

Os testes descritivos são aplicados no desenvolvimento, controle de qualidade e estabilidade de armazenamento de produtos cosméticos, podendo-se relacionar com análises físicas e químicas da amostra e sendo realizados com voluntários treinados (Zague *et al.*, 2006).

Os testes discriminativos são utilizados quando o objetivo é verificar se há ou não diferença entre amostras testadas, permitindo avaliar atributos específicos entre várias amostras e proporcionar um parecer geral sobre os produtos, não havendo uma quantificação exata da amplitude dos atributos (Zague *et al.*, 2006).

A comparação pareada é um tipo de análise discriminativa onde as amostras são apresentadas aos pares para comparação e detecção de diferenças, com base em critérios definidos. A intenção do teste é mostrar se há alguma diferença entre as amostras e, se for este o caso, qual a sua direção ou se existe alguma preferência entre as amostras. Como o voluntário segue uma direção ou preferência, muitas vezes este teste é também chamado de comparação pareada direcional. É apresentado ao voluntário um ou mais pares de amostras codificadas de ordem aleatória ou controlada, sendo que as amostras de cada par podem ser iguais ou diferentes entre si (van Oirschot & Tomlins, 2002; Stone & Sidel, 2004). Caso as amostras apresentem diferenças entre si, são utilizadas tabelas-padrões para testes simples e para testes de dupla escolha, para verificar a intensidade da diferença entre as amostras, caso haja alguma diferença, ou ainda uma preferência (van Oirschot & Tomlins, 2002).

Como exemplo de atributo avaliado em análise sensorial pode-se citar o espalhamento, que é considerado uma propriedade importante para atingir eficácia adequada e aceitação do consumidor de uma formulação cosmética (Savary *et al.*, 2013). Além desse, a análise sensorial descritiva de produtos para a pele normalmente incluem atributos como "dificuldade de espalhar" ou "escorregadio" que são avaliados durante a aplicação de ingredientes puros (Parente *et al.*, 2008) ou cremes e loções (Lee *et al.*, 2005; Almeida *et al.*, 2008). A tabela 5 apresenta alguns atributos que podem ser avaliados nestes testes sensoriais, bem como seus significados.

**Tabela 5.** Atributos utilizados em análise sensorial discriminativa.

<i>Atributo</i>	<i>Descrição</i>
Espalhabilidade	Facilidade e/ou dificuldade de esfregar o produto sobre a pele.
Brilho	Grau de luz refletida pela pele
Resíduo	Quantidade de produto que fica sobre a pele
Pegajosidade	Força necessária para separar o dedo da pele
Oleosidade	Quantidade de líquido não molhado que deixa resíduo sobre a pele

Fonte: Parente *et al.* (2008)

Além dos testes sensoriais que são realizados com humanos, a eficácia de produtos cosméticos pode ser verificada *in vivo* através de metodologias não invasivas. Estas técnicas

são cientificamente comprovadas e atraumáticas, não envolvendo qualquer agressão ou desconforto ao paciente ou aos voluntários envolvidos nos estudos (Leonardi, 2004).

Nas últimas décadas, equipamentos de ampla aplicação (para cosmetologia, fisioterapia estética e dermatologia) têm sido apresentados, dando origem a essas novas tecnologias não invasivas de estudo cutâneo. Dentre estes equipamentos pode-se citar o *Corneometer*<sup>®</sup>, *Sebumeter*<sup>®</sup>, *Phmeter*<sup>®</sup>, *Mexameter*<sup>®</sup>, *Tewameter*<sup>®</sup>, *Cutometer*<sup>®</sup>, *Skin viscosimeter*<sup>®</sup>, que avaliam o conteúdo aquoso do extrato córneo, o teor lipídico, o pH, a cor, a perda transepidermica de água, a viscoelasticidade e a textura superficial da pele, respectivamente. As medidas obtidas por estes equipamentos permitem a análise qualitativa e/ou quantitativa das variáveis de interesse, correspondendo a um avanço significativo dos erros de apreciação subjetiva que é feita muitas vezes para as preparações cosméticas (Leonardi, 2004).

O pH da superfície cutânea também tem sido alvo de interesse por diversos pesquisadores (Issachar *et al.*, 1997; Yosipovitch *et al.*, 1998; Eberlein-König *et al.*, 2000; Leonardi *et al.*, 2002). O pH é visto como um importante indicador funcional da pele, devido à produção de ácido láctico que confere à superfície cutânea o que se convencionou designar por "manto ácido cutâneo" (Leonardi, 2004).

Assim sendo, a pele apresenta pH levemente ácido (4,2 - 5,6), que contribui para que ocorra proteção bactericida e fungicida na sua superfície. Além disso, as secreções cutâneas apresentam ainda apreciável capacidade tamponante, propriedade importante uma vez que o pH da pele é frequentemente alterado em função da utilização de produtos tópicos inadequados, expondo a pele a uma série de agentes agressores, em especial microrganismos. A potenciometria direta, através de um eletrodo especial, tem sido o método mais empregado para a medição desta variável (Leonardi, 2004).

### **3.3. Indústria de alimentos – filmes e coberturas comestíveis**

As embalagens de alimentos mais comuns que utilizam filmes atualmente são embalagens plásticas provenientes de derivados de petróleo, que podem acarretar vários problemas ambientais por não serem biodegradáveis em curto prazo (Xu *et al.*, 2005; Sorrentino *et al.*, 2007). O interesse em desenvolver filmes e coberturas comestíveis como uma alternativa aos materiais plásticos tem aumentado em função de sua capacidade de

---

melhorar a qualidade global dos alimentos e aumentar a vida de prateleira dos alimentos. Muitos estudos têm demonstrado evidências dos efeitos benéficos de usar tais filmes em alimentos frescos e processados (Flores *et al.*, 2007; Chillo *et al.*, 2008) e diversas utilizações inovadoras de filmes comestíveis e coberturas têm sido propostas como novas aplicações e alternativas às tecnologias existentes (Janjarasskul & Krochta, 2010).

Filmes comestíveis e biodegradáveis podem ser utilizados para controlar a migração da umidade, aroma e lipídeos entre os componentes do alimento, para restringir a absorção de oxigênio, para melhorar propriedades mecânicas ou para oferecer uma alternativa aos materiais de embalagem comerciais (Bourtoom & Chinnan, 2008).

As embalagens biodegradáveis feitas a partir de polímeros naturais renováveis podem diminuir a poluição ambiental, uma vez que após seu descarte podem ser degradáveis, assim como criar novos mercados para produtos da agricultura (Gontard & Guilbert, 1994; Xu *et al.*, 2005). Além disso, alguns filmes biodegradáveis podem também ser comestíveis e serem consumidos juntamente com o alimento a que estiver embalando.

### ***3.3.1. Histórico e características dos filmes e coberturas comestíveis***

O uso de embalagens comestíveis em alimentos não é um assunto propriamente novo; o primeiro registro de filmes e embalagens comestíveis data em torno do ano de 1800. A partir de 1930, as ceras de abelha, parafina e carnaúba e os óleos minerais e vegetais eram utilizados para conservar frutas (Allen *et al.*, 1963). Como estes filmes são considerados comestíveis, além de ter a função de embalagem eles são considerados também como componentes de alimentos. Por isso, eles devem preencher uma série de pré-requisitos tais como ter boas qualidades sensoriais, ser eficiente mecanicamente, ter boas propriedades de barreira, ser estáveis físico-quimicamente, biologicamente e microbiologicamente, não ser tóxico e ter baixo custo (Debeaufort *et al.*, 1998).

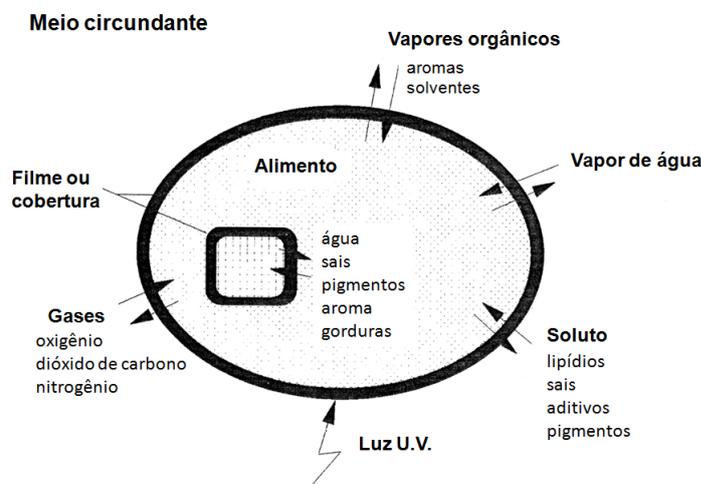
Os filmes são utilizados para proteção do alimento, como cobertura ou embalagem primária com o objetivo de preservação. Estes podem ser utilizados sozinhos, tendo como principal propriedade a barreira a agentes externos, ou podem agir como carregadores de aditivos alimentares (como antioxidantes e antimicrobianos), para a conservação dos alimentos estendendo a sua vida de prateleira (Vásconez *et al.*, 2009).

As embalagens comestíveis podem ser classificadas considerando-se a forma de desenvolvimento das mesmas. Os filmes comestíveis (espessura  $< 254 \mu\text{m}$ ) ou folhas (espessura  $> 254 \mu\text{m}$ ) são estruturas autônomas pré-formadas separadamente a partir dos alimentos e, em seguida, colocados em ou entre componentes alimentares ou utilizados selados em forma de sacos, ao passo que os revestimentos ou coberturas comestíveis são finas camadas de materiais comestíveis formadas diretamente sobre a superfície dos produtos alimentares (Janjarasskul & Krochta, 2010).

Em relação à aparência, os filmes comestíveis podem fornecer cobertura clara ou opaca, sendo as coberturas claras e/ou invisíveis as preferidas pelos consumidores. As coberturas podem ser obtidas por imersão do produto ou pulverização da solução com os ingredientes do filme, de forma que este seja depositado diretamente na superfície do alimento. Outra forma de se obter filmes é criá-lo isoladamente a partir da solução ou através de termoformação para subsequente cobertura nas superfícies de alimentos (Pavlath & Orts, 2009).

As embalagens comestíveis devem apresentar algumas funcionalidades e propriedades específicas. Em primeiro lugar, elas devem ser seletivas para as transferências de massas, mas, em alguns casos, elas adquirem propriedades ativas e também podem ser tanto seletivas como ativas (Debeaufort *et al.*, 1998). A figura 9 apresenta uma representação esquemática das propriedades seletivas dos biofilmes e coberturas.

**Figura 9.** Representação das propriedades funcionais de filmes e coberturas



Fonte: Debeaufort *et al.* (1998).

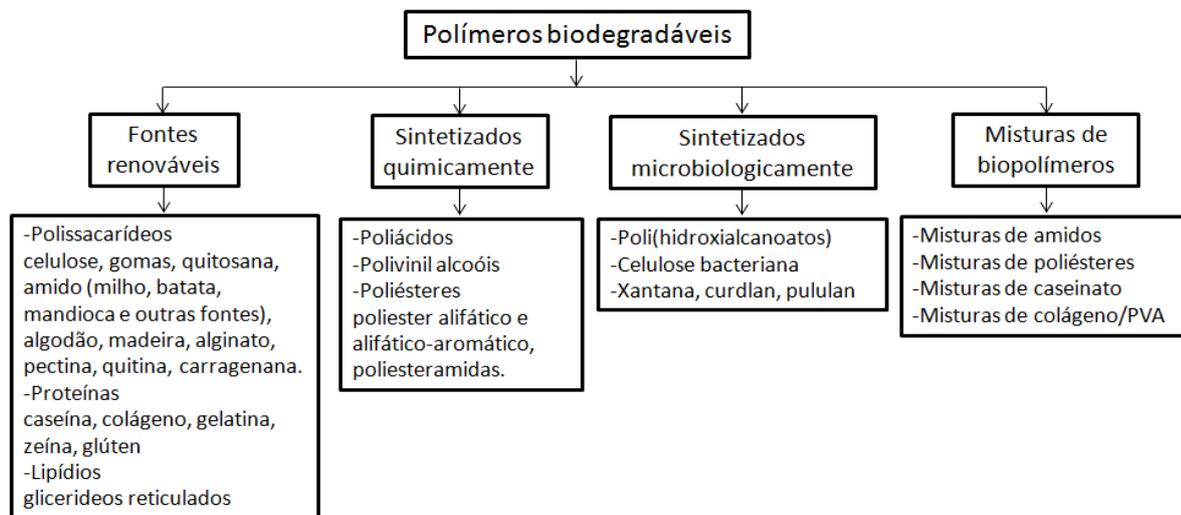
### ***3.3.2. Matérias-primas utilizadas como base na composição de filmes e coberturas comestíveis***

A base dos biofilmes comestíveis pode levar em sua composição proteínas, polissacarídeos, lipídios e/ou resinas, e outros componentes comestíveis, derivados de diversas fontes renováveis. Estes materiais de embalagem comestíveis são considerados integrantes de produtos alimentícios, pois serão consumidos juntamente com os alimentos. Por isso, eles podem ser degradados em compostagem ou outro tipo de reciclagem biológica (Janjarasskul & Krochta, 2010).

Os polímeros mais utilizados no desenvolvimento de filmes são os derivados de celulose, amido, quitina/quitosana, proteínas (de origem animal ou vegetal), lipídios, alginato, carragena e pectina devido às suas propriedades de formação de filme (Cutter, 2006; García *et al.*, 2009). Esses materiais possibilitam a obtenção de filmes finos e coberturas para alimentos frescos ou processados para estender seu período de validade (Pavlath & Orts, 2009).

Em geral, os biopolímeros utilizados nas formulações constituem baixa barreira ao vapor de água e, quando comparados com embalagens sintéticas, apresentam força mecânica e alongação não satisfatórias. Uma alternativa para deixar os filmes de amido e proteína mecanicamente mais fortes é a incorporação em sua formulação de fibras vegetais de diferentes fontes, como juta, cânhamo, linho, bagaço, algodão, sisal e fibras de trigo, para reforçar a embalagem formada (Satyanarayana *et al.*, 2009; Montaña-Leyva *et al.*, 2013).

Filmes compostos são formulados para combinar as vantagens de cada componente que o compõe. Os biopolímeros são polímeros produzidos por organismos vivos, incluindo proteínas, polissacarídeos e ácidos nucleicos (DNA e RNA). Esses biopolímeros, como as proteínas e polissacarídeos, fornecem a matriz de suporte para a maioria dos filmes compostos e, geralmente, oferecem boas propriedades de barreira a gases, com componentes de hidrocoloides para fornecer uma boa barreira seletiva ao oxigênio e dióxido de carbono. Os lipídios promovem uma boa barreira a vapor d'água, enquanto os plastificantes são necessários para melhorar a flexibilidade e as propriedades mecânicas dos filmes (García *et al.*, 2009). A Figura 10 apresenta os polímeros biodegradáveis, incluindo biopolímeros, que podem ser utilizados como base e em misturas na confecção de filmes e coberturas.

**Figura 10.** Classificação de polímeros biodegradáveis e sua nomenclatura

Fonte: Satyanarayana *et al.* (2009).

### 3.3.2.1. Filmes comestíveis contendo amido

Desde tempos remotos o cultivo de vegetais contendo altas quantidades de amido tem sido de grande importância para a humanidade. Cereais, legumes, tubérculos e algumas frutas contêm de 30% a 85% de amido em base seca. No estado nativo, o amido tem grânulos insolúveis com forma característica e cristalinidade parcial. Os amidos contêm normalmente entre 18% e 30% de amilose (com exceção dos amidos com alto teor de amilose e amido ceroso, que é praticamente só amilopectina), possuem característica própria de perfil de temperatura/viscosidade dependendo da sua origem, como resultado da sua composição e estrutura particular (Kramer, 2009). Assim, as características de cada fonte de amido irão influenciar no produto final, os filmes e coberturas.

O amido tem sido largamente empregado nas indústrias de alimentos, de cosméticos, farmacêutica, de papel e têxtil. Os amidos são abundantes na natureza, comercialmente disponíveis, não são caros e são totalmente biodegradáveis. Assim, eles são matérias-primas atrativas para o desenvolvimento de produtos completamente degradáveis para necessidades específicas de mercado (García *et al.*, 2009). Uma alternativa de aplicação do pinhão pode ser a utilização do amido presente em grande quantidade nesta semente e já estudado anteriormente (Bello-Pérez *et al.*, 2006; Thys *et al.*, 2008; Thys *et al.*, 2010; Spada *et al.*, 2012a; Daudt *et al.*, 2014) como base para a produção de filmes comestíveis.

---

Os filmes à base de amido (Mali *et al.*, 2004a; 2005a; Famá *et al.*, 2006; Mali *et al.*, 2006; Maran *et al.*, 2013a) e à base de amido com adição de algum outro componente (Garcia *et al.*, 2006; Chen & Lai, 2008; Chillo *et al.*, 2008; Vásconez *et al.*, 2009; Kechichian *et al.*, 2010; Al-Hassan & Norziah, 2012; Fakhoury *et al.*, 2012; Souza *et al.*, 2012) têm sido bastante estudados por possuírem características físicas semelhantes aos filmes plásticos como ser inodoros, insípidos, incolores, não tóxicos, semipermeáveis a dióxido de carbono e resistente à passagem de oxigênio (Soliva-Fortuny *et al.*, 2012). Filmes com alto grau de amilose são flexíveis, impermeáveis ao oxigênio, resistente a óleo, estável termicamente e solúvel em água (Cutter, 2006). Filmes compostos de amido de tapioca quando adicionados de quitosana diminuem a permeabilidade a vapor d'água, o que torna os filmes com melhor barreira ao vapor, além de diminuir a solubilidade (Vásconez *et al.*, 2009).

Os filmes à base de amido são normalmente preparados a partir da gelatinização do amido via tratamento térmico e posterior adição dos demais componentes (Famá *et al.*, 2006; Garcia *et al.*, 2006; Mali *et al.*, 2006; Fakhoury *et al.*, 2012; Souza *et al.*, 2012; Maran *et al.*, 2013a). A gelatinização dos grânulos nativos pode ser feita via tratamento a frio (como o tratamento alcalino com NaOH) ou a quente, que é o mais utilizado. Entretanto, a dispersão alcalina também pode ser utilizada para alterar a distribuição de tamanho do polímero amido que provoca um ligeiro grau de hidrólise ou despolimerização (García *et al.*, 2009).

A afinidade do amido pela água pode ser diminuída através de modificações no amido nativo, o que torna os filmes obtidos menos susceptíveis às variações de umidade. Alguns exemplos de modificações são a introdução de ligações cruzadas e o hidroxipropilamido (Mali *et al.*, 2010). O hidroxipropilamido é preparado pela reação do amido com o óxido de propileno para a produção de um baixo nível de esterificação e a hidroxipropilação reduz a temperatura de gelatinização (BeMiller & Huber, 2008). Além das modificações no amido podem ser feitos tratamentos especiais como a adição de fibras, minerais e componentes hidrofóbicos (óleos vegetais, monoglicéridos, dentre outros) para melhorar a resistência à tração, flexibilidade e resistência ao contato com a água (Mali *et al.*, 2010).

Os filmes comestíveis à base de amido são normalmente utilizados em produtos de panificação e confeitaria, massas e carnes (Janjarasskul & Krochta, 2010). Pode-se ressaltar também seu emprego como embalagem para frutas e hortaliças minimamente processadas (Mali *et al.*, 2010).

### 3.3.2.2. Farinhas como insumo para o preparo de filmes comestíveis

Filmes comestíveis podem ser feitos com uma grande variedade de bases com diferentes compostos e a partir de muitas fontes. Existem algumas pesquisas que utilizam farinhas de diferentes fontes como farinhas de arroz, de banana, de amaranto, *achira* e *canihua* como matérias-primas adequadas no desenvolvimento de filmes (Tapia-Blácido *et al.*, 2007; Dias *et al.*, 2010; Andrade-Mahecha *et al.*, 2012; Pelissari *et al.*, 2013; Salas-Valero *et al.*, 2015). O uso de farinhas como sendo uma mistura natural de proteínas, polissacarídeos, lipídeos e fibras obtidas diretamente de fontes da agricultura tem a vantagem de ter cada componente no sistema original e se mostra como uma nova oportunidade de materiais compostos na área de filmes comestíveis (Tapia-Blácido *et al.*, 2005; Andrade-Mahecha *et al.*, 2012).

Os filmes confeccionados à base de farinhas possuem diferentes características, de acordo com a fonte e propriedades da farinha utilizada. Além disso, as condições do processo também influenciam no resultado final. A composição da farinha irá determinar a funcionalidade do filme, de acordo com seus componentes principais e como eles estão ligados entre si.

O uso de resíduos industriais na confecção de farinhas para posterior utilização no desenvolvimento de filmes tem se tornado uma tendência recente que pode fornecer um produto competitivo no mercado de embalagens (Maniglia *et al.*, 2014). Um exemplo disto é o estudo realizado por Dias *et al.* (2010) que desenvolveram filmes com farinha e amido de arroz, material de baixo custo que pode ser produzido a partir do arroz quebrado durante o processamento. As análises de MEV dos filmes de amido e farinha de arroz revelaram estruturas compactas e as propriedades mecânicas de ambos os filmes foram similares. Entretanto, os filmes de farinha apresentaram permeabilidade a vapor d'água duas vezes maior que os filmes de amido. Sousa *et al.* (2013) também estudaram filmes confeccionados com farinha de arroz e adicionados de sorbato de potássio, glicerol e PBAT (poly(butylene adipate co-terephthalate)) pelo processo de extrusão em uma planta piloto; esses filmes demonstraram ser altamente flexíveis, maleáveis, resistentes à quebra, com valores baixos de opacidade aparente e permeabilidade a vapor d'água variando de 5,0 a  $9,5 \times 10^{-6}$  g(m dia Pa)<sup>-1</sup>. Além disso, os filmes foram ainda aplicados em massa fresca de lasanha, onde os filmes contendo preservativo (sorbato de potássio) demonstraram uma grande capacidade de remoção de água

---

da massa de lasanha, diferentemente do que foi observado no filme sem este ingrediente, que não foi capaz de remover a umidade da massa.

A farinha de amaranto pode ser utilizada na produção de filmes comestíveis, seguindo a atual tendência de utilizar misturas naturais de proteína, amido e lipídeos para atingir as propriedades desejadas para os filmes comestíveis. A incorporação de ácido esteárico na matriz polimérica fornece uma barreira adicional ao vapor d'água para os filmes. As condições ótimas para a confecção de filmes à base de farinha de amaranto com ácido esteárico e glicerol são de 10 g de ácido esteárico/100 g de farinha, 26 g de glicerol/100 g de farinha, e velocidade de agitação de 12.000 rpm (Colla *et al.*, 2006).

A farinha de grãos de canihua (*Chenopodium Pallidicaule*, pseudocereal que cresce nos Andes, no sul do Peru e Bolívia) contém proteína, amido, lipídeos, substâncias orgânicas contendo grupos fenólicos e alto percentual de ácidos graxos insaturados. Filmes desenvolvidos com farinha de grãos de canihua da variedade *illpa* possuem baixa permeabilidade a vapor d'água e maiores valores de módulo de Young que filmes de farinha de canihua da variedade *cupi*. Os filmes de ambas as variedades de grãos são amarelados e possuem uma alta capacidade de bloquear a luz (quando comparados com filmes de polietileno), que pode ser atribuído à presença de compostos fenólicos. Além disso, os filmes de farinha de canihua demonstraram menor solubilidade e permeabilidade a vapor d'água que filmes feitos com outros polissacarídeos, o que pode ser o resultado dos altos conteúdos de proteína (12%–13,8%) e lipídeos (11%) na farinha, assim como a formação de grande número de ligações S–S. Por outro lado, esses filmes possuem uma transição vítrea a baixas temperaturas ( $< 0\text{ }^{\circ}\text{C}$ ), padrão de cristalinidade tipo A e Vh e um pico de difração adicional a  $2\theta = 7,5^{\circ}$ , atribuído à presença de ácidos graxos essenciais na farinha de canihua. A farinha de canihua pode formar filmes com propriedades adequadas, sendo uma fonte promissora para aplicação em embalagem de alimentos, atuando como uma boa barreira à luz ultravioleta (Salas-Valero *et al.*, 2015).

A farinha de banana quando utilizada no desenvolvimento de filmes produz filmes menos resistentes mecanicamente e mais flexíveis que filmes de amido de banana. Apesar das diferenças na microestrutura dos filmes de farinha e amido de banana, os filmes de farinha são ligeiramente solúveis em água e a permeabilidade a vapor d'água é similar aos filmes de amido de banana. Os filmes de farinha de banana são amarelados, coloração provavelmente adquirida em função do conteúdo de proteína da farinha e presença de compostos fenólicos. A

presença de proteína ainda é confirmada pelo espectro de FTIR, que revela a presença do grupo amida I. Ainda, a temperatura de transição vítrea dos filmes de farinha de banana é menor (30,2 °C) que dos filmes de amido de banana (46,2 °C). Assim, a presença de outros componentes como proteínas lipídeos e fibras nos filmes de farinha tem efeitos importantes nas suas propriedades (Pelissari *et al.*, 2013).

Outra alternativa para a preparação de filmes biodegradáveis é a utilização da farinha de achira (*Canna indica* L., raiz largamente cultivada na América Latina e Ásia) cujas propriedades podem ser modificadas através do controle das condições do processo. Um alto conteúdo de glicerol contribui para aumentar a flexibilidade e reduzir a opacidade dos filmes; alta temperatura de processo favorece a produção de uma estrutura polimérica mais resistente de cor mais clara e menor opacidade, assim como a solubilidade em água. Uma alta temperatura de secagem favorece a preparação de filmes com maiores resistência e rigidez, porém a baixa umidade relativa aumenta significativamente a rigidez e diminui a solubilidade. Os filmes de farinha de achira possuem baixa permeabilidade a vapor de água e baixa solubilidade quando comparados com filmes de outros tubérculos. Estas características são associadas com as fibras que incham e são incorporadas na matriz de amido, para formar uma estrutura coesiva. Como as fibras são importantes nas características dos filmes de farinha de achira, elas poderiam ter seu tamanho reduzido para ser mais bem aceita na matriz do filme (Andrade-Mahecha *et al.*, 2012).

### ***3.3.3. Plastificantes utilizados no desenvolvimento de filmes e coberturas comestíveis***

Os plastificantes são aditivos adicionados aos filmes ou coberturas comestíveis para evitar que o filme se torne quebradiço durante sua formação e dar maleabilidade ao produto final; eles são frequentemente adicionados quando a solubilização do biopolímero é atingida. Plastificantes de grau alimentício muito utilizados são o glicerol, o manitol, o sorbitol e a sacarose (García *et al.*, 2009; Pavlath & Orts, 2009).

Para a confecção de filmes à base de amido é necessária a utilização de plastificantes com o objetivo de deixar o filme maleável e passível de aplicação. Bons plastificantes utilizados para esse fim pode ser glicerol, sorbitol, sacarose e açúcar invertido (Mali *et al.*, 2006; Kechichian *et al.*, 2010; Kammoun *et al.*, 2013; Maniglia *et al.*, 2014). Em filmes de farinha e amido de arroz a utilização de sorbitol como plastificante faz com que os filmes tenham menor permeabilidade a vapor de água e sejam mais rígidos, enquanto que os filmes

---

produzidos com a mesma base e glicerol são mais maleáveis e não possuem boas propriedades de barreira a vapor de água (Dias *et al.*, 2010).

O teor e tipo de plastificante empregado nos filmes de amido são importantes em função do efeito que estes causam nas propriedades funcionais dos filmes formados. Para os filmes à base de amido, os plastificantes mais empregados são os polióis, como glicerol e sorbitol, porém os efeitos provocados pelo glicerol são mais acentuados que os provocados pelo sorbitol. Para reduzir o caráter hidrofílico dos filmes de amido pode-se empregar ácidos graxos como plastificantes. Os plastificantes reduzem as forças intermoleculares e aumentam a mobilidade das cadeias dos polímeros, com diminuição de possíveis descontinuidades e zonas quebradiças, resultando assim em materiais com menores temperaturas de transição vítrea ( $T_g$ ). O decréscimo da  $T_g$  é percebido nas propriedades mecânicas, onde há um decréscimo da força na perfuração e o aumento da deformação dos filmes nesta situação. Além das propriedades mecânicas a permeabilidade a vapor de água tende a aumentar com o incremento do teor de plastificantes hidrofílicos, como é o caso dos polióis (Mali *et al.*, 2010).

A quantidade de plastificante utilizada nos filmes depende da base do filme, sendo os filmes de proteína e polissacarídeos os mais comumente utilizados, e das características que se deseja atingir. Normalmente, a quantidade de plastificante é calculada com base no total da base utilizada. Por exemplo, para filmes de amido e farinha, existem estudos que utilizam plastificantes em uma faixa de aproximadamente 15 e 50 g de plastificante por 100 g de amido ou farinha (Xu *et al.*, 2005; Colla *et al.*, 2006; Maizura *et al.*, 2007; Tapia-Blácido *et al.*, 2007; Bergo *et al.*, 2008; Dias *et al.*, 2010; Andrade-Mahecha *et al.*, 2012; Maran *et al.*, 2013b; Pelissari *et al.*, 2013; Han *et al.*, 2015; Luchese *et al.*, 2015; Salas-Valero *et al.*, 2015).

#### ***3.3.4. Matérias-primas utilizadas para reforçar e/ou incorporar funcionalidades aos filmes e coberturas comestíveis***

Os filmes comestíveis podem também ter a função de transportar ingredientes funcionais, incluindo antioxidantes, agentes antimicrobianos, aromatizantes, temperos e corantes que melhoram a funcionalidade dos materiais de embalagem pela adição de funções novas ou extras (Salmieri & Lacroix, 2006). Este conceito de "filmes ativos" é uma aplicação muito promissora, pois cria novos caminhos para a concepção de materiais de embalagem através da adição de ingredientes funcionais em filmes e coberturas (García *et al.*, 2009; Rojas-Graü *et al.*, 2009).

No caso de filmes contendo agentes antimicrobianos, estes podem ser incorporados nas embalagens ou revestir os materiais de embalagens de alimentos. O princípio de ação dos filmes antimicrobianos é baseado na liberação dos agentes antimicrobianos para o alimento, podendo ser aplicados para carne, peixe, aves, pão, queijo, frutas e legumes (Vermeiren *et al.*, 1999). Alguns agentes antimicrobianos empregados em biofilmes e já estudados anteriormente são os óleos essenciais como de bergamota, limão (Sánchez-González *et al.*, 2011), orégano (Benavides *et al.*, 2012; Jouki *et al.*, 2014) e tomilho (Espitia *et al.*, 2014). Além dos óleos essenciais a quitosana (Park *et al.*, 2010), o cravo, a canela em pó e a pimenta em pó, o mel, o extrato de própolis e o pó de café (Kechichian *et al.*, 2010) também já foram estudados com o objetivo de adicionar agentes antimicrobianos nos filmes.

Filmes comestíveis antioxidantes são um tipo de embalagem ativa preparada pela adição de antioxidantes no material de embalagem de alimentos em vez de adicioná-los diretamente no alimento. A incorporação deste aditivo tem por objetivo a estabilização dos polímeros utilizados na confecção dos filmes e também evitar e/ou retardar a oxidação dos alimentos (Vermeiren *et al.*, 1999; Tovar *et al.*, 2005). Os antioxidantes naturais são bem aceitos e constituem uma boa alternativa para utilização em filmes comestíveis e criação de embalagens ativas (Han *et al.*, 2015; Wang *et al.*, 2015). Alguns exemplos de antioxidantes naturais que têm sido estudados e incorporados em filmes são o chá verde (Perazzo *et al.*, 2014), taninos de uva (Olejar *et al.*, 2014), extrato de bagaço de uva (Ferreira *et al.*, 2014), extrato de *ginseng* (Norajit *et al.*, 2010), óleo essencial de casca de canela (López-Mata *et al.*, 2015), óleo de cúrcuma (Maniglia *et al.*, 2014), óleos essenciais de orégano e tomilho (Coşkun *et al.*, 2014), entre outros. Nos Estados Unidos algumas indústrias de cereais utilizam papel encerado como matriz para a liberação de antioxidante (Vermeiren *et al.*, 1999).

Durante os últimos anos, pesquisas têm sido feitas com a utilização de fibras para reforçar os materiais, reduzir custos e melhorar propriedades mecânicas. Existem muitas fibras vegetais que podem reforçar os filmes como fibras de palha de trigo (Famá *et al.*, 2009), fibra de algodão (Dobircan *et al.*, 2009), fibras de cana de açúcar (Gilfillan *et al.*, 2012), queratina, lignina, e fibras de celulose (Bodirlau *et al.*, 2013). Em muitos casos, a presença de fibras nos filmes aumenta a força de tensão e módulo de Young, mas diminui sua capacidade de alongação (Dufresne & Vignon, 1998; Avérous *et al.*, 2001; Curvelo *et al.*, 2001; Müller *et al.*, 2009).

### 3.3.4. Técnicas de preparação e aplicações

A técnica frequentemente utilizada na confecção de filmes comestíveis é a de *casting*, método comum de produção em pequena escala utilizado para obter filmes biodegradáveis. Nesta técnica, uma porção da solução filmogênica é vertida em placas de acrílico e, então, secas em estufa com circulação de ar a um peso constante. Essa técnica simples produz filmes que podem ser facilmente removíveis das placas, e permite formar filmes com variadas espessuras através da variação de peso da suspensão aplicada e a área das placas em que os filmes são moldados (García *et al.*, 2009).

O método de *casting*, por via úmida, é baseado no mecanismo de coacervação quando o hidrocoloide disperso na solução aquosa é precipitado após secagem. Também pode resultar em gelificação térmica ou coagulação seguida por resfriamento. Os solventes de grau alimentício que podem ser utilizados são limitados, geralmente, apenas à água e ao etanol. A solução filmogênica desgaseificada pode ser espalhada em uma fina camada na superfície de um material base adequado capaz de liberar a película após a secagem para produzir um filme independente, ou aplicado para formar uma cobertura diretamente nos produtos alimentícios ou comprimidos por pulverização, imersão e drenagem subsequente. Vários métodos de secagem têm sido desenvolvidos para produzir filmes independentes através do método de *casting* incluindo secagem com circulação de ar, superfície quente, infravermelho e técnicas de micro-ondas (Janjarasskul & Krochta, 2010).

Para os filmes de amido confeccionados por este método, após a gelatinização térmica dos grânulos em excesso de água, amilose e amilopectina se dispersam na solução aquosa e, durante a secagem, se reorganizam, formando uma matriz contínua que dá origem aos filmes. Durante os últimos anos, a técnica de *casting* foi a mais empregada e discutida na pesquisa de filmes biodegradáveis à base de amido, mostrando bons resultados dentro do âmbito laboratorial. Porém, para a produção em escala industrial, apresenta algumas desvantagens, como tempo de processo e custo elevados, esta última em função do grande gasto energético para a secagem dos filmes (Mali *et al.*, 2010). Neste caso, pode-se utilizar o processo de extrusão para a produção em escala industrial, com as vantagens de rapidez e menores custos de produção; outro fator importante a ser considerado é que este processo já é empregado na produção de embalagens sintéticas convencionais, como as de polietileno, polipropileno, polietileno tereftalato, dentre outras (Fishman *et al.*, 2000).

A técnica de extrusão termoplástica a seco se baseia nas propriedades térmicas do biopolímero do filme, incluindo as características de transição de fase, a transição vítrea e gelatinização. O processo seco é de interesse considerável por se tratar de custo-benefício melhor, com um maior rendimento do que o processo úmido para fazer filmes independentes. No processo de extrusão, os biopolímeros são plastificados e aquecidos acima da sua  $T_g$ , com baixo conteúdo de água para formar um produto fundido uniforme pela utilização de calor, pressão e cisalhamento no cilindro da extrusora (Janjarasskul & Krochta, 2010).

O comportamento termoplástico pode ser obtido com a utilização de proteínas, como, por exemplo, colágeno, gelatina (Park *et al.*, 2008), glúten de trigo (Pommet *et al.*, 2005), zeína do milho (Wang & Padua, 2003), caseína, proteína de soro de leite (Sothornvit *et al.*, 2007; Hernandez-Izquierdo & Krochta, 2008) e proteína de soja (Cunningham *et al.*, 2000). Além das proteínas, filmes à base de carboidratos como amido (Chaudhary *et al.*, 2008; Raquez *et al.*, 2008; Li *et al.*, 2011; Müller *et al.*, 2012), pectina e alginato de sódio (Liu *et al.*, 2006) também são materiais potenciais para a formação de filme por extrusão. O processamento termoplástico de duas ou mais resinas termoplásticas comestíveis (Fishman *et al.*, 2000) e incorporação de componentes lipídicos e ingredientes ativos está ganhando interesse nas pesquisas para melhorar as propriedades funcionais dos filmes (Janjarasskul & Krochta, 2010).

Os filmes comestíveis são utilizados, geralmente, na área alimentícia, porém, as coberturas podem ser utilizadas também na área farmacêutica em pílulas para prevenir a desagregação, mascarar sabor amargo ou indesejável antes da deglutição, e proporcionar o tempo desejado em medicamentos de liberação controlada (Pavlath & Orts, 2009). A tabela 6 apresenta algumas coberturas comerciais e sua aplicabilidade.

Alguns filmes biodegradáveis já são comercializados na Europa para produtos alimentícios, como filmes de amido de milho usados como barreira contra gordura em produtos de confeitaria, embalagens de manteiga e margarina confeccionadas com amido de milho (90%) e ácido polilático (10%), ou ainda, para fins não alimentícios, sacos de lixo a base de amido de milho e trigo disponíveis nos mercados da Itália, Finlândia e Dinamarca (Haugaard *et al.*, 2001).

**Tabela 6.** Coberturas comerciais, componentes e aplicações.

<i>Nome comercial</i>	<i>Componente principal</i>	<i>Aplicação</i>
Freshseel™	Ésteres de sacarose	Estender a vida útil do melão
Fry Shield™	Pectinato de cálcio	Reduz a absorção de gordura durante a fritura de peixes, batatas e outros vegetais
Nature Seal™	Ascorbato de cálcio	Maçã, abacate, cenoura e outros vegetais
Nutrasave™	N,O-Carboximetilquitosana	Reduzir a perda de água em abacate, reter a firmeza
Opta Glaze™	Glúten de trigo	Substituir o revestimento à base de ovo cru para evitar crescimento microbiano
Seal gum, Spray gum™	Acetato de cálcio	Prevenir o escurecimento em batata durante a fritura
Semperfresh™	Ésteres de sacarose	Proteger maçãs, peras e marmelo ( <i>pome fruits</i> ) da perda de água e descoloração
Z*Coat™	Proteína de milho	Estender a vida útil de nozes, pecan e amendoim coberto com chocolate

Fonte: Pavlath & Orts (2009).



## Capítulo 4 - Materiais e Métodos

Neste capítulo estão descritos os materiais e a metodologia experimental utilizada no presente trabalho. Este capítulo está estruturado da seguinte forma: primeiramente será descrita a parte da obtenção da matéria-prima utilizada para o desenvolvimento dos produtos, amido de pinhão, extrato aquoso da casca, farinha de pinhão cru e casca moída; logo após serão descritos os experimentos realizados para o desenvolvimento de formulações tópicas e, por último, serão descritos os experimentos realizados para o desenvolvimento de filmes comestíveis.

### 4.1. Obtenção das matérias-primas oriundas do pinhão

As sementes de pinhão (*Araucaria angustifolia*) foram obtidas em mercado local (Porto Alegre, RS), selecionadas, limpas, condicionadas em sacos de polietileno de 1,5 kg e armazenadas em freezer doméstico (aproximadamente -15 °C) até sua utilização. As sementes utilizadas foram adquiridas em duas safras: do ano de 2012 para os experimentos realizados no Brasil e do ano de 2014 para os experimentos realizados nos Estados Unidos.

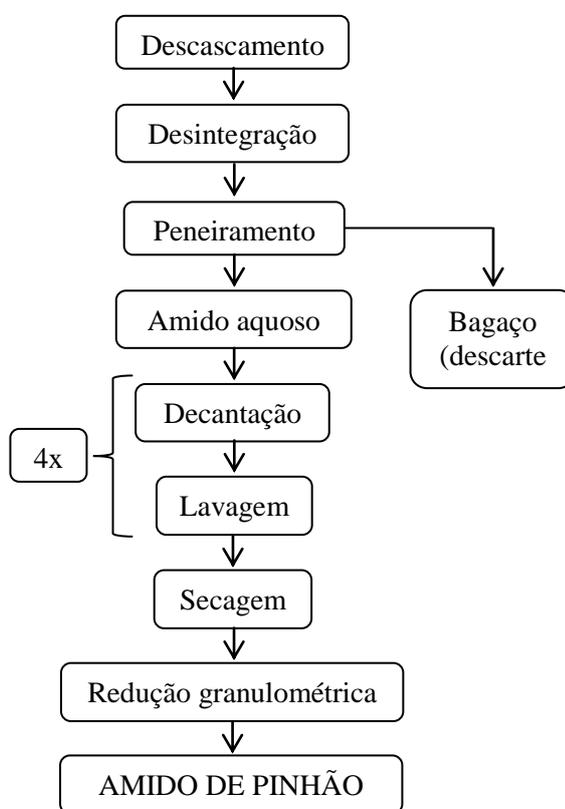
Como o pinhão consta na lista do Patrimônio Genético, foi solicitado o acesso ao Patrimônio Genético junto ao CNPq para utilização das sementes em pesquisa científica, bem como para o transporte para o exterior. Para isso, uma amostra da espécie foi depositada no Herbário ICN (Instituto de Ciências Naturais) do Departamento de Botânica da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, instituição fiel depositária credenciada pelo Conselho de Gestão do Patrimônio Genético, sob o número ICN 192233. O número da autorização de Acesso e de Remessa de Amostra de Componente de Patrimônio Genético é 010630/2013-9.

Para o desenvolvimento dos produtos propostos, a semente de pinhão foi utilizada em quatro frações: amido de pinhão, extrato da casca do pinhão, farinha de pinhão crua e casca de pinhão crua e moída. As metodologias para extração e preparação das frações estão descritas a seguir.

#### 4.1.1. Extração do amido de pinhão

A extração do amido de pinhão foi realizada em duas frações: para os experimentos realizados no Brasil foram utilizados 4,0 kg da safra de 2012 e para os experimentos realizados nos Estados Unidos foram utilizados 4,0 kg da safra de 2014. Para cada extração foram produzidos aproximadamente 1,0 kg de amido de pinhão. O isolamento do amido do pinhão foi realizado através de processo de lavagem sequencial utilizando água como solvente, segundo procedimento previamente descrito por Bello-Perez *et al.* (2006), com as modificações propostas por Daudt *et al.* (2014), demonstrado na Figura 11.

**Figura 11.** Fluxograma da extração do amido de pinhão nativo



As sementes foram descascadas manualmente com o auxílio de uma faca, tendo o cuidado de retirar a casca interna e, em seguida, foram desintegradas em liquidificador

---

doméstico com água fria ( $5 \pm 1$  °C), na proporção 1:2, por 1,5 min. Após a desintegração, o material foi filtrado em peneira de aço (Mesh Tyler nº 100 – abertura de 0,152 mm), sendo o permeado lavado quatro vezes em água a  $5 \pm 1$  °C. Após cada lavagem, uma etapa de decantação (por 50 min.), sob refrigeração ( $5 \pm 1$  °C) foi realizada. Finalmente, o amido extraído foi seco em estufa a 40 °C (A3 DG Temp, De Leo, Brasil) por aproximadamente 48 h. O amido seco foi triturado em liquidificador doméstico e peneirado (Mesh Tyler nº 100) a fim de se obter um pó fino.

#### ***4.1.2. Obtenção do extrato aquoso da casca do pinhão***

O extrato aquoso da casca do pinhão foi extraído a partir de 300 g de casca crua para posterior utilização no desenvolvimento das formulações tópicas com o objetivo de adicionar antioxidantes naturais às formulações. Os compostos fenólicos da casca do pinhão foram extraídos utilizando a casca crua, que sobra da extração do amido da semente do pinhão, e água para evitar a utilização de solventes orgânicos. A extração foi realizada segundo o método de Cladera-Olivera (2008) com algumas modificações. As cascas foram previamente trituradas em moinho (Modelo no. 2, Arthur Thomas Co., USA) e água destilada foi adicionada (na proporção de 15 g de casca/100 mL de água). A mistura das cascas com a água foi colocada em um banho termostático (Q226M2, Quimis, Brasil) a 50 °C por 60 min sob agitação (100 rpm). Após, os extratos foram filtrados e armazenados em freezer (-18 °C) até sua utilização. Os extratos foram mantidos na forma líquida com o objetivo de gerar um processo de produção simplificado, gastando pouca energia e passível de escalonamento. O rendimento da extração foi de  $3,18 \pm 0,03$  mL/g de casca utilizada e a aplicação do extrato aquoso na formulação durante o processo de produção poderia ser realizada logo após a extração. O baixo rendimento do extrato é devido ao fato de a casca ser altamente higroscópica e absorver água durante a extração.

#### ***4.1.3. Obtenção da farinha de pinhão cru***

A farinha de pinhão foi obtida a partir da semente crua. Primeiramente, as sementes foram descascadas e secas em estufa com circulação de ar (SL 102/100, Solab, Brasil), a 50 °C por 24 h. Após a secagem, as sementes foram pré-móidas em um moinho de facas (IKA® MF 10.1 basic, Staufen, Alemanha) a fim de produzir uma farinha grossa com tamanho de partícula de aproximadamente 2,00 mm; o produto dessa moagem foi moído novamente utilizando um moínho tipo *Cyclone* (Udy Corp., Fort Collins, CO, USA) passando

por uma malha de 0,25 mm. Foram utilizados 2,0 kg de semente, que produziram 900 g de farinha.

#### 4.1.4. Preparação da casca de pinhão cru moída

A casca de pinhão não utilizada na produção da farinha foi seca a temperatura ambiente e moída nas mesmas condições da farinha de pinhão. A mesma quantidade de sementes utilizadas na produção da farinha (2,0 kg) produziram 825 g de casca de pinhão moída.

## 4.2. Desenvolvimento e caracterização de formulações de uso tópico utilizando a semente de pinhão

### 4.2.1. Formulações cosméticas tipo gel

Tendo como base testes preliminares realizados para a formulação de um gel chegou-se às quantidades descritas na Tabela 7.

**Tabela 7.** Composição em percentual (m/m) das formulações tipo gel.

<i>Matéria-prima</i>	<i>Gel Controle (GC) (%)</i>	<i>Gel Pinhão (GP)(%)</i>
Carbopol 940	0,6	0,6
Amido de pinhão	-	3
Extrato da casca do pinhão	-	5
Sorbato de potássio	0,2	0,2
Solução de NaOH (20%)	q.s pH $\approx$ 7,0	
Água ultrapura	q.s.p. 100%	

O gel controle e base para o gel com adição de amido de pinhão e extrato da casca foi preparado misturando água ultrapura a 75 °C ao polímero Carbopol 940<sup>®</sup> até completa dissolução. Após, o pH foi ajustado em aproximadamente 7 com adição de NaOH 20% e foi acrescentado o sorbato de potássio previamente dissolvido em água ultrapura. A formulação contendo os derivados do pinhão foi preparada em três etapas. Primeiramente foi preparada a base com Carbopol 940<sup>®</sup>, seguindo o mesmo procedimento da do gel controle, e o pH foi ajustado. Em seguida, o amido foi misturado com parte da água a 75 °C e o sorbato de potássio dissolvido cuidadosamente para não formar grumos. Estas duas partes foram misturadas e, quando a mistura atingiu a temperatura de 40 °C o extrato da casca de pinhão foi adicionado. O gel formado foi então passado em Ultra Turrax (T25 basic, IKA-WERNE,

EUA) para homogeneizar na velocidade mais baixa (3.000 rpm), evitando a formação de bolhas de ar.

#### 4.2.2. Formulações cosméticas tipo emulgel

A partir dos resultados obtidos através dos testes preliminares optou-se por utilizar uma emulsão tipo O/A que contivesse uma proporção de gel para melhorar sua estabilidade. A Tabela 8 apresenta as matérias-primas e quantidades utilizadas nas formulações.

**Tabela 8.** Composição em percentual (m/m) das formulações tipo emulsão-gel.

<i>Matéria-prima</i>	<i>Emulgel Controle (EC) (%)</i>	<i>Emulgel Pinhão (EP)(%)</i>
Carbopol 940	0,3	0,3
Amido de pinhão	-	3
Extrato da casca do pinhão	-	5
Sorbato de potássio	0,2	0,2
Óleo de girassol	3	3
Álcool cetosteárilico	4	4
Álcool cetosteárilico etoxilado (20 EO)	2	2
Solução de NaOH (20%)	q.s. pH $\approx$ 7,0 (para formar gel)	
Água ultrapura	q.s.p. 100%	

As duas partes das formulações (gel e emulsão) foram desenvolvidas separadamente. O gel foi obtido da mesma forma como explicado no item 4.2.1. A emulsão teve as fases oleosa (óleo de girassol, álcool cetosteárilico, álcool cetosteárilico etoxilado (20EO)) e aquosa (água, sorbato de potássio e amido de pinhão na formulação EP) aquecidas até 75 °C separadamente e a fase aquosa foi vertida sobre a fase oleosa (após total dissolução de ambas as fases separadamente). A mistura foi mantida em constante agitação até resfriamento a temperatura ambiente. A formulação contendo extrato da casca do pinhão teve o mesmo adicionado em temperatura de 40 °C. Após o resfriamento à temperatura ambiente as duas partes emulsão e gel foram misturadas na proporção 1:1 em massa e então passado em Ultra Turrax (T25 basic, IKA-WERNE, EUA) para homogeneizar na velocidade mais baixa (3.000 rpm), evitando a formação de bolhas de ar.

### ***4.2.3. Avaliação da estabilidade físico-química e as propriedades cosméticas in vitro das formulações desenvolvidas***

A estabilidade das formulações foi avaliada através dos testes de estabilidade preliminar e acelerada, de acordo com as diretrizes da Agência Nacional de Vigilância Sanitária, seguindo as recomendações do Guia de Estabilidade de Produtos Cosméticos (ICH, 2003).

Para isso, as formulações foram acondicionadas em vidros de borosilicato e submetidas a seis ciclos de aquecimento/congelamento. Cada ciclo consiste em deixar as amostras 24 h em estufa (A3, De Leo, Brasil) a 40 °C, seguida de 24 h em freezer a -4 °C. Os parâmetros avaliados para cada amostra antes e após os seis ciclos de estresse térmico foram a resistência à centrifugação, o pH, a espalhabilidade, a caracterização reológica, o teor de compostos fenólicos e a determinação da atividade antioxidante pelo método de captura do radical livre ABTS.

#### ***4.2.3.1. Resistência à centrifugação das formulações semissólidas***

O teste de resistência à centrifugação foi realizado em uma centrífuga (Eppendorf 5417R, USA) utilizando amostras de 1 mL (3.000 rpm, por 30 min, a 20°C). Para a avaliação de ocorrência de fenômenos de instabilidade, a amostra é considerada estável quando não houver alteração sob o aspecto físico da formulação. Por outro lado, as formulações que apresentarem sedimentação, separação de fases e coalescência, ou quaisquer outras alterações visíveis serão consideradas instáveis fisicamente.

#### ***4.2.3.2. Determinação do pH***

Os valores de pH foram determinados utilizando uma solução das formulações semissólidas a 10% (m/v) em temperatura ambiente (Lange *et al.*, 2009). As soluções foram homogeneizadas em agitador magnético (752A, Fisatom, Brasil) por 15 minutos e as medidas foram realizadas utilizando pHmetro digital (DM-22, Digimed, Brasil) previamente calibrado utilizando soluções tampões de pH 7,0 e 4,0.

#### 4.2.3.3. Determinação da espalhabilidade

Para a determinação da espalhabilidade foi utilizada uma placa-molde de vidro, com orifício circular central (12 mm de diâmetro e 10 mm de altura), colocada sobre uma placa suporte de vidro com uma folha de papel milimetrado abaixo do vidro e uma fonte luminosa, conforme Borghetti & Knorst (2006). A amostra foi introduzida no orifício da placa e a superfície nivelada com espátula. Após, a placa-molde foi cuidadosamente retirada e uma placa de vidro de peso pré-determinado foi colocada sobre a amostra. Depois de um minuto, a superfície abrangida foi medida através do diâmetro em duas posições opostas, com auxílio da escala do papel milimetrado e com posterior cálculo do diâmetro médio. Este procedimento foi repetido acrescentando-se novas placas, em intervalos de um minuto, registrando-se a cada determinação a superfície abrangida pela amostra e o peso da placa adicionada até um número máximo de 20 placas.

A espalhabilidade ( $E_i$ ), determinada a  $24 \pm 2$  °C, foi calculada através da Eq. (3):

$$E_i = (d^2 \times \pi) / 4 \quad (3)$$

onde  $E_i$  ( $\text{mm}^2$ ) é a espalhabilidade da amostra para o peso  $i$  (g) e  $d$  é o diâmetro médio (mm). A partir do cálculo do valor de espalhabilidade para cada peso, foi calculado o fator de espalhabilidade ( $FE$  em  $\text{mm}^2/\text{g}$ ) conforme a Eq. (4):

$$FE = \sum E_i / \sum m_i \quad (4)$$

onde  $\sum E_i$  é o somatório das espalhabilidades calculadas e  $\sum m_i$  é o peso acumulado das placas de vidro adicionadas.

#### 4.2.3.4. Caracterização reológica das formulações semissólidas

A caracterização reológica das formulações foi realizada utilizando um reômetro rotacional (Ares, TA Instruments, New Castle, USA), utilizando a geometria de placas paralelas (50 mm de diâmetro, gap de 1,50 mm). Todas as medidas foram realizadas a  $25 \pm 1$  °C. As curvas de fluxo foram obtidas através dos valores de tensão de cisalhamento com o aumento das taxas de cisalhamento de 0,1 a  $120 \text{ s}^{-1}$  com incremento de  $4 \text{ s}^{-1}$  e em seguida decrescendo em sentido inverso. Os dados foram ajustados às seguintes equações para determinar o modelo de fluxo das formulações: Bingham (Eq. (5)), Casson (Eq. (6)), Ostwald (Eq. (7)), e Herschel-Bulkley (Eq. (8)).

$$\tau = \tau_0 + \dot{\gamma} \cdot \eta \quad (5)$$

$$\tau^{0,5} = (\tau_0)^{0,5} + \eta^{0,5} \cdot \dot{\gamma}^{0,5} \quad (6)$$

$$\tau = K \cdot \dot{\gamma}^n \quad (7)$$

$$\tau = \tau_0 + K \cdot \dot{\gamma}^n \quad (8)$$

onde  $\tau$  representa a tensão de cisalhamento,  $\tau_0$  a tensão de cisalhamento inicial,  $K$  o índice de consistência,  $\dot{\gamma}$  a taxa de cisalhamento e  $n$  o índice de fluxo. O modelo que apresentar o melhor ajuste será utilizado para representar o comportamento reológico das formulações.

Os testes em regime oscilatório foram realizados para avaliar o comportamento dos módulos de armazenamento ( $G'$ ) e de perda ( $G''$ ) em função da frequência. Os testes de varredura de frequência foram realizados na região linear de viscolasticidade (RLV), determinada por testes de varredura de deformação, na faixa de 0 a 500  $\text{rad.s}^{-1}$ , no modo decrescente.

#### 4.2.3.5. Teor de compostos fenólicos

Metanol puro foi utilizado como solvente para a extração dos compostos fenólicos das formulações produzidas (10 g de amostra/100 mL de metanol) (Cordenunsi *et al.*, 2004). As amostras em solução foram colocadas em banho termostático (Q226M2, Quimis, Brasil) a 50 °C por 30 min., com agitação a 125 rpm. O extrato foi centrifugado por 15 min, a 4 °C, a 5200 g em centrífuga refrigerada (CT5000R, Cientec, Brasil) e filtrado em seguida.

Os fenólicos totais no extrato foram determinados pelo método de Folin-Ciocalteu como descrito por Singleton & Rossi (1965), com algumas modificações. Foram adicionados 40  $\mu\text{L}$  do extrato (amostra) em tubo Falcon, 3,2 mL de água destilada e 200  $\mu\text{L}$  de reagente de Folin-Ciocalteu. A mistura foi agitada e deixada ao abrigo da luz por 5 min. Após, foi adicionado 600  $\mu\text{L}$  de solução saturada de carbonato de sódio (17 %). A reação ocorreu em temperatura ambiente, ao abrigo da luz, por 1,5 h. Catecol foi usado como padrão, os resultados foram expressos como massa de catecol equivalente (mg CE) por massa (g) de amostra e a curva padrão utilizada encontram-se no Anexo A, item A.1. A absorvância foi determinada em comprimento de onda 750 nm (Cordenunsi *et al.*, 2004) em espectrofotômetro (UV-1600, Pró-Análise, Brasil).

#### 4.2.3.6. Determinação da atividade antioxidante dos cosméticos

A atividade antioxidante foi avaliada nas formulações através da avaliação da atividade sequestradora de radicais livres pela reação com o radical 2,2'-azino-bis(3-etilbenzotiazolína6-sulfônico) (ABTS<sup>•+</sup>). Para a determinação da atividade antioxidante total pela captura do radical livre ABTS<sup>•+</sup> as formulações foram diluídas em metanol em três diferentes concentrações, submetidas à centrifugação por 15 min, a 4 °C, a 5200 g em centrífuga refrigerada (CT5000R, Cientec, Brasil) e o sobrenadante foi analisado.

A determinação da atividade antioxidante total pela captura do radical livre ABTS<sup>•+</sup> foi realizada de acordo com o método descrito por Re *et al.* (1999) com algumas modificações. ABTS foi dissolvido em água para obter uma concentração de 7 mM. O cátion do radical ABTS (ABTS<sup>•+</sup>) é produzido pela reação da solução estoque de ABTS (7 mM) com 4,9 mM de persulfato de potássio e deixando a mistura em repouso por 12-16 h antes do uso. ABTS e persulfato de potássio reagem estequiometricamente na proporção de 1:1 e o resultado é a oxidação incompleta do ABTS. A oxidação do ABTS começa imediatamente, mas a absorbância é máxima e estável após 6 h. O radical é estável nessa forma por mais de dois dias quando armazenado ao abrigo da luz em temperatura ambiente. Uma vez formado o radical ABTS<sup>•+</sup>, ele deve ser diluído em etanol até se obter uma absorbância de 0,700 ( $\pm 0,050$ ) no comprimento de onda de 734 nm. Para a reação foi utilizado 30  $\mu$ L da amostra com 3 mL do radical. A absorbância foi medida em espectrofotômetro (UV-1600, Pró-Análise, Brasil) após 30 min da adição da amostra. A curva de calibração foi calculada a partir da preparação de soluções padrão de Trolox (um antioxidante sintético similar à vitamina E) e o resultado foi expresso em capacidade antioxidante equivalente ao Trolox (6-hidroxi-2,5,7,8-tetrametilcromo-2-ácido carboxílico) em  $\mu$ mol TEAC g<sup>-1</sup> de amostra (TEAC: *Trolox Equivalent Antioxidant Capacity*). A curva de calibração encontra-se no Anexo A, item A.2.

#### 4.2.4. Análise sensorial e das propriedades cosméticas *in vivo* das formulações semissólidas

##### 4.2.4.1. Análise sensorial discriminativa e afetiva das formulações semissólidas

O estudo sensorial visa a observar se há diferença entre o gel proposto (pinhão) e um gel com os mesmos ingredientes com exceção dos derivados do pinhão, bem como a diferença entre o emulgel proposto (pinhão) e o emulgel controle. A análise sensorial seguiu

---

metodologia previamente empregada por Külkamp-Guerreiro *et al.* (2013), com as modificações detalhadas abaixo.

As formulações foram submetidas à análise sensorial discriminativa e afetiva conduzida por um grupo de 48 voluntários não treinados, homens e mulheres, com idades entre 19 e 52 anos, seguindo o protocolo de avaliação que se encontra em anexo (Anexo B - item *B.1.*). Este protocolo foi aprovado pelo Comitê de tica em Pesquisa da Universidade Federal do Rio Grande do Sul (CEP-UFRGS) sob parecer n 640.828.

Pessoas com distúrbios de sono, casos de alergias ou problemas de saúde, grávidas e fumantes foram excluídos desta pesquisa. Após a apresentação da pesquisa aos voluntários os mesmos assinaram o termo de consentimento livre e esclarecido (TCLE) (Anexo B - item *B.2*) e a análise discriminativa e afetiva foi conduzida aos pares. Cada participante avaliou as quatro formulações semissólidas desenvolvidas comparando os géis entre si (GC x GP) e emulgis entre si (EC x EP). As amostras foram codificadas para evitar que os voluntários as identificassem. Os procedimentos para a análise sensorial seguiram as etapas descritas a seguir:

1) Lavagem dos braços e antebraços dos voluntários com sabonete neutro previamente preparado (solução 10% m/v de lauril sulfato de sódio);

2) Marcação com lápis de maquiagem de dois círculos de 51 mm de diâmetro em cada antebraço utilizando um molde vazado de plástico;

3) Apresentação das amostras pesadas (~0,5 g) e codificadas aos voluntários e explicação de como aplicar: em movimentos circulares, utilizando dedos diferentes para cada amostra;

4) Logo após a aplicação de cada par de amostras e após 5 min, os voluntários responderam as perguntas referentes aos atributos espalhabilidade, oleosidade, pegajosidade imediata e residual, formação de filme na pele imediata e residual, percepção do produto na pele e preferência, comparando as amostras, conforme questionário (Anexo B - item *B.1*).

Os experimentos foram conduzidos em uma sala a 20 °C e aproximadamente 60-70% de umidade relativa. A análise estatística utilizou a comparação entre as preferências dos consumidores pelo teste bilateral.

#### *4.2.4.2. Análise das propriedades cosméticas in vivo das formulações semissólidas*

O potencial cosmético da aplicação cutânea das formulações semissólidas foram avaliados através dos parâmetros eritema e pH utilizando sondas não invasivas específicas para o equipamento Multi Probe Adapter MPA (Courage Khazaka electronic GmbH, Alemanha). Para este estudo as amostras foram avaliadas em 10 voluntários não treinados, mulheres, com idade entre 20 e 30 anos. Esta análise foi realizada juntamente com a análise sensorial descrita no item 4.2.4.1. (para 10 dos voluntários), respeitando um tempo mínimo de aplicação de 20 minutos. O procedimento de aplicação das formulações seguiu o mesmo protocolo descrito para a análise sensorial.

O TCLE para estes voluntários que participaram da avaliação da atividade cosmética encontra-se no Anexo B, item B.3, e foi aprovado pelo CEP da UFRGS com parecer de nº 336.233.

Estas metodologias não invasivas têm sido amplamente empregadas na avaliação do efeito de formulações de uso tópico, principalmente por possibilitar a avaliação de produtos em suas reais condições de uso, ou seja, diretamente na pele humana. O eritema, relacionado ao potencial de irritação cutânea, foi avaliado a partir da sonda Mexameter® MX18 e o pH cutâneo pela sonda Skin-pH-Meter®.

Os resultados, discussão e conclusões desta etapa estão agrupados no Capítulo 5, item 5.1. (compreende os itens 4.2.1. a 4.2.4.).

#### ***4.2.5. Avaliação de possíveis correlações entre os parâmetros reológicos e os parâmetros físicos de formulações semissólidas ao longo de seis meses de armazenamento***

Este estudo teve por objetivo avaliar a estabilidade das formulações semissólidas ao longo de seis meses considerando os parâmetros reológicos, a umidade, a espalhabilidade, o tamanho de partícula e a estrutura morfológica e tentar estabelecer correlações entre esses parâmetros. Para isso, as amostras a serem analisadas foram mantidas em frascos típicos para cosméticos (plásticos) em temperatura ambiente ao abrigo da luz. As análises ocorreram dos meses de outubro a abril, englobando as estações primavera, verão e outono em que as temperaturas variam aproximadamente em uma faixa de 15 a 35 °C.

A reologia seguiu o método descrito no item 4.2.3.4., utilizando reômetro rotacional (Ares, TA Instruments, New Castle, USA) e geometria de placas paralelas (50 mm de diâmetro, gap de 1.50 mm) para avaliar o comportamento reológico nos regimes estacionário e oscilatório.

As curvas de fluxo foram ajustadas ao modelo de Ostwald-de-Waele (Eq. (7)) e a viscosidade aparente na taxa de cisalhamento  $100 \text{ s}^{-1}$  (Eq. (9)) foi calculada:

$$\eta_{100} = K \cdot 100^{n-1} \quad (9)$$

onde:  $K$  é o índice de consistência;  $n$  é o índice de fluxo e  $\eta_{100}$  é a viscosidade aparente na taxa de cisalhamento de  $100 \text{ s}^{-1}$ .  $\eta_{100}$  foi utilizada como valor característico de viscosidade para comparações entre as amostras devido ao fato de que a faixa de taxa de cisalhamento geralmente adotada durante aplicações tópicas é acima de  $10 \text{ s}^{-1}$  (Corrente *et al.*, 2009).

Todos os testes do modo dinâmico foram realizados na região viscoelástica linear (RVL), determinada para cada amostra através de testes de varredura de deformação a 10 e a  $500 \text{ rad}\cdot\text{s}^{-1}$ . Foram feitas varreduras frequências decrescente ao longo da faixa de  $\omega$  de  $0,1-500 \text{ rad}\cdot\text{s}^{-1}$ . O modelo de potência (Eqs. (10) e (11)) foi utilizado para caracterizar a dependência da frequência com os módulos elástico ou de armazenamento ( $G'$ ) e viscoso ou de perda ( $G''$ ):

$$G' = G'_0 \cdot \omega^{n'} \quad (10)$$

$$G'' = G''_0 \cdot \omega^{n''} \quad (11)$$

onde  $G'_0$  e  $G''_0$  são os valores dos módulos de cisalhamento elástico (armazenamento) e viscoso (perda), a  $1 \text{ rad s}^{-1}$ , respectivamente, e os expoentes  $n'$  e  $n''$  denota o grau de influência de  $\omega$  em cada módulo. Além disso, as diferenças estruturais entre as amostras foram quantificadas em termos do fator de qualidade  $Q$  (Eq. (12)), um parâmetro adimensional que representa o grau de amortecimento de um oscilador (Campo-Deaño *et al.*, 2010), dado por:

$$Q = 2\pi \left( \frac{G'_0}{G''_0} \right) f^{(n'-n'')} \quad (12)$$

onde  $f$  é  $10 \text{ Hz}$ .

O parâmetro  $Q$  pode quantificar a relação entre o módulo elástico ( $G'$ ) e módulo viscoso ( $G''$ ). Quando  $G' > G''$  a formulação semissólida é mais estável e mais consistente. Conseqüentemente, altos valores de  $Q$  indicam que a formulação é mais estável.  $Q$  pode também fornecer informações estruturais relacionadas com a força das interações intermoleculares, e/ou o tipo de rede estrutural em uma formulação (Gabriele *et al.*, 2001; Moresi *et al.*, 2004).

O conteúdo de umidade foi calculado através da perda de massa após o aquecimento da amostra a 105 °C, de acordo com o método padrão de análise número 945.15 da AOAC (1990). Foram pesadas cerca de 5 g de amostra em cápsulas de porcelana, secas em estufa a 105 °C (A3 DG Temp, De Leo, Brasil) por 2 h, resfriadas em dessecador até temperatura ambiente por 30 min. e finalmente pesadas. As amostras permaneceram em estufa por 24 h e o percentual de umidade foi calculado pela diferença de massa da amostra.

O tamanho de partículas foi analisado através da avaliação do diâmetro de partícula por difração de laser (Malvern 2000 Mastersizer, Malvern Instruments, Reino Unido) em meio úmido. As amostras foram diluídas em água a uma concentração de 1% (m/v). A distribuição de tamanho de partícula foi avaliada a partir do *Span* (Eq.(13)), onde  $d_{0.1}$ ,  $d_{0.5}$  e  $d_{0.9}$  são os diâmetros das partículas determinados em 10%, 50% e 90% da distribuição dos volumes acumulados, respectivamente. Os cálculos para distribuição de tamanho de partículas foram baseados na teoria de Mie-Scattering e o diâmetro médio calculado foi baseado no volume (D[4,3]). Todas as medidas foram realizadas em triplicata e os resultados foram analisados pela distribuição volumétrica.

$$Span = \frac{d_{0.9} - d_{0.1}}{d_{0.5}} \quad (13)$$

A avaliação morfológica foi realizada utilizando uma simples análise de microscopia para diferenciar as amostras quanto as suas características microscópicas. As amostras foram diluídas em água na proporção 1:10 (amostra:água) e colocadas em lâminas de vidro com o auxílio de uma pipeta (10 µL). Essas lâminas foram secas em bico de Bunsen e, posteriormente coradas com uma solução de safranina (corante de coloração vermelha) durante 1 min. As imagens foram feitas nas magnitudes de 40 e 100 X em microscópio ótico (Opton, TNB-04D, Brasil) e as imagens capturadas com auxílio do software AMCap.

O fator de espalhabilidade foi determinado segundo o mesmo procedimento descrito no item 4.2.3.3.

Todas as análises foram realizadas nos dias após o desenvolvimento das formulações e nos tempos 2, 4 e 6 meses de armazenamento.

A análise de possíveis correlações foi realizada através da matriz de correlação de Pearson pelo software Statistica, versão 8.1, 2007 (StatSoft Inc., Tulsa, OK, USA).

Os resultados, discussão e conclusões desta etapa (item 4.2.5.) estão agrupados no Capítulo 5, item 5.2.

### **4.3. Desenvolvimento de filmes comestíveis**

Os filmes comestíveis à base de pinhão foram desenvolvidos e caracterizados em quatro etapas: estudo de plastificantes e desenvolvimento de filmes de amido de pinhão; comparação de filmes a base de amido de pinhão e farinha de pinhão com diferentes quantidades de plastificante; estudo da influência da aplicação de casca de pinhão em filmes à base de farinha de pinhão e comparação de filme de amido de pinhão com filmes produzidos com amidos comerciais com diferentes conteúdos de amilose. A metodologia de cada etapa será explicada separadamente.

#### ***4.3.1. Escolha de plastificante e desenvolvimento de filmes comestíveis à base de amido de pinhão***

Os filmes foram preparados a partir de amido de pinhão obtido conforme descrito no item 4.1.1 através do método de *casting* de acordo com Fakhoury *et al.* (2012). A Tabela 9 apresenta as proporções de amido de pinhão e plastificante utilizados nas formulações propostas. O amido e o plastificante foram pesados e água destilada foi acrescentada até completar a massa final de 100 g. Foram utilizados sorbitol, glicerol, sacarose e xarope de glicose como plastificantes, sendo que o xarope de glicose foi utilizado apenas na proporção de 4 g/100g em função da não formação de filme com a utilização deste ingrediente. Foram realizados testes preliminares a fim de adequar as quantidades de plastificante e amido a serem utilizadas.

**Tabela 9.** Proporções de amido de pinhão e plastificante utilizados no desenvolvimento dos biofilmes

Plastificante (g/100g)	4,0					5,0				
Amido de pinhão (g/100g)	2,0	3,0	4,0	5,0	6,0	2,0	3,0	4,0	5,0	6,0

A solução foi aquecida em banho termostático (NT 232, Novatecnica, Brasil) a 70 °C, por 15 min. Em seguida, a solução filmogênica formada foi vertida em placas de Petri limpas e secas (0,5 g/cm<sup>2</sup>) e colocadas em estufa (B3 CBE, De Leo, Brasil) a 40 °C por 24 h para secar. Algumas das formulações necessitaram de acondicionamento em câmara de controle de fermentação (AC20T, VENANCIO, Brasil) com UR de 80% para facilitar a remoção das placas.

Após análise dos resultados dos testes preliminares optou-se por utilizar o sorbitol como plastificante. A fim de avaliar o efeito das concentrações de amido de pinhão e sorbitol, foi realizado um planejamento experimental 2<sup>2</sup> com pontos axiais, conforme a Tabela 10. Os filmes foram desenvolvidos pelo método de *casting* de acordo com Fakhoury *et al.* (2012). Após a pesagem dos ingredientes, a mistura foi aquecida a temperatura de 70 °C, em banho maria (Banho Dubnoff NT 232, Novatecnica, Brasil) por 15 min. As soluções filmogênicas foram espalhadas em placas de Petri, e deixadas para secar em estufa (B3 CBE, De Leo, Brasil) a 40 °C por aproximadamente 24 h e, posteriormente, colocadas em ambiente com alta umidade relativa (80%), em câmara de controle de fermentação (AC20T, VENANCIO, Brasil), para facilitar a remoção do biofilme da placa.

**Tabela 10.** Níveis codificados e reais de amido de pinhão e sorbitol para o planejamento experimental composto central 2<sup>2</sup> com pontos axiais.

<i>Experimento</i>	<i>Níveis codificados</i>		<i>Níveis reais</i>	
	<b>Amido de pinhão</b>	<b>Sorbitol</b>	<b>Amido de pinhão (g)</b>	<b>Sorbitol (g)</b>
F1	-1	-1	2	3
F2	+1	-1	4	3
F3	-1	+1	2	5
F4	+1	+1	4	5
F5	-1,41	0	1,59	4
F6	+1,41	0	4,41	4
F7	0	-1,41	3	2,59
F8	0	+1,41	3	5,41
F9	0	0	3	4
F10	0	0	3	4
F11	0	0	3	4

#### 4.3.1.1. Caracterização dos filmes comestíveis

Os filmes obtidos nos testes preliminares foram avaliados quanto à capacidade de formação de filme e de acordo com a cor, opacidade e espessura.

A cor dos biofilmes foi medida em colorímetro (Konica Minolta®, modelo Chroma Meter CR-400, Singapura) em três diferentes pontos. Os parâmetros colorimétricos  $L^*$ ,  $a^*$  e  $b^*$  da escala CIELAB, determinados pela Commission International de l'Eclairage (CIE) foram obtidos através do espectro de refletância da amostra (Minolta, 1998).

A opacidade foi medida diretamente com espectrofotômetro portátil (Spectro-guide sphere gloss, BYK, USA) em três pontos diferentes dos biofilmes e expressos em percentual. Para a medida de opacidade fez-se primeiramente a leitura frente ao padrão branco e após, frente ao padrão preto. O equipamento calcula então o percentual de opacidade baseado nas duas medidas realizadas.

A espessura foi medida em nove pontos diferentes dos biofilmes com micrômetro digital (IP65, Mitutoyo, Brasil).

Os filmes de amido de pinhão e sorbitol desenvolvidos segundo o planejamento experimental foram avaliados quanto à capacidade de formação de filme, cor, opacidade, espessura, propriedades mecânicas e solubilidade.

A cor e a opacidade foram avaliadas em colorímetro (ColorQuest® XE, HunterLab, USA) utilizando os seguintes parâmetros: modo de reflectância, iluminante D65, expecular excluída e abertura de 9,25 mm. Para a medida dos parâmetros de cor  $L^*$ ,  $a^*$  e  $b^*$  os biofilmes foram colocados frente ao padrão branco do equipamento. Para a medida de opacidade os biofilmes foram primeiramente colocados frente ao padrão branco e após, em frente ao padrão preto do equipamento. Os parâmetros  $C^*$  e  $h$  foram calculados conforme as equações abaixo (Eq. (14) e Eq. (15)).

$$C^* = \sqrt{(a^*)^2 + (b^*)^2} \quad (14)$$

$$h = \text{tg}^{-1} \left( \frac{b^*}{a^*} \right) \quad (15)$$

---

A espessura foi medida em nove pontos diferentes dos biofilmes com micrômetro digital (IP65, Mitutoyo, Brasil).

A resistência foi medida de acordo com o padrão da ASTM D882-12 (2012) utilizando texturômetro (TA.XT Plus Texture Analyzer, Extralab, Brasil). Os filmes foram mantidos em temperatura ambiente (25 °C) e 52 % UR através da utilização de solução saturada de nitrato de magnésio ( $Mg(NO_3)_2$ ) por 72 h antes das medidas. Foram utilizados filmes de 70 x 20 mm e a espessura de cada pedaço utilizado foi medida previamente. As condições utilizadas para o teste foram 50 mm de separação inicial das garras e velocidade do teste de  $1 \text{ mm s}^{-1}$ . Foram avaliados os parâmetros de tensão máxima (TM), Módulo de Young (MY) e alongação na ruptura (E). As propriedades mecânicas foram calculadas a partir do gráfico de tensão (força/área inicial da seção de corte) pela deformação (extensão como uma fração do comprimento original) (Pérez-Gago & Krochta, 2001). O Módulo de Young foi obtido pela razão da tensão pela deformação na porção linear inicial da curva. A alongação na ruptura foi calculada dividindo a extensão na ruptura dos filmes pelo comprimento inicial da amostra e multiplicando por 100 (para ter o resultado em percentual).

A solubilidade em água é definida como a porcentagem de matéria seca de filme solubilizada após 24 h de imersão em água (Gontard *et al.*, 1992) e foi medida de acordo com Vásconez *et al.* (2009), com algumas modificações. A massa seca inicial dos filmes foi determinada após a secagem de pedaços de  $3 \text{ cm}^2$  de filmes em estufa (A3 DG Temp, De Leo, Brasil), a 105 °C, por 24 h. Após a pesagem para se obter a massa inicial, os filmes foram imersos em 20 mL de água destilada por 24 h a 25 °C e, após este período, foram secos novamente em estufa (105 °C, por 24 h) para se obter a massa final. As análises foram realizadas em triplicata e a solubilidade expressa em percentual como a diferença entre o peso seco inicial e final, em relação ao peso seco inicial.

Os resultados foram analisados utilizando Análise de Variância (ANOVA) e teste de Tukey ( $\alpha = 0,05$ ) com o software Statistica for Windows, version 8.1, 2007 (StatSoft, Inc., Tulsa, OK, USA) para verificar diferenças estatisticamente significativas. Para o planejamento experimental, os dados foram avaliados utilizando superfície de resposta com o mesmo software. Os resultados desta etapa do trabalho (item 4.3.1.) juntamente com as discussões e resultados parciais estão no 6, item 6.1.

### 4.3.2. Estudo comparativo das propriedades de filmes comestíveis à base de amido e farinha de pinhão

#### 4.3.2.1. Propriedades físicas do amido e farinha de pinhão

As propriedades físicas do amido e farinha de pinhão foram avaliadas a fim de compreender os mecanismos envolvidos durante a formação dos filmes.

A umidade das amostras foi medida de acordo com o método 934.06 da AOAC (AOAC, 1997) e a atividade de água foi medida utilizando um medidor de atividade de água (AquaLab 4TE, Decagon, Pullman, WA, USA). O medidor de atividade de água foi previamente calibrado com soluções de sal saturadas de acordo com o manual do equipamento. A calibração e todas as medidas foram realizadas em temperatura ambiente ( $25 \pm 2^\circ\text{C}$ ).

A densidade real dos pós foi medida utilizando um picnômetro a gás (Micrometrics AccuPyc II 1340, Norcross, GA, USA) para medir o volume ocupado pelas amostras. A massa das amostras foi medida previamente e a densidade real calculada pela divisão da massa pelo volume em 5 replicatas.

A densidade aparente foi medida de acordo com o Método 616 da Farmacopéia dos Estados Unidos (USP, 2008) com algumas modificações. Foram feitas cinco replicatas preenchendo um cilindro de  $1.6 \times 10^{-4} \text{ m}^3$  utilizando um funil, distante 25 mm acima do topo do cilindro. Após o cilindro estar completamente cheio, o pó contido no cilindro foi nivelado com o auxílio de uma espátula, em duas direções perpendiculares. Após, o cilindro foi pesado e a densidade aparente calculada pela divisão da massa da amostra pelo volume do cilindro. A densidade aparente ( $\emptyset$ ) foi calculada a partir da densidade real (true density -  $\rho_t$ ) e densidade aparente (bulk density -  $\rho_b$ ) pela Eq. (16) (Datta, 2007).

$$\emptyset = 1 - \frac{\rho_b}{\rho_t} \quad (16)$$

O perfil de viscosidade das amostras foi determinado utilizando o equipamento *Rapid Visco Analyzer* (RVA-30, Newport Scientific, Sidnei, Austrália). Amostras de amido e farinha de pinhão (3,5 g de amido ou farinha corrigido utilizando o teor de umidade das amostras,  $\pm 0,01 \text{ g}$ ) foram misturadas em uma solução com água destilada (25,0 g como uma função da quantidade de amostra ajustada,  $\pm 0,1 \text{ g}$ ) em containers de alumínio próprio do equipamento. As medidas começaram em  $50^\circ\text{C}$ , foram mantidas nesta temperatura por 1 min, aumentadas para  $95^\circ\text{C}$  em 4 min, mantidas por 3 min, resfriadas a  $50^\circ\text{C}$  em 4 min, e finalmente mantidas

---

a essa temperatura por 1 min. A velocidade de agitação foi de 960 rpm por 10 s (para garantir a dispersão inicial) e de 160 rpm nos demais períodos do teste.

#### 4.3.2.2. *Desenvolvimento e caracterização dos filmes comestíveis à base de amido e farinha de pinhão*

Foram preparados filmes comestíveis à base de amido e farinha de pinhão pelo método de *casting*. Os filmes foram obtidos através da mistura de amido ou farinha de pinhão com glicerol e água destilada. O glicerol foi escolhido para ser utilizado como plastificante com o objetivo de se utilizar um ingrediente de grau alimentício e facilmente disponível no mercado. Foram desenvolvidos filmes contendo 5% de amido ou farinha de pinhão e 0, 1, 1,5 e 2% de glicerol nos filmes de amido (denominados S5, SG5:1, SG5:1.5 e SG5:2, respectivamente), e 1, 1,5 e 2% em filmes de farinha (denominados FG5:1, FG5:1.5 e FG5:2, respectivamente). O conteúdo de glicerol utilizado representa 20, 30 e 40% de amido ou farinha de pinhão (m/m). As soluções foram aquecidas em banho de água com agitação a 120 rpm (Modelo 12504, Cole-Parmer Instrument Co., Chicago, IL, USA) por 30 min a 80 °C. Após o preparo das soluções os frascos foram deixados em repouso por 10 min para retirada das bolhas de ar em uma bomba de vácuo (2032B DryFast Ultra®, Welch Technologies, Monroe, USA) para evitar a formação das bolhas nas soluções e possíveis buracos nos filmes. As soluções foram vertidas em placas de vidro (30x30 cm) cobertas com um filme de polyester (Mylar, DuPont, Hopewell, VA, USA), espalhadas com o auxílio de uma barra de espalhamento e deixadas em uma superfície nivelada a temperatura ambiente por 24 h para secar.

A espessura dos filmes foi medida com um micrômetro digital (Mitutoyo Manufacturing, Tokyo, Japan) em 5 posições aleatórias. Os filmes estavam a UR de  $28 \pm 2\%$ .

A porosidade aparente ( $\emptyset$ ) foi medida de acordo com Datta (2007) e a Eq. (16). Para isso, a densidade aparente ( $\rho_b$ ) foi obtida através da medida de 20 filmes de 20 mm de diâmetro pré-equilibrados a 0% UR (umidade relativa) (sulfato de cálcio, W.A. Hammond Drierite, Xenia, OH, USA) por 24 h. Cada filme foi pesado e o volume foi calculado utilizando a área e a média da espessura dos filmes (Mitutoyo Manufacturing) (de Moura et al., 2011). A densidade real ( $\rho_t$ ) foi determinada utilizando um picnômetro a gás, modelo AccPyc II 1340 Series Pycnometer (Micromeritics Instrument Co., Norcross, GA). As amostras foram cortadas em pedaços pequenos, pré-equilibradas por 24 h a 0% UR com

---

sulfato de cálcio (W.A. Hammond Drierite, Xenia, OH), e colocadas em um cilindro de 1 mL para as medidas de densidade no equipamento.

A estrutura dos filmes de amido e farinha de pinhão foi analisada através das imagens obtidas por microscopia eletrônica de varredura (MEV) (S-4700, Hitachi Ltd., Tokyo, Japan) das seções transversais. Os pedaços de filmes foram colocados em imersão em nitrogênio líquido, seguida pela quebra do filme com o auxílio de uma navalha previamente refrigerada (também em nitrogênio líquido). Os pedaços de filme foram retirados do banho de nitrogênio líquido e colocados em uma placa de Petri contendo um pedaço de papel filtro e colocados em dessecador para secar a temperatura ambiente (0% UR). As amostras foram montadas sobre *stubs* de alumínio com uma fita dupla face de carbono (Ted Pella Inc., Pleasanton, CA) de forma a observar a seção transversal dos filmes. As amostras foram então cobertas com ouro (Desk II, Denton Vacuum, Moorestown, USA) por 45 s para aumentar a condutividade. As micrografias das superfícies foram tiradas em baixa em alta ampliação (1.00k x). O MEV foi operado em um potencial de aceleração de 2 kV.

A temperatura de transição vítrea dos filmes foi determinada através de termogramas obtidos por calorimetria diferencial de varredura (DSC - *Differential Scanning Calorimetry*). Os filmes foram analisados utilizando o DSC 8000 (Perkin Elmer Inc, Waltham MA, USA). As amostras (6–10 mg) foram pesadas em panelinhas de alumínio e seladas hermeticamente e uma panelinha vazia foi utilizada como referência. A faixa de temperatura utilizada foi de 20 a 100 °C com uma taxa de aquecimento de 10 °C/min, utilizando nitrogênio como gás de purga a 20 mL/min. Os filmes analisados estavam a  $28 \pm 2\%$  UR antes das análises.

A permeabilidade a vapor d'água (PVA) foi medida pelo método gravimétrico baseado na ASTM E96-92 de acordo com McHugh *et al.* (1993). Para a realização dos testes, as cabines utilizadas foram mantidas a temperatura controlada de  $25 \pm 1$  °C. As velocidades dos ventiladores foram ajustadas para atingir velocidade de 152 m/min a fim de garantir a umidade relativa (UR) de 0% sobre os filmes ao longo das cabines. As cabines foram pré-equilibradas a 0% UR utilizando sulfato de cálcio anidro (W.A. Hammond Drierite, Xenia, OH). Foram utilizados copos de teste circulares feitos de polimetilmetacrilato (Plexiglas™). Um filme a  $28 \pm 2\%$  UR foi selado à base do copo com um anel contendo uma abertura de 20,3 cm<sup>2</sup> utilizando 4 parafusos localizados simetricamente ao redor da circunferência do copo. Ambos os lados do filme foram selados com silicone. Água destilada (6 mL) foi colocada no interior dos copos de teste para expor os filmes à alto % de UR dentro dos copos.

A altura média da camada de ar entre a superfície da água e o filme foi considerada para estimar o % UR no interior dos copos. Os copos de teste contendo os filmes foram então pesados para se obter o peso inicial e colocados nas cabines com 0% UR. Cada copo foi pesado 8 vezes em intervalos de pelo menos 2 h. Oito replicatas de cada filme foram testadas, o % UR na parte interior dos copos e no topo foram estimadas e as PVAs calculadas utilizando o Método de Correção de PVA (McHugh *et al.*, 1993).

A PVA dos filmes foi calculada pela multiplicação da taxa de transmissão de vapor de água no estado estacionário pela média da espessura do filme e dividindo pela diferença da pressão parcial de vapor d'água através dos filmes, conforme a Eq. (17):

$$PVA = \frac{(TTVA)(espessura)}{(p_{A1} - p_{A2})} \quad (17)$$

onde TTVA = taxa de transmissão de vapor de água e  $p_{A1}$  e  $p_{A2}$  = pressão parcial de vapor de água dentro e fora do filme em um copo, respectivamente.

As propriedades mecânicas dos filmes foram medidas utilizando filmes de dimensões retangulares de acordo com a norma D882-12 da ASTM. Os filmes foram cortados com 13 mm de largura, 100 mm de comprimento, deixando uma seção quadrada de 25 mm por 35 mm em cada ponta. Antes da realização das medidas os filmes foram condicionados em uma cabine contendo solução saturada de  $MgNO_3$  ( $A_w = 0.529 \pm 0.002$  a 25 °C) a 25 °C por 48 h. As propriedades mecânicas foram medidas utilizando o equipamento Instron, Modelo 55R 4502 (Instron, Canton, MA, U.S.A.) com uma célula de 100 N de carga onde foram determinadas a tensão máxima (TM), a alongação durante a ruptura (E), e módulo de Young (MY). A velocidade do teste foi de 25 mm/min e a distância inicial de 100 mm. As propriedades mecânicas foram calculadas a partir do gráfico de tensão (força/área inicial da seção de corte) pela deformação (extensão como uma fração do comprimento original) (Pérez-Gago & Krochta, 2001). O Módulo de Young foi obtido pela razão da tensão pela deformação na porção linear inicial da curva. A alongação máxima foi calculada dividindo a extensão na ruptura dos filmes pelo comprimento inicial da amostra e multiplicando por 100 (para ter o resultado em percentual).

Os parâmetros de cor  $L^*$ ,  $a^*$  e  $b^*$  e opacidade dos filmes ( $28 \pm 2\%$  UR) foram medidos utilizando um colorímetro (CM-3500d Minolta Spectrophotometer, Minolta, Inc., Tóquio, Japão). O equipamento foi configurado utilizando iluminante D65 com abertura de

8 mm e 10° de ângulo observador padrão. O instrumento foi calibrado antes do uso e os valores de cor foram expressos como  $L^*$  (luminosidade),  $a^*$  (vermelho/verde) e  $b^*$  (amarelo/azul). A opacidade ( $Y$ ) foi calculada como a razão entre a opacidade de cada amostra frente ao padrão preto ( $Y_b$ ) e ao padrão branco ( $Y_w$ ). Os parâmetros  $Y_b$  e  $Y_w$  foram determinados em três filmes com os padrões preto e branco atrás dos filmes, respectivamente, em 3 posições aleatórias e expressos em percentual (Eq.(18)):

$$Y (\%) = \frac{Y_b}{Y_w} \quad (18)$$

A espectroscopia de infravermelho de transformada de Fourier (Fourier transform infrared - FTIR) foi utilizada para identificar a estrutura química dos filmes de amido e farinha de pinhão ( $28 \pm 2\%$  UR) e possíveis interações entre seus componentes. As amostras foram analisadas em um equipamento de FTIR (Nicolet iS10 FT-IR Spectrometer, Thermo Scientific, USA) onde foram obtidos espectros na faixa de comprimento de onda entre 500 e 4000  $\text{cm}^{-1}$  utilizando 16 scans na resolução de 1  $\text{cm}^{-1}$ . Antes de analisar os filmes foi registrado um espectro de fundo de feixe aberto do cristal limpo (*background*). A análise dos dados de cada filme foi feita utilizando o programa Thermo Scientific™ OMNIC™ (OMNIC™ Series Software, Madison, WI, USA).

Os resultados desta etapa (item 4.3.2.) foram analisados utilizando Análise de Variância (ANOVA) e teste de Tukey ( $p < 0,05$ ) com o software Minitab, versão 14.12.0 (Minitab Inc., State College, PA, USA) e estão expressos juntamente com as discussões e conclusões parciais no Capítulo 6, item 6.2.

#### ***4.3.3. Influência da adição de casca de pinhão no desenvolvimento de filmes comestíveis à base de farinha de pinhão***

Foram desenvolvidas seis formulações diferentes de filmes utilizando a mesma metodologia descrita no item 4.3.2, sendo uma formulação controle, contendo 5% de farinha de pinhão e 1,5% de glicerol (H0) e para as demais formulações foram adicionados 0,5%, 1,0%, 1,5%, 2,0% e 2,5% de casca moída (H05, H10, H15, H20 e H25, respectivamente).

Os filmes foram caracterizados quanto à espessura, cor, porosidade aparente, PVA, propriedades mecânicas, MEV e FTIR utilizando os mesmos métodos já descritos anteriormente (item 4.3.3.).

---

Os fenólicos solúveis totais (FST) dos filmes foram analisados de acordo com Swain & Hillis (1959) com algumas modificações. Os filmes foram moídos em um moedor de café (Modelo DCG-20N, Cuisinart, East Windsor, NJ, USA) e 1 g de filme moído foi homogeneizado com 20 mL de metanol com o auxílio de um vortex (Benchmark Scientific Inc., Edison, NJ, USA) por 15 s. Os tubos foram tampados e estocados por 20 h a 4 °C. As soluções foram então centrifugadas (Rotor SA-600, Sorvall, RC 5C Plus, Kendro Laboratory Products, Newtown, CT, USA) a 29.000 x g por 15 min a 4 °C. Alíquotas de 250 µL de amostra foram retiradas do sobrenadante e diluídas com 2300 µL de água nano pura, seguida por 150 µL de Folin-Ciocalteu 0,25 N e incubadas por 3 min a temperatura ambiente. A reação foi interrompida pela adição de 300 µL de solução de Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> 1N e a mistura foi incubada por 25 min. A leitura da absorbância foi realizada a 725 nm utilizando um espectrofotômetro (UV-1700, SHIMADZU Scientific Instruments, Inc., Columbia, MD, USA). Um branco foi preparado com metanol e utilizado como controle. FST para cada filme foi determinado utilizando a curva padrão (0-0,125 mg/mL) desenvolvida com ácido gálico (AG) e expressa como mg GAE/g filme (miligrama de ácido gálico equivalente por grama de filme) (Anexo A, item A.3).

O método utilizado para medir a capacidade antioxidante dos filmes de farinha de pinhão foi adaptado de Brand-Willians *et al.* (1995). O mesmo extrato de metanol utilizado para FST foi utilizado para a análise de atividade antioxidante. Uma alíquota de 75 µL deste extrato reagiu com 2925 µL de 1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH, 103,2 µM em metanol, absorbância de aproximadamente 1,2 a 515 nm) e mantido coberto em um shaker (HS 250 basic, IKA Labortechnik, Staufen, Alemanha) a temperatura ambiente, por 20 h. A capacidade antioxidante foi calculada pela medida da diminuição em absorbância das soluções a 515 nm, e expressa como mg Trolox/g filme calculada através da curva de calibração de Trolox (Anexo A, item A.4).

A fibra dietética, solúvel e insolúvel, foi analisada através do método enzimático-gravimétrico da AOAC (Official Method 991.43, 2005). As amostras avaliadas foram a farinha de pinhão, a casca de pinhão, o filme controle de farinha de pinhão (H0) e o filme contendo 1,5% de casca de pinhão (H15). As análises foram realizadas no laboratório Covance (Madison, WI, USA).

Os resultados desta etapa (item 4.3.3.) foram analisados utilizando Análise de Variância (ANOVA) e teste de Tukey ( $p < 0,05$ ) com o software Minitab, versão 14.12.0

(Minitab Inc., State College, PA, USA) e estão expressos no Capítulo 6, item 6.3, juntamente com as discussões e conclusões parciais.

#### ***4.3.4. Comparação entre filme à base de amido de pinhão e amidos comerciais com diferentes teores de amilose***

Os amidos utilizados para desenvolvimento dos filmes nesta etapa foram: amido de pinhão (~23% amilose) previamente extraído, amido de mandioca (~17% amilose) e dois tipos de amido de milho com alto teor de amilose, Hylon V (~55% amilose) e Hylon VII (~70% amilose). Os amidos comerciais foram doados pela empresa National Starches (Ingredion Inc., Bidgewater, NJ, USA). Como os amidos com maior quantidade de amilose necessitam de temperaturas maiores que 100 °C para gelatinizar, foi necessário o desenvolvimento de uma metodologia diferente da utilizada nas etapas anteriores. Amido (5% m/m) e água destilada foram adicionados na câmara de um reator a alta pressão (Pressure Reactor Parr, 4843). A mistura foi agitada (~300 rpm) e aquecida até atingir 140°C. Após 5 min nesta temperatura, a câmara foi resfriada a 80 °C para retirada da solução. Glicerol foi adicionado (40% com base na quantidade de amido (m/m)) na solução ainda quente sob agitação (300 rpm). O percentual de glicerol em 40% foi fixado para todas as formulações a fim de estudar a influência do tipo de amido utilizado nas características dos filmes. Esta foi a menor quantidade testada para que, nas condições estudadas, o amido de milho com 70% de amilose tivesse capacidade de formação de filme. As soluções foram degaseificadas com o uso de uma bomba de vácuo e moldadas em placas de vidro a uma espessura úmida de 1,14 mm com o auxílio de uma barra de espalhamento; as placas foram deixadas em uma superfície nivelada a temperatura ambiente para secar por 48 h. Todas as formulações seguiram o mesmo procedimento. Os filmes desenvolvidos com amido de mandioca, amido de pinhão, amido de milho Hylon V e amido de milho Hylon VII foram denominados MAN (17/83), PIN (23/76), H-V (55/45) e H-VII (70/30), respectivamente.

Os filmes formados foram caracterizados quanto à espessura, PVA, propriedades mecânicas, porosidade aparente, FTIR, MEV, cor e opacidade conforme descrito anteriormente. A cor foi expressa como a diferença total de cor ( $\Delta E$ ) de acordo com a equação seguinte (Galus & Lenart, 2013) (Eq.(19)):

$$\Delta E = \sqrt{(\Delta L^*)^2 + (\Delta a^*)^2 + (\Delta b^*)^2} \quad (19)$$

onde  $\Delta L^*$ ,  $\Delta a^*$  e  $\Delta b^*$  são as diferenças entre o parâmetro de cor da amostra e do padrão ( $L^* = 98,74$ ,  $a^* = -0,17$ ,  $b^* = -0,36$ ) utilizado como fundo do filme.

As isotermas de adsorção foram obtidas com a utilização de um analisador de sorção dinâmica de vapor (do inglês, DVS - *dynamic vapor sorption analyzer*) (DVS-1, Surface Measurement Systems, Allentown, PA). Cada filme foi submetido a várias condições de umidade relativa e a resposta da amostra foi medida gravimetricamente com o tempo até a amostra atingir o equilíbrio. As amostras foram expostas a faixa de umidade de 0 a 98%, a 25 °C.

O modelo de Guggenheim-Anderson-de Boer (GAB) (Eq.(20)) foi utilizado para representar experimentalmente os dados de equilíbrio. Nesta equação o parâmetro  $X_w$  é a umidade de equilíbrio (g de água/g de massa seca),  $X_m$  é o conteúdo de umidade da monocamada,  $C$  é a constante de Guggenheim, que representa o calor de sorção da primeira camada, e  $k$  é a constante que representa o calor de sorção da multicamada. Os parâmetros do modelo de GAB foram determinados por regressão polinomial utilizando o software Statistica 8.0 para Windows (Statistica 8.0; Stat-soft, Tulsa, OK, USA).

$$X_w = \frac{X_m \cdot C \cdot k \cdot a_w}{[(1 - k \cdot a_w)(1 - k \cdot a_w + C \cdot k \cdot a_w)]} \quad (20)$$

Após determinar o valor da umidade de monocamada ( $X_m$ ), a área de superfície específica dos filmes de amido pode ser calculada através da Eq. (21) (Toğrul & Arslan, 2007).

$$S = \frac{X_m \cdot N \cdot A_m}{M} \quad (21)$$

onde  $X_m$  é a umidade de monocamada (da equação de GAB),  $M$  é o peso molecular do componente adsorvido (água),  $A_m$  é a área ocupada por uma molécula de água e  $N$  é o número de Avogadro.

Amostras de cada filme desenvolvido (aproximadamente 4 mg) foram analisadas quanto à sua estabilidade térmica utilizando um analisador de termogravimetria (Pyris 1 TGA, Perkin Elmer, Llantrisant, Reino Unido). Os filmes foram submetidos a temperaturas de 25 °C a 700 °C, com uma taxa de aquecimento de 10 °C/min e N<sub>2</sub> como gás de purga com fluxo de 40 cm<sup>3</sup>/min. A perda de massa das amostras foi determinada como uma função da temperatura. As curvas derivadas de TGA foram obtidas utilizando o software Pyris 1 TGA.

A medida da tensão superficial das soluções utilizando um tensiômetro de força foi realizada (modelo K100, Krüss, Alemanha). Para isso, as soluções foram preparadas utilizando o mesmo procedimento para o desenvolvimento dos filmes e deixadas em repouso para resfriar. As medidas foram realizadas a temperatura ambiente, 48 h após a preparação das soluções. O equipamento foi configurado para utilizar velocidade de detecção de 10 mm/min, sensibilidade de detecção de 0,005 g, profundidade de imersão da placa de 2,00 mm e máximo tempo de medida de 300 s.

Os resultados desta etapa (item 4.3.4.) foram analisados utilizando Análise de Variância (ANOVA) e teste de Tukey ( $p < 0,05$ ) com o software Minitab, versão 14.12.0 (Minitab Inc., State College, PA, USA) e estão expressos juntamente com as discussões e conclusões parciais no Capítulo 6, item 6.4.

---

## **Apresentação aos capítulos 5 e 6 - Resultados e Discussão**

Os resultados e discussão, assim como as conclusões parciais das duas etapas do presente trabalho são apresentados separadamente nos capítulos 5 e 6.

O capítulo 5 corresponde à primeira parte do trabalho, onde é abordado o desenvolvimento de cosméticos utilizando amido de pinhão e extrato aquoso da casca do pinhão. Desta etapa do trabalho foi publicado o artigo *Pinhão starch and coat extract as new natural cosmetic ingredients: Topical formulation stability and sensory analysis* no periódico *Carbohydrate Polymers*, volume 134, páginas 573-580; [doi:10.1016/j.carbpol.2015.08.038](https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2015.08.038). Este artigo teve como foco o desenvolvimento de dois tipos de formulações semissólidas, gel e emulgel, para a veiculação de amido de pinhão e extrato aquoso da casca do pinhão. O objetivo deste trabalho foi avaliar a viabilidade destes produtos através da caracterização evidenciando o estudo da estabilidade através de estresse térmico e análise sensorial dos produtos obtidos. Ainda nesta etapa do trabalho, no capítulo 5, são discutidos os resultados do estudo de possíveis correlações entre os parâmetros reológicos e estruturais das formulações semissólidas desenvolvidas no artigo já publicado ao longo de seis meses de armazenamento.

Os resultados, discussão e conclusões parciais da segunda etapa do trabalho, referente ao desenvolvimento de filmes comestíveis, são apresentados no capítulo 6. Os filmes foram desenvolvidos à base de amido e farinha de pinhão, com e sem adição de casca de pinhão moída, utilizando os plastificantes sorbitol e glicerol. Foi realizado um planejamento experimental composto central 2<sup>2</sup> com pontos axiais a fim de avaliar o efeito da concentração de amido de pinhão e plastificante nas características dos filmes formados bem como possíveis interações e ação plastificante e antiplastificante. Para este planejamento experimental foi utilizado sorbitol como plastificante. Após, os demais filmes desenvolvidos

utilizaram glicerol como plastificante, com os devidos ajustes das concentrações utilizadas e com o objetivo de se utilizar um ingrediente de grau alimentício facilmente disponível no mercado.

Desta etapa do trabalho foi publicado o artigo *Comparative study on properties of edible films based on pinhão (Araucaria angustifolia) starch and flour* no periódico Food Hydrocolloids, volume 60, páginas 279-287, [doi:10.1016/j.foodhyd.2016.03.040](https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2016.03.040). Neste artigo foram desenvolvidos filmes comestíveis à base de amido e farinha de pinhão com adição de diferentes concentrações de glicerol. As características dos filmes com diferentes bases e concentrações de glicerol foram avaliadas e comparadas entre si.

Ainda nesta etapa foi estudada a utilização da semente de pinhão inteira, utilizando a farinha de pinhão cru e a casca seca e moída, também do pinhão cru. O desenvolvimento de filmes com farinha de pinhão e glicerol adicionando diferentes concentrações de casca de pinhão foi motivado com o objetivo de adicionar fibras e compostos fenólicos aos filmes. A concentração de glicerol utilizada foi determinada de acordo com os resultados do artigo desta etapa que já está publicado. Finalmente, foram desenvolvidos filmes à base de amido comercial de diferentes fontes, contendo diferentes concentrações de amilose para comparação com o filme à base de amido de pinhão.

---

## Capítulo 5 - Resultados e Discussão do Desenvolvimento de Cosméticos

### 5.1. Amido de pinhão e extrato da casca de pinhão como novos ingredientes naturais para cosméticos: estabilidade das formulações tópicas e análise sensorial

O objetivo desta parte do estudo foi avaliar o amido de pinhão e o extrato da casca do pinhão como matérias-primas para formulações cosméticas, testando o efeito da sua adição em formulações tipo gel e emulgel. Os produtos obtidos foram comparados com formulações controles feitas com os mesmos ingredientes sem adição do amido e extrato da casca do pinhão. Foram avaliadas as características dos cosméticos através de testes *in vitro* e *in vivo*, incluindo estabilidade frente à exposição a estresse térmico e análise sensorial.

#### 5.1.1. Estabilidade das formulações semissólidas

A estabilidade das formulações semissólidas foi avaliada comparando os resultados das propriedades medidas (pH, conteúdo de compostos fenólicos, atividade antioxidante por ABTS, fator de espalhabilidade (*FE*), e caracterização reológica através da avaliação dos parâmetros *K* e *n*) para as amostras frescas e após os seis ciclos de aquecimento/congelamento. Estes resultados são apresentados na Tabela 11. Os resultados do teste de centrifugação demonstraram que todas as formulações avaliadas, antes e após os ciclos de estresse, foram consideradas estáveis por esse teste. Isto pode ser confirmado porque nenhuma das formulações apresentou separação de fases, cremeação ou coalescência.

Os valores de pH das formulações (Tabela 11) variaram de 6,17 a 6,37, sendo que todas as formulações apresentaram valores na faixa considerada a mais adequada para formulações tópicas, que é entre 4,5 e 7,5 (Leonardi *et al.*, 2002; Casteli *et al.*, 2008). Não foram observadas alterações nos valores de pH das formulações após os ciclos de

aquecimento/congelamento. Este resultado demonstrou que o pH de todas as formulações é estável a variações de temperatura e armazenamento. Os dados também confirmam que a adição do amido de pinhão e do extrato da casca de pinhão nas formulações tipo gel e emulgel mantiveram o pH fracamente ácido durante o estresse térmico.

**Tabela 11.** Variação das propriedades entre as amostras no tempo inicial (amostras frescas) e final (após os seis ciclos de aquecimento/congelamento)\*

Formulações	Tempo	pH	Compostos fenólicos (mg CE/g de amostra)	ABTS ( $\mu\text{M}$ Trolox/g)	FE ( $\text{mm}^2/\text{g}$ )	K (Pa s)	n
GP	Inicial	6,22 $\pm$ 0,04 <sup>b,c</sup>	0,58 $\pm$ 0,05 <sup>c</sup>	632 $\pm$ 34 <sup>b</sup>	4,9 $\pm$ 0,4 <sup>d</sup>	76,6 $\pm$ 0,7 <sup>b</sup>	0,220 $\pm$ 0,001 <sup>d,e</sup>
	Final	6,17 $\pm$ 0,05 <sup>c</sup>	0,54 $\pm$ 0,05 <sup>c</sup>	717 $\pm$ 43 <sup>b</sup>	4,6 $\pm$ 0,6 <sup>d</sup>	92 $\pm$ 3 <sup>a</sup>	0,209 $\pm$ 0,006 <sup>e</sup>
GC	Inicial	6,32 $\pm$ 0,05 <sup>a,b</sup>	-**	-	14 $\pm$ 2 <sup>b</sup>	53,9 $\pm$ 0,3 <sup>c</sup>	0,229 $\pm$ 0,004 <sup>d</sup>
	Final	6,37 $\pm$ 0,05 <sup>a</sup>	-	-	17 $\pm$ 1 <sup>a</sup>	55 $\pm$ 2 <sup>c</sup>	0,228 $\pm$ 0,003 <sup>d</sup>
EP	Inicial	6,32 $\pm$ 0,08 <sup>a,b</sup>	1,5 $\pm$ 0,2 <sup>a</sup>	1471 $\pm$ 243 <sup>a</sup>	5,4 $\pm$ 0,4 <sup>d</sup>	46,6 $\pm$ 0,3 <sup>d</sup>	0,275 $\pm$ 0,002 <sup>c</sup>
	Final	6,25 $\pm$ 0,03 <sup>b,c</sup>	1,49 $\pm$ 0,07 <sup>a</sup>	1605 $\pm$ 249 <sup>a</sup>	7,1 $\pm$ 0,3 <sup>d</sup>	39,7 $\pm$ 0,2 <sup>e</sup>	0,290 $\pm$ 0,004 <sup>b</sup>
EC	Inicial	6,26 $\pm$ 0,05 <sup>a,b,c</sup>	1,0 $\pm$ 0,1 <sup>b</sup>	-	6,7 $\pm$ 0,4 <sup>d</sup>	20,6 $\pm$ 0,3 <sup>f</sup>	0,284 $\pm$ 0,002 <sup>b,c</sup>
	Final	6,37 $\pm$ 0,05 <sup>a</sup>	1,02 $\pm$ 0,05 <sup>b</sup>	-	11,0 $\pm$ 0,6 <sup>c</sup>	18,8 $\pm$ 0,7 <sup>f</sup>	0,333 $\pm$ 0,003 <sup>a</sup>

Formulações gel pinhão (GP), gel controle (GC), emulgel pinhão (EP) e emulgel controle (EC).

FE, fator de espalhabilidade; K, índice de consistência; n, índice de fluxo.

\* Letras iguais na coluna não diferem pelo teste de Tukey ( $p > 0,05$ ).

\*\* O símbolo (-) na linha indica que o conteúdo da substância da respectiva amostra foi abaixo do limite de detecção pelo método utilizado.

A respeito dos compostos fenólicos, as formulações com pinhão (GP e EP) apresentaram um maior conteúdo desses compostos do que seus respectivos controles (GC e EC) devido à utilização do extrato da casca do pinhão. A casca interna do pinhão contém  $345 \pm 7$  mg CE/g b.u. (Cordenunsi *et al.*, 2004) e o extrato aquoso da casca do pinhão contém  $6,55 \pm 0,08$  mg CE/g b.u. (Cladera-Olivera, 2008). Existem muitos extratos naturais que são boas fontes de compostos fenólicos com potencial utilização em cosméticos. Deve-se salientar que esses valores são relacionados ao conteúdo de compostos fenólicos do extrato, não do conteúdo de compostos fenólicos de formulações cosméticas, como foi analisado no presente trabalho. Até onde se conhece, não existem estudos que contemplem valores de compostos fenólicos em formulações cosméticas.

Os compostos fenólicos totais não apresentaram diferença significativa após os ciclos de aquecimento/congelamento, assim como a atividade antioxidante das formulações contendo pinhão também não foi afetada pelo estresse térmico, confirmada pelo resultado dos testes com ABTS (Tabela 11). Adicionalmente, a Tabela 11 demonstra que a formulação EP

---

apresentou maior atividade antioxidante que a formulação GP devido à presença de outros ingredientes com atividade antioxidante, como o óleo de girassol.

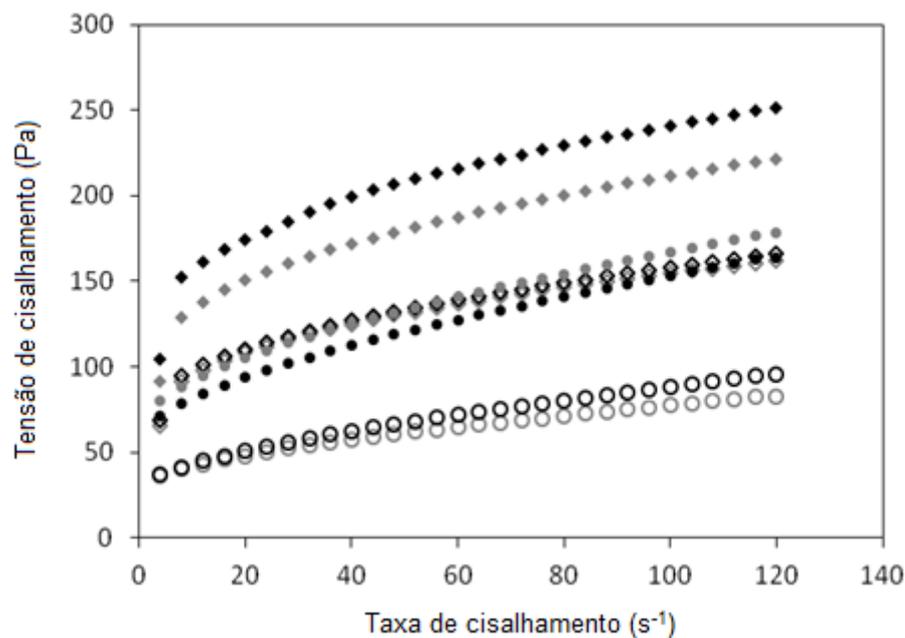
De acordo com Floegel *et al.* (2011), o método de ABTS é considerado uma das melhores correlações com o conteúdo de fenólicos totais de frutas e vegetais. Os vegetais são ricos em substâncias antioxidantes que são utilizadas como proteção natural de radicais livres formados por radiação UV necessária para fotossíntese. Muitos extratos vegetais quando aplicados em modelo animal ou cultura de células neutraliza os radicais reativos, reduzindo o dano celular de proteínas, lipídios e ácidos graxos. Alguns desses componentes extraídos de plantas são polifenóis, flavonoides e indóis (F'Guyer *et al.*, 2003; Nikolic, 2006). A casca do pinhão contém o flavonol quercetina em quantidades significativas em ambas as cascas interna e externa (Cordenunsi *et al.*, 2004).

As formulações GP e EP apresentaram fator de espalhabilidade (*FE*) menor que suas respectivas formulações controle, ou seja, elas espalham menos que seus controles quando uma força é aplicada. Os valores de *FE* dessas formulações ficaram próximos à faixa designada por Milan *et al.* (2007) como a faixa mais adequada para emulsões para tratamento de pele seca, entre 4 e 5 mm<sup>2</sup>/g. Os menores valores de *FE* das formulações contendo pinhão (GP e EP) estão em concordância com a maior viscosidade apresentada por essas amostras quando comparadas às formulações controle (GC e EC, respectivamente), como pode ser observado na Figura 12. Esta maior viscosidade das formulações contendo pinhão pode ser atribuída ao efeito espessante do amido e ao menor conteúdo de água. Além disso, as formulações tipo emulgel (EP e EC) apresentaram menor viscosidade que as respectivas formulações tipo gel (GP e GC, respectivamente). Pode-se observar na Figura 12 também o comportamento pseudoplástico, como confirmado pelos valores menores que 1 para o índice de fluxo (Tabela 11). A pseudoplasticidade é uma característica reológica desejável em formulações cosméticas porque é capaz de melhorar a aplicação e espalhabilidade, promovendo uma sensação agradável (Guaratini *et al.*, 2006).

Os resultados dos testes de varredura de frequência no modo dinâmico são apresentados na Figura 13. Todas as formulações exibiram valores de  $G'$  maiores que os valores de  $G''$  ao longo da frequência aplicada, confirmando o caráter de gel e a boa estabilidade no armazenamento. Este comportamento também foi reportado por Maalej *et al.* (2014) que estudou hidrogel de exopolissacarídeo da *Pseudomonas stutzeri* AS22. A razão  $G'/G''$  foi maior do que 3 para todas as amostras frescas, indicando que todas as amostras

frescas podem ser classificadas como gel forte, de acordo com a classificação de Lapasin & Prici (1995). Após o estresse térmico, GP e GC mantiveram esta razão; entretanto, EP e EC apresentaram esta proporção apenas em baixas frequências, até 400 e 200  $\text{rad.s}^{-1}$ , respectivamente. No geral, as formulações semissólidas com  $G' > G''$  tendem a ser mais estáveis (Brummer, 2006).

**Figura 12.** Comportamento pseudoplástico das formulações semissólidas.



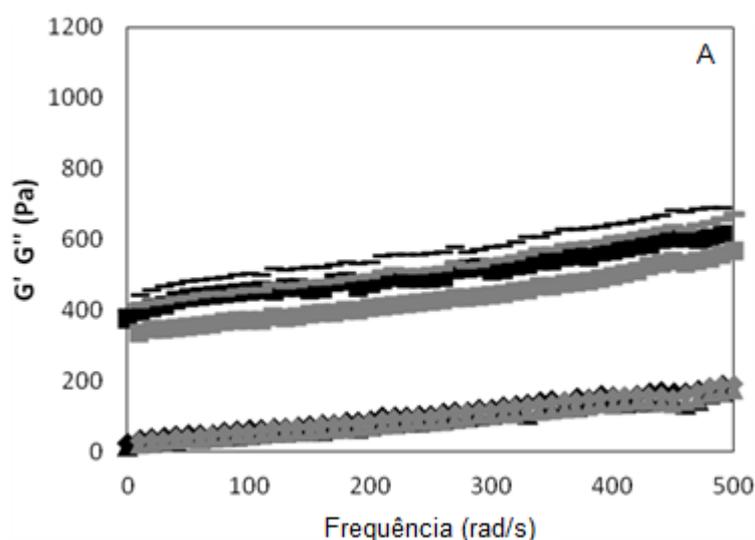
GP (◆ inicial; ♦ final); GC (◇ inicial; ◇ final); EP (● inicial; ● final); e EC (○ inicial; ○ final). As curvas representam a média de 3 replicatas ( $n = 3$ ).

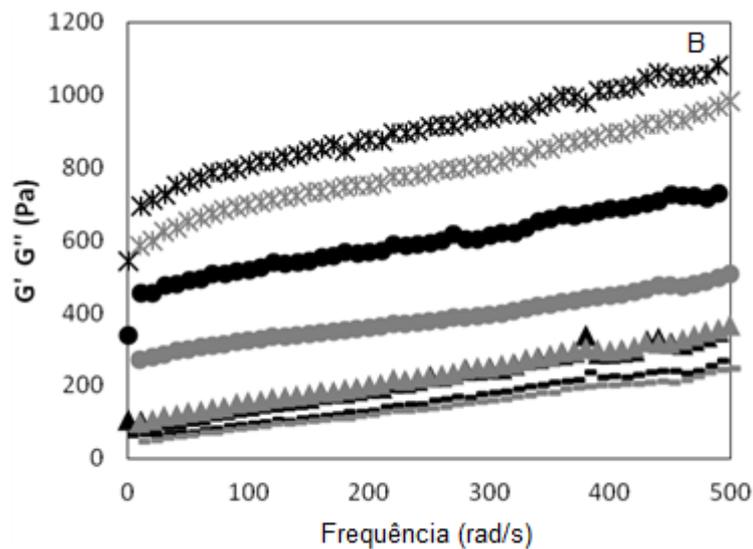
Em relação à estabilidade das formulações, o fator de espalhabilidade ( $FE$ ) das formulações com pinhão (GP e EP) não apresentaram diferença significativa ( $p > 0,05$ ) após os ciclos de aquecimento/congelamento, ao contrário das formulações controle.

O efeito dos ciclos de estresse térmico nos parâmetros reológicos obtidos nos modos estacionário e dinâmico foi diferente do efeito do fator de espalhabilidade. A formulação GP apresentou a maior variação de viscosidade após os ciclos de estresse térmico, com um aumento de viscosidade como indicado pelos valores de  $K$  na Tabela 11. Este comportamento pode ser observado após condições de estresse obtidas por emulsificantes, polímeros espessantes e ceras (Guaratini *et al.*, 2006; Casteli *et al.*, 2008; Kulkamp-Guerreiro *et al.*, 2012). É provável que este comportamento esteja relacionado à evaporação da água das

formulações (Pianovski *et al.*, 2008) causando um aumento da concentração do agente espessante (neste caso o amido de pinhão). A formulação GP tem os polímeros Carbopol 940 e amido de pinhão juntos. O amido de pinhão tem a capacidade de formar géis na presença de água e aquecimento. A combinação destes dois polímeros que formam géis pode resultar em maiores viscosidades e maiores variações de viscosidade provavelmente devido à simbiose entre eles. Entretanto, a formulação tipo emulgel contendo pinhão (EP) apresenta comportamento oposto, com uma diminuição da viscosidade após os ciclos de aquecimento/congelamento. Ainda que esta formulação contenha os mesmos polímeros, Carbopol 940 está presente em uma menor proporção e existe uma emulsão com uma fase oleosa na formulação. É possível observar uma diminuição na viscosidade após o estresse térmico, mas a formulação não apresentou separação de fases ou coalescência. Diferenças relativas ao comportamento observado para o fator de espalhabilidade foram também encontradas no módulo dinâmico. Para todas as formulações, o módulo viscoso ( $G''$ ) não foi afetado pelo estresse térmico. Porém, as amostras EC e EP apresentaram uma maior perda do módulo elástico ( $G'$ ) após o estresse térmico.

**Figura 13.** Testes de varredura de frequência para as formulações tipo gel (A) e emulgel (B).





GP ( —G' inicial; ◆G'' inicial; =G' final; ◆G'' final) e GC ( ■G' inicial; ▲G'' inicial; ■G' final; ▲G'' final) no gráfico A e EP ( ✕G' inicial; ▲G'' inicial; ✕G' final; ▲G'' final) e EC ( ●G' inicial; ■G'' inicial; ●G' final; =G'' final) no gráfico B. As curvas representam a média de 3 replicatas (n = 3).

Os resultados discutidos nos dois últimos parágrafos indicam que não há uma correlação direta entre o fator de espalhabilidade e as funções reológicas medidas do material. Esta falta de correlação poderia ser uma consequência do fato que os padrões de fluxo no teste de espalhabilidade, ao contrário do que ocorre no fluxo entre placas paralelas (usadas para determinar viscosidade,  $G'$  e  $G''$ ), não é apenas tensão de cisalhamento, contendo uma contribuição de alongação relevante.

Diferentes fontes de grânulos de amido têm sido estudadas em relação à sua capacidade de estabilizar emulsões. No geral, moléculas de amido são hidrofílicas e grânulos de amido nativo na maioria dos casos não são adequados para adsorver a interface óleo-água de uma emulsão (Rayner *et al.*, 2014). No entanto, como outros estudos que utilizaram com sucesso grânulos de amido nativo para estabilizar emulsões (Timgren *et al.*, 2011; Li *et al.*, 2013), o amido de pinhão nativo foi gelatinizado durante o desenvolvimento das formulações demonstrando ser uma boa fonte de amido para estabilizar emulsões e aumentar a viscosidade do gel e emulgel.

### 5.1.2. Análise sensorial e propriedades cosméticas

A análise sensorial é considerada uma garantia de qualidade por ser uma medida multidimensional integrada, tendo importantes vantagens como ser capaz de avaliar como

vários provadores gostam ou desgostam de um produto, definir características sensoriais importantes de um produto rapidamente através da capacidade de detectar características que poderiam não ser mensuradas por procedimentos analíticos, como a aceitação pelo consumidor (Muñoz *et al.*, 1992).

Os resultados da análise sensorial discriminativa para as formulações tipo gel, GP e GC, são apresentadas na Tabela 12. Dentre os parâmetros sensoriais considerados, o painel foi capaz de diferenciar as amostras apenas em relação ao atributo pegajosidade. Para esta característica, GP foi considerada mais intensa pela maioria dos julgadores. Este parâmetro pôde ser percebido provavelmente devido à maior viscosidade e valor de *K* (Tabela 11) desta formulação. Na análise sensorial discriminativa o foco é a diferença entre atributos específicos de diferentes amostras. É possível ter duas amostras de formulações diferentes e, mesmo assim, essa diferença não ser percebida pelos consumidores (Lawless & Heymann, 2010).

**Tabela 12.** Análise sensorial discriminativa com voluntários para as formulações semissólidas tipo gel

Parâmetro	Número de vezes que os voluntários perceberam diferença entre as amostras		Amostra considerada mais intensa para cada parâmetro
	Número	%	
Espalhabilidade	26	54,2	-
Oleosidade	28	58,3	-
Pegajosidade	41*	85,4	GP
Pegajosidade residual	10	20,8	-
Filme aveludado	30	62,5	-
Filme aveludado residual	27	56,2	-
Percepção	25	52,1	-

\* Representa diferença estatística com no mínimo 95% de confiança.

Os resultados correspondentes para as formulações tipo emulgel estão apresentadas na Tabela 13. Os atributos sensoriais para estas formulações foram muito mais afetados pela presença dos componentes do pinhão na formulação, uma vez que os julgadores perceberam diferenças em quase todos os parâmetros avaliados. De acordo com as respostas obtidas, EP foi caracterizada como tendo uma maior capacidade de espalhamento na pele, menor pegajosidade, melhor sensação de filme aveludado e menor percepção na pele após 5 min da aplicação. A formulação EP espalha melhor e não deixa sensação residual na pele.

Os grânulos de amido de pinhão têm tamanho médio de partícula de aproximadamente 15 µm, têm forma arredondada e/ou oval, com superfície lisa, são insolúveis em água fria, mas podem gelatinizar em baixas temperaturas, entre 50°C e 60°C. A cor do pó é branca e

apresenta cristalinidade parcial (Daudt *et al.*, 2014). Estas são boas características para utilizar o amido de pinhão em cosméticos como melhorador de viscosidade e sensorial, como percebido pelos voluntários. Além disso, a baixa temperatura de gelatinização poderia ser uma boa abordagem econômica para as indústrias de cosméticos que utilizam amido gelatinizado.

**Tabela 13.** Análise sensorial discriminativa com voluntários para as formulações semissólidas tipo emulgel

Parâmetro	Número de vezes que os voluntários perceberam diferença entre as amostras		Amostra considerada mais intensa para cada parâmetro
	Número	%	
Espalhabilidade	36*	75,0	EP
Oleosidade	26	54,2	-
Pegajosidade	37*	77,1	EC
Pegajosidade residual	31*	64,6	EC
Filme aveludado	32*	66,7	EP
Filme aveludado residual	37*	77,1	EP
Percepção	34*	70,8	EC

\* Representa diferença estatística com no mínimo 95% de confiança.

Todas as formulações avaliadas não demonstraram diferença significativa nas medidas de eritema realizadas na pele tratada e não tratada, indicando que todas as formulações foram bem toleradas e não induziram qualquer irritação visível na pele. As características dos grânulos de amido de pinhão podem ajudar a formulação a ser mais bem aceita pelos voluntários. Estes resultados também demonstraram que o extrato da casca do pinhão não causou intolerância e pode ser utilizado na pele humana.

Os valores do pH da pele após a aplicação das formulações desenvolvidas ficaram na faixa entre 5,4 e 5,8, sem diferença estatística entre as formulações e a área da pele não tratada, indicando que seu uso não causou alteração significativa neste parâmetro. Assim, em relação a esse parâmetro, as formulações estudadas são apropriadas para o uso cosmético e estão na faixa considerada de pele saudável (pH entre 4,6 e 5,8) (Leonardi *et al.*, 2002).

### 5.1.3. Conclusões

Os resultados contribuíram para o entendimento da estabilidade física e química dos cosméticos através da utilização de estresse térmico para prever possíveis mudanças nestes produtos. O pinhão, na forma de amido e extrato da casca, foi adicionado nas formulações

---

tipo gel e emulgel com sucesso melhorando a estabilidade da espalhabilidade e aumentando a viscosidade nas formulações controle. Através do teste de estabilidade pelo estresse térmico é possível afirmar que todas as formulações demonstraram estabilidade e mantiveram os aspectos físicos e comportamento reológico, o que é muito importante no desenvolvimento de formulações tópicas.

Esta nova fonte de amido em cosméticos tem boas características para ser utilizada nesses tipos de formulações estudadas, com a vantagem de fazer o uso racional de uma espécie não explorada na indústria cosmética. O pinhão é uma boa fonte de amido e a incorporação da casca (que é normalmente descartada como resíduo) na formulação como um extrato pode ser uma fonte de compostos fenólicos (flavonoides e taninos) com potencial atividade antioxidante. Foram obtidos valores substanciais de compostos fenólicos e atividade antioxidante nas formulações com pinhão, mas mais estudos são necessários para afirmar essa atividade na pele humana.

Além disso, o estudo com voluntários demonstrou que as formulações não induziram qualquer irritação na pele ou alteração do pH cutâneo. Finalmente, a análise sensorial permitiu concluir que a formulação tipo emulgel é o melhor veículo para adicionar o amido de pinhão e o extrato da casca do pinhão.



## 5.2. Estabilidade de formulações tópicas com pinhão e correlações entre parâmetros reológicos e físicos

O objetivo principal desta parte do estudo foi avaliar a estabilidade durante o armazenamento de dois tipos de formulações tópicas (gel e emulgel) contendo amido de pinhão e extrato da casca do pinhão e seus respectivos controles (sem os derivados do pinhão), através da monitoração com o tempo dos parâmetros reológicos, físicos e morfológicos. Para avaliar a existência de possíveis correlações entre os parâmetros ao longo de seis meses de armazenamento foi realizada uma análise de correlação de Pearson.

### 5.2.1. Estabilidade das formulações ao longo de seis meses

Os parâmetros reológicos obtidos para as formulações semissólidas durante o tempo de armazenamento avaliado estão apresentados na Tabela 14. Estes parâmetros são utilizados para caracterizar produtos de uso tópico e avaliar sua estabilidade (Soriano *et al.*, 2001; Guaratini *et al.*, 2006; Gianeti *et al.*, 2012). As formulações analisadas demonstraram pequena variação com o tempo, demonstrando estabilidade nas condições em que foram armazenadas.

**Tabela 14.** Parâmetros reológicos das formulações semissólidas ao longo do tempo de armazenamento\*. Números após os símbolos das amostras indicam o tempo de armazenamento em meses.

<i>Amostra</i>	<i>K (Pa.s)</i>	<i>n</i>	<i>η<sub>100</sub> (Pa.s)</i>	<i>Q</i>
GC <sub>0</sub>	70,3±0,9 <sup>b,c</sup>	0,206±0,005 <sup>d</sup>	1,89±0,04 <sup>c</sup>	243±5 <sup>a</sup>
GC <sub>2</sub>	73±2 <sup>b</sup>	0,215±0,008 <sup>d</sup>	1,96±0,02 <sup>b</sup>	186±11 <sup>b</sup>
GC <sub>4</sub>	73±1 <sup>b</sup>	0,220±0,007 <sup>d</sup>	2,01±0,04 <sup>b</sup>	200±5 <sup>b</sup>
GC <sub>6</sub>	75,3±0,2 <sup>a,b</sup>	0,2174±0,0004 <sup>d</sup>	2,05±0,01 <sup>a,b</sup>	206±14 <sup>b</sup>
GP <sub>0</sub>	62,2±0,8 <sup>d</sup>	0,229±0,002 <sup>c,d</sup>	1,78±0,02 <sup>c</sup>	161±10 <sup>c</sup>
GP <sub>2</sub>	70±2 <sup>b,c</sup>	0,227±0,002 <sup>c,d</sup>	2,00±0,05 <sup>b</sup>	154±11 <sup>c</sup>
GP <sub>4</sub>	67±2 <sup>c,d</sup>	0,233±0,006 <sup>c,d</sup>	1,96±0,07 <sup>b</sup>	151±4 <sup>c</sup>
GP <sub>6</sub>	81±4 <sup>a</sup>	0,213±0,006 <sup>d</sup>	2,15±0,04 <sup>a</sup>	142,2±0,2 <sup>c</sup>
EC <sub>0</sub>	34±3 <sup>g,h</sup>	0,29±0,02 <sup>a,b</sup>	1,26±0,02 <sup>f</sup>	91±1 <sup>d,e,f</sup>
EC <sub>2</sub>	30±2 <sup>h</sup>	0,31±0,02 <sup>a</sup>	1,26±0,02 <sup>f</sup>	89±3 <sup>d,e,f</sup>
EC <sub>4</sub>	30,8±0,7 <sup>h</sup>	0,307±0,006 <sup>a</sup>	1,27±0,01 <sup>f</sup>	95±4 <sup>d,e</sup>
EC <sub>6</sub>	32±2 <sup>h</sup>	0,30±0,01 <sup>a</sup>	1,29±0,01 <sup>e,f</sup>	102±2 <sup>d</sup>
EP <sub>0</sub>	46±1 <sup>e</sup>	0,269±0,006 <sup>b</sup>	1,59±0,01 <sup>d</sup>	75±3 <sup>f</sup>
EP <sub>2</sub>	41±1 <sup>e,f</sup>	0,267±0,008 <sup>b</sup>	1,39±0,02 <sup>e</sup>	78±3 <sup>e,f</sup>
EP <sub>4</sub>	38,8±0,6 <sup>f,g</sup>	0,266±0,003 <sup>b</sup>	1,32±0,01 <sup>e,f</sup>	79±2 <sup>e,f</sup>
EP <sub>6</sub>	40±2 <sup>e,f</sup>	0,26±0,02 <sup>b,c</sup>	1,32±0,02 <sup>e,f</sup>	74±3 <sup>f</sup>

GC: gel controle; GP: gel pinhão; EC: emulgel controle; EP: emulgel pinhão. *K*: índice de consistência; *n*: índice de fluxo; *η<sub>100</sub>*: viscosidade aparente na taxa de 100 s<sup>-1</sup>; *Q*: fator de qualidade.

\* Médias seguidas por letras diferentes na mesma coluna apresentam diferença significativa (p < 0,05) de acordo com o teste de Tukey.

O índice de fluxo,  $n$ , permaneceu constante ao longo do tempo de armazenamento para todas as formulações. As formulações tipo gel e emulgel mantiveram o fluxo com o tempo e um comportamento pseudoplástico foi observado (Tabela 14,  $n < 1$ ). O índice de consistência,  $K$ , não apresentou variação com o tempo para as formulações controle, enquanto que para a formulação GP foi observado um aumento com o tempo e para a formulação EP, uma diminuição deste parâmetro. Todos os valores de  $K$  encontrados neste trabalho são maiores do que aqueles encontrados por Vianna-Filho *et al.* (2013) para emulsões contendo diferentes tipos de polissacarídeos durante o armazenamento (de 1,6 a 5,6 Pa.s<sup>-1</sup>). Comparando EC com EP pode-se observar maiores valores de  $K$  na formulação EP, demonstrando que a adição dos ingredientes ativos do pinhão pode modificar o índice de consistência. Quanto maior o valor de  $K$ , mais consistente é a formulação cosmética.

Os valores de  $\eta_{100}$  encontrados para as formulações em estudo (Tabela 14) estão em concordância com aqueles apresentados por Corrente *et al.* (2009), que reportaram valores menores que 10 Pa.s em taxas de cisalhamento acima de 10 s<sup>-1</sup> para hidrogéis, e Pianovski *et al.* (2008) que apresentaram valores de  $\eta_{100}$  variando de 1,5 a 1,7 Pa.s para formulações emulsionadas. No geral, a  $\eta_{100}$  de cremes pode variar de 0,2 a 7,7 Pa.s, dependendo dos ingredientes e processos utilizados (Gilbert *et al.*, 2013). Além disso, a viscosidade aparente na taxa de cisalhamento de 100 s<sup>-1</sup> não apresentou diferença significativa ao longo do tempo de armazenamento para formulação EC.  $\eta_{100}$  aumentou com o tempo para as formulações GC e GP (aproximadamente 8% e 20%, respectivamente) e diminuiu para a formulação EP (em torno de 20%). Apesar desta variação apresentada, comparando os mesmos tempos para as formulações emulsionadas, a formulação contendo os componentes do pinhão apresentou maior viscosidade aparente.

Todas as formulações apresentaram comportamento viscoelásticos, com valores de  $G'$  maiores que  $G''$  (dados não apresentados). As formulações tipo gel, GC e GP, apresentaram os maiores valores de  $Q$ , indicando que as amostras possuem fortes interações intermoleculares. Por outro lado, os menores valores de  $Q$  das formulações tipo emulgel, EC e EP, indicam uma estrutura mais flexível e menos densa quando comparadas às formulações tipo gel, que está em concordância com os maiores valores de índice de consistência para as formulações tipo gel (Tabela 14). Considerando o tempo de armazenamento, apenas a formulação GC apresentou uma diminuição significativa do tempo inicial para o segundo mês de armazenamento, permanecendo sem alterações durante os demais meses analisados. Este resultado está em concordância com Shawesh *et al.* (2003) que em seu estudo de estabilidade

de géis de indometacina Carbopol EDT 2001 com o tempo demonstraram que as formulações contendo apenas Carbopol (isto é, sem outros componentes poliméricos e emulsificantes utilizados em conjunto) apresentaram maior variação com o tempo de armazenamento. Este comportamento foi atribuído a um provável retardamento da formação da estrutura e ligações intermoleculares na formulação contendo apenas Carbopol.

Comparando a formulação GC com GP observa-se uma redução de  $Q$  com adição do amido, que pode ser indicativo de redução das forças de ligação intramolecular. Na formulação GP a relação entre Carbopol 940 e amido de pinhão é de aproximadamente 1:5 (m:m). Nesta condição as carbonilas do ácido acrílico do Carbopol 940 que estavam fazendo ligações intramoleculares (no caso do GC) passam a fazer novas ligações intermoleculares com o amido, que são mais fracas termodinamicamente, alterando as propriedades do gel (Biswas *et al.*, 2006).

A Tabela 15 apresenta os parâmetros físicos das formulações ao longo do tempo de armazenamento. O fator de espalhabilidade ( $FE$ ) de todas as formulações apresentou variação significativa ao longo do tempo de armazenamento. Entretanto, as formulações tipo gel e emulgel apresentaram um comportamento diferente em função da influência da adição dos componentes do pinhão. As espalhabilidades das formulações com e sem os componentes do pinhão são muito parecidas para as formulações tipo emulgel, enquanto que para as formulações tipo gel a adição dos componentes do pinhão levaram à uma diminuição significativa no parâmetro  $FE$ . Neste sentido é importante mencionar que produtos com menores valores de  $FE$ , em torno de 4 e 5 mm<sup>2</sup>/g, normalmente apresentam melhor aplicabilidade (Milan *et al.*, 2007).

A adição do amido de pinhão nas formulações reduziu a espalhabilidade, podendo ter sido influenciada por uma redução de forças intermoleculares, como discutido previamente para o parâmetro  $Q$ . Menores valores de  $Q$  indicam diminuição da razão  $G'/G''$ , ou seja, perda do módulo elástico  $G'$  e/ou aumento do módulo viscoso  $G''$ , diminuindo as forças intermoleculares das formulações e fazendo com que diminua a espalhabilidade.

As formulações desenvolvidas apresentaram altos valores de umidade, principalmente os géis. Este resultado está em concordância com resultados reportados na literatura para outros sistemas, os quais indicam que valores acima de 95% de a umidade são normais (Pounikar *et al.*, 2012). Quase todas as formulações apresentaram aumento significativo comparando o tempo inicial com os demais tempos avaliados.

**Tabela 15.** Parâmetros físicos das formulações semissólidas ao longo do tempo de armazenamento\*. Números após os símbolos das amostras indicam o tempo de armazenamento em meses.

<i>Amostra</i>	<i>FE (mm<sup>2</sup>/g)</i>	<i>Umidade (g/100g)</i>	<i>d[4,3] (μm)</i>	<i>Span</i>
GC <sub>0</sub>	8,6±0,1 <sup>a</sup>	99,19±0,01 <sup>a</sup>	13,1±0,4 <sup>f</sup>	1,282±0,003 <sup>i</sup>
GC <sub>2</sub>	8,3±0,3 <sup>a,b</sup>	99,15±0,05 <sup>a</sup>	14,5±0,2 <sup>f</sup>	1,34±0,01 <sup>g,h,i</sup>
GC <sub>4</sub>	8,8±0,4 <sup>a</sup>	99,14±0,03 <sup>a</sup>	18,1±0,7 <sup>f</sup>	1,58±0,05 <sup>e,f,g</sup>
GC <sub>6</sub>	7,3±0,3 <sup>b,c</sup>	99,4±0,5 <sup>a</sup>	16,1±0,4 <sup>f</sup>	1,466±0,005 <sup>f,g,h,i</sup>
GP <sub>0</sub>	4,2±0,2 <sup>f,g</sup>	96,42±0,01 <sup>b</sup>	29,5±0,1 <sup>d,e</sup>	1,79±0,01 <sup>d,e</sup>
GP <sub>2</sub>	4,3±0,1 <sup>f,g</sup>	96,32±0,04 <sup>b</sup>	29,3±0,1 <sup>d,e</sup>	1,94±0,01 <sup>c,d</sup>
GP <sub>4</sub>	5,5±0,4 <sup>e,f</sup>	96,40±0,06 <sup>b</sup>	29,0±0,4 <sup>d,e</sup>	1,93±0,04 <sup>c,d</sup>
GP <sub>6</sub>	3,5±0,2 <sup>g</sup>	96,24±0,06 <sup>b</sup>	33,1±0,4 <sup>d</sup>	1,93±0,01 <sup>c,d</sup>
EC <sub>0</sub>	6,3±0,6 <sup>c,d,e</sup>	89,51±0,08 <sup>d</sup>	43±4 <sup>c</sup>	1,9±0,2 <sup>c,d</sup>
EC <sub>2</sub>	7,5±0,5 <sup>a,b,c</sup>	91,1±0,5 <sup>c</sup>	56±1 <sup>b</sup>	2,12±0,06 <sup>b,c</sup>
EC <sub>4</sub>	5,8±0,2 <sup>d,e</sup>	91,4±0,2 <sup>c</sup>	60±2 <sup>a,b</sup>	2,2±0,1 <sup>a,b</sup>
EC <sub>6</sub>	5,3±0,3 <sup>e,f</sup>	91,2±0,3 <sup>c</sup>	64±2 <sup>a</sup>	2,4±0,1 <sup>a</sup>
EP <sub>0</sub>	5,2±0,2 <sup>e,f</sup>	87,2±0,2 <sup>e</sup>	26,8±0,7 <sup>e</sup>	1,56±0,02 <sup>e,f,g,h</sup>
EP <sub>2</sub>	6,9±0,8 <sup>c,d</sup>	87,9 ± 0,3 <sup>c</sup>	29 ± 3 <sup>d,e</sup>	1,40±0,06 <sup>h,i</sup>
EP <sub>4</sub>	5,6±0,3 <sup>d,e</sup>	88,1±0,4 <sup>e</sup>	25,9±0,2 <sup>e</sup>	1,32±0,01 <sup>h,i</sup>
EP <sub>6</sub>	5,8±0,3 <sup>d,e</sup>	88,6±0,4 <sup>e</sup>	32±3 <sup>d</sup>	1,6±0,2 <sup>e,f</sup>

GC: gel controle; GP: gel pinhão; EC: emulgel controle; EP: emulgel pinhão. *FE*: fator de espalhabilidade; *d[4,3]*: diâmetro médio de partícula; *Span*: distribuição de tamanho de partículas.

\* Médias seguidas por letras diferentes na mesma coluna apresentam diferença significativa ( $p < 0,05$ ) de acordo com o teste de Tukey.

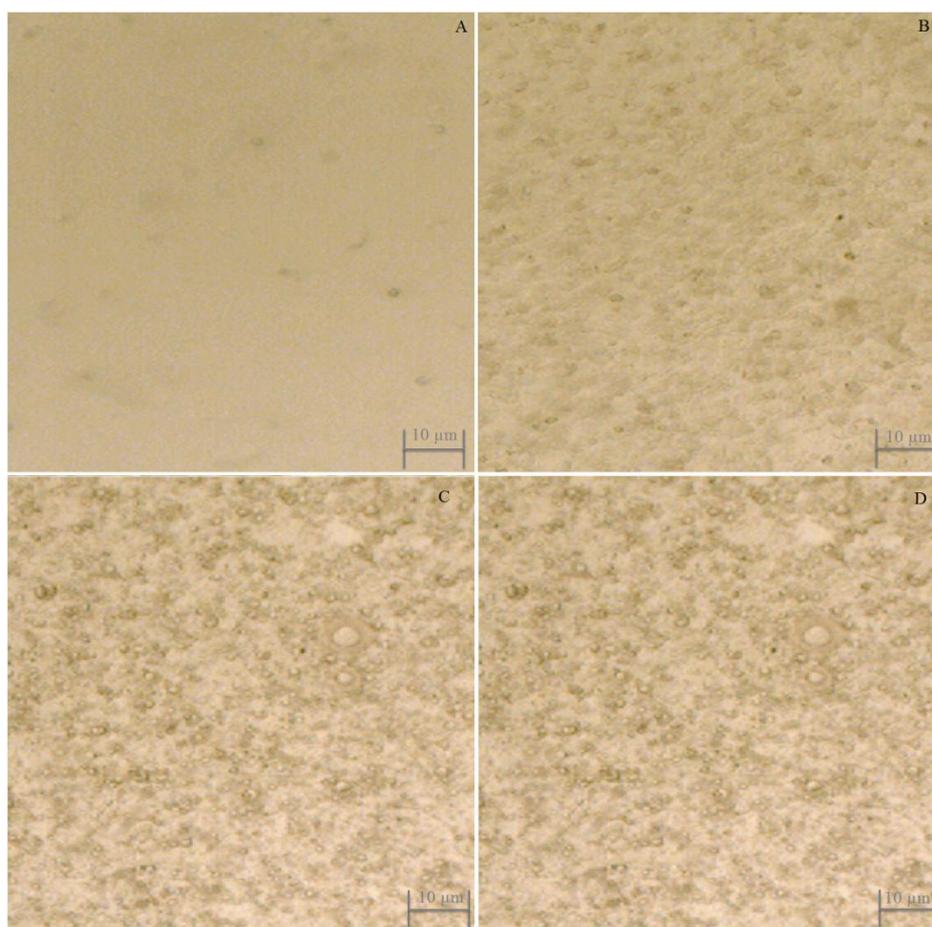
Nas formulações tipo emulgel, o tamanho de partícula médio,  $d[4,3]$ , aumentou significativamente do tempo inicial para o sexto mês de armazenamento, com aumento de quase 50% e 20% para as formulações EC e EP, respectivamente. Embora as formulações desenvolvidas tenham apresentado uma tendência a aumentar o *Span* com o tempo de armazenamento, todas elas demonstraram homogeneidade ( $Span < 2$ ). O tamanho médio de partícula e a amplitude da distribuição de tamanhos são dependentes da matéria-prima e processo de fabricação. Uma vez que a elevada variação com o tempo de armazenamento pode indicar perda de qualidade do produto, pode-se afirmar que, para o sistema emulgel, a adição de pinhão melhorou a estabilidade da distribuição de tamanho de partículas do produto. Para esse tipo de sistema, como há a presença de partículas oleosas no meio que precisam ser estabilizadas para evitar uma coalescência, as cadeias poliméricas do amido podem promover este efeito diminuindo a aproximação da fase oleosa.

Nas formulações tipo gel pôde-se perceber um aumento do tamanho de partícula e *Span* quando o amido de pinhão e extrato da casca são adicionados. Uma possível causa para

esse efeito pode ser a redução de forças intermoleculares com a adição do amido, promovendo uma relaxação das cadeias poliméricas e fazendo com que a organização das cadeias produza estruturas coloidais maiores.

A Figura 14 apresenta as micrografias óticas dos géis e emulgéis desenvolvidos no tempo inicial. As micrografias das formulações tipo gel, principalmente GP, mostra que esse sistema gel tem microestrutura similar à outros géis e hidrogéis tradicionais descritos na literatura (Gong *et al.*, 2009; Bhattacharya *et al.*, 2012; Fang *et al.*, 2013), indicando a ocorrência de uma estrutura de poros interconectados. Da mesma forma, para ambas as formulações tipo emulgel (EC e EP) as micrografias apresentaram estrutura similar observada em sistemas tipo emulgel (Guerra *et al.*, 2004).

**Figura 14.** Microscopia das formulações GC (A), GP (B), EC (C), e EP (D).



### 5.2.2. Análise de possíveis correlações entre as propriedades reológicas e físicas

Como reportado acima, diferenças significativas entre as amostras foram detectadas tanto em relação aos parâmetros reológicos ( $K$ ,  $n$ ,  $\eta_{100}$  e  $Q$ ) quanto físicos (umidade, espalhabilidade,  $d[4,3]$  e  $Span$ ) avaliados como função da composição dessas amostras. Portanto, possíveis correlações entre esses dados foi explorada pela utilização de correlação de matrizes (coeficiente de correlação de Pearson).

A Tabela 16 apresenta os resultados da matriz de correlação de Pearson entre os parâmetros avaliados considerando todos os tempos de armazenamento. Alguns pares de variáveis, como as que envolvem apenas parâmetros reológicos (tais como  $Q$  vs  $\eta_{100}$  e  $K$  vs  $n$ ) ou distribuição de tamanho de partículas ( $d[4,3]$  vs  $Span$ ), são esperadas ser inter-relacionáveis entre si devido ao fato de terem sido obtidas pelo mesmo instrumento (parâmetros reológicos) ou por serem definidas pelo mesmo processo (parâmetros de distribuição de tamanho de partículas). Assim, os altos valores de correlação dos parâmetros mostrados na Tabela 16 para esses pares podem somente ser utilizados como um indicativo que o conjunto completo de dados utilizados foi adequado para a análise de matriz de correlação de Pearson, em termos de tamanho de amostra e precisão. Conseqüentemente, a discussão remanescente irá focar apenas nas correlações de parâmetros envolvendo variáveis de diferentes fontes ou natureza. Além disso, considerando-se que  $d[4,3]$  e  $Span$  foram altamente correlacionados, apenas o primeiro parâmetro foi considerado nas discussões que seguem.

**Tabela 16.** Matriz de correlação de Pearson entre parâmetros reológicos e físicos considerando todos os tempos avaliados.

	$n$	$\eta_{100}$ (Pa.s)	$Q$	$FE$ (mm <sup>2</sup> /g)	Umidade (g/100g)	$d[4,3]$ ( $\mu$ m)	$Span$
$K$ (Pa.s)	-0,957	0,988	0,837	0,062	0,865	-0,743	-0,378
$N$	-	-0,908	-0,808	-0,114	-0,783	0,865	0,572
$\eta_{100}$ (Pa.s)	-	-	0,799	0,003	0,851	-0,677	-0,283
$Q$	-	-	-	0,411	0,956	-0,623	-0,333
$FE$ (mm <sup>2</sup> /g)	-	-	-	-	0,289	-0,330	-0,462
Umidade (g/100g)	-	-	-	-	-	-0,509	-0,157
$d[4,3]$ ( $\mu$ m)	-	-	-	-	-	-	0,880

$K$ : índice de consistência;  $n$ : índice de fluxo;  $\eta_{100}$ : viscosidade aparente na taxa de 100 s<sup>-1</sup>;  $Q$ : índice de qualidade;  $FE$ : fator de espalhabilidade;  $d[4,3]$ : tamanho médio de partícula;  $Span$ : distribuição de tamanho de partículas.

A partir da correlação de Pearson pode ser percebido que as formulações com maiores tamanhos de partículas apresentaram os maiores índices de fluxo e menores índices de

---

consistência, viscosidade aparente e fator de qualidade. Este comportamento pode ter ocorrido devido as formulações semissólidas com tamanhos grandes de partículas não serem capazes de formar ligações fortes, deixando-as mais fluidas e menos consistentes. Por outro lado, valores altos de umidade foram detectados nas formulações com baixos valores de índice de fluxo, ou seja, quanto maior a umidade, mais viscosa e consistente é a formulação. Normalmente se espera que as formulações semissólidas com alto conteúdo de água sejam menos consistentes e viscosas. Porém, nesse caso, a ligação entre outros ingredientes da formulação poderiam ter influenciado pela quantidade de água para formar a mistura. Sabe-se que hidrogéis contendo Carbopol em sua formulação podem ter sua viscosidade diminuída quando são adicionados outros componentes à formulação (Chen *et al.*, 2013), dependendo da sua natureza e interações que podem causar. Para formulações tipo gel, que possuem uma grande quantidade de água, a adição de amido de pinhão não influenciou na viscosidade. Ainda, a viscosidade aumentou após seis meses de armazenamento. Para as formulações tipo emulgel o amido de pinhão aumentou a viscosidade no tempo inicial, mas diminuiu durante o tempo de armazenamento. Não foram encontradas correlações significativas entre o parâmetro *FE* (fator de espalhabilidade) e demais parâmetros (valores abaixo de 0,5).

### 5.2.3. Conclusões

Ambas as formulações semissólidas tipo gel e emulgel contendo amido de pinhão e extrato da casca do pinhão apresentaram estabilidade aceitável mantendo seus parâmetros reológicos, físicos e morfológicos ao longo dos seis meses de armazenamento. Baseado na estabilidade do tempo de armazenamento e na similaridade das propriedades entre as formulações controle e com pinhão pode-se constatar que o pinhão é uma matéria-prima adequada para este tipo de formulação tópica. Os resultados demonstraram que é possível estabelecer algumas correlações entre quase todos os parâmetros reológicos e físicos analisados. Os parâmetros reológicos índice de consistência, fator de qualidade e viscosidade aparente são correlacionáveis com o conteúdo de umidade e tamanho de partícula das amostras. Quanto maior o conteúdo de umidade, maior o índice de consistência, fator de qualidade e viscosidade aparente; por outro lado, quanto maior o conteúdo de umidade, menor o índice de fluxo. Além disso, quanto maior o tamanho médio de partícula, menor o índice de consistência, fator de qualidade e viscosidade aparente.

Este resultados contribuem para entender a estabilidade física de semissólidos e a estrutura do amido de pinhão e extrato da casca como novos materiais, em diferentes tipos de formulações com diferentes componentes e a correlação entre parâmetros físicos e reológicos.

---

## Capítulo 6 – Resultados e Discussão do Desenvolvimento de Filmes Comestíveis

### 6.1. Desenvolvimento de filmes comestíveis à base de amido de pinhão

O objetivo desta etapa do trabalho foi desenvolver filmes comestíveis à base de amido de pinhão e plastificante pré-selecionado. Após a escolha do plastificante foi realizado um planejamento experimental composto central  $2^2$  com pontos axiais a fim de avaliar o efeito da concentração de amido de pinhão e plastificante nas características dos filmes formados bem como possíveis interações e ação plastificante e antiplastificante.

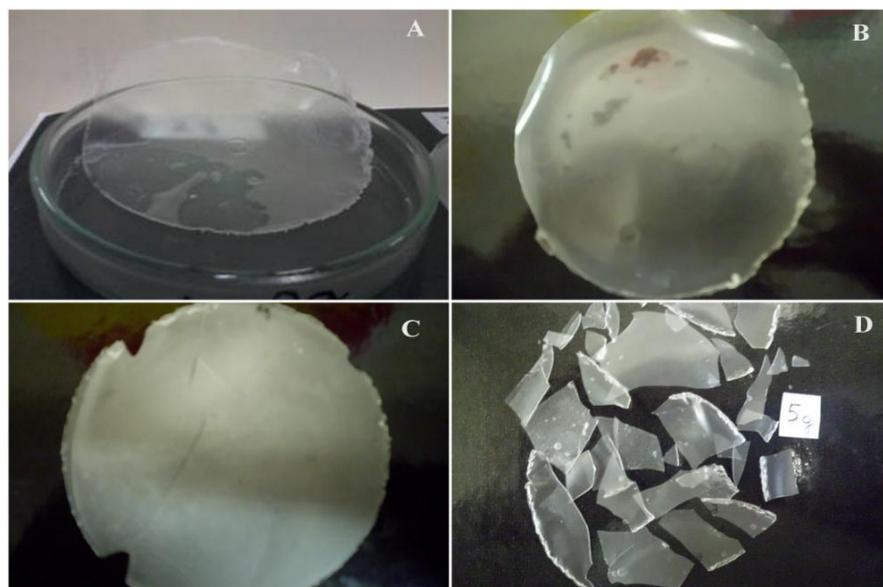
#### 6.1.1. Caracterização dos filmes formados

A partir das variações do tipo de plastificantes, bem como das suas quantidades e quantidade de amido de pinhão foram obtidos 35 (trinta e cinco) filmes. A Figura 15 ilustra um filme de cada tipo de plastificante utilizado. Pode-se perceber que os filmes confeccionados com sorbitol (A) e glicerol (B) apresentaram melhor aparência, maior uniformidade e maleabilidade. Diversos autores relataram o uso de sorbitol (Sobral *et al.*, 2001; Gialamas *et al.*, 2010; Al-Hassan & Norziah, 2012; Maniglia *et al.*, 2014) e glicerol (Garcia *et al.*, 2006; Mali *et al.*, 2006; Salmieri & Lacroix, 2006; Chillo *et al.*, 2008; Vásquez *et al.*, 2009; Souza *et al.*, 2012) em seus estudos como agentes plastificantes em biofilmes.

As melhores formulações utilizando glicerol foram às que continham 4 g de glicerol/100 g de solução filmogênica e maiores quantidades de amido de pinhão. As formulações com menores quantidades de amido, 2 e 3g de amido de pinhão, formaram filmes com textura pegajosa e estrutura frágil em função do excesso de plastificante em relação à

quantidade de amido. Os filmes de sorbitol mais uniformes e que apresentaram menor variação da espessura foram aqueles compostos por 2 a 4 g de amido de pinhão/100 g de solução filmogênica.

**Figura 15.** Fotos dos filmes à base de amido de pinhão com diferentes plastificantes



A: 4 g sorbitol/100 g e 4 g amido de pinhão/100 g; B: 4 g glicerol/100 g e 4 g amido de pinhão/100 g; C: 4 g sacarose/100 g e 4 g amido de pinhão/100 g e D: 4 g xarope de glicose/100 g e 5 g amido de pinhão/100 g.

A utilização isolada da sacarose e do xarope de glicose como plastificantes não permitiram a formação de filmes maleáveis. Os filmes com sacarose ficaram esbranquiçados, opacos e pouco maleáveis e os filmes com xarope de glicose ficaram quebradiços, o que indicou que estes dois ingredientes, quando utilizados nas condições descritas pelo presente trabalho não apresentaram função plastificante.

Kechichian *et al.* (2010) obtiveram filme à base de fécula de mandioca com utilização de sacarose e açúcar invertido combinados como plastificante na proporção 1:2 adequado para a incorporação de ingredientes antimicrobianos naturais. O xarope de glicose possui características semelhantes ao açúcar invertido e foi utilizado neste trabalho por ser uma alternativa com menor custo. Porém, o xarope de glicose possui o comportamento de cristalização diferente do açúcar invertido, o que pode ter sido responsável pela não adequação deste componente como plastificante. O uso combinado destes dois ingredientes poderia ser uma boa alternativa, uma vez que o xarope de glicose poderia evitar a cristalização da sacarose e contribuir para a formação de um filme mais transparente e

maleável. Porém, separadamente ambos os ingredientes não apresentaram boas características como plastificantes.

Com base nos resultados dos testes preliminares pode-se concluir que tanto o uso do sorbitol como do glicerol como plastificante seriam apropriados. Optou-se por continuar os testes utilizando o sorbitol por ser um material de grau alimentício e os filmes produzidos com amido e sorbitol são, normalmente, mais resistentes que os filmes produzidos com amido e glicerol (Dias *et al.*, 2010; Al-Hassan & Norziah, 2012; Fakhoury *et al.*, 2012).

Foi então realizado um planejamento experimental composto central 2<sup>2</sup> com pontos axiais para avaliar a influência das quantidades de amido de pinhão e sorbitol nas propriedades de cor e opacidade, propriedades mecânicas, solubilidade e espessura. A Tabela 17 apresenta os resultados obtidos para as propriedades mecânicas, espessura e solubilidade.

**Tabela 17.** Espessura, solubilidade e propriedades mecânicas dos biofilmes à base de amido de pinhão e sorbitol.

Formulação	Espessura (mm)	Solubilidade (g/100g)	MY (MPa)	TM (MPa)	E (%)
F1	0,13±0,01 <sup>d</sup>	59±3 <sup>b</sup>	7,4±0,3 <sup>d</sup>	1,58±0,04 <sup>c</sup>	52±3 <sup>b</sup>
F2	0,17±0,01 <sup>c</sup>	43,6±0,9 <sup>e</sup>	56,1±0,9 <sup>a</sup>	4,20±0,07 <sup>a</sup>	68±3 <sup>a</sup>
F3	0,20±0,02 <sup>b</sup>	67±2 <sup>a</sup>	2,6±0,2 <sup>e</sup>	0,68±0,02 <sup>e</sup>	34±4 <sup>c,d,e</sup>
F4	0,23±0,02 <sup>a</sup>	53±2 <sup>c,d</sup>	13,0±0,6 <sup>c</sup>	1,19±0,09 <sup>c,d,e</sup>	22±4 <sup>e</sup>
F5	0,16±0,01 <sup>c</sup>	62±1 <sup>b</sup>	2,8±0,2 <sup>e</sup>	0,80±0,04 <sup>d,e</sup>	43±5 <sup>b,c</sup>
F6	0,23±0,01 <sup>a</sup>	38±1 <sup>f</sup>	40±1 <sup>b</sup>	3,1±0,2 <sup>b</sup>	43±3 <sup>b,c</sup>
F7	0,161±0,009 <sup>c</sup>	37,9±0,9 <sup>f</sup>	42±2 <sup>b</sup>	3,2±0,4 <sup>b</sup>	50±15 <sup>b,c</sup>
F8	0,25±0,01 <sup>a</sup>	54,1±0,6 <sup>c,d</sup>	5,3±0,4 <sup>d</sup>	0,83±0,08 <sup>d,e</sup>	25 ±5 <sup>d,e</sup>
F9	0,20±0,01 <sup>b</sup>	51±1 <sup>c,d</sup>	12±1 <sup>c</sup>	1,6±0,2 <sup>c</sup>	40±1 <sup>b,c,d</sup>
F10	0,19±0,01 <sup>b</sup>	55±1 <sup>c</sup>	11,5±0,6 <sup>c</sup>	1,5±0,1 <sup>c</sup>	39±3 <sup>b,c,d</sup>
F11	0,20±0,01 <sup>b</sup>	50±2 <sup>d</sup>	13±1 <sup>c</sup>	1,3±0,2 <sup>c,d</sup>	34±2 <sup>c,d,e</sup>

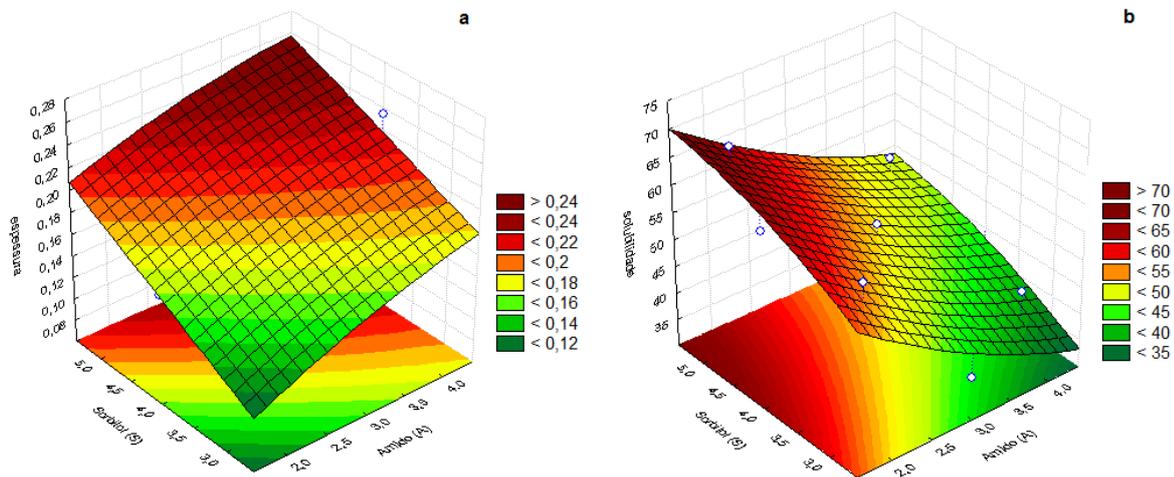
Letras iguais na mesma coluna não apresentam diferença significativa pelo teste de Tukey ( $p > 0,05$ ).

F1 a F11 - formulações utilizadas no planejamento experimental; MY: módulo de Young; TM: tensão máxima; E: alongação na ruptura.

Ao avaliar as respostas da Tabela 17, os modelos obtidos para a espessura ( $R^2 = 0,94$  e  $F_{\text{calc}} = 14,79 > F_{\text{tab}} = 5,05$ ), a solubilidade ( $R^2 = 0,85$  e  $F_{\text{calc}} = 5,71 > F_{\text{tab}} = 5,05$ ), o módulo de Young ( $R^2 = 0,99$  e  $F_{\text{calc}} = 134 > F_{\text{tab}} = 5,05$ ), a tensão máxima ( $R^2 = 0,99$  e  $F_{\text{calc}} = 122 > F_{\text{tab}} = 5,05$ ) e a deformação no momento da ruptura ( $R^2 = 0,90$  e  $F_{\text{calc}} = 9,07 > F_{\text{tab}} = 5,05$ ) foram significativos.

Houve um aumento da espessura dos filmes com o aumento das quantidades de amido de pinhão e sorbitol, ou seja, com o aumento do teor de sólidos. A Figura 16 apresenta a superfície de resposta da espessura e solubilidade. As equações 22 e 23 apresentam as equações dos modelos obtidos para espessura e solubilidade, respectivamente, considerando apenas os parâmetros significativos, onde A representa o amido de pinhão e S, sorbitol. Para determinar a espessura desejada dos filmes pode-se utilizar o modelo obtido, desde que se utilizem valores de amido de pinhão e sorbitol dentro do intervalo avaliado no planejamento. Para todos os modelos foram considerados somente os fatores significativos.

**Figura 16.** Superfície de resposta da espessura (a) e solubilidade (b)



$$\text{espessura (mm)} = 0,196 + 0,043.A - 0,007.A^2 + 0,626.S \quad (22)$$

$$\text{solubilidade (g/100g)} = 51,95 - 15,93.A + 10,27.S \quad (23)$$

A espessura dos filmes pode ser pré-estabelecida de acordo com sua aplicação. Para filmes onde se pretende apenas uma película protetora ou uma cobertura, podem ser utilizados valores menores de espessura. Porém, nos casos onde se pretende maior resistência e proteção do alimento, valores de espessura maiores são mais adequados. Além da quantidade de sólidos presentes na formulação, a espessura pode ser controlada de acordo com a massa de solução filmogênica depositada na placa de Petri.

---

A solubilidade varia positivamente com o aumento de sorbitol e negativamente com o aumento de amido, ou seja, quanto mais sorbitol e menos amido, mais solúvel. A afinidade pela água pode, ou não, ser uma característica interessante para os filmes de amido, de acordo com a sua aplicação. Os filmes desenvolvidos neste trabalho apresentaram valores altos de solubilidade em função das grandes quantidades de sorbitol utilizadas. Laohakunjit & Noomhorm (2004) desenvolveram filmes com amido de arroz e sorbitol ou glicerol, sendo que os filmes com glicerol em sua formulação apresentaram os maiores valores de solubilidade, não ultrapassando 30%, sendo o filme contendo 30% de glicerol o filme que atingiu maior solubilidade. Todos os filmes produzidos neste trabalho continham percentuais maiores de plastificante do que os apresentados pelos autores citados, gerando assim, filmes com maiores solubilidades.

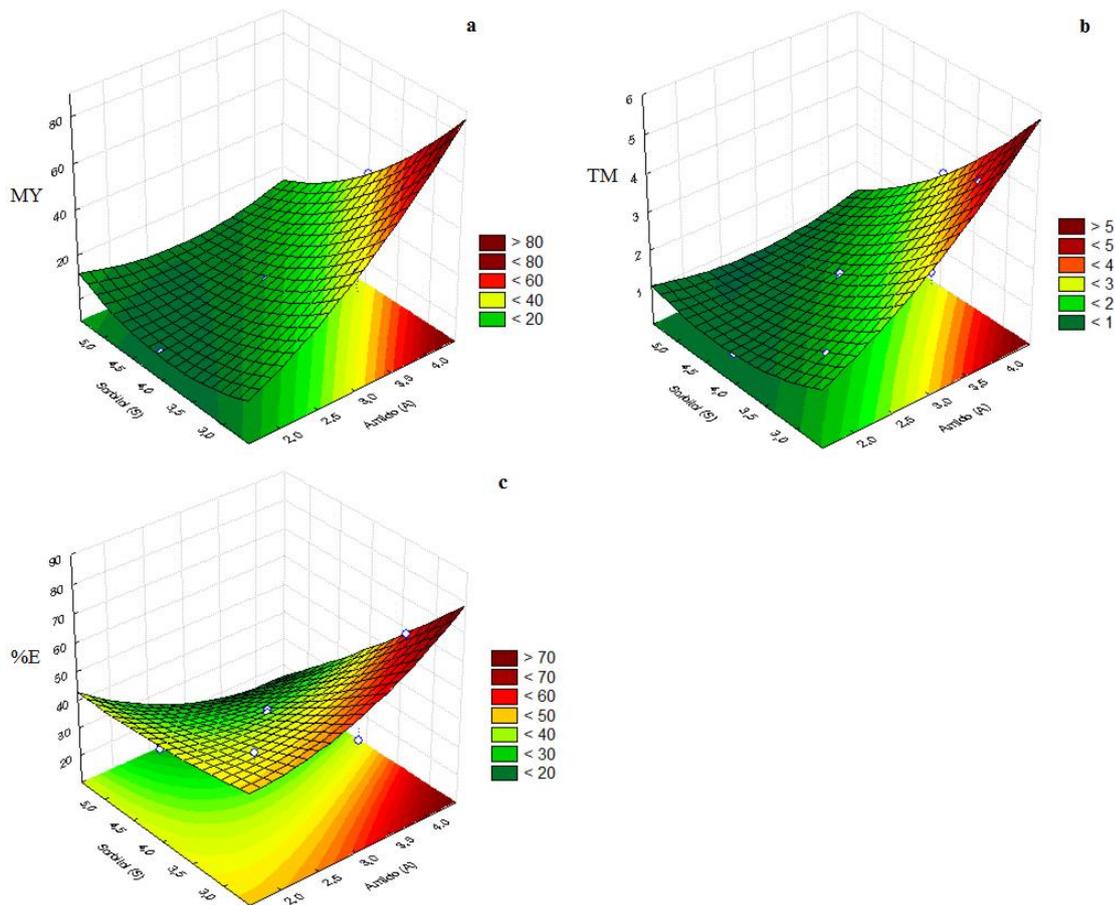
De acordo com Bertuzzi *et al.* (2007a), quando um filme é usado para proteger a integridade de um produto, este deve ser insolúvel, porém, se o objetivo é o encapsulamento do alimento ou aditivo, o filme deve ser solúvel em água para que no momento do uso possa ser removido por lavagem. Os filmes solúveis em água são adequados para o propósito de ser comestível, uma vez que se dissolvem rapidamente em água e até mesmo na boca. Alguns componentes presentes nos filmes comestíveis podem ser insolúveis em água, porém, devem ser digeríveis quando consumidos (Rossman, 2009).

A solubilidade de uma substância orgânica está diretamente relacionada com a estrutura molecular, principalmente com a polaridade das ligações e da espécie química. Normalmente os açúcares são altamente solúveis e os compostos orgânicos apresentam solubilidade de acordo com o tamanho de sua cadeia carbônica, sendo os compostos com cadeias longas os mais insolúveis (Martins *et al.*, 2013). O amido é um polissacarídeo composto de amilose e amilopectina e a proporção entre essas moléculas e sua organização dentro do grânulo estão diretamente relacionadas com a funcionalidade do amido (Cereda *et al.*, 2003). Assim, a amilose agiria como um solvente, em função de suas cadeias lineares (Tester & Morrison, 1990). A composição do amido, a conformação do grânulo (relação de regiões cristalinas e amorfas) e a presença de componentes menores como fosfolipídios e fosfato monoéster influenciam essas propriedades. As regiões amorfas do amido são responsáveis pela solubilidade, ou seja, quanto mais cristalino, menos solúvel. O plastificante reduz a cristalinidade do filme alterando o volume livre ao intercalar-se nas cadeias

poliméricas do amido e favorece a mobilidade destas. Assim, uma maior quantidade de plastificante forma filmes com maior solubilidade.

Na curva tensão-deformação obtida do teste mecânico tem-se a primeira parte linear (curva utilizada para o cálculo do módulo de Young, ou módulo de elasticidade) seguida por uma parte curva até atingir uma tensão máxima (resistência à tração), antes ou na ruptura (Talja *et al.*, 2008a). As superfícies de resposta das propriedades mecânicas avaliadas estão apresentadas na Figura 17 e as equações 24, 25 e 26 apresentam os modelos obtidos para MY, TM e E, respectivamente.

**Figura 17.** Superfície de resposta do módulo de Young (MY) (a), tensão máxima (TM) (b) e deformação no momento da ruptura (E%) (c).



$$MY \text{ (MPa)} = 12,08 + 28,11.A - 25,11.S + 8,05.A^2 + 10,31.S^2 - 19,10.A.S \quad (24)$$

$$TM \text{ (MPa)} = 1,47 + 1,59.A - 1,82.S - 1,05.A.S \quad (25)$$

---

$$E (\%) = 37,48 - 24,74.S - 14,25.A.S. \quad (26)$$

De um modo geral, os filmes mais resistentes foram aqueles com maiores quantidades de amido e menores quantidades de sorbitol, sendo que em todas as propriedades analisadas pôde-se perceber um efeito de interação entre as variáveis. Os valores de MY diminuem com o aumento de plastificante (Tabela 17, Figura 17(a)) e os valores de TM (Tabela 17, Figura 17 (b)) seguem comportamento semelhante, assim como observado por Talja *et al.* (2008a) para filmes à base de amido de batata plastificados com diferentes misturas binárias de glicerol, xilitol e sorbitol em várias concentrações.

Em alguns casos, a TM pode ser maior em filmes sem adição de plastificante, como relatado por Souza *et al.* (2012) para filmes de amido de mandioca (aproximadamente 6 MPa de tensão máxima). Estes autores encontraram valores de aproximadamente 2 MPa de tensão máxima em filmes produzidos com a adição entre 10 e 15% de glicerol e 45% da mistura de sacarose e açúcar invertido, valor aproximado com os resultados encontrados para algumas formulações desenvolvidas neste trabalho. Filmes de amido mais resistentes podem ser obtidos através da adição de quitosana (Garcia *et al.*, 2006) ou algum outro componente, como, por exemplo, fibras (Satyanarayana *et al.*, 2009; Montañó-Leyva *et al.*, 2013).

Os plastificantes são geralmente adicionados na proporção de 10 a 60% dependendo do grau de rigidez do material (Gontard *et al.*, 1993). No entanto, de acordo com a concentração em que são empregados, podem causar um efeito chamado antiplastificante, isto é, ao invés de aumentar a flexibilidade e hidrofiliçidade, podem causar um efeito contrário (Gaudin *et al.*, 1999; Gaudin *et al.*, 2000). Geralmente, isto ocorre quando são empregados em pequenas concentrações de plastificante (abaixo de 20%), o qual interage com a matriz polimérica, mas não está em quantidade suficiente para aumentar a mobilidade molecular (Lourdin *et al.*, 1997).

No presente trabalho o excesso de plastificante proporcionou mobilidade aos filmes, mas também apresentou efeito de interação com a matriz polimérica base, o amido de pinhão. Assim, o fato de não se ter um padrão linear para aumento ou diminuição das propriedades mecânicas pode ser função da interação amido-sorbitol, causando efeito antiplastificante em algumas formulações.

A Tabela 18 apresenta os resultados para as propriedades de cor e opacidade analisadas. Ao avaliar as respostas da tabela 4 apenas os modelos para as respostas  $b^*$  ( $R^2 = 0,96$  e  $F_{\text{calc}} = 27,08 > F_{\text{tab}} = 5,05$ ) e  $h$  ( $R^2 = 0,96$  e  $F_{\text{calc}} = 24,46 > F_{\text{tab}} = 5,05$ ) foram significativos. A Figura 18 apresenta a superfície de resposta para estes parâmetros e as equações 27 e 28 os modelos para  $b^*$  e  $h$ , respectivamente.

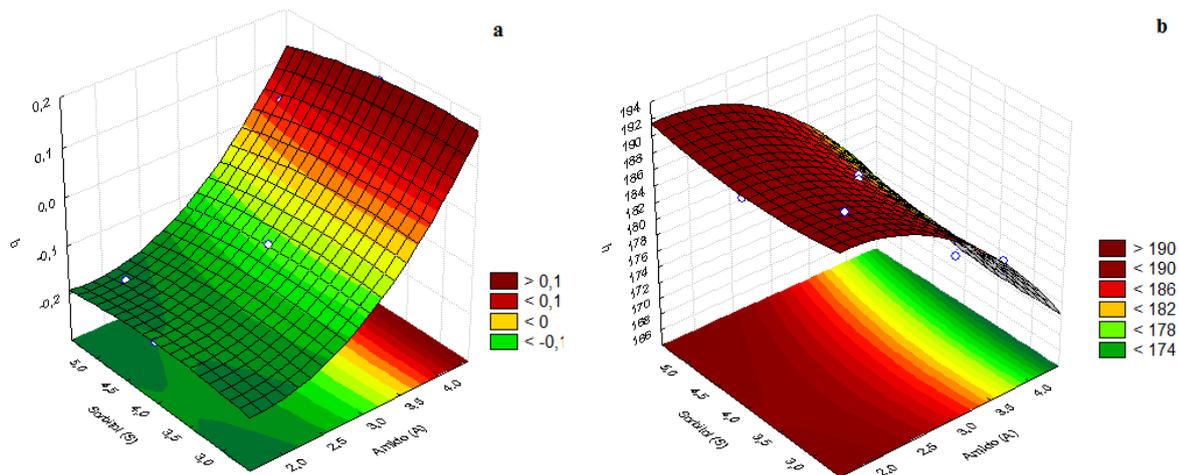
**Tabela 18.** Propriedades de cor dos biofilmes à base de amido de pinhão e sorbitol

Formulação	Opacidade (%)	$L^*$	$a^*$	$b^*$	$C^*$	$h$
F1	8,1±0,6 <sup>a,b</sup>	90,2±0,8 <sup>a</sup>	-0,98±0,01 <sup>a,b</sup>	-0,20±0,02 <sup>f</sup>	1,00±0,02 <sup>b</sup>	192±1 <sup>a</sup>
F2	6±1 <sup>c,d,e</sup>	89,6±0,4 <sup>a,b</sup>	-1,02±0,02 <sup>a,b,c,d</sup>	0,055±0,006 <sup>b</sup>	1,02±0,02 <sup>a,b</sup>	176,9±0,4 <sup>e</sup>
F3	7±1 <sup>b,c,d</sup>	88±1 <sup>b</sup>	-0,97±0,03 <sup>a</sup>	-0,16±0,01 <sup>e,f</sup>	0,98±0,03 <sup>b</sup>	189,7±0,7 <sup>a,b</sup>
F4	7±2 <sup>b,c,d</sup>	89,2±0,2 <sup>a,b</sup>	-1,017±0,006 <sup>a,b,c,d</sup>	0,07±0,02 <sup>b</sup>	1,019±0,005 <sup>a,b</sup>	176±1 <sup>e</sup>
F5	6±1 <sup>c,d,e</sup>	89,7±0,6 <sup>a</sup>	-1,00±0,03 <sup>a,b,c</sup>	-0,17±0,01 <sup>e,f</sup>	1,01±0,03 <sup>b</sup>	189,6±0,7 <sup>b</sup>
F6	7±1 <sup>b,c</sup>	89,6±0,3 <sup>a</sup>	-1,047±0,008 <sup>d</sup>	0,16±0,02 <sup>a</sup>	1,059±0,008 <sup>a</sup>	171,3±0,9 <sup>f</sup>
F7	6±1 <sup>c,d,e</sup>	90,0±0,5 <sup>a</sup>	-1,04±0,03 <sup>c,d</sup>	-0,08±0,01 <sup>c</sup>	1,04±0,03 <sup>a,b</sup>	184,1±0,6 <sup>d</sup>
F8	9±1 <sup>a</sup>	90±1 <sup>a,b</sup>	-0,97±0,02 <sup>a</sup>	-0,16±0,01 <sup>e</sup>	0,98±0,02 <sup>b</sup>	189±1 <sup>a,b</sup>
F9	5,6±0,2 <sup>d,e</sup>	89,6±0,2 <sup>a,b</sup>	-1,03±0,03 <sup>b,c,d</sup>	-0,08±0,04 <sup>c,d</sup>	1,04±0,02 <sup>a,b</sup>	184±2 <sup>c,d</sup>
F10	5±1 <sup>e</sup>	89,8±0,6 <sup>a</sup>	-1,03±0,04 <sup>b,c,d</sup>	-0,12±0,01 <sup>d</sup>	1,03±0,04 <sup>a,b</sup>	186,5±0,7 <sup>c</sup>
F11	5,0±0,4 <sup>e</sup>	89,7±0,4 <sup>a</sup>	-1,02±0,01 <sup>a,b,c,d</sup>	-0,11±0,01 <sup>c,d</sup>	1,02±0,01 <sup>a,b</sup>	186,0±0,6 <sup>c,d</sup>

Letras iguais na mesma coluna não apresentam diferença significativa pelo teste de Tukey ( $p > 0,05$ ).

F1 a F11 - formulações utilizadas no planejamento experimental;  $L^*$ ,  $a^*$  e  $b^*$ : parâmetros de cor do CIELAB;  $C^*$ : cromaticidade;  $h$ : ângulo de tonalidade.

**Figura 18.** Superfície de resposta dos parâmetros de cor  $b^*$  (a) e  $h$  (b)



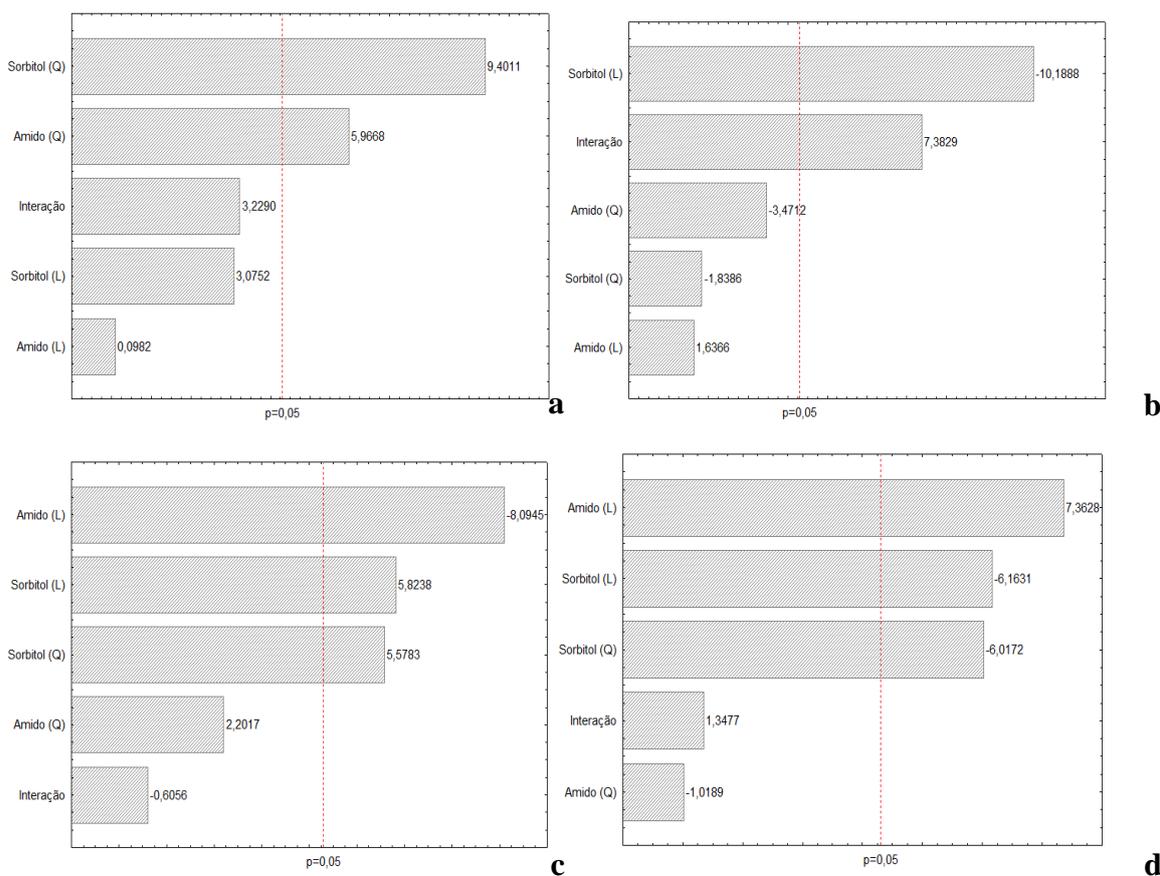
$$b^* = -0,10 + 0,24.A + 0,0097.A^2 \quad (27)$$

$$h = 185,62 - 13,56.A - 5,22.A^2 \quad (28)$$

Tanto o parâmetro  $b^*$  como o  $h$  demonstraram forte influência da quantidade de amido nos filmes. Porém, para o parâmetro  $b^*$  o efeito foi positivo e para o  $h$ , negativo. Apesar de todas as formulações estudadas serem transparentes, o aumento da concentração de amido faz com que o filme tenha uma tendência a ser mais amarelado (valores de  $b^*$  maiores). Em relação aos valores de tonalidade ( $h^*$ ), mesmo tendo apresentado valores próximos, o aumento da quantidade de amido levaria à diminuição da tonalidade. Combinando os dois parâmetros, quanto mais amido mais amarelado e com tonalidade mais clara seria o filme.

Para as demais respostas relacionadas com a cor, os modelos obtidos não foram significativos, no entanto, a quantidade de amido e sorbitol tiveram uma influência significativa na opacidade e nos parâmetros  $L^*$ ,  $a^*$  e  $C^*$ . A Figura 19 apresenta os gráficos de Pareto para os mesmos, demonstrando quais fatores influenciaram em cada um.

**Figura 19.** Gráfico de Pareto da opacidade (a) e dos parâmetros de cor  $L^*$  (b),  $a^*$  (c) e  $C^*$  (d)



A opacidade dos filmes é uma propriedade que deve ser considerada no uso como revestimento de superfície de alimentos, uma vez que os consumidores costumam preferir

filmes transparentes. Neste estudo, a opacidade apresentou pouca variação, não ultrapassando valores de 10%. Quanto menores os valores de opacidade, maior a transparência dos filmes. Quanto maior o conteúdo de amido, maior o valor de opacidade, assim como encontrado por Fakhoury *et al.* (2012) para filmes de amido de mandioca e gelatina, independentemente do tipo de plastificante utilizado. Cerqueira *et al.* (2010) encontraram os maiores valores de opacidade, entorno de 20%, para os filmes com maiores teores de polissacarídeos, indicando que quanto maior o teor de sólidos dos filmes maior o valor de opacidade.

Avaliando-se os parâmetros de cor  $L^*$ ,  $a^*$  e  $b^*$ , percebe-se que a luminosidade de todos os filmes atingiu altos valores ( $L^*$  entre 88 e 90), com pouca variação entre as amostras, enquanto que  $a^*$  e  $b^*$  apresentaram valores próximos ao zero, indicando ausência de cor. Estes resultados vêm corroborar com os resultados de opacidade, confirmando a transparência dos filmes produzidos.

### **6.1.2. Conclusões**

A partir do estudo preliminar para a escolha do plastificante realizado pôde-se observar que os filmes com glicerol e sorbitol apresentaram maior transparência e maleabilidade e, assim, optou-se por seguir o estudo com sorbitol. Os filmes produzidos à base de amido de pinhão e sorbitol apresentaram poucas diferenças de cor e opacidade, sendo considerados transparentes e pouco opacos. Os filmes apresentaram aumento de espessura com o aumento do teor de sólidos totais e aumento de solubilidade com o aumento da concentração de sorbitol e diminuição da concentração de amido.

Os filmes produzidos apresentaram baixa resistência mecânica, porém, com tendência a aumentar com o aumento da concentração de amido e diminuição da concentração de sorbitol. Em função das características de baixa resistência mecânica e alta solubilidade uma alternativa de aplicação seria como cobertura comestível para frutas e vegetais ou até mesmo como embalagens de alimentos desidratados que precisem de hidratação prévia ao consumo.

## 6.2. Estudo comparativo das propriedades físicas de filmes comestíveis à base de amido e farinha de pinhão (*Araucaria angustifolia*)

O objetivo desta etapa do trabalho foi a utilização do amido de pinhão e farinha de pinhão como base para a formação de filmes comestíveis. Os filmes desenvolvidos foram plastificados com glicerol alimentício em diferentes proporções e comparados entre si, avaliando as características dos filmes com diferentes bases e diferentes quantidades de glicerol.

A partir desta etapa do trabalho optou-se por trabalhar com o glicerol como plastificante por esse componente ser de grau alimentício, ter baixo custo e ser de fácil obtenção comercial.

### 6.2.1. Propriedades físicas da matéria-primas

As propriedades físicas das matérias-primas utilizadas no desenvolvimento dos filmes comestíveis, amido e farinha de pinhão, foram avaliadas e os resultados estão apresentados na Tabela 19 e Figura 20.

**Tabela 19.** Características das matérias-primas (amido e farinha de pinhão) utilizadas como base para formar os filmes.

	Amido de pinhão	Farinha de pinhão
Umidade (g/100 g)	8,3 ± 0,4 <sup>NS</sup>	9,6 ± 0,6
Aw	0,415 ± 0,002 <sup>*</sup>	0,574 ± 0,002
Densidade real (g/cm <sup>3</sup> )	1,503 ± 0,001 <sup>*</sup>	1,491 ± 0,002
Densidade aparente (g/cm <sup>3</sup> )	0,59 ± 0,01 <sup>*</sup>	0,36 ± 0,02
Porosidade aparente	0,60 ± 0,01 <sup>*</sup>	0,76 ± 0,01
Temperatura de pasta inicial (°C)	65,7 ± 0,5 <sup>NS</sup>	66,0 ± 0,1
Temperatura de pico (°C)	86 ± 2 <sup>NS</sup>	87 ± 0
Viscosidade de pico (cP)	5778 ± 110 <sup>*</sup>	2818 ± 120
Viscosidade final (cP)	3564 ± 510 <sup>*</sup>	2572 ± 49

Aw: atividade de água. <sup>\*</sup> indica diferença estatística pelo teste-t ( $p < 0,05$ ). NS indica que as amostras não têm diferença estatística (não significativo).

Amido e farinha de pinhão não apresentaram diferença significativa em relação à umidade. Geralmente, farinhas e amidos têm conteúdo de umidade de aproximadamente 12% (Tomassetti *et al.*, 1987; Adedokun & Itiola, 2010), e este parâmetro depende da fonte, condições de armazenamento, clima, entre outros. Para amidos nativos de mandioca e milho foram reportados valores em torno de 9% de umidade (Atichokudomchai *et al.*, 2001; Adedokun & Itiola, 2010), para amido de banana e milho de aproximadamente 10% (Pérez-

Sira, 1997), e entre 11 e 17% para amido de batata (Moorthy, 2002). No geral, baixos valores de umidade, como encontrados para o amido e a farinha de pinhão analisados, é preferível para a melhor conservação durante o armazenamento.

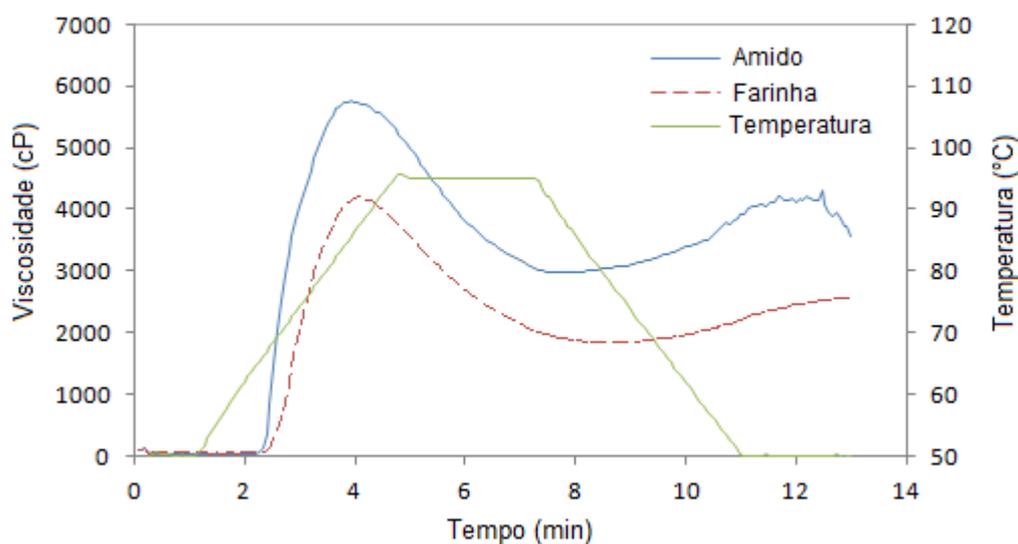
A atividade de água ( $A_w$ ) é outro parâmetro importante para estimar o tempo de armazenamento sob diferentes condições ambientais. A  $A_w$  foi mais alta para a farinha de pinhão do que para o amido de pinhão. Esta diferença entre as amostras não afeta a qualidade das mesmas, uma vez que não há proliferação de micro-organismos em  $A_w$  abaixo de 0,6 (Barbosa-Cánovas *et al.*, 2007).

As densidades real e aparente apresentaram valores significativamente maiores para o amido de pinhão do que para a farinha de pinhão. Por outro lado, a porosidade aparente do amido de pinhão foi significativamente menor que da farinha de pinhão. Este menor resultado para a porosidade aparente do amido de pinhão é devido à maior diferença entre a densidade real e a densidade aparente do que a diferença obtida para a farinha de pinhão. Bian *et al.* (2015) estudou duas variedades de farinha de trigo e encontrou valores maiores para densidade aparente do que os encontrados para a farinha de pinhão, de 0,658 e 0,717 g/cm<sup>3</sup>. Marousis & Saravacos (1990) estudaram amidos com baixo e alto teor de amilose com diferentes conteúdos de umidade e para as amostras completamente secas (nas mesmas condições utilizadas neste trabalho) os amidos de milho com alto e baixo conteúdo de amilose apresentaram densidade real de aproximadamente 1,45 g/cm<sup>3</sup>, densidade aparente em torno de 0,75 g/cm<sup>3</sup> e valores de porosidade de aproximadamente 0,5. Para amido de milho nativo foram reportados valores de 1,48 g/cm<sup>3</sup> para densidade real, 0,52 g/cm<sup>3</sup> para densidade aparente e porosidade aparente de 0,65 (Musa *et al.*, 2011).

Como pode-se observar na Tabela 19, o amido de pinhão apresentou maior pico de viscosidade e viscosidade final maior que a farinha de pinhão. As propriedades de pasta de ambas as amostras são apresentadas na Figura 20 e o formato das curvas são similares. As temperaturas de pasta inicial e de pico não apresentaram diferença significativa, uma vez que os grânulos começam a inchar em torno de 66 °C, após o início da gelatinização, e atingem a viscosidade máxima em torno de 86 °C. No geral, amidos que apresentam maiores viscosidades contêm menores quantidades de amilose, ou seja, quanto maior a viscosidade de pasta, menor o conteúdo de amilose (Juhász & Salgó, 2008). A amilose é fortemente relacionada à habilidade de formação de filme e coberturas devido à sua natureza predominantemente linear. Um filme ou cobertura pode ser feito a partir de qualquer tipo de

amido que contenha amilose (Kramer, 2009). Lee *et al.* (2007) demonstraram em seu trabalho que amido de milho ceroso apresentou maior pico de viscosidade do que amido de milho nativo. O amido de pinhão tem aproximadamente 22% de amilose (Conforti & Lupano, 2007), menor que o valor de 28% de amilose para amido de milho nativo (Belitz & Grosh, 1986). A diferença na viscosidade entre as duas amostras não pode ser associada ao conteúdo de amilose, pois ambas pertencem à mesma espécie. Supõe-se que esta diferença pode ser devido às diferenças na composição do amido de pinhão e farinha de pinhão. A farinha de pinhão tem aproximadamente 1,7% de fibras dietéticas, 5,4% de proteína, 2,5% de gorduras totais e 80,6% de carboidratos (majoritariamente amido) (Leite *et al.*, 2008), enquanto que o amido de pinhão é 94% amido puro (base seca) (Daudt *et al.*, 2014). Yu *et al.* (2012) estudaram as propriedades de pasta de amido e farinha de arroz e também encontraram menor viscosidade para a farinha do que para o amido. Da mesma forma que no presente trabalho, eles estudaram a mesma espécie em diferentes apresentações, amido e farinha. Essas diferenças sugerem que as proteínas e lipídios da farinha de arroz influenciaram nas propriedades de pasta, podendo ser também a causa das diferenças na viscosidade entre amido e farinha de pinhão. Este comportamento pode ter sido afetado pela reação da amilose e outros componentes presentes na farinha de pinhão.

**Figura 20.** Perfil das propriedades de pasta do amido e farinha de pinhão.



### 6.2.2. *Propriedades físicas dos filmes à base de amido e farinha de pinhão*

Seguindo a avaliação das matérias-primas, amido e farinha de pinhão foram utilizados para o desenvolvimento de filmes comestíveis. A Tabela 20 apresenta as características físicas dos filmes à base de amido e farinha de pinhão.

No geral, a espessura dos filmes variou de acordo com o conteúdo de sólidos totais dos filmes (de 0,039 mm no filme de amido sem glicerol a 0,057 mm no filme com farinha de pinhão e 1.5% de glicerol). Os filmes de farinha de pinhão apresentaram maiores valores de espessura e todos os filmes produzidos foram considerados homogêneos em função do baixo desvio padrão. As diferenças na espessura não influenciaram outras propriedades dos filmes, como a permeabilidade a vapor de água e propriedades mecânicas.

A densidade real dos filmes não apresentou variação significativa entre os diferentes tipos de filmes. Entretanto, a densidade aparente nos filmes de farinha foi significativamente menor que dos filmes de amido e, em função disto, esses filmes apresentaram maiores valores de porosidade aparente ( $\emptyset$ ). Estes resultados estão em concordância com os resultados encontrados para as matérias-primas amido e farinha de pinhão: assim como a farinha apresentou maior porosidade, os filmes de farinha também apresentaram maior porosidade aparente que os filmes de amido.

A microscopia eletrônica de varredura (MEV) das seções transversais dos filmes de amido e farinha de pinhão pode ser observada na Figura 21. A Figura 21 apresenta as imagens das seções transversais dos filmes S5, SG5:1, FG5:1, SG5:2 e FG5:2. Pode-se observar que o filme S5 (feito com apenas amido de pinhão) apresentou uma superfície mais lisa e homogênea e menor espessura (Tabela 20). Comparando os filmes de amido de pinhão com os filmes de farinha de pinhão é possível afirmar que a seção transversal dos filmes de farinha de pinhão é mais rugosa apresentando poros e grânulos e, com o aumento da concentração de glicerol, os filmes parecem ser mais flexíveis.

Essas irregularidades e poros estão em concordância com estudos anteriores de filmes feitos com farinha de diferentes fontes (Colla *et al.*, 2006; Andrade-Mahecha *et al.*, 2012). Pelissari *et al.* (2013) também encontraram estruturas semelhantes quando compararam filmes de amido e farinha de banana, onde os filmes de amido apresentaram estruturas mais lisa e homogênea e os filmes de farinha apresentaram irregularidades. As irregularidades na estrutura dos filmes de farinha de pinhão podem ser relacionadas com a presença de outros componentes além do amido na matriz polimérica, como proteínas, lipídios e fibras. Apesar

---

de esses componentes estarem presentes em baixas concentrações, eles podem influenciar na estrutura final do filme (Leite *et al.*, 2008). Além disso, a maior rugosidade dos filmes de farinha pode ser associada à maior porosidade aparente, opacidade e PVA. Além disso, a maior rugosidade dos filmes de farinha de pinhão pode explicar os valores mais altos de porosidade aparente, opacidade e PVA obtidos para esses filmes (Tabela 20).

A temperatura de transição vítrea ( $T_g$ ) dos filmes não apresentou diferença significativa entre as amostras e não teve influência nas demais propriedades avaliadas (Tabela 20). De acordo com Chang *et al.* (2000), a plasticização enfraquece as forças intermoleculares entre as cadeias poliméricas e, conseqüentemente, diminui a coesão entre elas, reduzindo  $T_g$ . Assim, a  $T_g$  mais baixa é relacionada com altas concentrações de plastificante, maior PVA, maior elongação e menor resistência à tração. No presente trabalho, os valores de  $T_g$  foram em torno de 70 °C. Os filmes apresentaram  $T_g$  suficientemente alta, o que significa que esses materiais estão ainda no estado vítreo a temperatura ambiente (~25 °C) a temperatura utilizada nas caracterizações.

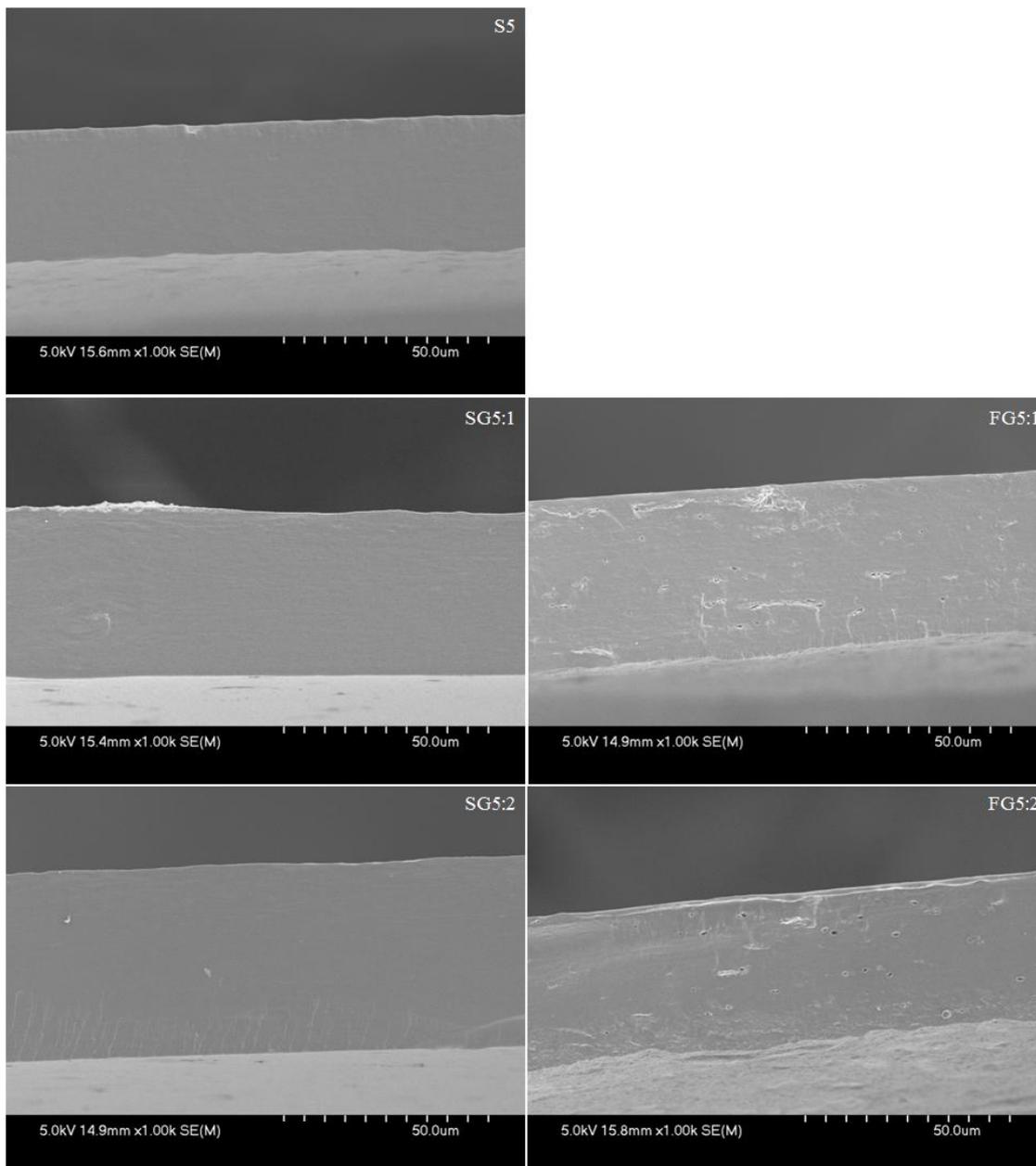
A permeabilidade a vapor de água (PVA) dos filmes pode ser influenciada pela porosidade. Os filmes à base de farinha de pinhão apresentaram maior porosidade e os filmes de farinha apresentaram maior PVA quando comparados com os filmes de amido com a mesma quantidade de glicerol. PVA dos filmes de farinha versus amido pode também ter sido influenciado pela diferente composição entre essas duas matérias-primas. A farinha de pinhão contém fibras dietéticas, proteínas e lipídios; compostos lipofílicos podem diminuir a absorção de água e PVA (García *et al.*, 2000). Entretanto, no presente trabalho, os filmes de farinha de pinhão apresentaram PVA mais altas do que os filmes de amido de pinhão. Comportamento similar foi observado por Dias *et al.* (2010) que estudaram filmes de amido e farinha de arroz e reportaram que os filmes de farinha de arroz apresentaram PVA muito maior que os filmes de amido de arroz, ambos plasticizados com a mesma quantidade de glicerol. Isto pode ser explicado pela maior irregularidade na estrutura dos filmes de farinha, assim como observado para os filmes de farinha de pinhão (Figura 21). De acordo com Martin-Polo *et al.* (1992), um aumento na uniformidade da microestrutura do filme implica em uma diminuição da PVA.

**Tabela 20.** Características físicas dos filmes à base de amido e farinha de pinhão.

	S5	SG5:1	SG5:1.5	SG5:2	FG5:1	FG5:1.5	FG5:2
Espessura (mm)	0,039 ± 0,002 <sup>d</sup>	0,045 ± 0,002 <sup>c</sup>	0,046 ± 0,003 <sup>c</sup>	0,051 ± 0,003 <sup>b</sup>	0,050 ± 0,001 <sup>b</sup>	0,057 ± 0,001 <sup>a</sup>	0,053 ± 0,002 <sup>b</sup>
Densidade real (g/cm <sup>3</sup> )	1,487 ± 0,014 <sup>a,b,c</sup>	1,490 ± 0,006 <sup>a,b</sup>	1,484 ± 0,009 <sup>b,c,d</sup>	1,483 ± 0,006 <sup>b,c,d</sup>	1,494 ± 0,010 <sup>a</sup>	1,480 ± 0,010 <sup>c,d</sup>	1,474 ± 0,004 <sup>d</sup>
Densidade aparente (g/cm <sup>3</sup> )	1,12 ± 0,06 <sup>b</sup>	1,15 ± 0,06 <sup>a,b</sup>	1,14 ± 0,06 <sup>b</sup>	1,20 ± 0,06 <sup>a</sup>	0,84 ± 0,04 <sup>c</sup>	0,85 ± 0,04 <sup>c</sup>	0,89 ± 0,05 <sup>c</sup>
Porosidade aparente	0,24 ± 0,04 <sup>b</sup>	0,23 ± 0,04 <sup>b</sup>	0,23 ± 0,04 <sup>b</sup>	0,19 ± 0,04 <sup>b</sup>	0,44 ± 0,02 <sup>a</sup>	0,42 ± 0,03 <sup>a</sup>	0,40 ± 0,03 <sup>a</sup>
$T_g$ (°C)	77 ± 3 <sup>NS</sup>	75 ± 2	73 ± 2	71 ± 4	75 ± 4	73 ± 4	71 ± 3
PVA (g·mm/kPa·h·m <sup>2</sup> )	1,05 ± 0,07 <sup>d</sup>	1,12 ± 0,02 <sup>d</sup>	1,24 ± 0,07 <sup>c,d</sup>	1,67 ± 0,04 <sup>b</sup>	1,35 ± 0,05 <sup>c</sup>	1,70 ± 0,05 <sup>b</sup>	1,89 ± 0,28 <sup>a</sup>
Módulo de Young (MPa)	2586 ± 175 <sup>a</sup>	1025 ± 61 <sup>b</sup>	42 ± 3 <sup>d</sup>	19 ± 2 <sup>e</sup>	706 ± 55 <sup>c</sup>	48 ± 2 <sup>d</sup>	20 ± 1 <sup>e</sup>
Tensão máxima (MPa)	46,54 ± 2,78 <sup>a</sup>	18,56 ± 1,39 <sup>b</sup>	2,64 ± 0,13 <sup>d</sup>	2,14 ± 0,23 <sup>d</sup>	13,08 ± 0,72 <sup>c</sup>	2,09 ± 0,01 <sup>d</sup>	1,60 ± 0,13 <sup>d</sup>
Elongação (%)	3,1 ± 0,1 <sup>c</sup>	2,8 ± 0,2 <sup>c</sup>	64,7 ± 5,3 <sup>a</sup>	57,4 ± 6,4 <sup>a</sup>	2,5 ± 0,3 <sup>c</sup>	24,7 ± 1,8 <sup>b</sup>	29,8 ± 0,7 <sup>b</sup>
$L^*$	95,2 ± 0,6 <sup>a</sup>	93,1 ± 0,2 <sup>b</sup>	93,4 ± 0,2 <sup>b</sup>	93,0 ± 0,5 <sup>b</sup>	90,6 ± 0,2 <sup>c</sup>	91,2 ± 0,5 <sup>c</sup>	94,3 ± 0,3 <sup>a</sup>
$a^*$	-0,198 ± 0,011 <sup>d</sup>	-0,176 ± 0,005 <sup>c</sup>	-0,166 ± 0,009 <sup>c</sup>	-0,160 ± 0,012 <sup>c</sup>	0,010 ± 0,000 <sup>a</sup>	-0,010 ± 0,000 <sup>b</sup>	-0,080 ± 0,010 <sup>b</sup>
$b^*$	-0,220 ± 0,012 <sup>c</sup>	-0,182 ± 0,004 <sup>c</sup>	-0,230 ± 0,012 <sup>c</sup>	-0,210 ± 0,014 <sup>c</sup>	2,86 ± 0,06 <sup>b</sup>	2,69 ± 0,23 <sup>b</sup>	4,52 ± 0,08 <sup>a</sup>
Opacidade (%)	8,9 ± 0,2 <sup>b,c</sup>	8,5 ± 0,3 <sup>c</sup>	8,94 ± 0,02 <sup>b,c</sup>	8,88 ± 0,08 <sup>b,c</sup>	10,30 ± 0,20 <sup>a</sup>	10,10 ± 0,30 <sup>a</sup>	9,20 ± 0,20 <sup>b</sup>

Média ± desvio padrão. Filmes comestíveis feitos com 5% de amido de pinhão (S5), 5% de amido de pinhão e 1, 1,5 ou 2% de glicerol (SG5:1, SG5:1.5, e SG5:2, respectivamente), e 5% de farinha de pinhão e 1, 1.5 ou 2% de glicerol (FG5:1, FG5:1.5, e FG5:2, respectivamente).  $T_g$ : temperatura de transição vítrea; PVA: permeabilidade a vapor de água. Valores com letras diferentes na linha indicam diferença estatística pelo teste de Tukey ( $p < 0,05$ ). NS indica que não diferença estatística na linha (não significativo).

**Figura 21.** Imagens de microscopia eletrônica de varredura (MEV) das seções transversais dos filmes S5, SG5:1, FG5:1, SG5:2 e FG5:2.



A quantidade de glicerol também influenciou na PVA, como pode ser observado na Tabela 20. As maiores quantidades de glicerol resultaram em maiores PVA, assim como observado por muitos outros autores (Mali *et al.*, 2005b; Bertuzzi *et al.*, 2007b; Muscat *et al.*, 2012). A farinha de pinhão apresentou maior Aw do que o amido de pinhão (Tabela 19). Por outro lado, os valores de umidade de monocamada calculada por BET e GAB são maiores para amido de pinhão (entre 0,08 e 0,10 kg de água por kg de sólidos secos a 20 °C) (Thys *et al.*, 2010) que para farinha de pinhão (0,0604 kg de água por kg de sólidos a 20 °C) (Cladera-

Olivera *et al.*, 2011). As isotermas de sorção de água de filmes de amido e farinha têm comportamento semelhante com uma curva sigmoide (Bertuzzi *et al.*, 2007b; Dias *et al.*, 2010; Pelissari *et al.*, 2013). A interação entre glicerol e amido ou farinha influenciou na  $A_w$  e hidrofiliidade do filme, assim como os filmes de farinha apresentaram maiores PVA quando comparados com os filmes com mesma quantidade de glicerol. Geralmente, baixas  $A_w$  são relacionadas com menores PVA e altos valores de  $A_w$  com altas PVA. Os filmes plasticizados com glicerol são equilibrados em altos conteúdos de umidade (Muscat *et al.*, 2012). O aumento da quantidade de glicerol aumenta os valores de PVA em função da característica hidrofílica do glicerol, o que favorece a adsorção e dessorção das moléculas de água (Mali *et al.*, 2004b).

Os filmes de amido de pinhão demonstraram ser mais fortes que os filmes de farinha de pinhão em quantidades de glicerol específicas, com valores de módulo de Young e tensão máxima significativamente maiores. Essas duas propriedades diminuíram com o aumento da concentração de glicerol. Por outro lado, a elongação aumentou com o aumento da quantidade de glicerol. A água geralmente diminui a tensão máxima dos filmes através do enfraquecimento das forças intermoleculares (Kramer, 2009) e, quando os filmes contém mais glicerol, estes se tornam mais higroscópicos e, conseqüentemente, diminuem a tensão máxima. A hidrofiliidade faz com que o filme se equilibre em altas umidade quando são expostos a alta umidade relativa (Muscat *et al.*, 2012). Este comportamento resulta em um decréscimo na tensão máxima e um aumento na  $A_w$  e PVA, como mencionado anteriormente, e um aumento na elongação e maleabilidade. Comparando ambos os tipos de filmes na mesma concentração de glicerol, os filmes de amido apresentaram elongação significativamente maior que os filmes de farinha nas concentrações de 1,5 e 2% de glicerol.

As propriedades mecânicas são influenciadas pelo tipo e quantidade de matéria-prima utilizada nos filmes, assim como pelo plastificante utilizado. A estrutura mais rugosa dos filmes de amido de pinhão (Figura 21) também pode ter contribuído para enfraquecer as propriedades mecânicas. Salas-Valero *et al.* (2015) desenvolveram filmes com farinha de canihua a partir de duas variedades diferentes. Em seu estudo, ambas variedades apresentaram tensão máxima em torno de 6 MPa, mas elongações diferentes (aproximadamente 15% e 24%) e módulo de Young (em torno de 380 MPa e 460 MPa). Dias *et al.* (2010) em seu estudo com filmes de amido de arroz encontraram valores de 10,9 MPa, 2,8% e 532 MPa para tensão máxima, elongação e módulo de Young, respectivamente, nos filmes contendo 20% de glicerol (equivalente a 1% de glicerol utilizado neste trabalho). Para filmes com 30% de

---

glicerol (equivalente a 1,5% de glicerol do presente trabalho) os mesmos autores encontraram 1,6 MPa, 59,8% e 21,3 MPa para as mesmas propriedades. Estes autores também analisaram os filmes de farinha de arroz e não perceberam diferença significativa entre os filmes de amido e farinha de arroz e que apenas a concentração de glicerol influencia nessas características. Assim, o aumento da concentração de glicerol diminuiu a tensão máxima, o módulo de Young e aumentou a elongação. Um comportamento similar foi observado no presente estudo, em que o filme de amido de pinhão com 1% de glicerol apresentou maiores tensão máxima e módulo de Young que o filme de farinha de pinhão e 1% de glicerol, e os filmes de amido de pinhão com 1,5e 20% de glicerol apresentaram maior elongação que os filmes de farinha de pinhão com 1,5 e 2% de glicerol (Tabela 20). Pelissari *et al.* (2013) desenvolveram filmes com amido e farinha de banana e demonstraram que os filmes com amido de banana apresentaram maiores tensões máximas e módulos de Young (assim como o filme SG5:1 comparado com FG5:1), enquanto que os filmes de farinha de banana apresentaram maiores elongações na ruptura.

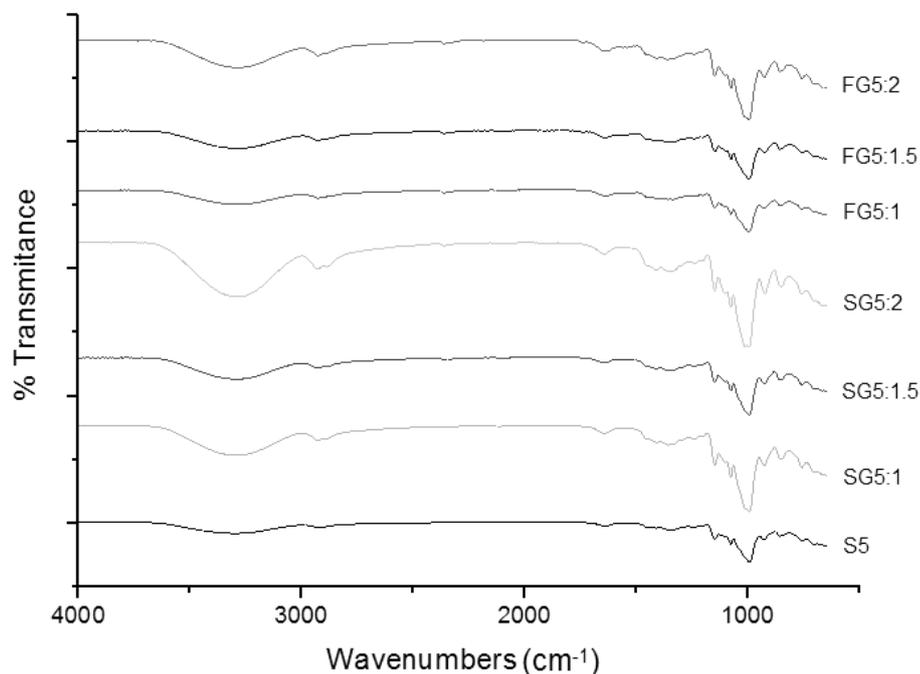
O efeito plastificante influenciou principalmente as propriedades mecânicas e PVA. O baixo peso molecular do glicerol (92 g/mol) permite que o mesmo ocupe os espaços intermoleculares entre as cadeias poliméricas, reduzindo as forças secundárias entre elas. Além disso, esta mudança na organização tridimensional molecular dos polímeros, reduzindo a energia requerida para a movimentação molecular requerida e formação de pontes de hidrogênio entre as cadeias (Vieira *et al.*, 2011). Por essa razão, filmes com baixo conteúdo de glicerol apresentam menores valores de PVA, resultando em interações moleculares fortes e uma estrutura mais densa e compacta. A alta concentração de plastificante aumenta as modificações estruturais das interações moleculares do polímero, formando uma rede mais fraca. Este comportamento promove a mobilidade e flexibilidade da rede das cadeias poliméricas e a matriz do filme se torna menos densa com valores altos de PVA (Sanyang *et al.*, 2015a).

Da mesma forma, o glicerol induz a redução das forças de tensão, facilitando a interação entre as cadeias moleculares de glicerol-polímero. O plastificante diminui a forte atração intra-molecular das cadeias poliméricas e promove a formação de pontes de hidrogênio entre as moléculas de plastificante e polímero; como consequência, há uma redução da força de tensão (tensão máxima) dos filmes plastificados devido a “fraqueza” das pontes de hidrogênio entre as cadeias poliméricas (Muscat *et al.*, 2012; Sanyang *et al.*, 2015a). Por outro lado, a elongação do filme aumenta com o aumento da concentração de

glicerol. Isto acontece porque os plastificantes diminuem as ligações intermoleculares entre os componentes do amido e farinha de pinhão da matriz, substituindo essas ligações por pontes de hidrogênio formadas entre as moléculas do plastificante e do polímero.

Em relação a cor dos filmes comestíveis, a maior diferença foi encontrada para o parâmetro  $b^*$ . Nos filmes de farinha de pinhão o valor de  $b^*$  foi positivo e maior do que nos filmes de amido de pinhão. Pelissari *et al.* (2013) também encontraram maiores valores de  $b^*$  para os filmes de farinha de banana do que para os filmes de amido de banana. Estes valores maiores indicam que estes filmes (de farinha de banana e farinha de pinhão) são mais amarelados quando comparados com filmes de amido. Além disso, os filmes de farinha demonstraram maior opacidade que os filmes de amido. Apesar de os filmes de farinha apresentarem valores mais altos de opacidade quando comparados aos filmes de amido, a opacidade ainda representa um baixo valor e pode-se concluir que todos os filmes desenvolvidos demonstraram transparência. Outros autores reportaram valores de opacidade acima de 50% em filmes de farinha feitos de diferentes fontes (Pelissari *et al.*, 2013; Salas-Valero *et al.*, 2015).

Os espectros de FTIR dos filmes de amido e farinha de pinhão foram registrados com o objetivo de caracterizar e investigar possíveis interações que pudessem acontecer na estrutura dos filmes. Esses espectros estão apresentados na Figura 22. Não foram encontradas diferenças entre os filmes de amido e farinha de pinhão, e todos os filmes apresentaram padrões de absorbância no infravermelho similares. Os picos mais pronunciados foram em aproximadamente  $3290\text{ cm}^{-1}$ , característicos de ligações dos grupos  $-\text{OH}$ , causados pela formação de pontes de hidrogênio, e entorno de  $995\text{ cm}^{-1}$ , característico de grupos alquenos para as ligações  $=\text{C-H}$  (Silverstein *et al.*, 1981). A intensidade desses picos é maior em filmes de amido com maiores concentrações de glicerol (SG5:2) e menor para o filme de amido sem glicerol (S5). Não houve mudanças estruturais entre os filmes na presença ou ausência de glicerol, indicando que não há reação química entre glicerol e amido ou farinha de pinhão. Esta afirmação pode ser confirmada pelos padrões de absorbância no infravermelho reportado para outros filmes comestíveis à base de amido e farinha (Maizura *et al.*, 2007; Pelissari *et al.*, 2013) assim como para diferentes fontes de amido nativo (Kizil *et al.*, 2002).

**Figura 22.** Espectros de FTIR dos filmes à base de amido de pinhão e farinha de pinhão.

Os valores da banda ao redor de  $2930\text{ cm}^{-1}$  indicam a existência de grupos  $\text{CH}_2$  (Santha *et al.*, 1990). De acordo com Kizil *et al.* (2002) a diferença nas intensidades das bandas entre  $2800$  e  $3000\text{ cm}^{-1}$  pode ser atribuída à razão amilose/amilopectina; quanto maior a intensidade, maior o conteúdo de amilose. Não houve grande variação na intensidade dessa banda porque o amido e a farinha são da mesma fonte. A banda entorno de  $1640\text{ cm}^{-1}$  corresponde ao grupo amida e está relacionada com o grupo amida das proteínas, particularmente ligação  $\text{C}=\text{O}$  (Silverstein *et al.*, 1981). A presença dessa banda nos filmes de amido de pinhão é devido, provavelmente, a traços de proteína que permanece na matéria-prima. Outros autores relataram uma banda no infravermelho larga com pico a  $1637\text{ cm}^{-1}$  como a água absorvida na região amorfa dos amidos (Santha *et al.*, 1990; Wilson *et al.*, 1991; Kizil *et al.*, 2002). Conforme a cristalinidade dos amidos aumenta, esta banda se torna mais fraca.

### 6.2.2. Conclusões

As sementes de pinhão demonstraram ser uma boa fonte de amido e farinha, que pode ser utilizada como base para filmes comestíveis. As diferenças entre composição e estrutura do amido e farinha de pinhão, assim como a concentração de glicerol adicionada, podem

determinar a utilização dos filmes e suas propriedades. Os filmes de amido de pinhão e farinha de pinhão apresentaram padrões de absorvância no infravermelho similares, sem mudanças na estrutura química entre os filmes desenvolvidos. Apesar da sua natureza higroscópica, filmes feitos com amido de pinhão apresentaram uma melhor barreira a vapor d'água e menor porosidade aparente que os filmes de farinha de pinhão. Estes filmes apresentaram estrutura mais homogênea e mais lisa, proporcionando uma estrutura mais efetiva para bloquear a transferência de vapor d'água do que os filmes de farinha. Os filmes de amido de pinhão também exibiram boa transparência com valores mais altos de tensão máxima, módulo de Young e alongação na ruptura, quando comparados com os filmes de farinha de pinhão com a mesma quantidade de glicerol.

Os filmes de farinha de pinhão tiveram maior permeabilidade a vapor d'água, porosidade aparente e opacidade que os filmes de amido de pinhão com a mesma concentração de glicerol. A farinha de pinhão contém outros componentes além de amido, como proteínas, lipídios e fibras. Esses componentes e possíveis interações entre eles e o amido, e entre si, pode ter influenciado a maior permeabilidade a vapor d'água, porosidade, opacidade e a estrutura irregular dos filmes de farinha de pinhão. As características físicas foram afetadas principalmente pela concentração de plastificante. Filmes com conteúdos mais elevados de glicerol são mais higroscópicos e, conseqüentemente, tem barreira a vapor d'água e resistência a tração inferiores e alongação superior. O conteúdo de glicerol pode ser ajustado para adequar as propriedades dos filmes às necessidades de aplicação nos alimentos. Filmes hidrofílicos, como os filmes estudados neste trabalho, poderiam ser aplicados como coberturas comestíveis em frutas e vegetais, ou até mesmo para material de embalagem de alimentos desidratados que necessitem de prévia hidratação antes de ser consumido.

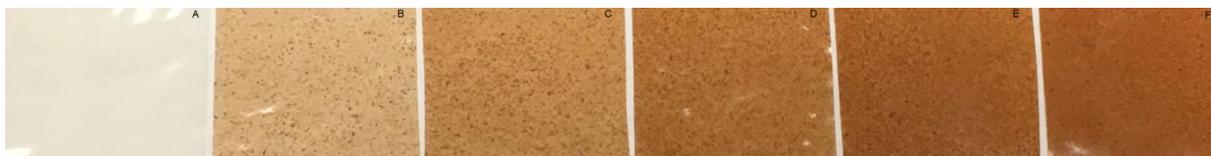
### 6.3. Influência da adição da casca de pinhão aos filmes de farinha de pinhão

Neste estudo, a farinha de pinhão foi utilizada como base para o desenvolvimento de filmes comestíveis e casca de pinhão foi incorporada nos filmes em diferentes concentrações com o objetivo de adicionar fibras e compostos fenólicos aos filmes. A influência da adição da casca de pinhão nos filmes foi avaliada através da análise de suas propriedades físico-químicas.

#### 6.3.1. Caracterização dos filmes formados

Os filmes foram facilmente retirados do plástico Mylar, apresentaram boa flexibilidade e facilidade ao corte, independente da concentração de casca utilizada. O filme controle, sem adição de casca de pinhão, apresentou cor mais clara com uma textura mais lisa. Dentre os filmes desenvolvidos, as diferenças visuais mais acentuadas foram em relação a cor e rugosidade da superfície; quanto maior a concentração de casca de pinhão, os filmes tornaram-se mais escuros e com superfície mais rugosa, como podemos observar na Figura 23.

**Figura 23.** Fotografias dos filmes H0 (A), H05 (B), H10 (C), H15 (D), H20 (E) e H25 (F).



Filmes comestíveis feitos com 5% de farinha de pinhão e 1,5% de glicerol (H0), e adicionados de 0,5, 1,0, 1,5, 2,0 e 2,5% de casca de pinhão em pó (H05, H10, H15, H20 e H25, respectivamente).

A Tabela 21 apresenta a espessura, cor, porosidade aparente e permeabilidade a vapor d'água (PVA) dos filmes à base de farinha de pinhão com diferentes concentrações de casca de pinhão. A adição da casca aumentou a espessura e deixou a superfície menos homogênea e mais rugosa.

Os parâmetros de cor medidos confirmaram as diferenças de cor percebidas visualmente, conforme a Figura 23. O parâmetro  $L^*$  não apresentou grande variação entre os filmes, entretanto, os filmes variaram significativamente nos valores de  $a^*$  e  $b^*$ , indicando que as cores avermelhada ( $a^*$ ) e amarelada ( $b^*$ ), ou seja, marrom, aumentaram proporcionalmente ao aumento da concentração de casca de pinhão.

**Tabela 21.** Espessura, parâmetros de cor, porosidade e permeabilidade a vapor d'água (PVA) dos filmes à base de farinha de pinhão e diferentes concentrações de pó de casca de pinhão.

Filme	Espessura (mm)	$L^*$	$a^*$	$b^*$	$\emptyset$	PVA (g·mm/kPa·h·m <sup>2</sup> )
H0	0,051 ± 0,002 <sup>d</sup>	43,00 ± 0,14 <sup>a</sup>	-0,35 ± 0,03 <sup>f</sup>	-0,41 ± 0,04 <sup>f</sup>	0,24 ± 0,04 <sup>b</sup>	1,61 ± 0,12 <sup>e</sup>
H05	0,110 ± 0,008 <sup>c</sup>	42,09 ± 0,26 <sup>c</sup>	1,15 ± 0,07 <sup>e</sup>	2,45 ± 0,13 <sup>e</sup>	0,52 ± 0,04 <sup>a</sup>	2,73 ± 0,15 <sup>d</sup>
H10	0,145 ± 0,007 <sup>b</sup>	41,94 ± 0,17 <sup>c</sup>	2,98 ± 0,19 <sup>d</sup>	4,42 ± 0,20 <sup>d</sup>	0,59 ± 0,03 <sup>a</sup>	3,36 ± 0,23 <sup>c</sup>
H15	0,149 ± 0,010 <sup>b</sup>	42,24 ± 0,06 <sup>b,c</sup>	4,23 ± 0,10 <sup>c</sup>	5,30 ± 0,11 <sup>c</sup>	0,53 ± 0,03 <sup>a</sup>	3,39 ± 0,26 <sup>b,c</sup>
H20	0,164 ± 0,008 <sup>a</sup>	42,34 ± 0,28 <sup>b,c</sup>	5,52 ± 0,10 <sup>b</sup>	6,13 ± 0,21 <sup>b</sup>	0,55 ± 0,03 <sup>a</sup>	3,66 ± 0,14 <sup>a,b</sup>
H25	0,175 ± 0,008 <sup>a</sup>	42,61 ± 0,18 <sup>b</sup>	6,59 ± 0,18 <sup>a</sup>	6,69 ± 0,18 <sup>a</sup>	0,58 ± 0,02 <sup>a</sup>	3,75 ± 0,17 <sup>a</sup>

Filmes comestíveis feitos com 5% de farinha de pinhão e 1,5% de glicerol (H0), e adicionados de 0,5, 1,0, 1,5, 2,0 e 2,5% de casca de pinhão em pó (H05, H10, H15, H20 e H25, respectivamente).  $\emptyset$ : porosidade aparente; PVA: permeabilidade a vapor d'água. Letras diferentes na mesma coluna indicam diferença pelo teste de Tukey ( $p < 0,05$ ).

Os valores de porosidade aparente foram maiores para filmes contendo casca de pinhão do que para o filme controle, porém, a concentração de casca de pinhão não afetou a porosidade dos filmes. O aumento da porosidade a partir da incorporação de casca de pinhão indica uma diminuição na densidade. Esta afirmação é corroborada por outros estudos que encontraram uma diminuição da densidade em filmes reforçados com fibras naturais, uma vez que o material celulósico tem baixa densidade (Dufresne & Vignon, 1998; Wollerdorfer & Bader, 1998; Müller *et al.*, 2009).

A presença de casca de pinhão aumentou a PVA assim como os filmes com casca apresentaram uma maior porosidade aparente. Müller *et al.* (2009) em seu estudo com adição de fibras de celulose em filmes de amido de mandioca reportaram que a PVA diminuiu para quase todas as umidades relativas (UR) avaliadas. Dias *et al.* (2011) também reportaram uma diminuição na PVA em filmes de farinha de arroz incorporados com fibra celulósica quando comparados com seus controles. A maior porosidade e superfície irregular podem ter contribuído para o aumento da PVA no presente trabalho. Oliveira *et al.* (2015) não encontraram diferença significativa na PVA quando fibras celulósicas foram adicionadas à matriz de proteína de mamona liofilizada dos filmes produzidos em seu estudo. Estes autores também reportaram que a presença de poros pode ter influenciado esse resultado. Ainda que a adição de casca de pinhão tenha aumentado a PVA, essa propriedade não seria necessariamente uma limitação para sua aplicação em filmes comestíveis.

A Tabela 22 apresenta as propriedades mecânicas, valores de fenólicos solúveis totais (FST) e capacidade antioxidante dos filmes. A adição da casca de pinhão aumentou o módulo de Young (MY), mas não seguiu um comportamento linear. Esses resultados estão em concordância com o de filmes biodegradáveis feitos de proteínas extraídas de torta de semente

de mamona e reforçadas com fibra celulósica, estudados por Oliveira *et al.* (2015), e também com estudos sobre poliuretano a partir de filmes de óleo de mamona reforçado com fibra de celulose a partir do bagaço de cana (Miléo *et al.*, 2011).

**Tabela 22.** Propriedades mecânicas, fenólicos solúveis totais e capacidade antioxidante dos filmes comestíveis à base de farinha de pinhão com diferentes concentrações de casca de pinhão em pó.

Filme	MY (MPa)	TM (MPa)	E (%)	FST (mg GAE/g filme)	Capacidade antioxidante (mg Trolox/g filme)
H0	51,51 ± 3,71 <sup>c</sup>	2,54 ± 0,15 <sup>a</sup>	18,77 ± 1,86 <sup>a</sup>	0,28 ± 0,01 <sup>f</sup>	0,76 ± 0,03 <sup>f</sup>
H05	29,91 ± 3,55 <sup>c</sup>	1,30 ± 0,11 <sup>c</sup>	14,67 ± 1,93 <sup>b</sup>	0,61 ± 0,01 <sup>e</sup>	1,77 ± 0,06 <sup>e</sup>
H10	43,58 ± 3,40 <sup>c</sup>	1,46 ± 0,13 <sup>c</sup>	13,25 ± 1,64 <sup>b</sup>	0,95 ± 0,02 <sup>d</sup>	2,91 ± 0,09 <sup>d</sup>
H15	48,89 ± 6,12 <sup>c</sup>	1,53 ± 0,13 <sup>c</sup>	12,49 ± 2,22 <sup>b</sup>	1,19 ± 0,02 <sup>c</sup>	3,74 ± 0,12 <sup>c</sup>
H20	108,54 ± 30,26 <sup>b</sup>	2,22 ± 0,38 <sup>b</sup>	8,12 ± 1,68 <sup>c</sup>	1,42 ± 0,05 <sup>b</sup>	4,83 ± 0,06 <sup>b</sup>
H25	139,86 ± 10,58 <sup>a</sup>	2,38 ± 0,13 <sup>a,b</sup>	4,24 ± 0,66 <sup>d</sup>	2,09 ± 0,04 <sup>a</sup>	7,57 ± 0,52 <sup>a</sup>

Filmes comestíveis feitos com 5% de farinha de pinhão e 1,5% de glicerol (H0) adicionados de 0,5, 1,0, 1,5, 2,0 e 2,5% de casca de pinhão (H05, H10, H15, H20 e H25, respectivamente). MY: módulo de Young; TM: tensão máxima; E: alongação na ruptura; FST: fenólicos solúveis totais. Letras diferentes na mesma coluna indicam diferença pelo teste de Tukey ( $p < 0,05$ ).

Esperava-se que a adição das fibras da casca de pinhão aumentasse a TM dos filmes, entretanto, a concentração mínima de casca de pinhão diminuiu a TM comparada ao filme controle e a máxima concentração de casca de pinhão não apresentou diferença estatística com o filme controle. Provavelmente o aumento da concentração de casca na formulação, acima das concentrações utilizadas no presente trabalho, faria com que os filmes apresentassem maior resistência. A casca de pinhão consiste em 76,6% de fibra dietética total e o comportamento das propriedades mecânicas pode ser comparado a outros filmes reforçados com fibras. Müller *et al.* (2009) estudaram o efeito da adição de fibras celulósicas em filmes à base de amido de mandioca e encontraram que os filmes com fibras apresentaram maiores valores de TM e MY, mas menores valores de E. Dias *et al.* (2011) reportaram que a adição de 0,3 g fibras/g farinha seca (plastificado com 0,3 g glicerol/g farinha) em filmes à base de farinha de arroz melhoraram as propriedades mecânicas dos filmes.

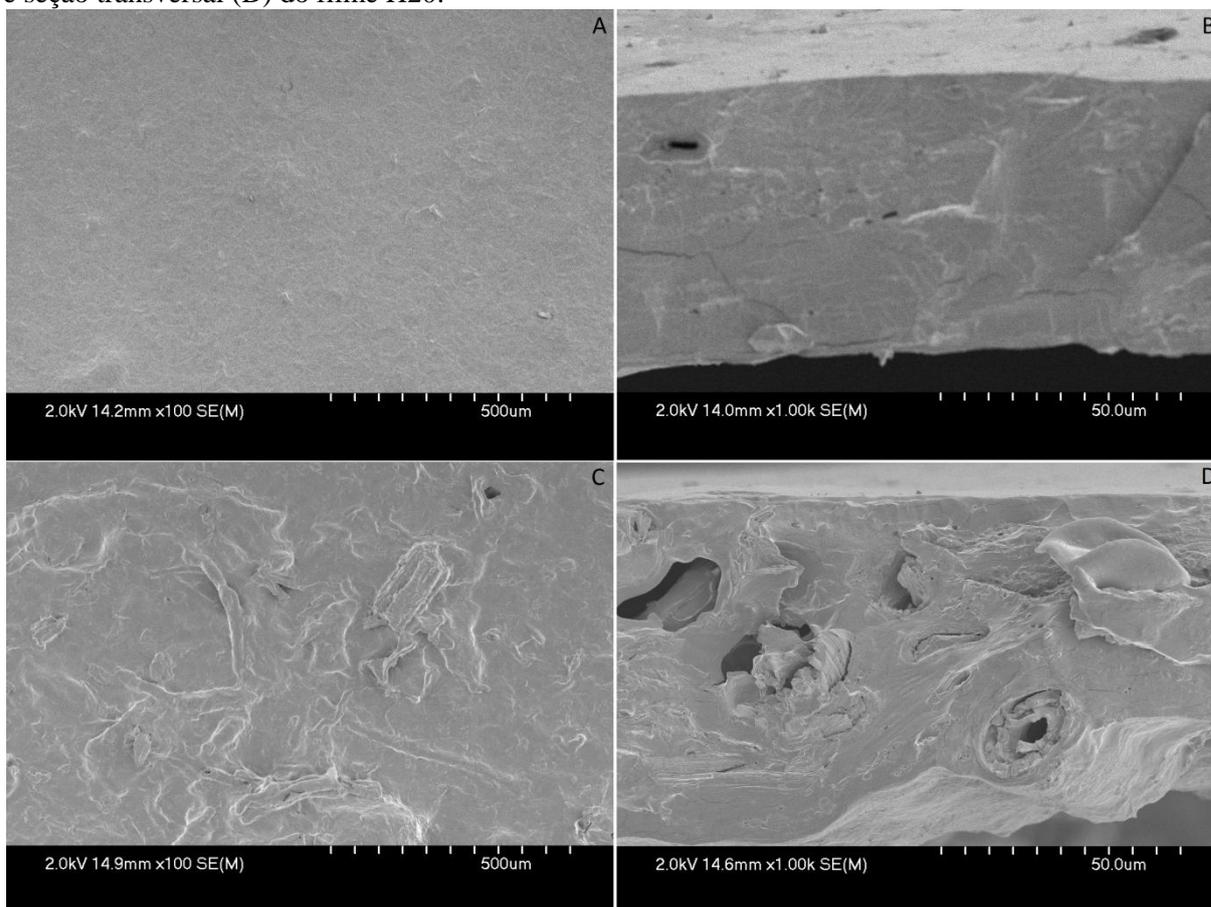
Contrariamente ao MY e à TM, a E diminuiu com o aumento da concentração de casca de pinhão incorporada aos filmes. Esta diminuição da alongação com o aumento da concentração de fibras também foi observado em filmes de farinha de arroz reforçados com fibras celulósicas e plastificados com glicerol (0,3 g fibras/g farinha) (Dias *et al.*, 2011). Em filmes à base de amido de mandioca reforçados com fibra celulósica a alongação diminuiu mais de 18 vezes em filmes com 0,5 g fibras/g amido quando comparados com a matriz pura (Müller *et al.*, 2009).

As análises de fibras dietéticas demonstraram que a farinha de pinhão contém 1,11% de fibras solúveis e 3,42% de fibras insolúveis, totalizando 4,53% de fibras totais. Enquanto isso, a casca de pinhão é composta de 3,69% de fibras solúveis e 72,9% de fibras insolúveis, totalizando 76,6% de fibras totais. Os filmes controle (H0) e o filme com 1,5% de casca de pinhão (H15) também foram analisados a fim de verificar a quantidade de fibra adicionada aos filmes. Esta análise mostrou que o filme controle (H0) contém 1,03% de fibras solúveis e 6,2% de fibras insolúveis, totalizando 7,23% de fibras totais, enquanto que o filme com 1,5% de casca de pinhão (H15) apresentou 1,53% de fibras solúveis, 16,8% de fibras insolúveis e, conseqüentemente, 18,3% de fibras totais. A quantidade de fibras presente na casca de pinhão aumentou as fibras dos filmes, influenciando suas propriedades mecânicas e de permeabilidade a vapor d'água.

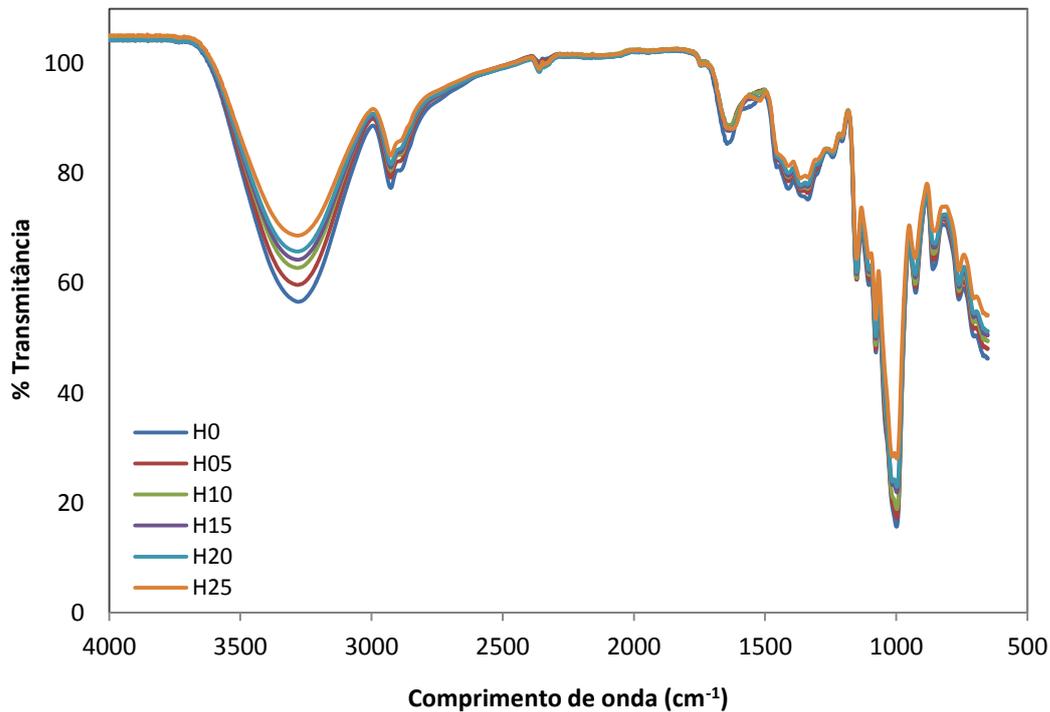
O uso de extratos naturais de plantas é incentivado para o desenvolvimento de novos produtos e nutracêuticos, assim como sistemas ativos de embalagem (Bajpai *et al.*, 2011). De acordo com os FST e capacidade antioxidante dos filmes apresentados na Tabela 22, é possível confirmar que a concentração de casca de pinhão influenciou estas propriedades uma vez que já é conhecido que a casca de pinhão contém compostos fenólicos com atividade antioxidante. (Koehnlein *et al.*, 2012; Souza *et al.*, 2014). Quanto maior a concentração de casca de pinhão, maior os FST e capacidade antioxidante dos filmes. Genskowsky *et al.* (2015) estudaram o desenvolvimento de filmes de quitosana adicionados de extratos de *maqui berry* e encontraram 4,74 mg GAE/g e 8,44 mg GAE/g em filmes com 0,5% e 1% de extrato, respectivamente. Os mesmos autores reportaram atividade antioxidante de 2,06 e 2,8 mg TE/g para os filmes com concentrações de 0,5 e 1% respectivamente.

A Figura 24 apresenta as imagens de MEV das superfícies e seção transversal dos filmes H0 e H20. Pode ser observado que as fibras incorporadas aos filmes através da adição da casca de pinhão deixaram os filmes mais rugosos, o que é visível tanto nas imagens da superfície como nas imagens da seção transversal. Além disso, o filme H20 apresentou maior espessura e alguns poros comparado ao filme H0, visível na Figura 24D.

**Figura 24.** Imagens de MEV da superfície (A) e seção transversal (B) do filme H0 e da superfície (C) e seção transversal (D) do filme H20.



Os espectros de FTIR dos filmes à base de farinha de pinhão com e sem adição de casca de pinhão são apresentados na Figura 25. Todos os filmes apresentaram padrões de absorvância no infravermelho similares com os picos mais pronunciados ao redor de  $3290\text{ cm}^{-1}$ , característico das ligações de grupos  $\text{-OH}$ , causadas pela formação de pontes de hidrogênio. Outro pico pronunciado está presente na banda de aproximadamente  $995\text{ cm}^{-1}$ , característico dos grupos alquenos para as ligações  $\text{=C-H}$  (Silverstein *et al.*, 1981). As intensidades desses picos apresentaram uma pequena variação, sendo que o filme controle apresentou os picos mais pronunciados e a intensidade dos picos decresceu conforme o aumento da concentração de casca de pinhão na matriz. Mesmo com a adição da casca de pinhão, os padrões de absorvância no infravermelho são similares àqueles de filmes comestíveis à base de farinha de outras fontes (Maizura *et al.*, 2007; Pelissari *et al.*, 2013).

**Figura 25.** Espectro de FTIR dos filmes à base de farinha de pinhão com e sem pó de casca de pinhão.

### 6.3.2. Conclusões

A adição de casca de pinhão nos filmes à base de farinha de pinhão pode constituir uma ótima abordagem para a utilização da semente inteira de pinhão e fornecer filmes com FST, capacidade antioxidante e fibras. A adição da casca aumentou a espessura, a porosidade aparente, a permeabilidade a vapor d'água, o conteúdo de fenólicos solúveis totais, a capacidade antioxidante, o módulo de Young, a tensão máxima e a fibra dietética (principalmente fibras insolúveis), bem como resultou em filmes mais amarronzados. A presença da casca também contribuiu para diminuir a alongação na ruptura e deixar os filmes mais rugosos com alguns poros, visíveis nas imagens de MEV. Os espectros de FTIR analisados apresentaram padrões de absorbância no infravermelho similares para todos os filmes desenvolvidos com uma ligeira diminuição na intensidade dos picos com o aumento da concentração da casca de pinhão.

#### **6.4. Comparação entre filme comestível de amido de pinhão e filmes feitos com amidos comerciais com diferentes proporções de amilose/amilopectina**

O objetivo deste estudo foi comparar as propriedades do filme feito com amido de pinhão com filmes feitos com três diferentes amidos comerciais. Diferentes razões de amilose/amilopectina nos amidos (17/83, 55/45 and 70/30) foram utilizadas para verificar-se o efeito desta razão nas propriedades dos filmes. Os amidos comerciais utilizados foram amido de mandioca (17/83) e dois tipos de amido de milho com alto teor de amilose, Hylon V (55/45) e Hylon VII (70/30). Os amidos comerciais foram doados pela empresa National Starches (Ingretion Inc., Bidgewater, NJ, USA).

##### **6.4.1. Caracterização dos filmes**

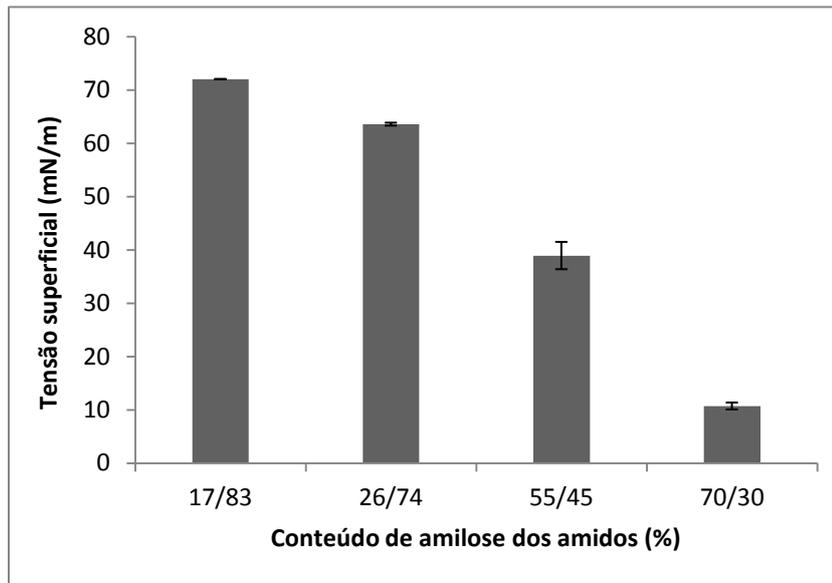
A tensão superficial das soluções filmogênicas está apresentada na Figura 26. A tensão superficial da água destilada é 71,0 mN/m (Rodríguez *et al.*, 2006), similar à solução de amido de mandioca (72,0 mN/m) encontrada neste trabalho. Com o aumento da razão amilose/amilopectina, a tensão superficial diminui significativamente. Isso significa que razões maiores de amilose/amilopectina necessitam de menos força para fluir através da placa. Além disso, tensões superficiais mais altas estão relacionadas com baixa viscosidade cinemática (Caro *et al.*, 2016).

A tensão superficial mais baixa das soluções filmogênicas com maiores razões de amilose/amilopectina é provavelmente devido à ação espessante da amilose cristalizada. No aquecimento em água, a estrutura semicristalina dos grânulos de amido é quebrada, e amilose e amilopectina ficam dispersas na solução. Quando a solução de amido é resfriada até temperatura ambiente, a fração da amilose cristaliza e precipita, e pode ser molecularmente dissolvida novamente com dificuldade (Aberle *et al.*, 1997). Em solução aquosa, as moléculas de amido têm uma forte tendência de associarem-se, aumentando a viscosidade da solução.

A densidade, volume total de poro e propriedades de cor estão expressos na Tabela 23. A densidade real, densidade aparente e volume total de poro (VTP) dos filmes apresentaram algumas diferenças, mas a razão amilose/amilopectina não apresentou efeito sobre essas propriedades.  $\rho_t$  (densidade real) e VTP diminuíram da proporção de 17/83 até 55/45, mas a proporção de 70/30 apresentou comportamento diferente e, por isso, não se pode concluir uma influência linear da proporção amilose/amilopectina. De maneira oposta,  $\rho_b$  (densidade aparente) aumentou de 17/83 até 55/45, sendo o filme H-V o que apresentou a maior  $\rho_b$  e os

menores valores de  $\rho_t$  e VTP. Os valores de  $\rho_t$  estão em concordância com outros estudos de filmes à base de amido (Razavi *et al.*, 2015; Sanyang *et al.*, 2015b).

**Figura 26.** Tensão superficial das soluções filmogênicas de amidos com diferentes razões de amilose/amilopectina.



**Tabela 23.** Densidade, porosidade e parâmetros de cor dos filmes feitos com diferentes amidos.

Filme	$\rho_t$ (g/cm <sup>3</sup> )	$\rho_b$ (g/cm <sup>3</sup> )	VTP	$\Delta E$	Opacidade (%)
MAN (17/83)	1,527 ± 0,008 <sup>a</sup>	1,22 ± 0,10 <sup>b,c</sup>	0,16 ± 0,05 <sup>a,b</sup>	6,3 ± 0,3 <sup>a</sup>	9,0 ± 0,2 <sup>b</sup>
PIN (26/74)	1,515 ± 0,012 <sup>b</sup>	1,25 ± 0,08 <sup>a,b</sup>	0,14 ± 0,04 <sup>a,b</sup>	6,4 ± 0,1 <sup>a</sup>	9,4 ± 0,3 <sup>a</sup>
H-V (55/45)	1,464 ± 0,004 <sup>d</sup>	1,33 ± 0,04 <sup>a</sup>	0,07 ± 0,02 <sup>b</sup>	5,7 ± 0,2 <sup>a</sup>	9,2 ± 0,1 <sup>a,b</sup>
H-VII (70/30)	1,482 ± 0,008 <sup>c</sup>	1,16 ± 0,06 <sup>c</sup>	0,19 ± 0,04 <sup>a</sup>	2,6 ± 0,2 <sup>b</sup>	8,0 ± 0,3 <sup>c</sup>

Letras diferentes na mesma coluna indicam diferença estatística pelo teste de Tukey ( $p < 0,05$ ).

Filme à base de amido de mandioca (MAN (17/83)), amido de pinhão (PIN(26/74)), amido de milho Hylon V (H-V(55/45)) e amido de milho Hylon VII (H-VII(70/30)).  $\rho_t$ : densidade real;  $\rho_b$ : densidade aparente; VTP: volume total de poro;  $\Delta E$ : diferença total de cor.

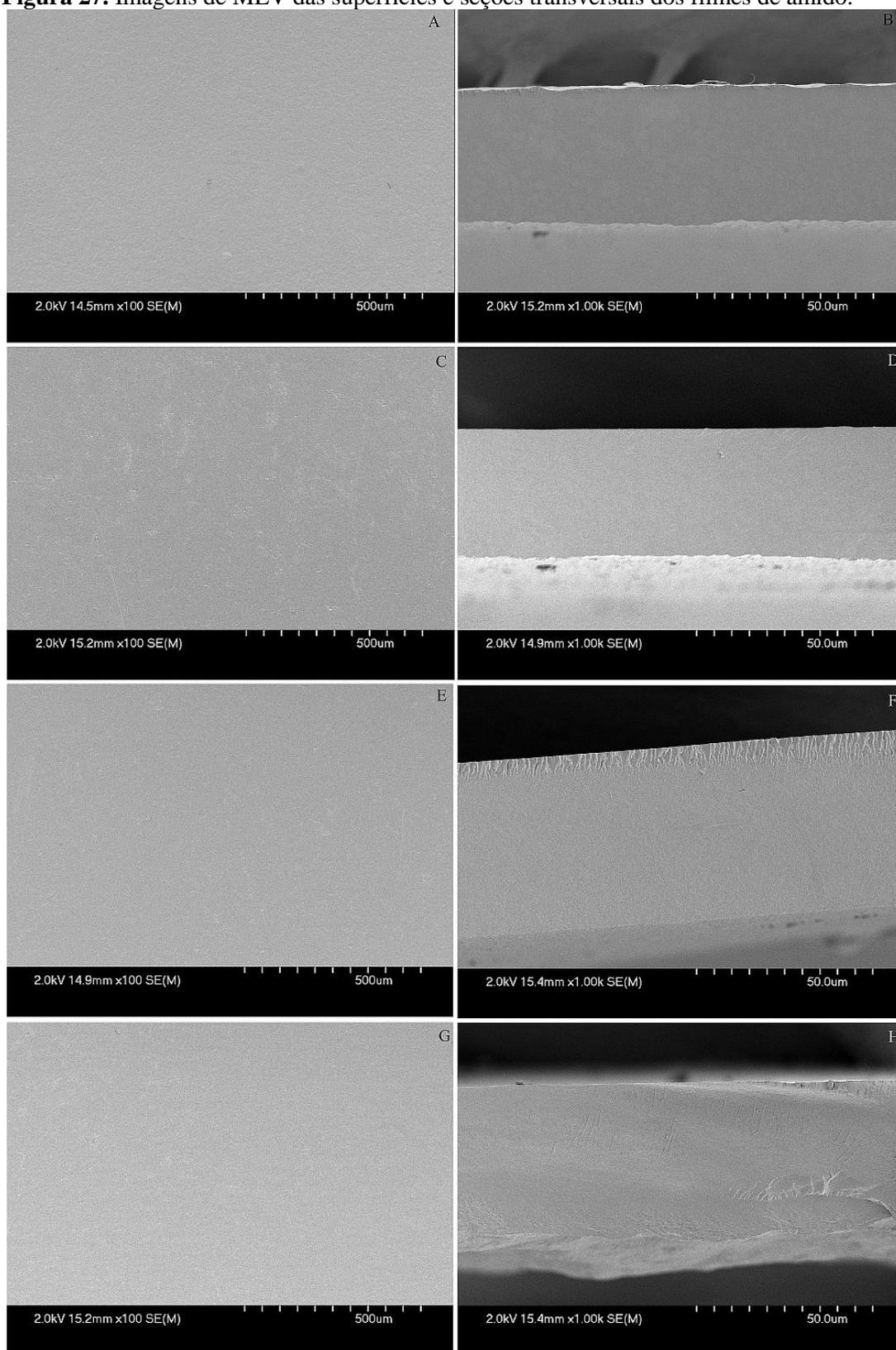
As propriedades de diferença total de cor ( $\Delta E$ ) e opacidade foram significativamente menor para o filme H-VII. Ainda que a opacidade tenha sido maior para os demais filmes, estes valores são considerados baixos e todos os filmes desenvolvidos demonstraram transparência. O valor mais claro de  $L^*$  (resultado não apresentado) foi o parâmetro que mais influenciou na diminuição da  $\Delta E$  e opacidade no filme H-VII, e os demais parâmetros não apresentaram variação significativa.

---

A estrutura dos filmes de amido foi analisada através das imagens de MEV das superfícies e seções transversais dos filmes, apresentadas na Figura 27. Foi observado que todos os filmes apresentaram superfícies lisas, assim como reportado por outros autores para filmes de amido obtidos pelo método de *casting* (Chen *et al.*, 2009; Dias *et al.*, 2010; Cano *et al.*, 2014). No geral, os filmes de amido apresentaram aspecto homogêneo, indicando assim que a etapa de gelatinização foi suficiente para quebrar todos os grânulos de amido. Observando as imagens das seções transversais pode ser percebido que quase todos os filmes possuem espessura homogênea, com exceção do filme H-VII (Figura 27H). Além disso, os filmes de amido com as maiores proporções de amilose/amilopectina apresentaram algumas ondulações na superfície, visíveis nas imagens das seções transversais (Figura 27F e H). Neste estudo, os filmes à base de amido com as menores razões de amilose/amilopectina (MAN e PIN) apresentaram aparência mais lisa do que os demais filmes com maiores razões amilose/amilopectina (H-V e H-VII).

A relação entre conteúdo total de umidade e atividade de água ( $A_w$ ) dos alimentos, ao longo de um intervalo de valores, e a temperatura constante, produz uma curva isotérmica de sorção de umidade quando expressos graficamente (Al-Muhtaseb *et al.*, 2002). A Figura 28 apresenta as isotermas dos filmes de amido obtidas pela análise em DVS (*Dynamic Vapor System*), ajustadas ao modelo de GAB. Todos os filmes de amidos desenvolvidos apresentaram isoterma do Tipo III, característica de produtos alimentares. A isoterma do Tipo III ocorre pela adsorção de um solvente, ou outra substância como glicerol, abaixo de sua temperatura de transição vítrea (Mathlouthi & Rogé, 2003).

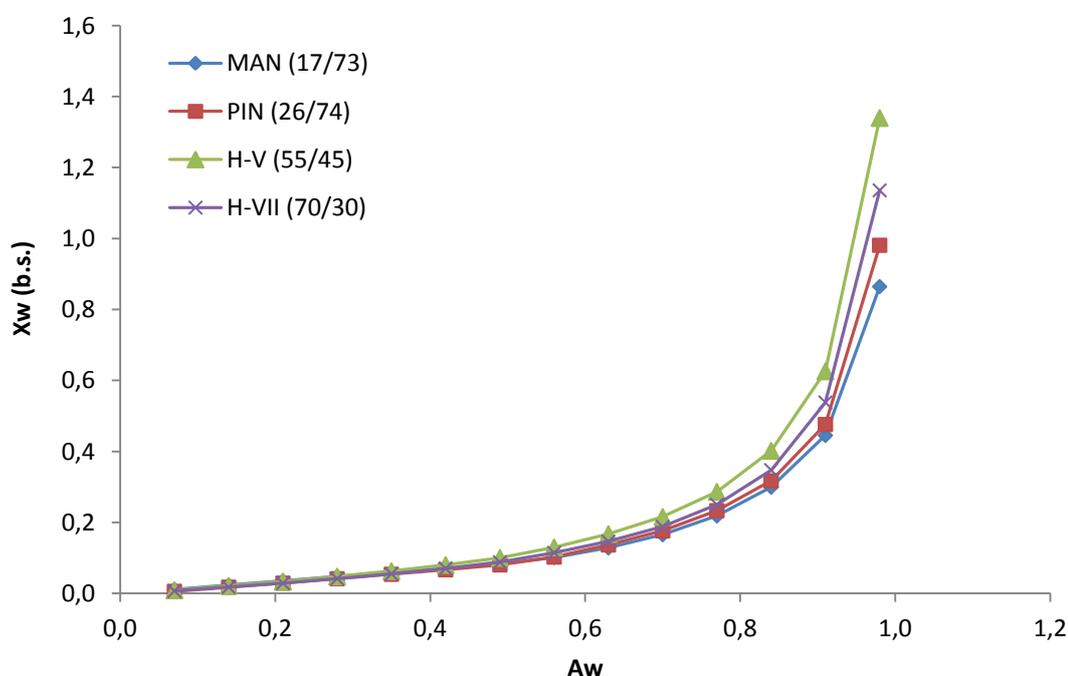
Alimentos ricos em componentes solúveis, tais como açúcares, têm demonstrado comportamento de isoterma do Tipo II, devido à solubilidade dos açúcares em água (Rao *et al.*, 2005). Chinachoti & Steinberg (1984) encontraram que a sacarose adicionada a géis de amido aumentou acentuadamente a sorção de água em  $A_w$  maiores que 0,85. Banana, açúcares, maçã, álcool de açúcar, passas entre outros, também apresentam isotermas do Tipo III (Al-Muhtaseb *et al.*, 2002).

**Figura 27.** Imagens de MEV das superfícies e seções transversais dos filmes de amido.

Superfície e seção transversal dos filmes MAN (17/83) (A e B, respectivamente), PIN (26/74) (C e D, respectivamente), H-V (55/45) (E e F, respectivamente) e H-VII (G e H, respectivamente).

As curvas de adsorção de dos filmes à base de amido apresentaram curvas sigmóides, demonstrando um aumento mais lento do teor de umidade de equilíbrio até  $A_w = 0,7$ , e após, um pequeno aumento da umidade levou a um grande ganho de massa, sugerindo um fenômeno de inchaço com o aumento da  $A_w$  e aumentando a solubilização. Comportamento similar foi observado por outros autores para filmes à base de amido (Mali *et al.*, 2005b; Talja *et al.*, 2007; Müller *et al.*, 2008; Talja *et al.*, 2008a; Galdeano *et al.*, 2009). Além disso, o teor de umidade de equilíbrio até  $A_w = 0,5$  não apresentou diferenças entre os filmes de amido.

**Figura 28.** Isotermas de sorção dos filmes de amido na temperatura de 25°C.



O modelo de GAB foi adequado para o ajuste das isotermas dos filmes à base de amido desenvolvidos e permitiram calcular o valor de monocamada adsorvida na superfície. Os parâmetros para o modelo de GAB e área específica dos filmes estão apresentados na Tabela 24. Entre os filmes de amido avaliados, o filme H-V (55/45) foi o que apresentou maior hidrofiliabilidade que os demais e o teor de umidade de equilíbrio não foi influenciado pelo conteúdo de amilose/amilopectina. O filme H-V também apresentou o valor mais elevado do teor de água na monocamada ( $X_m$ ), enquanto que os demais filmes de amido apresentaram valores próximos entre si. Os valores do parâmetro  $C$ , relacionado com o calor de sorção da monocamada, parecem diminuir com o aumento da proporção amilose/amilopectina, mas não de forma linear. Por outro lado, o valor do parâmetro  $k$  é

praticamente o mesmo para os filmes desenvolvidos e não foram afetados pela razão amilose/amilopectina.

**Tabela 24.** Parâmetros de ajuste para o modelo de GAB e área específica da superfície dos filmes.

Filme	$X_m$	$C$	$k$	$R^2$	$S (m^2/g)$
MAN (17/83)	0,068	2,59	0,94	>0.99	257,4
PIN (26/74)	0,072	2,03	0,95	>0.99	273,8
H-V (55/45)	0,090	1,78	0,95	>0.99	344,3
H-VII (70/30)	0,078	1,83	0,95	>0.99	299,6

Filme à base de amido de mandioca (MAN (17/83)), amido de pinhão (PIN(26/74)), amido de milho Hylon V (H-V(55/45)) e amido de milho Hylon VII (H-VII(70/30)).  $X_m$ : teor de umidade na monocamada;  $C$ : constante de adsorção relacionada ao calor de sorção na monocamada;  $k$ : constante de adsorção;  $R^2$ : coeficiente de determinação;  $S$ : área específica da superfície do filme.

A área específica da superfície dos filmes desempenha um papel importante na determinação das propriedades de ligação de água nos materiais particulados. Os valores da área específica obtidos pela Eq. (21) e utilizando os valores de teor de umidade de monocamada da equação de GAB ( $A_w = 0-0,98$ ) estão na Tabela 24. O filme H-V apresentou a maior área específica da superfície dos filmes de amido e, em função da maior área disponível para adsorção de água, também o maior teor de umidade na monocamada ( $X_m$ ).

A Tabela 25 apresenta a permeabilidade a vapor d'água e propriedades mecânicas dos filmes de amido. A razão de amilose/amilopectina não demonstrou influência na PVA dos filmes. Estes valores estão em concordância com os encontrados por Muscat *et al.* (2012) que estudaram a influência da concentração de amilose em amidos de milho e dos diferentes plastificantes utilizados e demonstraram a influência apenas do tipo de plastificante utilizado, mas não encontraram diferenças que relacionassem o conteúdo de amilose com PVA. O valor de PVA do filme PIN foi o único significativamente menor, provavelmente devido a algum resíduo de proteína ou lipídio que poderia permanecer no amido após a extração. A difusividade da água através do filme pode ser retardada com a inclusão de materiais hidrofóbicos, tais como ácidos graxos comestíveis, materiais à base de proteínas ou ceras nos filmes comestíveis hidrofílicos, melhorando suas propriedades de barreira (Krochta & De Mulder-Johnston, 1997; Ayranci & Tunc, 2001).

A razão amilose/amilopectina influenciou nas propriedades de tensão dos filmes à base de amido; quanto maior a razão amilose/amilopectina, maiores os valores de MY e TM e menores os valores de E. Amidos com alto percentual de amilose deixam os filmes mais fortes, provavelmente devido à cristalização da amilose. (Rindlav-Westling *et al.*, 1998; Liu

& Han, 2005; Talja *et al.*, 2008b). A cristalinidade dos amidos estudados é maior nas menores razões amilose/amilopectina: 40% em amido de mandioca (17/83) (Gomand *et al.*, 2010), 23% em amido de pinhão (26/74) (Thys *et al.*, 2008), 17,1% em amido de milho tipo Hylon V (55/45) e 15,6% em amido de milho tipo Hylon VII (70/30) (Freire *et al.*, 2009). Entretanto, após o tratamento térmico o grau de cristalinidade aumenta ligeiramente com o aumento da razão amilose/amilopectina (Freire *et al.*, 2009). Assim, os filmes obtidos a partir de amidos com maiores razões de amilose/amilopectina apresentam maior cristalinidade, fazendo com que esses filmes sejam mais fortes. Além disso, a baixa tensão superficial das soluções de amido com alta razão amilose/amilopectina e maior viscosidade contribuem para aumentar a força dos filmes.

**Tabela 25.** Permeabilidade a vapor d'água e propriedades mecânicas dos filmes feitos com diferentes amidos.

Filme	PVA (g·mm/kPa·h·m <sup>2</sup> )	MY (MPa)	TM (MPa)	E (%)
MAN (17/83)	1,7 ± 0,15 <sup>a</sup>	2,84 ± 0,44 <sup>d</sup>	0,68 ± 0,09 <sup>c</sup>	65,33 ± 9,31 <sup>a</sup>
PIN (26/74)	1,31 ± 0,07 <sup>b</sup>	48,04 ± 5,10 <sup>c</sup>	2,72 ± 0,30 <sup>b</sup>	40,60 ± 2,15 <sup>b</sup>
H-V (55/45)	1,75 ± 0,12 <sup>a</sup>	270,75 ± 41,86 <sup>b</sup>	6,64 ± 0,72 <sup>a</sup>	11,94 ± 0,92 <sup>c</sup>
H-VII (70/30)	1,76 ± 0,07 <sup>a</sup>	331,43 ± 33,66 <sup>a</sup>	6,92 ± 0,81 <sup>a</sup>	7,67 ± 0,98 <sup>c</sup>

Letras diferentes na mesma coluna indicam diferença estatística pelo teste de Tukey ( $p < 0,05$ ).

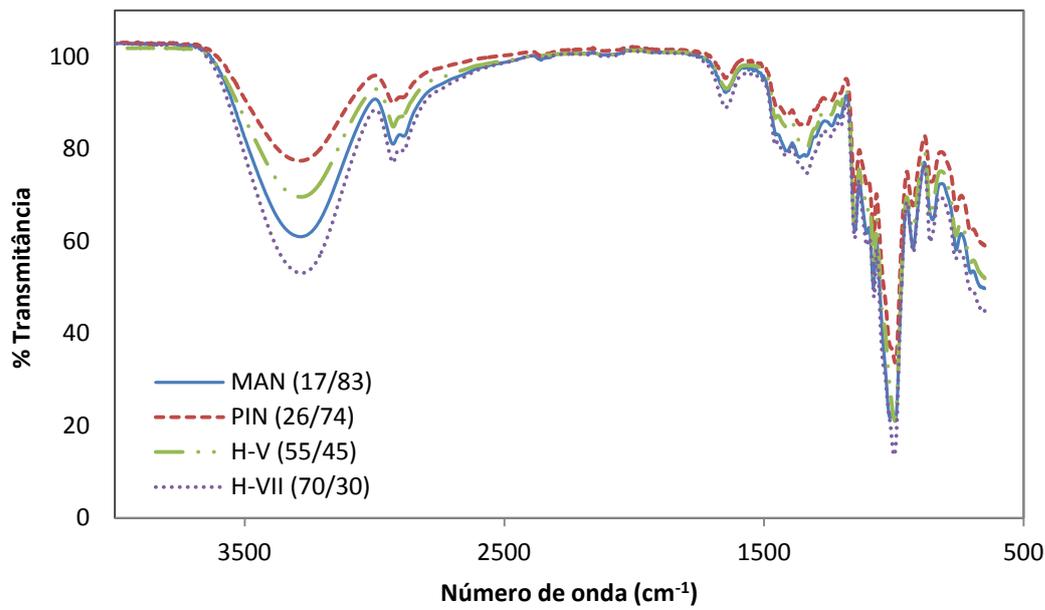
Filme à base de amido de mandioca (MAN (17/83)), amido de pinhão (PIN(26/74)), amido de milho Hylon V (H-V(55/45)) e amido de milho Hylon VII (H-VII(70/30)). PVA: permeabilidade a vapor d'água; MY: Módulo de Young; TM: tensão máxima; E: elongação na ruptura.

As propriedades de tensão são também influenciadas pelo conteúdo de plastificante e, por isso, neste trabalho foi utilizada a mesma concentração de plastificante nos filmes, independentemente do tipo de amido, para que somente a razão amilose/amilopectina pudesse ser avaliada. Outros estudos encontraram maiores valores de MY e TM para filmes feitos a partir de amido Hylon V e Hylon VII, provavelmente em função do menor teor de plastificante utilizado em relação aos 40 g/100g de amido deste trabalho (Rindlav-Westling *et al.*, 1998; Muscat *et al.*, 2012; Xie *et al.*, 2015).

A Figura 29 apresenta os espectros de FTIR para os filmes à base de amido estudados. Todos os filmes apresentaram padrões de absorbância no infravermelho similares entre si e similares à amidos e filmes à base de amido já reportados por outros autores (Kizil *et al.*, 2002; Maizura *et al.*, 2007; Pelissari *et al.*, 2013). Os picos mais intensos encontrados foram ao redor de 3290 cm<sup>-1</sup>, que representa as ligações de grupos -OH, causadas pelas pontes de hidrogênio, e em aproximadamente 995 cm<sup>-1</sup>, característicos de grupos alquenos para ligações

=C-H (Silverstein *et al.*, 1981). Estes picos foram ligeiramente mais pronunciados no filme H-VII, seguido pelos filmes MAN, H-V e PIN.

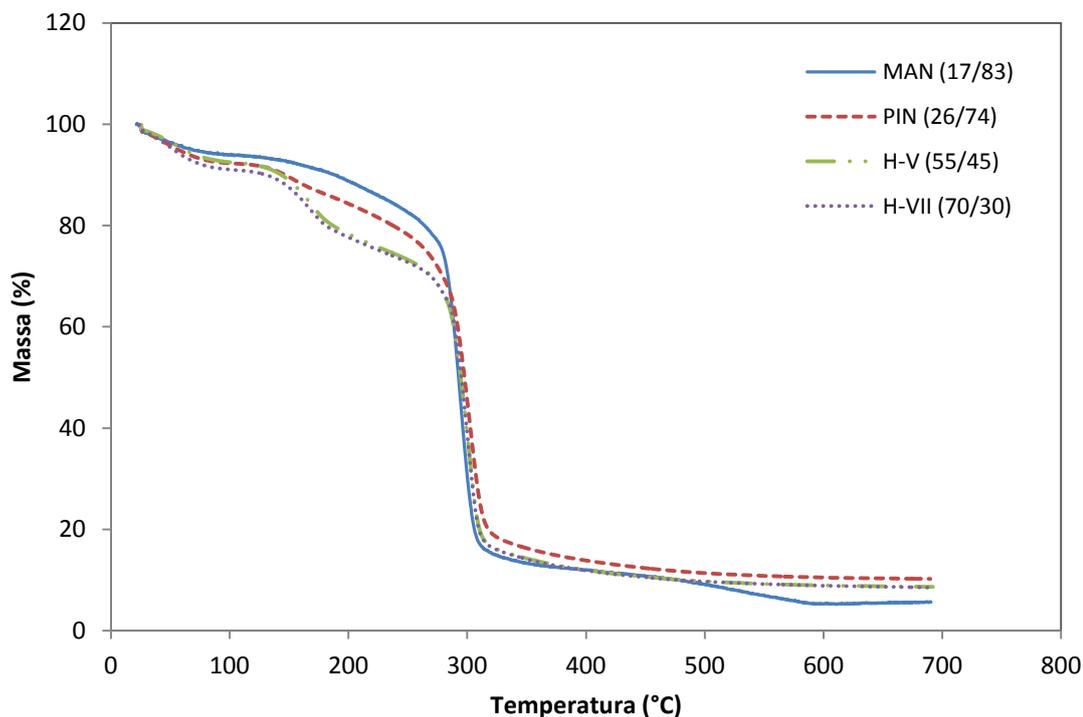
**Figura 29.** Espectros de FTIR dos filmes à base de amido com diferentes razões de amilose/amilopectina.



Em particular, os picos de FTIR entre 992 e 1200  $\text{cm}^{-1}$  são associados com a interação entre moléculas de amido e plastificante, e podem ser utilizadas para avaliar o processo de termoplastificação com diferentes tipos de plastificantes (Zullo & Iannace, 2009).

A estabilidade térmica de um material polimérico depende de características inerentes de dos constituintes assim como das interações moleculares entre as diferentes macromoléculas (Hejri *et al.*, 2012). Os termogramas dos filmes à base de amido são apresentados na Figura 30.

Os termogramas mostraram que os filmes de amido têm um processo de degradação em múltiplas etapas em atmosfera inerte. Uma perda inicial de massa foi observada nas temperaturas entre 50 e 100  $^{\circ}\text{C}$ , o que corresponde à eliminação de água e compostos de baixo peso molecular presentes nas amostras por evaporação/desidratação. Parte desta água está contida nas moléculas de amido por causa da sua hidrofiliçidade causada por pontes de hidrogênio formada por grupos hidroxílicos das unidades de glicose (Wilhelm *et al.*, 2003; Cyras *et al.*, 2008; Liu *et al.*, 2009; Piyada *et al.*, 2013; Sanyang *et al.*, 2015a).

**Figura 30.** Termogramas dos filmes de amido com diferentes razões de amilose/amilopectina.

A etapa de decomposição observada por volta de 150 °C pode ser atribuída à decomposição do amido, que apresentou temperatura de decomposição máxima ( $T_{\text{máx.}}$ ) entorno de 270 °C. A decomposição do amido desta etapa corresponde à eliminação de grupos hidroxilas, decomposição e despolimerização de cadeias carbônicas (Nascimento *et al.*, 2012). Esta etapa é similar entre os filmes com as menores razões de amilose/amilopectina (MAN e PIN), e entre os filmes de amido com as maiores razões de amilose/amilopectina (H-V e H-VII), que demonstraram um decréscimo em aproximadamente 190 °C e ocorre provavelmente devido ao maior conteúdo de amilose.

A perda de massa da etapa seguinte (270-310°C) corresponde a um processo complexo que inclui a desidratação dos anéis sacarídeos e despolimerização (Piyada *et al.*, 2013). Outra etapa de decomposição, que ocorre a uma temperatura inicial de aproximadamente 310 °C foi atribuída à decomposição do glicerol. Nesta temperatura ocorre a maior taxa de degradação térmica que se reflete na drástica redução de peso dos filmes. Este estágio corresponde à eliminação de grupos de hidrogênio, decomposição e despolimerização das cadeias carbônicas do amido (Sanyang *et al.*, 2015a), sendo amido decomposto totalmente, juntamente com impurezas, até 350 °C.

### 6.4.2. Conclusões

Pode-se concluir que o amido de pinhão é capaz de formar filme com propriedades adequadas e similares aos amidos comerciais avaliados, constituindo uma fonte de matéria-prima promissora para a formação de filmes comestíveis. Os efeitos da razão amilose/amilopectina foram verificados principalmente nas propriedades de tensão e tensão superficial das soluções filmogênicas quanto maior a proporção amilose/amilopectina maior o módulo de Young, a tensão máxima e menor a elongação na ruptura e tensão superficial das soluções. As demais propriedades avaliadas apresentaram algumas diferenças, mas essas diferenças não dependem propriamente da proporção amilose/amilopectina do amido utilizado para formar o filme. No geral, todos os filmes apresentaram transparência com baixos valores de  $\Delta E$  e opacidade, superfície lisa com aspecto homogêneo (visível por MEV), indicando que o processo de gelatinização foi suficiente para quebrar todos os grânulos de amido. Apresentaram também isotermas do Tipo III ajustáveis pelo modelo de GAB, PVA adequada para filmes de amido hidrofílicos, padrões de absorbância no infravermelho similares entre si e degradação térmica similar.

Em relação às diferenças que não foram afetadas pela proporção amilose/amilopectina, pode-se destacar que: o filme H-V apresentou a maior  $\rho_b$  e a menor  $\rho_t$  e VTP, maior higroscopicidade que os demais com o maior valor de teor de água na monocamada ( $X_m$ ) e maior área específica de superfície dos filmes de amido; o filme H-VII apresentou a menor  $\Delta E$  e opacidade, e os picos mais pronunciados no espectro de FTIR; o filme PIN apresentou a menor PVA e o filme MAN apresentou a maior perda de massa na análise termogravimétrica.

## Conclusões gerais

Considerando os resultados obtidos, percebe-se uma grande possibilidade da utilização dos componentes do pinhão como ingrediente no desenvolvimento de novos produtos. Em relação à área farmacêutica, mais especificamente ao desenvolver o desenvolvimento de cosméticos, foi verificado o poder espessante do amido de pinhão e o potencial antioxidante que pode ser atingido com a utilização do extrato fenólico da casca. Além disso, verificou-se boa estabilidade das formulações avaliadas a curto e longo prazo. Os principais resultados obtidos nesta etapa do trabalho estão apresentados resumidamente a seguir.

- Os estudos de estabilidade através de estresse térmico indicaram que as formulações estudadas apresentaram estabilidade aceitável com manutenção de seus aspectos físicos e comportamento reológico.
- Todas as formulações desenvolvidas apresentaram comportamento pseudoplástico independente do tempo, e os dados das curvas de fluxo se ajustaram muito bem ao modelo de Ostwald-de-Waelle, o que é desejável em cosméticos de uso tópico.
- Através das análises reológicas em regime dinâmico, foi verificado que os produtos apresentaram características de gel forte ( $G'/G'' > 3$ ) em toda faixa de frequência estudada para as formulações recém desenvolvidas. Após o período de estresse térmico, as formulações tipo gel mantiveram o mesmo comportamento e as formulações tipo emulgel mantiveram esse comportamento apenas a baixas frequências.
- Os ingredientes derivados do pinhão adicionados às formulações cosméticas geraram formulações estáveis para gel e emulgel. A adição de amido de pinhão melhorou a estabilidade da espalhabilidade e aumentou a viscosidade das formulações em

---

comparação com seus controles. O extrato fenólico da casca utilizado nestas formulações foi uma boa fonte de compostos fenólicos com atividade antioxidante, a qual se manteve estável mesmo após estresse térmico.

- As formulações cosméticas com os derivados de pinhão não apresentaram quaisquer sinais de irritação cutânea ou alteração de pH da pele dos voluntários que participaram da análise *in vivo* utilizando sondas não invasivas.
- Através da análise sensorial pôde-se observar que para a formulação tipo gel não foi percebida diferença entre a que continha componentes oriundos do pinhão e seu controle. Entretanto, para a formulação tipo emulgel os voluntários perceberam diferença entre a formulação que continha pinhão e seu controle, ao considerar a formulação com pinhão com uma maior capacidade de se espalhar na pele, menor pegajosidade, melhor sensação de filme aveludado e menor percepção na pele após 5 minutos da aplicação, sugerindo que a formulação espalha melhor e não deixa sensação residual na pele.
- O estudo de estabilidade a longo prazo demonstrou estabilidade aceitável das formulações, mantendo a estrutura física e comportamento reológico ao longo dos seis meses avaliado. A maior variação foi observada na formulação controle tipo emulgel, que apresentou um aumento significativo do tamanho médio de partícula durante o período de armazenamento.
- A análise microscópica utilizada mostrou-se uma boa ferramenta para diferenciar as amostras.
- Os parâmetros reológicos apresentaram uma boa correlação entre si, sendo o índice de consistência, índice de qualidade e viscosidade aparente correlacionados positivamente. O índice de fluxo, por sua vez, apresentou correlação negativa com os demais parâmetros reológicos avaliados.
- Em relação às correlações dos parâmetros físicos e reológicos, observou-se que quanto maior o conteúdo de umidade maior o índice de consistência, índice de qualidade e viscosidade aparente, e, por outro lado, menor o índice de fluxo. Além disso, quanto maior o tamanho médio de partícula, menor o índice de consistência, índice de qualidade e viscosidade aparente.

- 
- Por fim, os resultados obtidos neste trabalho, provêm informações de uso prático para a indústria farmacêutica, no que diz respeito ao desenvolvimento de formulações cosméticas e controle e monitoramento de processos, bem como o estudo de novos ingredientes.

Em relação à área de alimentos, de uma maneira geral, os filmes à base de amido de pinhão, farinha de pinhão e com adição de casca de pinhão apresentaram características adequadas, fazendo do pinhão uma matéria-prima promissora para tal aplicação. Os principais resultados obtidos nesta etapa do trabalho estão apresentados resumidamente a seguir.

- A avaliação preliminar para identificar qual plastificante utilizar no desenvolvimento dos filmes à base de amido de pinhão demonstrou que sorbitol e glicerol são bons plastificantes para formar filmes transparentes e maleáveis.
- Os filmes produzidos com amido de pinhão e sorbitol como plastificante apresentaram poucas diferenças de cor e opacidade, sendo considerados transparentes e pouco opacos.
- Os filmes apresentaram aumento de espessura com o aumento do teor de sólidos totais e aumento de solubilidade com o aumento da concentração de sorbitol e diminuição da concentração de amido. De uma maneira geral, todos os filmes apresentaram valores altos de solubilidade.
- Os filmes produzidos apresentaram baixa resistência mecânica, porém, com tendência a aumentar com o aumento da concentração de amido e diminuição da concentração de sorbitol. Em função das características de baixa resistência mecânica e alta solubilidade uma alternativa de aplicação seria como cobertura comestível para frutas e vegetais ou até mesmo como embalagens de alimentos desidratados que precisem de hidratação prévia ao consumo.
- Os filmes desenvolvidos à base de amido de pinhão e farinha de pinhão utilizando diferentes concentrações de glicerol como plastificante apresentaram boas características e constituem matérias-primas promissoras no desenvolvimento de filmes comestíveis.
- Filmes de amido e farinha de pinhão apresentaram padrões de infravermelho similares, sem mudanças estruturais nos filmes com ou sem glicerol.

- 
- Filmes feitos com amido de pinhão demonstraram boas propriedades de barreira ao vapor de água com baixa porosidade aparente. Estes filmes apresentaram boa transparência, com alta resistência à tração, módulo de Young e deformação na ruptura, quando comparados com os filmes de farinha de pinhão com as mesmas quantidades de glicerol.
  - Os filmes de farinha de pinhão têm maior permeabilidade ao vapor de água, porosidade aparente e opacidade do que os filmes de amido com a mesma quantidade de glicerol. As características físicas são afetadas principalmente pelo conteúdo de glicerol, que pode ser ajustado conforme as necessidades da aplicação nos alimentos.
  - A adição da casca de pinhão nos filmes à base de farinha de pinhão demonstrou ser uma boa alternativa para utilização da semente inteira do pinhão e fornecer filmes com compostos fenólicos, atividade antioxidante e fibras.
  - A adição da casca de pinhão aumentou a espessura, a porosidade aparente, a permeabilidade ao vapor de água, o conteúdo de compostos fenólicos, a atividade antioxidante, o módulo de Young, a quantidade de fibras dietéticas (principalmente insolúveis) e deixou os filmes com coloração amarronzada. A presença da casca também contribuiu na diminuição da deformação na ruptura e deixou os filmes mais ásperos e com alguns furos, visíveis nas imagens de microscopia eletrônica de varredura. Os gráficos de FTIR demonstraram padrões no infravermelho similares em todos os filmes desenvolvidos com uma ligeira diminuição na intensidade dos picos com o aumento do conteúdo de casca.
  - A comparação do filme feito com amido de pinhão e demais filmes de amidos comerciais com diferentes razões de amilose/amilopectina demonstrou que esta característica tem efeito apenas sobre a força do filme e tensão superficial da solução filmogênica. O amido de pinhão, nas condições estudadas, é capaz de formar filmes com propriedades adequadas e similares aos amidos comerciais analisados.
  - As demais propriedades avaliadas apresentaram algumas diferenças, mas que não dependem propriamente da razão de amilose/amilopectina do amido utilizado. No geral, todos os filmes demonstraram transparência com baixos valores de  $\Delta E$  e opacidade, superfícies lisas com aspecto homogêneo, indicando que o processo de gelatinização foi suficiente para romper todos os grânulos de amido, isotermas do tipo II, ajustáveis pelo modelo de GAB, permeabilidade ao vapor de água adequada para filmes de amido,

---

padrões de infravermelho similares entre si e degradação térmica seguindo o mesmo padrão.

- Em relação às diferenças não afetadas pela razão amilose/amilopectina dos amidos pode-se destacar: o filme com amido de milho Hylon V apresentou a maior densidade bruta e menor densidade real e volume de poro total, sendo mais higroscópico que os demais filmes e apresentou maiores valores de conteúdo de água na monocamada ( $X_m$ ) e área específica; o filme com amido de milho Hylon VII apresentou o menor valor de  $\Delta E$  e opacidade, e os picos mais pronunciados no espectro de FTIR; o filme com amido de pinhão apresentou o menor valor de permeabilidade a vapor de água, e o filme com amido de tapioca apresentou a maior perda de peso nas análises de TGA, indicando que filmes feitos com amido de tapioca nestas condições têm menor estabilidade térmica.

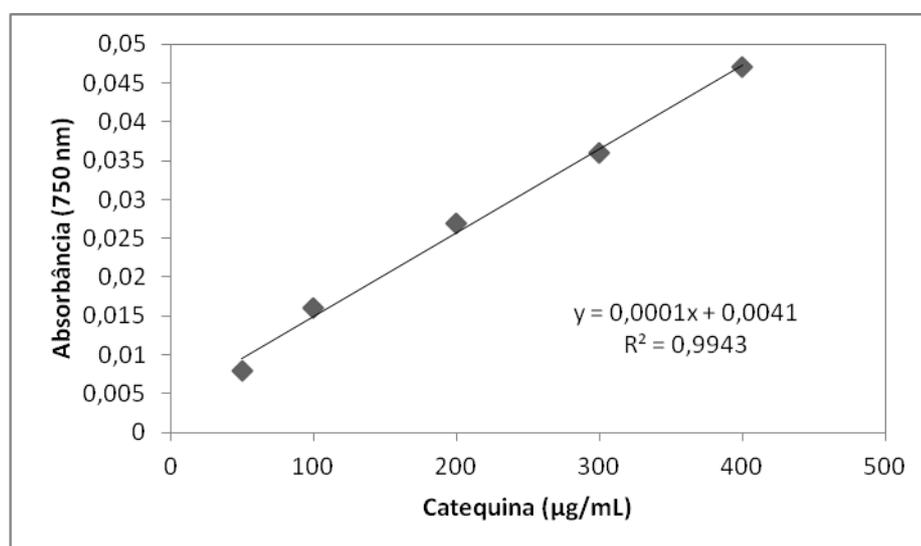
Por fim, cabe ressaltar a importância do estudo realizado com o presente trabalho. Através dos testes e produtos desenvolvidos pôde-se demonstrar a aplicabilidade do pinhão, para criar alternativas para valorização do produto e aproveitamento da semente inteira, com diminuição da geração de resíduos. Assim, percebe-se um grande potencial da utilização da semente em produtos que utilizem amido, farinha com grande quantidade de carboidrato, fibras e, até mesmo, compostos fenólicos com atividade antioxidante.



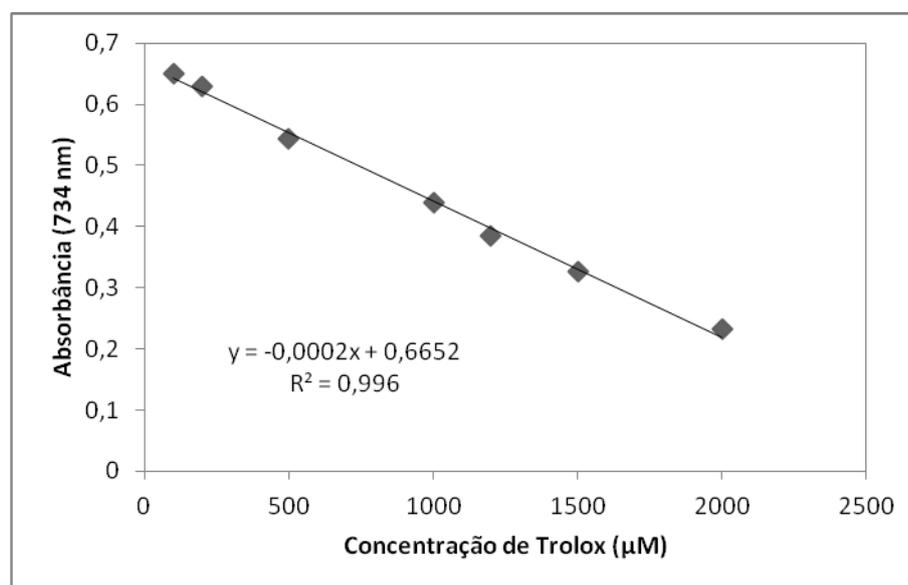
## Anexo A – Curvas de calibração

As curvas de calibração dos itens A.1. e A.2. referem-se às análises realizadas nos cosméticos e as curvas de calibração dos itens A.3. e A.4. referem-se às análises realizadas com os filmes comestíveis.

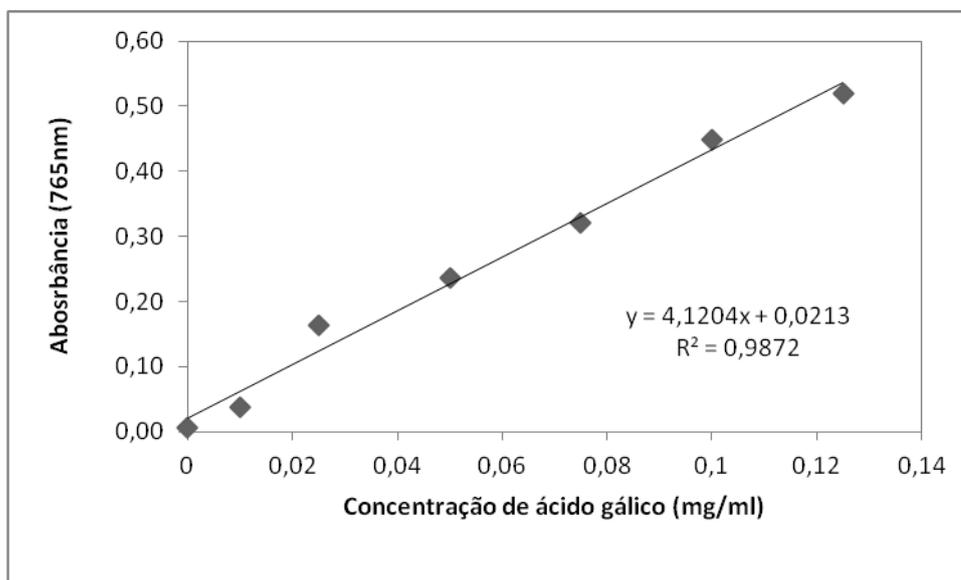
### A.1. Curva de calibração dos compostos fenólicos



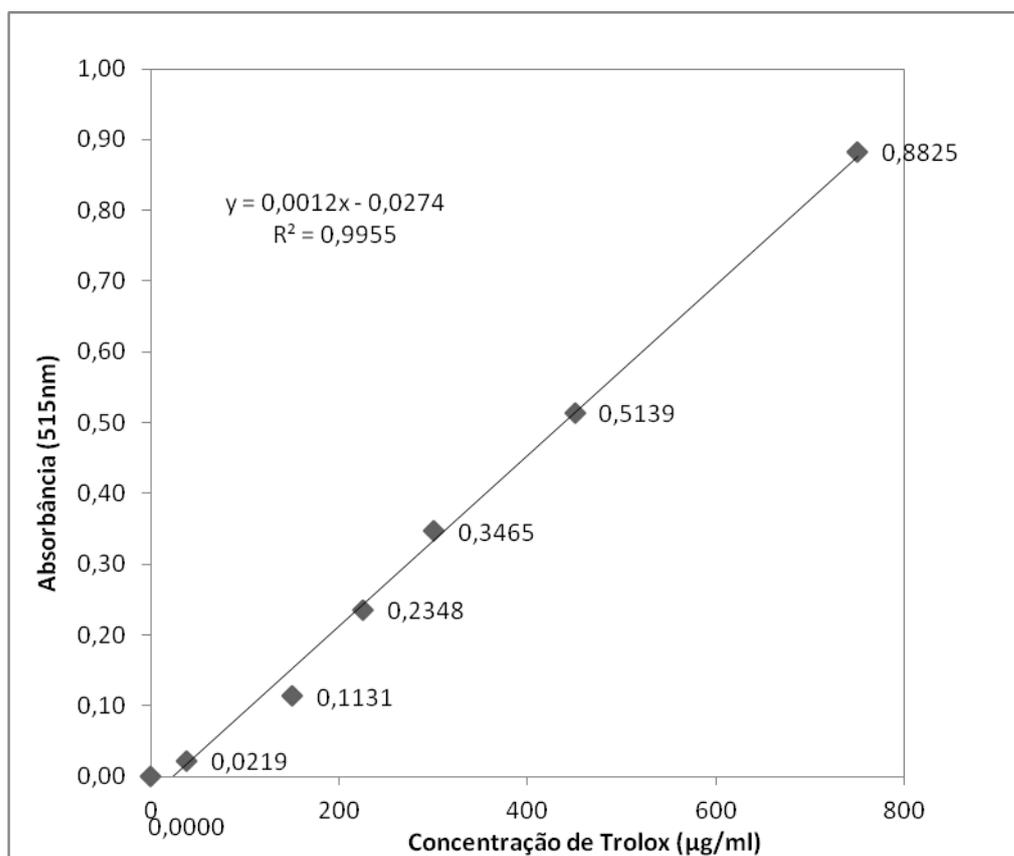
### A.2. Curva de calibração com padrão Trolox para ABTS



### A.3. Curva de calibração dos fenólicos solúveis totais



### A.4. Curva de calibração com padrão Trolox para DPPH



## Anexo B - Análise sensorial

### B.1. Protocolo de Avaliação Sensorial Discriminativa e Afetiva

**FICHA DE AVALIAÇÃO DISCRIMINATIVA DE ATRIBUTOS SENSORIAIS**

Nome: \_\_\_\_\_ Idade: \_\_\_\_\_

CÓDIGO AMOSTRAS: \_\_\_\_\_ e \_\_\_\_\_

**Espalhabilidade:** facilidade de espalhar o produto sobre a pele.

Em sua opinião, as amostras são iguais no atributo ESPALHABILIDADE?

Sim ( )

Não ( ) Qual amostra espalha mais na pele? \_\_\_\_\_**Oleosidade:** sensação de óleo sobre a pele durante e logo após o espalhamento do produto

Em sua opinião, as amostras são iguais no atributo OLEOSIDADE?

Sim ( )

Não ( ) Qual amostra é mais oleosa ao aplicar na pele? \_\_\_\_\_**Pegajosidade:** intensidade com que o dedo adere à pele

Em sua opinião, as amostras são iguais no atributo PEGAJOSIDADE?

Sim ( )

Não ( ) Qual amostra é mais pegajosa ao aplicar na pele? \_\_\_\_\_**Filme aveludado:** sensação de pele de pêssogo

Em sua opinião, as amostras são iguais no atributo FILME AVELUDADO?

Sim ( )

Não ( ) Qual amostra forma mais filme aveludado ao aplicar na pele? \_\_\_\_\_

AVALIAR APÓS 5 MINUTOS DA APLICAÇÃO:

**Percepção do produto na pele**

Em sua opinião, as amostras são iguais no atributo PERCEPÇÃO DO PRODUTO NA PELE?

Sim ( )

Não ( ) Qual amostra é percebida por mais tempo na pele? \_\_\_\_\_**Pegajosidade Residual**

Em sua opinião, as amostras são iguais no atributo PEGAJOSIDADE RESIDUAL?

Sim ( )

Não ( ) Qual amostra apresenta maior pegajosidade residual na pele? \_\_\_\_\_**Filme aveludado**

Em sua opinião, as amostras são iguais no atributo FILME AVELUDADO?

Sim ( )

Não ( ) Qual amostra forma mais filme aveludado na pele? \_\_\_\_\_**TESTE AFETIVO:**

Qual sua amostra preferida ao aplicar na pele? \_\_\_\_\_

## B.2. Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE) para análise sensorial



### UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

Título do Projeto: **ANÁLISE SENSORIAL DISCRIMINATIVA E AFETIVA DE FORMULAÇÃO INOVADORA PARA USO TÓPICO**

**Objetivo:** Analisar o sensorial de formulação inovadora destinada ao uso tópico em comparação a produtos relacionados, perceber se há diferença entre estas formulações e citar qual formulação julga mais agradável.

**Quanto tempo que terei de ficar disponível e quantas sessões serão necessárias:** A análise sensorial discriminativa terá uma sessão de 20 minutos aproximados.

**Detalhes sobre todos os procedimentos:** Inicialmente as pesquisadoras do projeto irão abordá-lo apresentando o projeto e os objetivos. Se você aceitar participar da pesquisa, assinará este documento e em seguida participará da análise.

**Local onde será realizado:** Laboratório de Farmacotécnica, Faculdade de Farmácia da UFRGS e Departamento de Engenharia Química da UFRGS.

**Equipamentos ou instrumentos que serão utilizados:** Durante a realização da prática, serão utilizados como ferramenta metrônomo para controlar a velocidade de aplicação dos produtos e um molde plástico para delimitar a área de aplicação dos produtos.

**É preciso vestir alguma roupa ou sapato apropriado:** Não há necessidade de vestimenta adequada, os braços devem estar à mostra no momento do teste e serem lavados antes do teste.

**Quais as medidas a serem obtidas?** As variáveis avaliadas serão: espalhabilidade, oleosidade, pegajosidade imediata e residual, formação de filme aveludado na pele imediato e residual e percepção do produto na pele. Para análise de cada atributo, o voluntário deverá comparar cada par de amostras e perceber se há diferença entre elas e caso haja, citar qual julgar que mais apresenta o atributo em questão. Além disso, os avaliadores serão questionados quanto a suas preferências em relação aos produtos testados.

**Quais os riscos e desconfortos que podem ocorrer?** Entre uma análise e outra, deve haver um tempo de espera médio de 5 minutos. Não há riscos aos participantes, caso haja algum prurido, será orientado ao participante que vá imediatamente ao toalete lavar com água abundante.

**Quais os meus benefícios e vantagens em fazer parte deste estudo?** Além de ajudar neste trabalho de pesquisa, você estará contribuindo para avaliação das vantagens de novas formulações para uso tópico. A participação é voluntária, não havendo custos para o participante, nem pagamento pela sua participação.

**Quais as pessoas que estarão me acompanhando durante os procedimentos práticos deste estudo?** A pesquisadora envolvida no projeto Renata Moschini Daudt.

**Existe algum questionário que preciso preencher? Sou obrigado a responder a todas as perguntas?** Durante o andamento da prática, haverá um questionário que os participantes deverão responder. Não há obrigatoriedade de resposta. Você pode se retirar da pesquisa sem dar nenhuma explicação.

CONTATO: Renata Moschini Daudt (51)96661162 - Doutoranda do PPGEQ UFRGS e Irene C Kulkamp [irene@ufrgs.br](mailto:irene@ufrgs.br) - Professora da Faculdade de Farmácia UFRGS

**TERMO DE CONSENTIMENTO**

Declaro que fui informado sobre todos os procedimentos da pesquisa e que recebi, de forma clara e objetiva, todas as explicações pertinentes ao projeto e que todos os dados a meu respeito serão sigilosos. Eu compreendo que neste estudo as medições dos experimentos/procedimentos de tratamento serão feitas em mim.

Declaro que fui informado que posso me retirar do estudo a qualquer momento.

Nome por extenso : \_\_\_\_\_

RG : \_\_\_\_\_

Local e Data: \_\_\_\_\_

Assinatura: \_\_\_\_\_

Adaptado de: (1) South Sheffield Ethics Committee, Sheffield Health Authority, UK; (2) Comitê de Ética em pesquisa - CEFID - Udesc, Florianópolis, BR.

### B.3. Termo de Consentimento Livre e Esclarecido para análise de atributos sensoriais e de atividade cosmética utilizando sondas não invasivas



#### UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

##### Título do Projeto: **ANÁLISE SENSORIAL E DA ATIVIDADE COSMÉTICA DE FORMULAÇÕES INOVADORAS PARA USO TÓPICO**

**Justificativa:** A análise sensorial e da atividade cosmética se faz necessária para comprovação das propriedades da nova formulação proposta. As propriedades cosméticas de hidratação, eritema, melanina, elasticidade, pH cutâneo e sebo cutâneo devem ser medidas em seres humanos para que haja uma real avaliação das propriedades cosméticas na pele após aplicação do produto. A análise sensorial é importante para avaliação de potencialidade de futuros consumidores, preferência e aceitação do produto.

**Objetivo:** Analisar o sensorial de duas formulações com ingredientes inovadores destinada ao uso tópico em comparação a duas formulações semelhantes sem os ingredientes inovadores, perceber se há diferença entre estas formulações e citar qual formulação julga mais agradável. Analisar as propriedades cosméticas *in vivo* de formulação inovadora destinada ao uso tópico utilizando sondas não invasivas para a medida de eritema, quantidade de melanina na pele, hidratação, pH, elasticidade e sebo cutâneo.

**Para participar da pesquisa preciso (critérios de inclusão):** ser maior de 18 anos, usuário de produtos cosméticos, ter sofrido exposição prévia repetida ao pinhão sem manifestação de reação alérgica ao produto, conhecer os objetivos da pesquisa e assinar o termo de consentimento livre e esclarecido.

**Não posso participar da pesquisa caso (critérios de exclusão):** já tenha apresentado alguma alergia a cosmético e/ou pinhão, tenha idade fora da faixa etária especificada, seja fumante e/ou gestante

**Quanto tempo que terei de ficar disponível e quantas sessões serão necessárias:** A análise sensorial e com sondas não invasivas terá uma sessão de 45 minutos aproximados. Será necessária apenas uma sessão.

**Detalhes sobre todos os procedimentos:** Inicialmente as pesquisadoras do projeto irão abordá-lo apresentando o projeto, os objetivos e procedimentos, conforme convite prévio. Se você aceitar participar da pesquisa e atender os critérios de inclusão, assinará este documento e em seguida participará da análise.

**Local onde será realizado:** Laboratório de Farmacotécnica, UFRGS.

**Equipamentos ou instrumentos que serão utilizados:** Durante a realização da análise sensorial, serão utilizados como ferramenta metrônomo para controlar a velocidade de aplicação dos produtos e um molde plástico e lápis de maquiagem para delimitar a área de aplicação dos produtos. Para a análise da atividade cosmética será utilizado o equipamento Multi Probe Adapter MPA (Courage Khazaka eletronic GmbH) e as sondas: Mexameter<sup>®</sup> MX18 (para avaliação da quantidade de eritema e melanina), Tewameter<sup>®</sup> TM30 (medida de hidratação), Reviscometer RVM 600<sup>®</sup> (medida de elasticidade), Skin-pH-Meter<sup>®</sup> (medida de pH cutâneo ) e Sebumeter<sup>®</sup> SM 815 (medida de sebo cutâneo).

**É preciso vestir alguma roupa ou sapato apropriado:** Não há necessidade de vestimenta

adequada, os braços devem estar à mostra no momento do teste e serem lavados antes do teste.

**Quais as medidas a serem obtidas?** As variáveis avaliadas serão: eritema, quantidade de melanina na pele, hidratação, pH, elasticidade e sebo cutâneo. Para análise de cada atributo a sonda não invasiva correspondente será colocada em contato com a pele do voluntário nas regiões demarcadas.

**Quais os riscos e desconfortos que podem ocorrer?** O risco aos participantes é mínimo se observados os critérios de inclusão. Caso haja qualquer tipo de reação adversa o participante deverá imediatamente informar às pesquisadoras que tomarão os devidos cuidados e o orientarão a lavar com água abundante.

**Quais os meus benefícios e vantagens em fazer parte deste estudo?** Além de ajudar neste trabalho de pesquisa, você estará contribuindo para avaliação das vantagens de novas formulações para uso tópico. A participação é voluntária, não havendo custos para o participante, nem pagamento pela sua participação.

**Métodos alternativos:** Como se trata de opiniões referentes à percepção do ser humano da aplicação dos produtos apresentados, não existem métodos alternativos para as respostas que se espera da análise sensorial.

**Quais as pessoas responsáveis e que estarão me acompanhando durante os procedimentos práticos deste estudo?** Duas das pesquisadoras envolvidas no projeto (Renata Moschini Daudt e Patrícia Inês Back) irão acompanhar durante todo o procedimento estando à disposição para quaisquer esclarecimentos e/ou ajuda antes, durante e após as análises.

**Existe algum questionário que preciso preencher? Sou obrigado a responder a todas as perguntas?** Para a análise sensorial será pedido o preenchimento de um questionário, conforme explicado pelas pesquisadoras no momento do convite. Para a análise das propriedades cosméticas não é necessário preencher formulário. Não há obrigatoriedade de resposta. Você pode se retirar da pesquisa sem dar nenhuma explicação.

**Como minha privacidade será assegurada?** Os nomes dos voluntários não serão divulgados na pesquisa e os dados são sigilosos. O interesse da pesquisa é o número total de opiniões e não a opinião individual.

**Se eu tiver alguma reação à aplicação dos produtos, como devo proceder?** Caso haja algum incômodo, coceira e/ou irritação na pele durante as análises, o voluntário deverá parar imediatamente e lavar a região com água abundante e sabão neutro até remoção do produto por completo. As responsáveis acompanharão o voluntário e as medidas necessárias serão providenciadas. Caso seja necessário, o voluntário será ressarcido de possíveis gastos com tratamento médico em função de reações causadas comprovadamente pelo produto da pesquisa.

CONTATO: Renata Moschini Daudt (51)96661162 - Doutoranda do PPGEQ UFRGS e Irene C Küllkamp [irene@ufrgs.br](mailto:irene@ufrgs.br) - Professora da Faculdade de Farmácia UFRGS  
Comitê de Ética em Pesquisa (CEP) da UFRGS - Endereço: Av. Paulo Gama, 110 - 2º andar do Prédio da Reitoria - Campus Centro - Farroupilha, Porto Alegre - RS. Telefone: (51) 3308-3738.

### **TERMO DE CONSENTIMENTO**

Declaro que fui informado sobre todos os procedimentos da pesquisa e que recebi, de forma clara e objetiva, todas as explicações pertinentes ao projeto e que todos os dados a meu respeito serão sigilosos. Eu compreendo que neste estudo as medições dos experimentos/procedimentos de tratamento serão feitas em mim.

Declaro que fui informado que posso me retirar do estudo a qualquer momento.

Nome por extenso : \_\_\_\_\_

RG : \_\_\_\_\_

Local e Data: \_\_\_\_\_

Assinatura: \_\_\_\_\_

Adaptado de: (1) South Sheffield Ethics Committee, Sheffield Health Authority, UK; (2) Comitê de Ética em pesquisa - CEFID - Udesc, Florianópolis, BR. Baseado em: (3) Diretrizes e Normas Regulamentadoras de Pesquisas Envolvendo Seres Humanos - Conselho Nacional de Saúde - Resolução 196/96.

---

## Referências Bibliográficas

ABE, L. T., LAJOLO, F. M. & GENOVESE, M. I. Comparison of phenol content and antioxidant capacity of nuts. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, v.30, p.254-259. 2010.

ABERLE, T., BURCHARD, W., HANSELMANN, R., MICHEL, E., KLINGLER, R. W. & GALINSKY, G. Particularities in the structure of amylopectin, amylose and some of their derivatives in solution. *Macromolecular Symposia*, v.120, n.1, p.47-63. 1997.

ABHIPEC. Panorama do Setor de HPPC. Associação Brasileira da Indústria de Higiene Pessoal, Perfumaria e Cosméticos. Disponível em: <https://www.abihpec.org.br/novo/wp-content/uploads/2015-PANORAMA-DO-SETOR-PORTUGU%C3%8AS-11ago2015.pdf>. Acesso em: 31/12/2015. 2015.

ABHIPEC. Ativos extraídos de biomas brasileiros fazem sucesso em cosméticos. Associação Brasileira da Indústria de Higiene Pessoal, Perfumaria e Cosméticos. Disponível em: <http://www.abihpec.org.br/2013/06/ativos-extraidos-de-biomas-brasileiros-fazem-sucesso-em-cosmeticos/>. Acesso em: 03/06/2014. 2013.

ABHIPEC. Aumenta procura por produtos para pele. Associação Brasileira da Indústria de Higiene Pessoal, Perfumaria e Cosméticos. Disponível em: <http://www.abihpec.org.br/2014/05/abihpec-aumenta-procura-por-produtos-para-pele/>. Acesso em: 03/06/2014. 2014.

ABURJAI, T. & NATSHEH, F. M. Plants used in cosmetics. *Phytotherapy Research*, v.17, n.9, p.987-1000. 2003.

ADEDOKUN, M. O. & ITIOLA, O. A. Material properties and compaction characteristics of natural and pregelatinized forms of four starches. *Carbohydrate Polymers*, v.79, n.4, p.818-824. 2010.

AL-HASSAN, A. A. & NORZIAH, M. H. Starch-gelatin edible films: Water vapor permeability and mechanical properties as affected by plasticizers. *Food Hydrocolloids*, v.26, n.1, p.108-117. 2012.

AL-MUHTASEB, A. H., MCMINN, W. A. M. & MAGEE, T. R. A. Moisture Sorption Isotherm Characteristics of Food Products: A Review. *Food and Bioproducts Processing*, v.80, n.2, p.118-128. 2002.

ALLEN, L., NELSON, A. I., STEINBERG, M. P. & MCGILL, J. N. Edible carbohydrates food coating II: Evaluations on fresh meat products. *Food Technology*, v.17, p.1442-1446. 1963.

ALMEIDA, I. F., GAIO, A. R. & BAHIA, M. F. Hedonic and descriptive skinfeel analysis of two oleogels: comparison with other topical formulations. *Journal of Sensory Studies*, v.23, n.1, p.92-113. 2008.

AMARANTE, C. V. T., MOTA, C. S., MEGGUER, C. A. & IDE, G. M. Conservação pós-colheita de pinhões [sementes de *Araucaria angustifolia* (Bertoloni) Otto Kuntze] armazenados em diferentes temperaturas. *Ciência Rural*, v.37, n.2, p.346-351. 2007.

ANCONI, G. L. Aplicação de peptídeos em cosméticos: desenvolvimento de formulações, estabilidade e eficácia. Mestrado (Dissertação). Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo (USP). Ribeirão Preto, 2008.

ANDRADE-MAHECHA, M. M., TAPIA-BLÁCIDO, D. R. & MENEGALLI, F. C. Development and optimization of biodegradable films based on achira flour. *Carbohydrate Polymers*, v.88, n.2, p.449-458. 2012.

AOAC. *Official Methods of Analysis*. Washington, DC: Association of Official Analytical Chemists, 1990.

AOAC. Official method of analysis n°. 934.06. Arlington, USA: Association of Official Analytical Chemist. 1997.

ARDELEAN, S., IONESCU, D. & NĂSTASE, V. Rheological and Noxious Analysis of Some Semisolid Formulations with Different Types of Surfactants. *Journal of Agroalimentary Processes and Technologies*, v.17, n.1, p.85-92. 2011.

ASTM-D882-12. *Standard Test Method for Tensile Properties of Thin Plastic Sheeting*. Philadelphia: American Society for Testing and Materials, 2012.

ATICHOKUDOMCHAI, N., SHOBSNGOB, S., CHINACHOTI, P. & VARAVINIT, S. A Study of Some Physicochemical Properties of High-Crystalline Tapioca Starch. *Starch - Stärke*, v.53, n.11, p.577-581. 2001.

AVÉROUS, L., FRINGANT, C. & MORO, L. Plasticized starch–cellulose interactions in polysaccharide composites. *Polymer*, v.42, n.15, p.6565-6572. 2001.

AYRANCI, E. & TUNC, S. The effect of fatty acid content on water vapour and carbon dioxide transmissions of cellulose-based edible films. *Food Chemistry*, v.72, n.2, p.231-236. 2001.

BAJPAI, S. K., NAVIN, C. & RUCHI, L. Water vapor permeation and antimicrobial properties of sago starch based films formed via microwave irradiation. *International Food Research Journal*, v.18, p.417-426. 2011.

BARBOSA-CÁNOVAS, G. V., FONTANA JR., A. J., SCHMIDT, S. J. & LABUZA, T. P. *Water Activity in Foods: Fundamentals and Applications*. Ames, Iowa: Blackwell Publishing Professional, 2007.

BELITZ, H.-D. & GROSH, W. *Food chemistry*. New York: Springer-Verlag. 774 p. 1986.

BELLO-PÉREZ, L. A., GARCÍA-SUÁREZ, F. J., MÉNDEZ-MONTEALVO, G., NASCIMENTO, J. R. O., LAJOLO, F. M. & CORDENUNSI, B. R. Isolation and

---

characterization of starch from seeds of *Araucaria brasiliensis*: a novel starch for application in food industry. *Starch - Stärke*, v.58, n.6, p.283-291. 2006.

BEMILLER, J. N. & HUBER, K. C. Carbohydrates. In: Damodaran, S., Parkin, K. L. e Fennema, O. R. *Fennema's food chemistry*. Boca Raton: CRC Press, Taylor & Francis 2008.

BENAVIDES, S., VILLALOBOS-CARVAJAL, R. & REYES, J. E. Physical, mechanical and antibacterial properties of alginate film: Effect of the crosslinking degree and oregano essential oil concentration. *Journal of Food Engineering*, v.110, n.2, p.232-239. 2012.

BERG, J. M., TYMOCZKO, J. L. & STRYER, L. *Biochemistry*. 5th.ed. New York: W H Freeman, 2002.

BERGO, P. V. A., CARVALHO, R. A., SOBRAL, P. J. A., DOS SANTOS, R. M. C., DA SILVA, F. B. R., PRISON, J. M., SOLORZA-FERIA, J. & HABITANTE, A. M. Q. B. Physical properties of edible films based on cassava starch as affected by the plasticizer concentration. *Packaging Technology and Science*, v.21, n.2, p.85-89. 2008.

BERTUZZI, M. A., ARMADA, M. & GOTTIFREDI, J. C. Physicochemical characterization of starch based films. *Journal of Food Engineering*, v.82, n.1, p.17-25. 2007a.

BERTUZZI, M. A., CASTRO VIDAURRE, E. F., ARMADA, M. & GOTTIFREDI, J. C. Water vapor permeability of edible starch based films. *Journal of Food Engineering*, v.80, n.3, p.972-978. 2007b.

BEZERRA, J. R. M. V., GONZÁLES, S. L., KOPF, C., RIGO, M. & BASTOS, R. G. Elaboração de Pães com Farinha de Pinhão. *Revista Ciências Exatas e Naturais*, v.8, n.1, p.69-81. 2006.

BHATTACHARYA, C., KUMAR, N., SAGIRI, S. S., PAL, K. & RAY, S. S. Development of span 80-tween 80 based fluid-filled organogels as a matrix for drug delivery. *Journal of Pharmacy & BioAllied Sciences*, v.4, n.2, p.155-163. 2012.

BIAN, Q., SITTIPOD, S., GARG, A. & AMBROSE, R. P. K. Bulk flow properties of hard and soft wheat flours. *Journal of Cereal Science*, v.63, p.88-94. 2015.

BISWAS, A., WILLET, J. L., GORDON, S. H., FINKENSTADT, V. L. & CHENG, H. N. Complexation and blending of starch, poly(acrylic acid), and poly(N-vinyl pyrrolidone). *Carbohydrate Polymers*, v.65, n.4, p.397-403. 2006.

BLIJDENSTEIN, T. B. J., HENDRIKS, W. P. G., VAN DER LINDEN, E., VAN VLIET, T. & VAN AKEN, G. A. Control of Strength and Stability of Emulsion Gels by a Combination of Long- and Short-Range Interactions. *Langmuir*, v.19, n.17, p.6657-6663. 2003.

BOCHI, V. C., LOBATO, L. P., STAHL, J. A., EMANUELLI, T., COSTABEBER, I. & KUBOTA, E. Avaliação da capacidade de ligação à água e cor do gel do amido de pinhão modificado por fosfatação. Anais do XXII Congresso Brasileiro de Ciência e Tecnologia de Alimentos, SBCTA, Porto Alegre, 2582-2585. 2002.

- 
- BODIRLAU, R., TEACA, C.-A. & SPIRIDON, I. Influence of natural fillers on the properties of starch-based biocomposite films. *Composites Part B: Engineering*, v.44, n.1, p.575-583. 2013.
- BORELLA, J. C., RIBEIRO, N. S., TEIXEIRA, J. C. L. & CARVALHO, D. M. A. Evaluation of spreadability and flavonoid content in semisolid pharmaceutical form containing extracts of *Calendula officinalis* L. (Asteraceae). *Journal of Basic and Applied Pharmaceutical Sciences*, v.31, n.2, p.193-197. 2010.
- BORGHETTI, G. S. & KNORST, M. T. Development and evaluation of physical stability from O/W lotions containing sunscreens. *Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences*, v.42, p.531-537. 2006.
- BOURTOOM, T. & CHINNAN, M. S. Preparation and properties of rice starch–chitosan blend biodegradable film. *LWT - Food Science and Technology*, v.41, n.9, p.1633-1641. 2008.
- 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.
- BRASIL. Portaria nº 37, de 3 de abril de 1992. IBAMA: Instituto Brasileiro do Meio Ambiente. 1992.
- BRASIL. Resolução nº 278, de 24 de maio de 2001. CONAMA: Conselho Nacional do Meio Ambiente. 2001.
- BRUMMER, R. *Rheology essentials of cosmetic and food emulsions*. Berlin: Springer, 2006.
- BULÉON, A., COLONNA, P., PLANCHOT, V. & BALL, S. Starch granules: structure and biosynthesis. *International Journal of Biological Macromolecules*, v.23, n.2, p.85-112. 1998.
- BYUN, M. W., JO, C., LEE, J. W., JO, S. K. & KIM, K. S. Application of radiation technology to develop green tea leaf as a natural resource for the cosmetic industry. *Radiation Physics and Chemistry*, v.71, n.1-2, p.487-489. 2004.
- CAMPESTRINI, S. Flora Digital do Rio Grande do Sul: *Araucaria angustifolia* (Bertol.) Kuntze. Disponível em: [http://www6.ufrgs.br/fitoecologia/florars/open\\_sp.php?img=5284](http://www6.ufrgs.br/fitoecologia/florars/open_sp.php?img=5284). Acesso em: 16 de novembro de 2011. 2011.
- CAMPO-DEAÑO, L., TOVAR, C. A. & BORDERÍAS, J. Effect of several cryoprotectants on the physicochemical and rheological properties of suwari gels from frozen squid surimi made by two methods. *Journal of Food Engineering*, v.97, n.4, p.457-464. 2010.
- CANO, A., JIMÉNEZ, A., CHÁFER, M., GÓNZALEZ, C. & CHIRALT, A. Effect of amylose:amylopectin ratio and rice bran addition on starch films properties. *Carbohydrate Polymers*, v.111, p.543-555. 2014.
- CAPELLA, A. C. V., PENTEADO, P. T. P. S. & BALBI, M. E. Semente de *Araucaria angustifolia*: aspectos morfológicos e composição química da farinha. *Boletim do Centro de Pesquisa de Processamento de Alimentos*, v.27, n.1, p.135-142. 2009.

- CARO, N., MEDINA, E., DÍAZ-DOSQUE, M., LÓPEZ, L., ABUGOCH, L. & TAPIA, C. Novel active packaging based on films of chitosan and chitosan/quinoa protein printed with chitosan-tripolyphosphate-thymol nanoparticles via thermal ink-jet printing. *Food Hydrocolloids*, v.52, p.520-532. 2016.
- CASTELI, V. C., MENDONÇA, C. C., CAMPOS, M. A. L. D., FERRARI, M. & MACHADO, S. R. P. Development and Preliminary Stability Evaluations of O/W emulsion containing Ketoconazole 2.0%. *Acta scientiarum. Health sciences*, v.30, n.2, p.121-128. 2008.
- CEREDA, M. P., VILPOUX, O. & DEMIATE, I. M. Amidos modificados. In: Cereda, M. P., Vilpoux, O. *Processamento de amiláceas Latino Americanas*. São Paulo: Fundação Cargil. p.246-332. 2003.
- CEREDA, M. P. & WOSIACKI, G. Characterization of Pinhão Starch. Part II. Rheological Properties of the Pastes. *Starch - Stärke*, v.37, n.12, p.404-407. 1985.
- CERQUEIRA, M. A., SOUZA, B. W. S., MARTINS, J. T., TEIXEIRA, J. A. & VICENTE, A. A. Seed extracts of *Gleditsia triacanthos*: Functional properties evaluation and incorporation into galactomannan films. *Food Research International*, v.43, n.8, p.2031-2038. 2010.
- CHANG, Y. P., CHEAH, P. B. & SEOW, C. C. Plasticizing—Antiplasticizing Effects of Water on Physical Properties of Tapioca Starch Films in the Glassy State. *Journal of Food Science*, v.65, n.3, p.445-451. 2000.
- CHAUDHARY, A. L., MILER, M., TORLEY, P. J., SOPADE, P. A. & HALLEY, P. J. Amylose content and chemical modification effects on the extrusion of thermoplastic starch from maize. *Carbohydrate Polymers*, v.74, n.4, p.907-913. 2008.
- CHEN, C.-H., KUO, W.-S. & LAI, L.-S. Rheological and physical characterization of film-forming solutions and edible films from tapioca starch/decolorized hsian-tsao leaf gum. *Food Hydrocolloids*, v.23, n.8, p.2132-2140. 2009.
- CHEN, C.-H. & LAI, L.-S. Mechanical and water vapor barrier properties of tapioca starch/decolorized hsian-tsao leaf gum films in the presence of plasticizer. *Food Hydrocolloids*, v.22, n.8, p.1584-1595. 2008.
- CHEN, J., ZHOU, R., LI, L., LI, B., ZHANG, X. & SU, J. Mechanical, Rheological and Release Behaviors of a Poloxamer 407/ Poloxamer 188/Carbopol 940 Thermosensitive Composite Hydrogel. *Molecules*, v.18, n.10, p.12415. 2013.
- CHILLO, S., FLORES, S., MASTROMATTEO, M., CONTE, A., GERSCHENSON, L. & DEL NOBILE, M. A. Influence of glycerol and chitosan on tapioca starch-based edible film properties. *Journal of Food Engineering*, v.88, n.2, p.159-168. 2008.
- CHINACHOTI, P. & STEINBERG, M. P. Interaction of Sucrose with Starch During Dehydration as Shown by Water Sorption. *Journal of Food Science*, v.49, n.6, p.1604-1608. 1984.

---

CLADERA-OLIVERA, F. Estudos tecnológicos e de engenharia para o armazenamento e processamento do pinhão. Doutorado (Tese). Departamento de Engenharia Química, Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Porto Alegre, 197 p., 2008.

CLADERA-OLIVERA, F., MARCZAK, L. D. F., NOREÑA, C. P. Z. & PETTERMANN, A. C. Modeling water adsorption isotherms of pinhão (*Araucaria angustifolia* seeds) flour and thermodynamic analysis of the adsorption process. *Journal of Food Process Engineering*, v.34, n.3, p.826-843. 2011.

CLADERA-OLIVERA, F., NORENA, C. P. Z., PETTERMANN, A. C. & MARCZAK, L. D. F. Influence of cooking in sorption isotherms of pinhão (*Araucaria angustifolia* seeds). *Latin American Applied Research*, v.42, n.1, Jan, p.11-18. 2012.

CLADERA-OLIVERA, F., PETTERMANN, A. C., NOREÑA, C. P. Z., WADA, K. & MARCZAK, L. D. F. Thermodynamic properties of moisture desorption of raw pinhão (*Araucaria angustifolia* seeds). *International Journal of Food Science & Technology*, v.43, n.5, p.900-907. 2008.

COLLA, E., DO AMARAL SOBRAL, P. J. & MENEGALLI, F. C. *Amaranthus cruentus* Flour Edible Films: Influence of Stearic Acid Addition, Plasticizer Concentration, and Emulsion Stirring Speed on Water Vapor Permeability and Mechanical Properties. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, v.54, n.18, p.6645-6653. 2006.

CONAB. Pinhão (semente): Conjuntura Especial. Disponível em: [http://www.conab.gov.br/OlalaCMS/uploads/arquivos/14\\_09\\_09\\_12\\_36\\_06\\_pinhaosementes\\_eteembro\\_2014.pdf](http://www.conab.gov.br/OlalaCMS/uploads/arquivos/14_09_09_12_36_06_pinhaosementes_eteembro_2014.pdf). Acesso em: 28/12/2015. 2014.

CONFORTI, P. A. & LUPANO, C. E. Starch Characterisation of *Araucaria angustifolia* and *Araucaria araucana* Seeds. *Starch - Stärke*, v.59, n.6, p.284-289. 2007.

CONTO, L. C., PLATA-OVIEDO, M. S. V., STEEL, C. J. & CHANG, Y. K. Physico-chemical, morphological, and pasting properties of Pine nut (*Araucaria angustifolia*) starch oxidized with different levels of sodium hypochlorite. *Starch - Stärke*, v.63, n.4, p.198-208. 2011.

CORDENUNSI, B. R., MENEZES, E. W., GENOVESE, M. I., COLLI, C., SOUZA, A. G. & LAJOLO, F. M. Chemical composition and glycemic index of brazilian pine (*Araucaria angustifolia*) seeds. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, v.52, n.11, p.3412-3416. 2004.

CORRENTE, F., MATRICARDI, P., PAOLICELLI, P., TITA, B., VITALI, F. & CASADEI, M. A. Physical Carboxymethylscleroglucan/Calcium Ion Hydrogels as Modified Drug Delivery Systems in Topical Formulations. *Molecules*, v.14, n.8, p.2684-2698. 2009.

COŞKUN, B. K., ÇALIKOĞLU, E., EMIROĞLU, Z. K. & CANDOĞAN, K. Antioxidant Active Packaging with Soy Edible Films and Oregano or Thyme Essential Oils for Oxidative Stability of Ground Beef Patties. *Journal of Food Quality*, v.37, n.3, p.203-212. 2014.

COSTA, F. J. O. G., LEIVAS, C. L., WASZCZYNSKYJ, N., BUENO DE GODOI, R. C., HELM, C. V., COLMAN, T. A. D. & SCHNITZLER, E. Characterisation of native starches

---

of seeds of *Araucaria angustifolia* from four germplasm collections. *Thermochimica Acta*, v.565, p.172-177. 2013.

CUNNINGHAM, P., OGALE, A. A., DAWSON, P. L. & ACTON, J. C. Tensile Properties of Soy Protein Isolate Films Produced by a Thermal Compaction Technique. *Journal of Food Science*, v.65, n.4, p.668-671. 2000.

CURVELO, A. A. S., DE CARVALHO, A. J. F. & AGNELLI, J. A. M. Thermoplastic starch–cellulosic fibers composites: preliminary results. *Carbohydrate Polymers*, v.45, n.2, p.183-188. 2001.

CUTTER, C. N. Opportunities for bio-based packaging technologies to improve the quality and safety of fresh and further processed muscle foods. *Meat Science*, v.74, n.1, p.131-142. 2006.

CYRAS, V. P., MANFREDI, L. B., TON-THAT, M.-T. & VÁZQUEZ, A. Physical and mechanical properties of thermoplastic starch/montmorillonite nanocomposite films. *Carbohydrate Polymers*, v.73, n.1, p.55-63. 2008.

DANNER, M. A., ZANETTE, F. & RIBEIRO, J. Z. O cultivo da araucária para produção de pinhões como ferramenta para a conservação. *Pesquisa florestal brasileira*, v.32, n.72, p.441-451. 2012.

DATTA, A. K. Porous media approaches to studying simultaneous heat and mass transfer in food processes. II: Property data and representative results. *Journal of Food Engineering*, v.80, n.1, p.96-110. 2007.

DATTA, P. K., FIGUEROA, M. O. D. C. R. & LAJOLO, F. M. Purification and Characterization of Two Major Lectins from *Araucaria brasiliensis* syn. *Araucaria angustifolia* Seeds (Pinhão). *Plant Physiology*, v.97, n.3, Nov, p.856-862. 1991.

DATTA, P. K., FIGUEROA, M. O. R. & LAJOLO, F. M. Chemical modification and sugar binding properties of two major lectins from Pinhao (*Araucaria brasiliensis*) seeds. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, v.41, n.11, p.1851-1855. 1993.

DAUDT, R. M., BACK, P. I., CARDOZO, N. S. M., MARCZAK, L. D. F. & KÜLKAMP-GUERREIRO, I. C. Pinhão starch and coat extract as new natural cosmetic ingredients: Topical formulation stability and sensory analysis. *Carbohydrate Polymers*, v.134, p.573-580. 2015.

DAUDT, R. M., KÜLKAMP-GUERREIRO, I. C., CLADERA-OLIVERA, F., THYS, R. C. S. & MARCZAK, L. D. F. Determination of properties of pinhão starch: Analysis of its applicability as pharmaceutical excipient. *Industrial Crops and Products*, v.52, p.420-429. 2014.

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

---

DEBEAUFORT, F., QUEZADA-GALLO, J.-A. & VOILLEY, A. Edible Films and Coatings: Tomorrow's Packagings: A Review. *Critical Reviews in Food Science*, v.38, n.4, p.299-313. 1998.

DESHPANDE, A. P., KRISHNAN, J. M. & KUMAR, P. B. S. *Rheology of Complex Fluids*. New York: Springer Science+Business Media. 253 p. 2010.

DIAS, A. B., MÜLLER, C. M. O., LAROTONDA, F. D. S. & LAURINDO, J. B. Biodegradable films based on rice starch and rice flour. *Journal of Cereal Science*, v.51, n.2, p.213-219. 2010.

DIAS, A. B., MÜLLER, C. M. O., LAROTONDA, F. D. S. & LAURINDO, J. B. Mechanical and barrier properties of composite films based on rice flour and cellulose fibers. *LWT - Food Science and Technology*, v.44, n.2, p.535-542. 2011.

DOBIRCAU, L., SREEKUMAR, P. A., SAIHAH, R., LEBLANC, N., TERRIÉ, C., GATTIN, R. & SAITER, J. M. Wheat flour thermoplastic matrix reinforced by waste cotton fibre: Agro-green-composites. *Composites Part A: Applied Science and Manufacturing*, v.40, n.4, p.329-334. 2009.

DOLZ, M., HERNÁNDEZ, M. J. & DELEGIDO, J. Creep and recovery experimental investigation of low oil content food emulsions. *Food Hydrocolloids*, v.22, n.3, p.421-427. 2008.

DREHER, F. & THIELE, J. Antioxidants. In: Baran, R. e Maibach, H. I. *Textbook of Cosmetic Dermatology*. London: Informa Healthcare. p.115-122. 2010.

DUFRESNE, A. & VIGNON, M. R. Improvement of Starch Film Performances Using Cellulose Microfibrils. *Macromolecules*, v.31, n.8, p.2693-2696. 1998.

EBERLEIN-KÖNIG, B., SCHÄFER, T., HUSS-MARP, J., DARSOW, U., MÖHRENSCHLAGER, M., HERBERT, O., ABECK, D., KRÄMER, U., BEHRENDT, H. & RING, J. Skin Surface pH, Stratum Corneum Hydration, Trans-epidermal Water Loss and Skin Roughness Related to Atopic Eczema and Skin Dryness in a Population of Primary School Children. *Acta Dermato-Venereologica*, v.80, p.188-191. 2000.

Embrapa desenvolve araucárias que produzem pinhão em menos tempo. Caminhos do Campo. Disponível em: <http://g1.globo.com/pr/parana/caminhos-do-campo/noticia/2015/05/embrapa-desenvolve-araucarias-que-produzem-pinhao-em-menos-tempo.html>. Acesso em: 28/12/2015. 2015.

ESPITIA, P. J. P., AVENA-BUSTILLOS, R. J., DU, W.-X., CHIOU, B.-S., WILLIAMS, T. G., WOOD, D., MCHUGH, T. H. & SOARES, N. F. F. Physical and Antibacterial Properties of Açaí Edible Films Formulated with Thyme Essential Oil and Apple Skin Polyphenols. *Journal of Food Science*, v.79, n.5, p.M903-M910. 2014.

F'GUYER, S., AFAQ, F. & MUKHTAR, H. Photochemoprevention of skin cancer by botanical agents. *Photodermatology, Photoimmunology & Photomedicine*, v.19, n.2, p.56-72. 2003.

FAKHOURY, F. M., MARTELLI, S. M., BERTAN, L. C., YAMASHITA, F., MEI, L. H. I. & QUEIROZ, F. P. C. Edible films made from blends of manioc starch and gelatin - Influence of different types of plasticizer and different levels of macromolecules on their properties. *LWT - Food Science and Technology*, v.49, n.1, p.149-154. 2012.

FAMÁ, L., FLORES, S. K., GERSCHENSON, L. & GOYANES, S. Physical characterization of cassava starch biofilms with special reference to dynamic mechanical properties at low temperatures. *Carbohydrate Polymers*, v.66, n.1, p.8-15. 2006.

FAMÁ, L., GERSCHENSON, L. & GOYANES, S. Starch-vegetable fibre composites to protect food products. *Carbohydrate Polymers*, v.75, n.2, p.230-235. 2009.

FANG, J., MEHLICH, A., KOGA, N., HUANG, J., KOGA, R., GAO, X., HU, C., JIN, C., RIEF, M., KAST, J., BAKER, D. & LI, H. Forced protein unfolding leads to highly elastic and tough protein hydrogels. *Nature Communications*, v.4. 2013.

FERNANDES, F., LEUZINGER, R., LUCA, J. D., BASÍLIO, J. C. & SIMÕES, M. T. Por um Brasil com Saúde e mais Bonito – a contribuição do setor de Higiene Pessoal, Perfumaria e Cosméticos para o desenvolvimento do país. ABIHPEC e Booz & Company. Disponível em: <http://www.abihpec.org.br/2012/01/estudo-booz-co-por-um-brasil-mais-bonito/>. Acesso em: 03/06/2014. 2012.

FERREIRA, A. S., NUNES, C., CASTRO, A., FERREIRA, P. & COIMBRA, M. A. Influence of grape pomace extract incorporation on chitosan films properties. *Carbohydrate Polymers*, v.113, p.490-499. 2014.

FIGUEIREDO-FILHO, A., ORELLANA, E., NASCIMENTO, F., DIAS, A. N. & INOUE, M. T. Produção de sementes de *Araucaria angustifolia* em plantio e em floresta natural no centro-sul do Estado do Paraná. *Floresta*, v.41, n.1, p.155-162. 2011.

FISHMAN, M. L., COFFIN, D. R., KONSTANCE, R. P. & ONWULATA, C. I. Extrusion of pectin/starch blends plasticized with glycerol. *Carbohydrate Polymers*, v.41, n.4, p.317-325. 2000.

FLOEGEL, A., KIM, D.-O., CHUNG, S.-J., KOO, S. I. & CHUN, O. K. Comparison of ABTS/DPPH assays to measure antioxidant capacity in popular antioxidant-rich US foods. *Journal of Food Composition and Analysis*, v.24, n.7, p.1043-1048. 2011.

FLORES, S., FAMÁ, L., ROJAS, A. M., GOYANES, S. & GERSCHENSON, L. Physical properties of tapioca-starch edible films: Influence of filmmaking and potassium sorbate. *Food Research International*, v.40, n.2, p.257-265. 2007.

FREIRE, A. C., FERTIG, C. C., PODCZECK, F., VEIGA, F. & SOUSA, J. Starch-based coatings for colon-specific drug delivery. Part I: The influence of heat treatment on the physico-chemical properties of high amylose maize starches. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, v.72, n.3, p.574-586. 2009.

GABRIELE, D., DE CINDIO, B. & D'ANTONA, P. A weak gel model for foods. *Rheologica Acta*, v.40, n.2, p.120-127. 2001.

---

GALDEANO, M. C., MALI, S., GROSSMANN, M. V. E., YAMASHITA, F. & GARCÍA, M. A. Effects of plasticizers on the properties of oat starch films. *Materials Science and Engineering: C*, v.29, n.2, p.532-538. 2009.

GALUS, S. & LENART, A. Development and characterization of composite edible films based on sodium alginate and pectin. *Journal of Food Engineering*, v.115, n.4, p.459-465. 2013.

GARCÍA, M. A., MARTINO, M. N. & ZARITZKY, N. E. Lipid Addition to Improve Barrier Properties of Edible Starch-based Films and Coatings. *Journal of Food Science*, v.65, n.6, p.941-944. 2000.

GARCÍA, M. A., PINOTTI, A., MARTINO, M. N. & ZARITZKY, N. E. Characterization of Starch and Composite Edible Films and Coating. In: Embuscado, M. E. e Hubber, K. C. *Edible Films and Coatings for Food Applications*. New York: Springer-Verlang 2009.

GARCIA, M. A., PINOTTI, A. & ZARITZKY, N. E. Physicochemical, Water Vapor Barrier and Mechanical Properties of Corn Starch and Chitosan Composite Films. *Starch - Stärke*, v.58, n.9, p.453-463. 2006.

GASPAR, L. R. & MAIA CAMPOS, P. M. B. G. Rheological behavior and the SPF of sunscreens. *International Journal of Pharmaceutics*, v.250, n.1, p.35-44. 2003.

GAUDIN, S., LOURDIN, D., FORSSELL, P. M. & COLONNA, P. Antiplasticisation and oxygen permeability of starch-sorbitol films. *Carbohydrate Polymers*, v.43, n.1, p.33-37. 2000.

GAUDIN, S., LOURDIN, D., LE BOTLAN, D., ILARI, J. L. & COLONNA, P. Plasticisation and Mobility in Starch-Sorbitol Films. *Journal of Cereal Science*, v.29, n.3, p.273-284. 1999.

GENSKOWSKY, E., PUENTE, L. A., PÉREZ-ÁLVAREZ, J. A., FERNANDEZ-LOPEZ, J., MUÑOZ, L. A. & VIUDA-MARTOS, M. Assessment of antibacterial and antioxidant properties of chitosan edible films incorporated with maqui berry (*Aristotelia chilensis*). *LWT - Food Science and Technology*, v.64, n.2, p.1057-1062. 2015.

GIALAMAS, H., ZINOVIADOU, K. G., BILIADERIS, C. G. & KOUTSOUMANIS, K. P. Development of a novel bioactive packaging based on the incorporation of *Lactobacillus sakei* into sodium-caseinate films for controlling *Listeria monocytogenes* in foods. *Food Research International*, v.43, n.10, p.2402-2408. 2010.

GIANETI, M. D., GASPAR, L. R., BUENO DE CAMARGO JÚNIOR, F. & BERARDO GONÇALVES MAIA CAMPOS, P. M. Benefits of Combinations of Vitamin A, C and E Derivatives in the Stability of Cosmetic Formulations. *Molecules*, v.17, n.2, p.2219-2230. 2012.

GILBERT, L., PICARD, C., SAVARY, G. & GRISEL, M. Rheological and textural characterization of cosmetic emulsions containing natural and synthetic polymers: relationships between both data. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, v.421, p.150-163. 2013.

- 
- GILFILLAN, W. N., NGUYEN, D. M. T., SOPADE, P. A. & DOHERTY, W. O. S. Preparation and characterisation of composites from starch and sugar cane fibre. *Industrial Crops and Products*, v.40, p.45-54. 2012.
- GOMAND, S. V., LAMBERTS, L., DERDE, L. J., GOESAERT, H., VANDEPUTTE, G. E., GODERIS, B., VISSER, R. G. F. & DELCOUR, J. A. Structural properties and gelatinisation characteristics of potato and cassava starches and mutants thereof. *Food Hydrocolloids*, v.24, n.4, p.307-317. 2010.
- GONÇALVES, P. M., NOREÑA, C. P. Z., DA SILVEIRA, N. P. & BRANDELLI, A. Characterization of starch nanoparticles obtained from *Araucaria angustifolia* seeds by acid hydrolysis and ultrasound. *LWT - Food Science and Technology*, v.58, n.1, p.21-27. 2014.
- GONG, C., SHI, S., DONG, P., ZHENG, X., FU, S., GUO, G., YANG, J., WEI, Y. & QIAN, Z. In vitro drug release behavior from a novel thermosensitive composite hydrogel based on Pluronic f127 and poly(ethylene glycol)-poly(epsilon-caprolactone)-poly(ethylene glycol) copolymer. *BMC Biotechnology*, v.9, n.1, p.8. 2009.
- GONTARD, N. & GUILBERT, S. Bio-packaging: technology and properties of edible and/or biodegradable material of agricultural origin. *Food Packaging and Preservation*. Mathlouthi, M. Dordrecht: Springer Science+Business Media: p.159-181. 1994.
- GONTARD, N., GUILBERT, S. & CUQ, J.-L. Edible Wheat Gluten Films: Influence of the Main Process Variables on Film Properties using Response Surface Methodology. *Journal of Food Science*, v.57, n.1, p.190-195. 1992.
- GONTARD, N., GUILBERT, S. & CUQ, J. L. Water and Glycerol as Plasticizers Affect Mechanical and Water Vapor Barrier Properties of an Edible Wheat Gluten Film. *Journal of Food Science*, v.58, n.1, p.206-211. 1993.
- GUARATINI, T., GIANETI, M. D. & CAMPOS, P. M. B. G. M. Stability of cosmetic formulations containing esters of Vitamins E and A: Chemical and physical aspects. *International Journal of Pharmaceutics*, v.327, n.1-2, p.12-16. 2006.
- GUERRA, B. B., FURTADO, C. R. G. & COUTINHO, F. M. B. Avaliação reológica de elastômeros e suas composições. *Polímeros*, v.14, p.289-294. 2004.
- HAN, J., SHIN, S.-H., PARK, K.-M. & KIM, K. Characterization of physical, mechanical, and antioxidant properties of soy protein-based bioplastic films containing carboxymethylcellulose and catechin. *Food Science and Biotechnology*, v.24, n.3, p.939-945. 2015.
- HAUGAARD, V. K., UDSSEN, A.-M., MORTENSEN, G., HØEGH, L., PETERSEN, K. & MONAHAN, F. Potential Food Applications of Biobased Materials. An EU-Concerted Action Project. *Starch - Stärke*, v.53, n.5, p.189-200. 2001.
- HEJRI, Z., AHMADPOUR, A., SEIFKORDI, A. A. & ZEBARJAD, S. M. Role of Nano-Sized TiO<sub>2</sub> on Mechanical and Thermal Behavior of Starch/Poly (vinyl alcohol) Blend Films. *International Journal of Nanoscience and Nanotechnology*, v.8, n.4, p.215-226. 2012.

---

HERNANDEZ-IZQUIERDO, V. M. & KROCHTA, J. M. Thermoplastic Processing of Proteins for Film Formation—A Review. *Journal of Food Science*, v.73, n.2, p.R30-R39. 2008.

HIRASHIMA, M., TAKAHASHI, R. & NISHINARI, K. Effects of Citric Acid on the Viscoelasticity of Cornstarch Pastes. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, v.52, n.10, p.2929-2933. 2004.

IBGE. *Censo Agropecuário*. Rio de Janeiro: p.1-777. 2006.

IBGE. *Produção da Extração Vegetal e da Silvicultura*. 2013.

ICH. Stability Testing of New Drugs Substances and Products Q1A(R2). International Conference on Harmonisation of Technical Requirements for Registration of Pharmaceuticals for Human Use. 2003.

ISAAC, V., CHIARI, B. G., MAGNANI, C. & CORRÊA, M. A. Sensory analysis as a useful tool in the development of cosmetics. *Journal of Basic and Applied Pharmaceutical Sciences*, v.33, n.4, p.479-488. 2012.

ISSACHAR, N., GALL, Y., BORFLL, M. T. & POELMAN, M. C. pH measurements during lactic acid stinging test in normal and sensitive skin. *Contact Dermatitis*, v.36, n.3, p.152-155. 1997.

JANJARASSKUL, T. & KROCHTA, J. M. Edible Packaging Materials. *Annual Review of Food Science and Technology*, v.1, p.415-448. 22129343. 2010.

JOG, S. V., BAGAL, S. A., CHOGALE, M. M. & PALEKAR-SHANBHAG, P. Sensorial analysis in cosmetics: an overview. *Household and Personal Care Today*, v.7, n.1, p.23-24. 2012.

JOUKI, M., YAZDI, F. T., MORTAZAVI, S. A. & KOOCHEKI, A. Quince seed mucilage films incorporated with oregano essential oil: Physical, thermal, barrier, antioxidant and antibacterial properties. *Food Hydrocolloids*, v.36, n.0, p.9-19. 2014.

JUHÁSZ, R. & SALGÓ, A. Pasting Behavior of Amylose, Amylopectin and Their Mixtures as Determined by RVA Curves and First Derivatives. *Starch - Stärke*, v.60, n.2, p.70-78. 2008.

KAMMOUN, M., HADDAR, M., KALLEL, T. K., DAMMAK, M. & SAYARI, A. Biological properties and biodegradation studies of chitosan biofilms plasticized with PEG and glycerol. *International Journal of Biological Macromolecules*, v.62, n.0, p.433-438. 2013.

KECHICHIAN, V., DITCHFIELD, C., VEIGA-SANTOS, P. & TADINI, C. C. Natural antimicrobial ingredients incorporated in biodegradable films based on cassava starch. *LWT - Food Science and Technology*, v.43, n.7, p.1088-1094. 2010.

---

KIZIL, R., IRUDAYARAJ, J. & SEETHARAMAN, K. Characterization of Irradiated Starches by Using FT-Raman and FTIR Spectroscopy. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, v.50, n.14, p.3912-3918. 2002.

KLEIN, B., PINTO, V. Z., VANIER, N. L., ZAVAREZE, E. D. R., COLUSSI, R., EVANGELHO, J. A. D., GUTKOSKI, L. C. & DIAS, A. R. G. Effect of single and dual heat-moisture treatments on properties of rice, cassava, and pinhao starches. *Carbohydrate Polymers*, v.98, n.2, p.1578-1584. 2013.

KOEHNLEIN, E. A., CARVAJAL, A. E. S., KOEHNLEIN, E. M., COELHO-MOREIRA, J. D. S., INÁCIO, F. D., CASTOLDI, R., BRACHT, A. & PERALTA, R. M. Antioxidant activities and phenolic compounds of raw and cooked Brazilian pinhão (*Araucaria angustifolia*) seeds. *African Journal of Food Science*, v.6, n.21, p.512-518. 2012.

KRAMER, M. E. Structure and Function of Starch-Based Edible Films and Coatings. In: Embuscado, M. E. e Huber, K. C. *Edible Films and Coatings for Food Applications*. New York, NY, USA: Springer Science + Business Media. p.113-134. 2009.

KROCHTA, J. M. & DE MULDER-JOHNSTON, C. Edible and biodegradable polymer films: challenges and opportunities. *Food Technology*, v.51, n.2, p.61-74. 1997.

KÜLKAMP-GUERREIRO, I. C., BERLITZ, S. J., CONTRI, R. V., ALVES, L. R., HENRIQUE, E. G., BARREIROS, V. R. M. & GUTERRES, S. S. Influence of nanoencapsulation on the sensory properties of cosmetic formulations containing lipoic acid. *International Journal of Cosmetic Science*, v.35, n.1, p.105-111. 2013.

KÜLKAMP-GUERREIRO, I. C., TERROSO, T. F., ASSUMPCÃO, E. R., BERLITZ, S. J., CONTRI, R. V., POHLMANN, A. R. & GUTERRES, S. S. Development and Stability of Innovative Semisolid Formulations Containing Nanoencapsulated Lipoic Acid for Topical Use. *Journal of Nanoscience and Nanotechnology*, v.12, n.10, p.7723-7732. 2012.

LANGHE, M. K., HEBERLÉ, G. & MILÃO, D. Avaliação da estabilidade e atividade antioxidante de uma emulsão base não-iônica contendo resveratrol. *Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences*, v.45, p.145-151. 2009.

LAOHAKUNJIT, N. & NOOMHORM, A. Effect of Plasticizers on Mechanical and Barrier Properties of Rice Starch Film. *Starch - Stärke*, v.56, n.8, p.348-356. 2004.

LAPASIN, R. & PRICL, S. *Rheology of Industrial Polysaccharides Theory and Applications*. London: Blackie Academic and Professional, Chapman & Hall. 620 p. 1995.

LAWLESS, H. T. & HEYMANN, H. *Sensory Evaluation of Food: Principles and Practices*. 2nd.ed. New York: Springer. 620 p. 2010.

LEE, I.-S., YANG, H.-M., KIM, J.-W., MAENG, Y.-J., LEE, C.-W., KANG, Y.-S., RANG, M.-J. & KIM, H.-Y. Terminology development and panel training for sensory evaluation of skin care products including aqua cream. *Journal of Sensory Studies*, v.20, n.5, p.421-433. 2005.

- LEE, S.-J., SANDHU, K. S. & LIM, S.-T. Effect of Microwave Irradiation on Crystallinity and Pasting Viscosity of Corn Starches Different in Amylose Content. *Food Science and Biotechnology*, v.16, n.5, p.832-835. 2007.
- LEITE, D. M. C. Avaliação nutricional da semente do Pinheiro-do-Paraná (*Araucaria angustifolia*). Dissertação (Mestrado). Instituto de Ciência e Tecnologia de Alimentos, Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Porto Alegre, 60 p., 2007.
- LEITE, D. M. C., DE JONG, E. V., NOREÑA, C. P. Z. & BRANDELLI, A. Nutritional evaluation of *Araucaria angustifolia* seed flour as a protein complement for growing rats. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, v.88, n.7, p.1166-1171. 2008.
- LEONARDI, G. R. *Cosmetologia aplicada*. São Paulo: Medfarma, 2004.
- LEONARDI, G. R., GASPAR, L. R. & CAMPOS, P. M. B. G. M. Study of pH variation on the skin using cosmetic formulations with and without vitamins A, E or ceramide: by a non-invasive method. *Anais Brasileiros de Dermatologia*, v.77, p.563-569. 2002.
- LI, C., LI, Y., SUN, P. & YANG, C. Pickering emulsions stabilized by native starch granules. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, v.431, p.142-149. 2013.
- LI, M., LIU, P., ZOU, W., YU, L., XIE, F., PU, H., LIU, H. & CHEN, L. Extrusion processing and characterization of edible starch films with different amylose contents. *Journal of Food Engineering*, v.106, n.1, p.95-101. 2011.
- LIPPACHER, A., MÜLLER, R. H. & MÄDER, K. Liquid and semisolid SLN<sup>TM</sup> dispersions for topical application: rheological characterization. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, v.58, n.3, p.561-567. 2004.
- LIU, H., XIE, F., YU, L., CHEN, L. & LI, L. Thermal processing of starch-based polymers. *Progress in Polymer Science*, v.34, n.12, p.1348-1368. 2009.
- LIU, L., KERRY, J. F. & KERRY, J. P. Effect of food ingredients and selected lipids on the physical properties of extruded edible films/casings. *International Journal of Food Science & Technology*, v.41, n.3, p.295-302. 2006.
- LIU, Z. & HAN, J. H. Film-forming Characteristics of Starches. *Journal of Food Science*, v.70, n.1, p.E31-E36. 2005.
- LOBATO, L. P., STAHL, J. A., BOCHI, V. C., KUBOTA, E., MONTAGNER, S. T., KRIESE, P. R., COSTABEBER, I. & EMANUELLI, T. Composição centesimal do amido de pinhão: nativo e modificado por fosfatação. Anais XVIII Congresso Brasileiro de Ciência e Tecnologia de Alimentos, Porto Alegre, 2586-2590. 2002.
- LOCHHEAD, R. Y. The Role of Polymers in Cosmetics: Recent Trends. In. *Cosmetic Nanotechnology: Polymers and Colloids in Cosmetics*. Washington, DC: ACS Symposium Series Publication 2007.
- LÓPEZ-MATA, M. A., RUIZ-CRUZ, S., SILVA-BELTRÁN, N. P., ORNELAS-PAZ, J. D. J., OCAÑO-HIGUERA, V. M., RODRÍGUEZ-FÉLIX, F., CIRA-CHÁVEZ, L. A., DEL-

- 
- TORO-SÁNCHEZ, C. L. & SHIRAI, K. Physicochemical and Antioxidant Properties of Chitosan Films Incorporated with Cinnamon Oil. *International Journal of Polymer Science*, v.2015, p.8. 2015.
- LOURDIN, D., COIGNARD, L., BIZOT, H. & COLONNA, P. Influence of equilibrium relative humidity and plasticizer concentration on the water content and glass transition of starch materials. *Polymer*, v.38, n.21, p.5401-5406. 1997.
- LUCHESE, C. L., FRICK, J. M., PATZER, V. L., SPADA, J. C. & TESSARO, I. C. Synthesis and characterization of biofilms using native and modified pinhão starch. *Food Hydrocolloids*, v.45, p.203-210. 2015.
- MAALEJ, H., MOALLA, D., BOISSET, C., BARDAA, S., AYED, H. B., SAHNOUN, Z., REBAI, T., NASRI, M. & HMIDET, N. Rheological, dermal wound healing and in vitro antioxidant properties of exopolysaccharide hydrogel from *Pseudomonas stutzeri* AS22. *Colloid Surface B*, v.123, n.0, p.814-824. 2014.
- MAIZURA, M., FAZILAH, A., NORZIAH, M. H. & KARIM, A. A. Antibacterial Activity and Mechanical Properties of Partially Hydrolyzed Sago Starch–Alginate Edible Film Containing Lemongrass Oil. *Journal of Food Science*, v.72, n.6, p.C324-C330. 2007.
- 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. 2004a.
- MALI, S., GROSSMANN, M. V. E., GARCÍA, M. A., MARTINO, M. N. & ZARITZKY, N. E. Mechanical and thermal properties of yam starch films. *Food Hydrocolloids*, v.19, n.1, p.157-164. 2005a.
- MALI, S., GROSSMANN, M. V. E. & YAMASHITA, F. Starch films: production, properties and potential of utilization. *Semina: Ciências Agrárias*, v.31, n.1, p.137-156. 2010.
- MALI, S., GROSSMANN, M. V. R. E., GARCÍA, M. A., MARTINO, M. N. & ZARITZKY, N. E. Effects of controlled storage on thermal, mechanical and barrier properties of plasticized films from different starch sources. *Journal of Food Engineering*, v.75, n.4, p.453-460. 2006.
- MALI, S., KARAM, L. B., RAMOS, L. P. & GROSSMANN, M. V. E. Relationships among the Composition and Physicochemical Properties of Starches with the Characteristics of Their Films. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, v.52, n.25, p.7720-7725. 2004b.
- MALI, S., SAKANAKA, L. S., YAMASHITA, F. & GROSSMANN, M. V. E. Water sorption and mechanical properties of cassava starch films and their relation to plasticizing effect. *Carbohydrate Polymers*, v.60, n.3, p.283-289. 2005b.
- 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. 2014.

- 
- MARAN, J. P., SIVAKUMAR, V., SRIDHAR, R. & PRINCE IMMANUEL, V. Development of model for mechanical properties of tapioca starch based edible films. *Industrial Crops and Products*, v.42, p.159-168. 2013a.
- MARAN, J. P., SIVAKUMAR, V., SRIDHAR, R. & THIRUGNANASAMBANDHAM, K. Development of model for barrier and optical properties of tapioca starch based edible films. *Carbohydrate Polymers*, v.92, n.2, p.1335-1347. 2013b.
- MAROUSIS, S. N. & SARAVACOS, G. D. Density and Porosity in Drying Starch Materials. *Journal of Food Science*, v.55, n.5, p.1367-1372. 1990.
- MARTENS, M. A philosophy for sensory science. *Food Quality and Preference*, v.10, n.4-5, p.233-244. 1999.
- MARTIN-POLO, M., MAUGUIN, C. & VOILLEY, A. Hydrophobic films and their efficiency against moisture transfer. 1. Influence of the film preparation technique. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, v.40, n.3, p.407-412. 1992.
- MARTINS, C. R., LOPES, W. A. & ANDRADE, J. B. D. Solubilidade das substâncias orgânicas. *Química Nova*, v.36, p.1248-1255. 2013.
- MATHLOUTHI, M. & ROGÉ, B. Water vapour sorption isotherms and the caking of food powders. *Food Chemistry*, v.82, n.1, p.61-71. 2003.
- MCCLEMENTS, D. J. Critical Review of Techniques and Methodologies for Characterization of Emulsion Stability. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, v.47, n.7, p.611-649. 2007.
- MCHUGH, T. H., AVENA-BUSTILLOS, R. & KROCHTA, J. M. Hydrophilic edible films: modified procedure for water vapor permeability and explanation of thickness effects. *Journal of Food Science*, v.58, p.899-903. 1993.
- MILAN, A. L. K., MILÃO, D., SOUTO, A. A. & CORTE, T. W. F. Study of hydration skin by the cosmetics emulsions for xerosis and their stability by rheology. *Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences*, v.43, p.649-657. 2007.
- MILÉO, P. C., MULINARI, D. R., BAPTISTA, C. A. R. P., ROCHA, G. J. M. & GONÇALVES, A. R. Mechanical Behaviour of Polyurethane from Castor oil Reinforced Sugarcane Straw Cellulose Composites. *Procedia Engineering*, v.10, p.2068-2073. 2011.
- MINOLTA. *Comunicação precisa da cor: controle de qualidade da percepção à instrumentação*. Japão: Minolta Corporation. 59 p. 1998.
- MITSUI, T. Skin care cosmetics. In. *New Cosmetic Science*. Amsterdam: Elsevier. p.319-369. 1997.
- MONTAÑO-LEYVA, B., GHIZZI D. DA SILVA, G., GASTALDI, E., TORRES-CHÁVEZ, P., GONTARD, N. & ANGELLIER-COUSSY, H. Biocomposites from wheat proteins and fibers: Structure/mechanical properties relationships. *Industrial Crops and Products*, v.43, p.545-555. 2013.

---

MOORTHY, S. N. Physicochemical and Functional Properties of Tropical Tuber Starches: A Review. *Starch - Stärke*, v.54, n.12, p.559-592. 2002.

MORESI, M., BRUNO, M. & PARENTE, E. Viscoelastic properties of microbial alginate gels by oscillatory dynamic tests. *Journal of Food Engineering*, v.64, n.2, p.179-186. 2004.

MÜLLER, C. M. O., LAURINDO, J. B. & YAMASHITA, F. Effect of cellulose fibers addition on the mechanical properties and water vapor barrier of starch-based films. *Food Hydrocolloids*, v.23, n.5, p.1328-1333. 2009.

MÜLLER, C. M. O., PIRES, A. T. N. & YAMASHITA, F. Characterization of thermoplastic starch/poly(lactic acid) blends obtained by extrusion and thermopressing. *Journal of the Brazilian Chemical Society*, v.23, p.426-434. 2012.

MÜLLER, C. M. O., YAMASHITA, F. & LAURINDO, J. B. Evaluation of the effects of glycerol and sorbitol concentration and water activity on the water barrier properties of cassava starch films through a solubility approach. *Carbohydrate Polymers*, v.72, n.1, p.82-87. 2008.

MUÑOZ, A. M. Sensory evaluation in quality control: an overview, new developments and future opportunities. *Food Quality and Preference*, v.13, n.6, p.329-339. 2002.

MUÑOZ, A. M., CIVILLE, G. V. & CARR, B. T. *Sensory Evaluation in Quality Control*. New York: Springer, 1992.

MUSA, H., GAMBO, A. & BHATIA, P. G. Studies on some physicochemical properties of native and modified starches from *Digitaria iburua* and *Zea mays*. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*. 3: p.28-31. 2011.

MUSCAT, D., ADHIKARI, B., ADHIKARI, R. & CHAUDHARY, D. S. Comparative study of film forming behaviour of low and high amylose starches using glycerol and xylitol as plasticizers. *Journal of Food Engineering*, v.109, n.2, p.189-201. 2012.

NASCIMENTO, T. A., CALADO, V. & CARVALHO, C. W. P. Development and characterization of flexible film based on starch and passion fruit mesocarp flour with nanoparticles. *Food Research International*, v.49, n.1, p.588-595. 2012.

NEPA-UNICAMP. *Tabela brasileira de composição de alimentos - TACO*. 4.ed. Campinas: Núcleo de Estudos e Pesquisas em Alimentação - UNICAMP. 161 p. 2011.

NIKOLIC, K. M. Theoretical study of phenolic antioxidants properties in reaction with oxygen-centered radicals. *Journal of Molecular Structure: THEOCHEM*, v.774, n.1-3, p.95-105. 2006.

NORAJIT, K., KIM, K. M. & RYU, G. H. Comparative studies on the characterization and antioxidant properties of biodegradable alginate films containing ginseng extract. *Journal of Food Engineering*, v.98, n.3, p.377-384. 2010.

---

Official Method 991.43. *Official Methods of Analysis of AOAC INTERNATIONAL*. 18<sup>th</sup>.ed. Gaithersburg, MD, USA: AOAC INTERNATIONAL. 2005.

OLEJAR, K., RAY, S., RICCI, A. & KILMARTIN, P. Superior antioxidant polymer films created through the incorporation of grape tannins in ethyl cellulose. *Cellulose*, v.21, n.6, p.4545-4556. 2014.

OLIVAREZ, S. A. & NOREÑA, C. P. Z. Estudio da secagem das sementes de pinhão a diferentes temperaturas de ar. X Congresso Argentino de Ciencia y Tecnologia de Alimentos, Mar del Plata, Argentina: Ciencia Actual, Porto Alegre. 2006.

OLIVEIRA, T. G., MAKISHI, G. L. A., CHAMBI, H. N. M., BITTANTE, A. M. Q. B., LOURENÇO, R. V. & SOBRAL, P. J. A. Cellulose fiber reinforced biodegradable films based on proteins extracted from castor bean (*Ricinus communis* L.) cake. *Industrial Crops and Products*, v.67, p.355-363. 2015.

PANWAR, A. S., UPADHYAY, N., BAIRAGI, M., GUJAR, S., DARWHEKAR, G. N. & JAIN, D. K. Emulgel: a review. *Asian Journal of Pharmacy and Life Science*, v.1, n.3, p.333-343. 2011.

PARENTE, M. E., GÁMBARO, A. & ARES, G. Sensory characterization of emollients. *Journal of Sensory Studies*, v.23, n.2, p.149-161. 2008.

PARK, J. W., SCOTT WHITESIDE, W. & CHO, S. Y. Mechanical and water vapor barrier properties of extruded and heat-pressed gelatin films. *LWT - Food Science and Technology*, v.41, n.4, p.692-700. 2008.

PARK, S.-I., MARSH, K. S. & DAWSON, P. Application of chitosan-incorporated LDPE film to sliced fresh red meats for shelf life extension. *Meat Science*, v.85, n.3, p.493-499. 2010.

PAVLATH, A. E. & ORTS, W. Edible Films and Coatings: Why, What, and How? In: Embuscado, M. E. e Hubber, K. C. *Edible Films and Coatings for Food Applications*. New York: Springer-Verlang 2009.

PELISSARI, F. M., ANDRADE-MAHECHA, M. M., SOBRAL, P. J. D. A. & MENEGALLI, F. C. Comparative study on the properties of flour and starch films of plantain bananas (*Musa paradisiaca*). *Food Hydrocolloids*, v.30, n.2, p.681-690. 2013.

PELLE, E., MAMMONE, T., MARENUS, K., DICANIO, D. & MAES, D. A test for antioxidant activity in cosmetic formulation. *Journal of Cosmetic Science*, v.53, p.237-240. 2002.

PENA, L. E., LEE, B. L. & STEARNS, J. F. Consistency development and destabilization of a model cream. *Journal of the Society of Cosmetic Chemists*, v.44, p.337-345. 1993.

PERAZZO, K. K. N. C. L., CONCEIÇÃO, A. C. D. V., SANTOS, J. C. P. D., ASSIS, D. D. J., SOUZA, C. O. & DRUZIAN, J. I. Properties and Antioxidant Action of Actives Cassava Starch Films Incorporated with Green Tea and Palm Oil Extracts. *PLoS ONE*, v.9, n.9, p.e105199. 2014.

---

PÉREZ-GAGO, M. B. & KROCHTA, J. M. Lipid Particle Size Effect on Water Vapor Permeability and Mechanical Properties of Whey Protein/Beeswax Emulsion Films. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, v.49, n.2, p.996-1002. 2001.

PÉREZ-SIRA, E. Characterization of Starch Isolated from Plantain (*Musa paradisiaca normalis*). *Starch - Stärke*, v.49, n.2, p.45-49. 1997.

PIANOVSKI, A. R., VILELA, A. F. G., SILVA, A. A. S. D., LIMA, C. G., SILVA, K. K. D., CARVALHO, V. F. M., MUSIS, C. R. D., MACHADO, S. R. P. & FERRARI, M. Use of pequi oil (*Caryocar brasiliense*) in cosmetics emulsions: development and evaluate of physical stability. *Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences*, v.44, p.249-259. 2008.

PIETTA, P.-G. Flavonoids as Antioxidants. *Journal of Natural Products*, v.63, n.7, p.1035-1042. 2000.

Pinhão chega aos mercados com preço menor. Município Mais. Disponível em: <http://municipiomais.com.br/pinhao-chega-aos-mercados-com-preco-menor/>. Acesso em: 19/02/2016. 2015.

PINTO, V. Z., VANIER, N. L., KLEIN, B., ZAVAREZE, E. D. R., ELIAS, M. C., GUTKOSKI, L. C., HELBIG, E. & DIAS, A. R. G. Physicochemical, crystallinity, pasting and thermal properties of heat-moisture-treated pinhão starch. *Starch - Stärke*, v.64, n.11, p.855-863. 2012.

PIYADA, K., WARANYOU, S. & THAWIEN, W. Mechanical, thermal and structural properties of rice starch films reinforced with rice starch nanocrystals. *International Food Research Journal*, v.20, n.1, p.439-449. 2013.

POMMET, M., REDL, A., GUILBERT, S. & MOREL, M.-H. Intrinsic influence of various plasticizers on functional properties and reactivity of wheat gluten thermoplastic materials. *Journal of Cereal Science*, v.42, n.1, p.81-91. 2005.

POUNIKAR, Y., JAIN, P., KHURANA, N., OMRAY, L. K., PATIL, S. & GAJBHIYE, A. Formulation and characterization of Aloe Vera cosmetic herbal hydrogel. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, v.4, n.4, p.85-86. 2012.

RACHWAL, M. F. G., CARVALHO, P. E. R. & WITHERS, L. H. O. Educação Ambiental na Trilha Ecológica da Embrapa Florestas. Colombo: Embrapa Florestas. Disponível em: <http://www.cnpf.embrapa.br/publica/seriedoc/edicoes/Doc147.pdf>. Acesso em: 10 de novembro de 2013. 2007.

RAO, M. A., RIZVI, S. S. H. & DATTA, A. K. *Engineering properties of foods*. 3rd.ed. Boca Raton: Taylor & Francis. 738 p. 2005.

RAQUEZ, J.-M., NABAR, Y., SRINIVASAN, M., SHIN, B.-Y., NARAYAN, R. & DUBOIS, P. Maleated thermoplastic starch by reactive extrusion. *Carbohydrate Polymers*, v.74, n.2, p.159-169. 2008.

- 
- RATZ-LYKO, A., ARCT, J. & PYTKOWSKA, K. Methods for evaluation of cosmetic antioxidant capacity. *Skin Research and Technology*, v.18, n.4, p.421-430. 2012.
- RAYNER, M., MARKU, D., ERIKSSON, M., SJÖÖ, M., DEJMEK, P. & WAHLGREN, M. Biomass-based particles for the formulation of Pickering type emulsions in food and topical applications. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, v.458, p.48-62. 2014.
- RAZAVI, S. M. A., MOHAMMAD AMINI, A. & ZAHEDI, Y. Characterisation of a new biodegradable edible film based on sage seed gum: Influence of plasticiser type and concentration. *Food Hydrocolloids*, v.43, p.290-298. 2015.
- 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 and Medicine*, v.26, n.9-10, p.1231-1237. 1999.
- RINDLAV-WESTLING, A. S., STADING, M., HERMANSSON, A.-M. & GATENHOLM, P. Structure, mechanical and barrier properties of amylose and amylopectin films. *Carbohydrate Polymers*, v.36, n.2-3, p.217-224. 1998.
- ROCHA, S. A., LIMA, G. P. P., LOPES, A. M., BORGUINI, M. G., CICCONE, V. R. & BELUTA, I. Fibras e lipídios em alimentos vegetais oriundos do cultivo orgânico e convencional. *Simbio-Logias*, v.1, n.2, p.135-143. 2008.
- RODRÍGUEZ, M., OSÉS, J., ZIANI, K. & MATÉ, J. I. Combined effect of plasticizers and surfactants on the physical properties of starch based edible films. *Food Research International*, v.39, n.8, p.840-846. 2006.
- ROJAS-GRAÜ, M. A., SOLIVA-FORTUNY, R. & MARTÍN-BELLOSO, O. Edible coatings to incorporate active ingredients to fresh-cut fruits: a review. *Trends in Food Science & Technology*, v.20, n.10, p.438-447. 2009.
- ROSSMAN, J. M. Commercial Manufacture of Edible Films. In: Embuscado, M. E. e Huber, K. C. *Edible Films and Coatings for Food Applications*. New York: Springer Science+Business Media. p.367-390. 2009.
- SALAS-VALERO, L. M., TAPIA-BLÁCIDO, D. R. & MENEGALLI, F. C. Biofilms based on Canihua flour (*Chenopodium Pallidicaule*): design and characterization. *Química Nova*, v.38, p.14-21. 2015.
- SALMIERI, S. & LACROIX, M. Physicochemical Properties of Alginate/Polycaprolactone-Based Films Containing Essential Oils. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, v.54, n.26, p.10205-10214. 2006.
- SÁNCHEZ-GONZÁLEZ, L., CHÁFER, M., HERNÁNDEZ, M., CHIRALT, A. & GONZÁLEZ-MARTÍNEZ, C. Antimicrobial activity of polysaccharide films containing essential oils. *Food Control*, v.22, n.8, p.1302-1310. 2011.

- 
- SANDHU, K. S., SINGH, N. & LIM, S.-T. A comparison of native and acid thinned normal and waxy corn starches: Physicochemical, thermal, morphological and pasting properties. *LWT - Food Science and Technology*, v.40, n.9, p.1527-1536. 2007.
- SANTHA, N., SUDHA, K. G., VIJAYAKUMARI, K. P., NAYAR, V. U. & MOORTHY, S. N. Raman and infrared spectra of starch samples of sweet potato and cassava. *Journal of Chemical Sciences*, v.102, n.5, p.705-712. 1990.
- SANTOS, A. J., CORSO, N. M., MARTINS, G. & BITTENCOURT, E. Aspectos produtivos e comerciais do pinhão no Estado do Paraná. *Floresta*, v.32, n.2, p.163-169. 2002.
- SANYANG, M., SAPUAN, S., JAWAID, M., ISHAK, M. & SAHARI, J. Effect of Plasticizer Type and Concentration on Tensile, Thermal and Barrier Properties of Biodegradable Films Based on Sugar Palm (*Arenga pinnata*) Starch. *Polymers*, v.7, n.6, p.1106. 2015a.
- SANYANG, M. L., SAPUAN, S. M., JAWAID, M., ISHAK, M. R. & SAHARI, J. Effect of glycerol and sorbitol plasticizers on physical and thermal properties of sugar palm starch based films. *13th International Conference on Environment, Ecosystems and Development (EED '15)* Bulucea, A. Kuala Lumpur, Malaysia WSEAS Press p.157-162. 2015b.
- SATYANARAYANA, K. G., ARIZAGA, G. G. C. & WYPYCH, F. Biodegradable composites based on lignocellulosic fibers—An overview. *Progress in Polymer Science*, v.34, n.9, p.982-1021. 2009.
- SAVARY, G., GRISEL, M. & PICARD, C. Impact of emollients on the spreading properties of cosmetic products: A combined sensory and instrumental characterization. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, v.102, n.0, p.371-378. 2013.
- SCHUELLER, R. & ROMANOWSKI, P. *Iniciação à química cosmética*. São Paulo: Tecnopress, v.2 2002.
- SCOTTI, L., SCOTTI, M. T., CARDOSO, C., PAULETTI, P., CASTRO-GAMBOA, I., BOLZANI, V. D. S., VELASCO, M. V. R., MENEZES, C. M. D. S. & FERREIRA, E. I. Molecular modeling applied to the development of molecules with antioxidant activity for cosmetic use. *Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences*, v.43, p.153-166. 2007.
- SHAWESH, A. M., KAUKONEN, A., KALLIOINEN, S., ANTIKAINEN, O. & YLIRUUSI, J. Development of indomethacin Carbopol ETD 2001 gels and the influence of storage time and temperature on their stability. *Die Pharmazie*, v.58, n.2, //, p.130-135. 2003.
- SILVA, C. V. D. Aspectos da obtenção e comercialização de pinhão na região de Caçador - SC. Mestrado (Dissertação). Centro de Ciências Agrárias, Universidade Federal de Santa Catarina. Florianópolis, 123 p., 2006.
- SILVA, S. M., KOEHNLEIN, E. A., BRACHT, A., CASTOLDI, R., DE MORAIS, G. R., BAESSO, M. L., PERALTA, R. A., DE SOUZA, C. G. M., DE SÁ-NAKANISHI, A. B. & PERALTA, R. M. Inhibition of salivary and pancreatic  $\alpha$ -amylases by a pinhão coat (*Araucaria angustifolia*) extract rich in condensed tannin. *Food Research International*, v.56, p.1-8. 2014.

- 
- SILVERSTEIN, R. M., BASSLER, G. C. & MORRIL, T. C. *Spectrometric Identification of Organic Compounds*. New York: John Wiley and Sons, 1981.
- SINGLETON, V. L. & ROSSI, J. A. Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. *American Journal of Enology and Viticulture*, v.16, p.144-158. 1965.
- SOBRAL, P. J. A., MENEGALLI, F. C., HUBINGER, M. D. & ROQUES, M. A. Mechanical, water vapor barrier and thermal properties of gelatin based edible films. *Food Hydrocolloids*, v.15, n.4-6, p.423-432. 2001.
- SOLIVA-FORTUNY, R., ROJAS-GRAÜ, M. A. & MARTÍN-BELLOSO, O. Polysaccharide coatings. In: Elizabeth A. Baldwin, R. D. H. a. J. B. *Edible Coatings and Films to Improve Food Quality*. Boca Raton: CRC Press, Taylor & Francis Group. p.103-136. 2012.
- SORIANO, M. M. J., CONTRERAS, M. J. F. & FLORES, E. S. Development of a cream from a self-emulsifying base and moisturizing actives. *Il Farmaco*, v.56, n.5-7, p.513-522. 2001.
- SORRENTINO, A., GORRASI, G. & VITTORIA, V. Potential perspectives of bio-nanocomposites for food packaging applications. *Trends in Food Science & Technology*, v.18, n.2, p.84-95. 2007.
- SOTHORNVIT, R., OLSEN, C. W., MCHUGH, T. H. & KROCHTA, J. M. Tensile properties of compression-molded whey protein sheets: Determination of molding condition and glycerol-content effects and comparison with solution-cast films. *Journal of Food Engineering*, v.78, n.3, p.855-860. 2007.
- SOUSA, G. M., SOARES JÚNIOR, M. S. & YAMASHITA, F. Active biodegradable films produced with blends of rice flour and poly(butylene adipate co-terephthalate): Effect of potassium sorbate on film characteristics. *Materials Science and Engineering: C*, v.33, n.6, p.3153-3159. 2013.
- SOUZA, A. C., BENZE, R., FERRÃO, E. S., DITCHFIELD, C., COELHO, A. C. V. & TADINI, C. C. Cassava starch biodegradable films: Influence of glycerol and clay nanoparticles content on tensile and barrier properties and glass transition temperature. *LWT - Food Science and Technology*, v.46, n.1, p.110-117. 2012.
- SOUZA, M. O., BRANCO, C. S., SENE, J., DALLAGNOL, R., AGOSTINI, F., MOURA, S. & SALVADOR, M. Antioxidant and Antigenotoxic Activities of the Brazilian Pine *Araucaria angustifolia* (Bert.) O. Kuntze. *Antioxidants*, v.3, p.24-37. 2014.
- SPADA, J. C., MARCZAK, L. D. F., TESSARO, I. C. & NOREÑA, C. P. Z. Microencapsulation of  $\beta$ -carotene using native pinhão starch, modified pinhão starch and gelatin by freeze-drying. *International Journal of Food Science & Technology*, v.47, n.1, p.186-194. 2012a.

SPADA, J. C., NOREÑA, C. P. Z., MARCZAK, L. D. F. & TESSARO, I. C. Study on the stability of  $\beta$ -carotene microencapsulated with pinhão (*Araucaria angustifolia* seeds) starch. *Carbohydrate Polymers*, v.89, n.4, p.1166-1173. 2012b.

SPADA, J. C., NOREÑA, C. P. Z., MARCZAK, L. D. F. & TESSARO, I. C. Water adsorption isotherms of microcapsules with hydrolyzed pinhão (*Araucaria angustifolia* seeds) starch as wall material. *Journal of Food Engineering*, v.114, n.1, p.64-69. 2013.

STAHL, J. A., LOBATO, L. P., BOCHI, V. C., KUBOTA, E. H., GUTKOSKI, L. C. & EMANUELLI, T. Physicochemical properties of pinhão (*Araucaria angustifolia*, Bert, O. Ktze) starch phosphates. *LWT - Food Science and Technology*, v.40, n.7, p.1206-1214. 2007.

STEFENON, V. M., NODARI, R. O. & REIS, M. S. Padronização de protocolo AFLP e sua capacidade informativa para análise da diversidade genética em *Araucaria angustifolia*. *Scientia Forestalis*, n.64, p.163-171. 2003.

STONE, H. & SIDEL, J. L. 5 - Discrimination Testing. In. *Sensory Evaluation Practices (Third Edition)*. San Diego: Academic Press. p.145-200. 2004.

SWAIN, T. & HILLIS, W. E. The phenolic constituents of *Prunus domestica*. I.—The quantitative analysis of phenolic constituents. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, v.10, n.1, p.63-68. 1959.

TALJA, R. A., HELÉN, H., ROOS, Y. H. & JOUPPILA, K. Effect of various polyols and polyol contents on physical and mechanical properties of potato starch-based films. *Carbohydrate Polymers*, v.67, n.3, p.288-295. 2007.

TALJA, R. A., HELÉN, H., ROOS, Y. H. & JOUPPILA, K. Effect of type and content of binary polyol mixtures on physical and mechanical properties of starch-based edible films. *Carbohydrate Polymers*, v.71, n.2, p.269-276. 2008a.

TALJA, R. A., PEURA, M., SERIMAA, R. & JOUPPILA, K. Effect of Amylose Content on Physical and Mechanical Properties of Potato-Starch-Based Edible Films. *Biomacromolecules*, v.9, n.2, p.658-663. 2008b.

TAPIA-BLÁCIDO, D., MAURI, A. N., MENEGALLI, F. C., SOBRAL, P. J. A. & AÑÓN, M. C. Contribution of the Starch, Protein, and Lipid Fractions to the Physical, Thermal, and Structural Properties of Amaranth (*Amaranthus caudatus*) Flour Films. *Journal of Food Science*, v.72, n.5, p.E293-E300. 2007.

TAPIA-BLÁCIDO, D., SOBRAL, P. J. & MENEGALLI, F. C. Development and characterization of biofilms based on Amaranth flour (*Amaranthus caudatus*). *Journal of Food Engineering*, v.67, n.1-2, p.215-223. 2005.

TESTER, R. F. & MORRISON, W. R. Swelling and gelatinization of cereal starches. I. Effects of amylopectin, amylose, and lipids. *Cereal Chemistry*, v.67, n.6, p.551-557. 1990.

THYS, R. C. S. Caracterização e avaliação de amido nativo e modificado de pinhão mediante provas funcionais e térmicas. Doutorado (Tese). Departamento de Engenharia Química, Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Porto Alegre, 156 p., 2009.

THYS, R. C. S., AIRES, A. G., MARCZAK, L. D. F. & NORENA, C. P. Z. The effect of acid hydrolysis on the technological functional properties of pinhao (*Araucaria brasiliensis*) starch. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, v.33, Feb, p.89-94. 2013.

THYS, R. C. S., NOREÑA, C. P. Z., MARCZAK, L. D. F., AIRES, A. G. & CLADERA-OLIVERA, F. Adsorption isotherms of pinhão (*Araucaria angustifolia* seeds) starch and thermodynamic analysis. *Journal of Food Engineering*, v.100, n.3, p.468-473. 2010.

THYS, R. C. S., WESTFAHL, H., NOREÑA, C. P. Z., MARCZAK, L. D. F., SILVEIRA, N. D. P. & CARDOSO, M. B. Effect of the Alkaline Treatment on the Ultrastructure of C-Type Starch Granules. *Biomacromolecules*, v.9, n.7, p.1894-1901. 2008.

TIMGREN, A., RAYNER, M., SJÖÖ, M. & DEJMEK, P. Starch particles for food based Pickering emulsions. *Procedia Food Science*, v.1, p.95-103. 2011.

TOĞRUL, H. & ARSLAN, N. Moisture sorption isotherms and thermodynamic properties of walnut kernels. *Journal of Stored Products Research*, v.43, n.3, p.252-264. 2007.

TOMASSETTI, M., CAMPANELLA, L., DELFINI, M. & AURELI, T. Determination of moisture in food flours: A comparative thermogravimetric and NMR study, part 2. *Thermochimica Acta*, v.120, p.81-95. 1987.

TOVAR, L., SALAFRANCA, J., SÁNCHEZ, C. & NERÍN, C. Migration Studies To Assess the Safety in Use of a New Antioxidant Active Packaging. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, v.53, n.13, p.5270-5275. 2005.

USP, G. C. Bulk Density and Tapped Density. In. *United States Pharmacopeia*. Rockville: The United States Pharmacopeial Convention. p.616. 2008.

VAN OIRSCHOT, Q. E. A. & TOMLINS, K. I. Applying analytical sensory evaluation techniques, which translate qualitative perceptions to numerical data to research on development issues. Conference on Combining Qualitative and Quantitative Methods in Development Research, Swansea: Centre for Development Studies, University of Wales. 2002.

VÁSCONEZ, M. B., FLORES, S. K., CAMPOS, C. A., ALVARADO, J. & GERSCHENSON, L. N. Antimicrobial activity and physical properties of chitosan-tapioca starch based edible films and coatings. *Food Research International*, v.42, n.7, p.762-769. 2009.

VAYALIL, P. K., MITTAL, A., HARA, Y., ELMETS, C. A. & KATIYAR, S. K. Green tea polyphenols prevent ultraviolet light-induced oxidative damage and matrix metalloproteinases expression in mouse skin. *Journal of Investigative Dermatology*, v.122, n.6, p.1480-1487. 2004.

VERDI, M. Flora Digital do Rio Grande do Sul: *Araucaria angustifolia* (Bertol.) Kuntze. Disponível em: [http://www6.ufrgs.br/fitoecologia/florars/open\\_sp.php?img=3712](http://www6.ufrgs.br/fitoecologia/florars/open_sp.php?img=3712). Acesso em: 02 de dezembro de 2011. 2010.

- 
- VERMEIREN, L., DEVLIEGHERE, F., VAN BEEST, M., DE KRUIJF, N. & DEBEVERE, J. Developments in the active packaging of foods. *Trends in Food Science & Technology*, v.10, n.3, p.77-86. 1999.
- VIANNA-FILHO, R. P., PETKOWICZ, C. L. C. O. & SILVEIRA, J. L. A. M. Rheological characterization of O/W emulsions incorporated with neutral and charged polysaccharides. *Carbohydrate Polymers*, v.93, n.1, p.266-272. 2013.
- VIEIRA, M. G. A., DA SILVA, M. A., DOS SANTOS, L. O. & BEPPU, M. M. Natural-based plasticizers and biopolymer films: A review. *European Polymer Journal*, v.47, n.3, p.254-263. 2011.
- WANG, Y.-J. & WANG, L. Physicochemical properties of common and waxy corn starches oxidized by different levels of sodium hypochlorite. *Carbohydrate Polymers*, v.52, n.3, p.207-217. 2003.
- WANG, Y., LIU, A., YE, R., LI, X., HAN, Y. & LIU, C. The Production of Gelatin-Calcium Carbonate Composite Films with Different Antioxidants. *International Journal of Food Properties*, v.18, n.11, p.2442-2456. 2015.
- WANG, Y. & PADUA, G. W. Tensile Properties of Extruded Zein Sheets and Extrusion Blown Films. *Macromolecular Materials and Engineering*, v.288, n.11, p.886-893. 2003.
- WILHELM, H. M., SIERAKOWSKI, M. R., SOUZA, G. P. & WYPYCH, F. Starch films reinforced with mineral clay. *Carbohydrate Polymers*, v.52, n.2, p.101-110. 2003.
- WILSON, R. H., GOODFELLOW, B. J., BELTON, P. S., OSBORNE, B. G., OLIVER, G. & RUSSELL, P. L. Comparison of fourier transform mid infrared spectroscopy and near infrared reflectance spectroscopy with differential scanning calorimetry for the study of the staling of bread. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, v.54, n.3, p.471-483. 1991.
- WOLLERDORFER, M. & BADER, H. Influence of natural fibres on the mechanical properties of biodegradable polymers. *Industrial Crops and Products*, v.8, n.2, p.105-112. 1998.
- WOSIACKI, G. & CEREDA, M. P. Characterization of Pinhão Starch. Part I. Extraction and Properties of the Starch Granules. *Starch - Stärke*, v.37, n.7, p.224-227. 1985.
- WOSIACKI, G., GROSSA, P. & CEREDA, M. P. Characterization of Pinhão Starch. Part III: Hydration of the Granules and Susceptibility to Enzymatic Hydrolysis. *Starch - Stärke*, v.41, n.9, p.327-330. 1989.
- XIE, F., FLANAGAN, B. M., LI, M., TRUSS, R. W., HALLEY, P. J., GIDLEY, M. J., MCNALLY, T., SHAMSHINA, J. L. & ROGERS, R. D. Characteristics of starch-based films with different amylose contents plasticised by 1-ethyl-3-methylimidazolium acetate. *Carbohydrate Polymers*, v.122, p.160-168. 2015.
- XU, Y. X., KIM, K. M., HANNA, M. A. & NAG, D. Chitosan–starch composite film: preparation and characterization. *Industrial Crops and Products*, v.21, n.2, p.185-192. 2005.

---

YOSIPOVITCH, G., XIONG, G. L., HAUS, E., SACKETT-LUNDEEN, L., ASHKENAZI, I. & MAIBACH, H. I. Time-Dependent Variations of the Skin Barrier Function in Humans: Transepidermal Water Loss, Stratum Corneum Hydration, Skin Surface pH, and Skin Temperature. v.110, n.1, p.20-24. 1998.

YU, S., MA, Y., MENAGER, L. & SUN, D.-W. Physicochemical Properties of Starch and Flour from Different Rice Cultivars. *Food and Bioprocess Technology*, v.5, n.2, p.626-637. 2012.

ZAGUE, V., WEIS, M. E. & SILVA, Q. A. *Análise sensorial de produtos cosméticos*. In: Revista Anfarmag. v.61, p.Encarte técnico. 2006.

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