

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ  
CENTRO DE CIÊNCIAS  
DEPARTAMENTO DE BIOQUÍMICA E BIOLOGIA MOLECULAR  
CURSO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOQUÍMICA**

**ED CARLOS MORAIS DOS SANTOS**

**PREPARAÇÃO E CARACTERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA E TOXICOLÓGICA  
DE FILMES COMESTÍVEIS DE COLÁGENO-GALACTOMANANA PARA  
REVESTIMENTO DE FRUTOS TROPICAIS**

**FORTALEZA  
2007**

**ED CARLOS MORAIS DOS SANTOS**

**PREPARAÇÃO E CARACTERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA E TOXICOLÓGICA  
DE FILMES COMESTÍVEIS DE COLÁGENO-GALACTOMANANA PARA  
REVESTIMENTO DE FRUTOS TROPICAIS**

Dissertação submetida à Coordenação do Curso de Pós-Graduação em Bioquímica, da Universidade Federal do Ceará, como requisito parcial para obtenção do grau de Mestre em Bioquímica.

Orientador: Dr. Renato de Azevedo Moreira

Co-orientadora: Dra. Ana Cristina de Oliveira Monteiro Moreira

**FORTALEZA  
2007**

Santos, Ed Carlos Morais dos

Preparação e Caracterização Físico-química e Toxicológica de Filmes Comestíveis de Colágeno-Galactomanana Para Revestimento de Frutos Tropicais/ Ed Carlos Morais dos Santos – Fortaleza, 2007

111 f.

Orientador: Renato de Azevedo Moreira

Co-orientadora: Ana Cristina de Oliveira Monteiro Moreira

Dissertação de Mestrado em Bioquímica – Universidade Federal do Ceará. Departamento de Bioquímica e Biologia Molecular.

1. Filmes Comestíveis. 2. Galactomanana. 3. Colágeno. 4. Glicerol. 5. Conservação. I. Título

C.D.D.

**ED CARLOS MORAIS DOS SANTOS**

**PREPARAÇÃO E CARACTERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA E TOXICOLÓGICA  
DE FILMES COMESTÍVEIS DE COLÁGENO-GALACTOMANANA PARA  
REVESTIMENTO DE FRUTOS TROPICAIS**

Dissertação submetida à Coordenação do Curso de Pós-Graduação em Bioquímica, da Universidade Federal do Ceará, como requisito parcial para obtenção do grau de Mestre em Bioquímica.

Aprovada em: 15 / 03 / 2007

---

Prof. Dr. Renato de Azevedo Moreira  
Depto. de Bioquímica e Biologia Molecular  
Universidade Federal do Ceará (UFC)  
Orientador

---

Profa. Dra. Ana Cristina de Oliveira Monteiro Moreira  
Centro de Ciências da Saúde  
Universidade de Fortaleza (UNIFOR)  
Co-orientadora

---

Dra. Sônia Duarte Figueiró  
Depto. de Física  
Universidade Federal do Ceará (UFC)

---

Profa. Dra. Maria das Graças Carneiro da Cunha  
Depto. de Bioquímica  
Universidade Federal de Pernambuco (UFP)

A minha mãe (Margarida),  
pelo incentivo e por ser  
responsável, em grande  
parte, pelo que sou hoje.

## AGRADECIMENTOS

---

Ao Prof. Renato de Azevedo Moreira, por todo apoio, confiança e dedicação creditados desde a Iniciação Científica, seus ensinamentos e conselhos foram ouvidos por mim como os de um pai.

A Profa. Ana Cristina de Oliveira Monteiro Moreira, pela valiosa co-orientação, por toda paciência e por abrir seu laboratório na UNIFOR para execução de parte deste trabalho.

Ao Júlio Cesar Góes pelos ensinamentos tanto na Iniciação Científica quanto no estágio, sua competência científica e sua orientação foram um porto seguro na realização deste trabalho.

A Sônia Duarte Figueiró pela constante disponibilidade e pelos numerosos conselhos e encorajamento.

A minha namorada Nívia, por me aconselhar, por brigar comigo para que eu não erre tanto e por me ensinar a ser uma pessoa melhor. Muito obrigado meu lindo amor.

Ao meu GRANDE AMIGO Jackson, por todas as horas de estudo na graduação, por todos os sofrimentos nas disciplinas, mas principalmente pela felicidade das vitórias que alcançamos juntos, e por sempre confiar em mim (valeu amigo).

A Daniele, minha primeira co-orientadora, pelos ensinamentos e por sempre tirar minhas dúvidas e ouvir minhas reclamações.

A Renatinha, por sempre me tranquilizar nas apresentações e pelos valiosos conselhos.

Ao Prof. Belmino, por ser um excelente professor e acima de tudo um perfeito educador.

Ao Prof. Sandro, pelos ensinamentos e por mostrar que na vida se ganha e se perde e que devemos aprender a perder.

A todos os amigos que fiz no Laboratório de Lectinas e Glicoconjugados I e II (LABLEC), Profa. Ana Cecília, André, Álvaro, Alexssandra, Ana Angélica, Breno, Célio, Cláudia, Clébia, Daniele, David, Fábria, Gabrieli, Glenda, Giany, Heline, Jacira, Jovelina, Kelton, Lia, Marcos, Marcelo, Morgana, Miguel, Ossian, Patrícia, Raquel, Renata Alves, Renata Chastinet, Ricardo, Rogildo, Rosinha, Ulysses, Wagner, pela alegria do convívio.

A todos os amigos que fiz no Programa Especial de Treinamento (PET), Wladiana, Eveline, Rafael, Wagner, Crisostomo, Luiza, Dasciana, Anayla, Furtado, Tércio, Jammes, Daysiane, pelo grupo.

A todos os professores e funcionários do Departamento de Bioquímica e Biologia Molecular.

Ao Departamento de Química Orgânica e Inorgânica, pelos ensaios espectroscópicos e termoanalíticos.

À Fundação Cearense de Apoio ao Desenvolvimento Científico e Tecnológico (FUNCAP) pela concessão da bolsa de estudo.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), e a Coordenação de Aperfeiçoamento do Pessoal de Ensino Superior (CAPES) pelos auxílios à pesquisa.

E a todos aqueles que, direta ou indiretamente colaboraram na realização e desenvolvimento deste trabalho.

*“Se um dia tiver que escolher entre o mundo e o amor... Lembre-se: se escolher o mundo ficará sem o amor, mas se escolher o amor, com ele conquistará o mundo.”*

Albert Einstein



## RESUMO

---

Neste trabalho objetivou-se à preparação e caracterização físico-química e toxicológica de Filmes Comestíveis não-tóxicos, preparados a partir de galactomanana de endosperma de sementes de *Adenantha pavonina* e *Caesalpinia pulcherrima* e colágeno extraído de serosa bovina aditivados com glicerol com o objetivo de prolongar o tempo de prateleira de frutas. Inicialmente testou-se a toxicidade dos polissacarídeos isolados. A galactomanana foi administrada por sonda gástrica durante três meses, a grupos de 10 ratos (5 machos e 5 fêmeas). A variação do peso corpóreo, testes glicêmicos e colesterol total, tanto nos animais machos como nas fêmeas, não apresentaram alterações ou efeitos que indicassem efeito tóxico ou antinutricional, sugerindo que seu uso é viável na utilização de filmes comestíveis para o revestimento de frutos. Em seguida foram estudados os efeitos do glicerol nas propriedades físico-químicas de filmes de Colágeno-Galactomanana. Os filmes foram preparados a partir de solução de Colágeno-Galactomanana de *Adenantha pavonina* na proporção de (1:1), aditivados com glicerol nas concentrações de 1,00, 2,50 e 6,00%, formatados em moldes de acrílico e secos em capela de fluxo laminar. As análises mostraram que o aumento da concentração de glicerol provoca uma diminuição da absorção de umidade, uma vez que, como visto nas análises termogravimétricas os filmes com maior concentração de glicerol (6,00%) são os que perdem mais água na temperatura de 100 °C, indicando uma saturação de umidade dos filmes. A redução das interações intermoleculares entre as cadeias dos biopolímeros por parte do glicerol produz interfaces ativas que aumentam a retenção de água entre as matrizes internas de suas moléculas. O infravermelho por ATR mostrou a manutenção do polissacarídeo nos filmes, e a conservação da integridade estrutural do colágeno com a adição do glicerol. Observou-se que as propriedades desejadas como absorção de umidade é conseguida com filmes aditivados com 1,00% de glicerol. As análises de molhabilidade mostraram que a melhor formulação para manga foi conseguida com 1,5% de colágeno e 0,5% de galactomanana de *C. pulcherrima* com 1,0% de glicerol e 0,5% de polissacarídeo de *A. pavonina* com 1,5% de glicerol, para maçã a melhor formulação foi de 1,5% de colágeno com 0,5% de galactomanana de *C. pulcherrima* e 0,5% de *A. pavonina* com 0% de glicerol. Por Designer Experimental otimizou-se a viscosidade relativa para as misturas ColGal e encontrou-se que a faixa ótima é de 2,0 a 2,2 mg/g para concentração de colágeno e 1,1 a 1,2 mg/mL para galactomanana de *C. pulcherrima* e 1,4 a 1,6 mg/mL para *A. pavonina*. Através desta metodologia observou-se ainda a ocorrência de sinergismo para a viscosidade nas soluções preparadas e que o constituinte que mais contribui para este fenômeno é a galactomanana nas misturas com *A. pavonina*. Estes resultados nos mostram um vasto campo científico de investigações com a utilização de outras técnicas de caracterização para a elucidação da melhor formulação para aplicação destes materiais como recobrimentos comestíveis na conservação de frutas e vegetais.

## LISTA DE FIGURAS

---

<b>FIGURA 1</b>	– Estrutura clássica das galactomananas .....	30
<b>FIGURA 2</b>	– Arranjos possíveis das unidades de galactose (G) na cadeia de manose (M) de galactomananas com proporção M:G de 2,0:1,0 .....	31
<b>FIGURA 3</b>	– Arranjo da hélice tripla do Colágeno .....	36
<b>FIGURA 4</b>	– Estrutura química do colágeno tipo I. (a) Seqüência primária de aminoácidos, (b) Estrutura secundária em hélice e terciária em hélice tripla, (c) Estrutura quaternária .....	37
<b>FIGURA 5</b>	– Esquema da reticulação natural ao longo das fibras de colágeno .....	38
<b>FIGURA 6</b>	– Balança para análise termogravimétrica .....	44
<b>FIGURA 7</b>	– Esquema representativo das tensões interfaciais existentes num sistema trifásico, em que duas fases estão condensadas .....	47
<b>FIGURA 8</b>	– Uma gota de líquido numa superfície .....	48
<b>FIGURA 9</b>	– Possibilidade de conduzir experimentos para 3 variáveis estudadas .....	51
<b>FIGURA 10</b>	– Possibilidade de conduzir experimentos para 2 variáveis estudadas .....	52
<b>FIGURA 11</b>	– Fluxograma de obtenção de galactomanana endospérmica .....	57
<b>FIGURA 12</b>	– Fluxograma de obtenção de colágeno de serosa bovina .....	58
<b>FIGURA 13</b>	– Comportamento do peso corpóreo de ratos machos, submetidos a tratamento com galactomanana de <i>Adenantha pavonina</i> .....	65
<b>FIGURA 14</b>	– Comportamento do peso corpóreo de ratos fêmeas, submetidos a tratamento com galactomanana de <i>Adenantha pavonina</i> .....	66
<b>FIGURA 15</b>	– Comportamento do peso corpóreo de ratos machos, submetidos a tratamento com galactomanana de <i>Caesalpinia pulcherrima</i> .....	67
<b>FIGURA 16</b>	– Comportamento do peso corpóreo de ratos fêmeas, submetidos a tratamento com galactomanana de <i>Caesalpinia pulcherrima</i> .....	68
<b>FIGURA 17</b>	– Variação da Glicemia de ratos machos submetidos a tratamento com galactomanana de <i>Adenantha pavonina</i> .....	69
<b>FIGURA 18</b>	– Variação da Glicemia de ratos fêmeas submetidos a tratamento com galactomanana de <i>Adenantha pavonina</i> .....	70
<b>FIGURA 19</b>	– Variação da Glicemia de ratos fêmeas submetidos a tratamento com galactomanana de <i>Caesalpinia pulcherrima</i> .....	70

<b>FIGURA 20</b> – Variação da Glicemia de ratos fêmeas submetidos a tratamento com galactomanana de <i>Caesalpinia pulcherrima</i> .....	71
<b>FIGURA 21</b> – Variação do colesterol total de ratos machos submetidos a tratamento com galactomanana de <i>Adenantha pavonina</i> .....	72
<b>FIGURA 22</b> – Variação do colesterol total de ratos fêmeas submetidos a tratamento com galactomanana de <i>Adenantha pavonina</i> .....	72
<b>FIGURA 23</b> – Variação do colesterol total de ratos machos submetidos a tratamento com galactomanana de <i>Caesalpinia pulcherrima</i> .....	73
<b>FIGURA 24</b> – Variação do colesterol total de ratos fêmeas submetidos a tratamento com galactomanana de <i>Caesalpinia pulcherrima</i> .....	73
<b>FIGURA 25</b> – Espectro de absorção no infravermelho de filmes de ColGal .....	75
<b>FIGURA 26</b> – Espectros de absorção de filmes de ColGal-gli 1,00% .....	76
<b>FIGURA 27</b> – Espectros de absorção de filmes de ColGal-gli 2,50% .....	76
<b>FIGURA 28</b> – Espectros de absorção de filmes de ColGal-gli 6,00% .....	76
<b>FIGURA 29</b> – Termogramas dos filmes de ColGal e ColGal-gli .....	77
<b>FIGURA 30</b> – Curvas de absorção de umidade para filmes de ColGal-gli .....	79
<b>FIGURA 31</b> – Efeito da concentração na viscosidade relativa da solução de Colágeno	80
<b>FIGURA 32</b> – Efeito da concentração na viscosidade relativa da solução de galactomanana de <i>Adenantha pavonina</i> .....	81
<b>FIGURA 33</b> – Efeito da concentração na viscosidade relativa da solução de galactomanana de <i>Caesalpinia pulcherrima</i> .....	82
<b>FIGURA 34</b> – Efeito da concentração na viscosidade relativa das soluções de colágeno e galactomananas de <i>Caesalpinia pulcherrima</i> e <i>Adenantha pavonina</i> .....	83
<b>FIGURA 35</b> – Superfície de resposta para a viscosidade relativa em função da concentração de colágeno e galactomanana de <i>Caesalpinia pulcherrima</i> .....	88
<b>FIGURA 36</b> – Curvas de contorno para a viscosidade relativa em função da concentração de colágeno e galactomanana de <i>Caesalpinia pulcherrima</i> .....	88
<b>FIGURA 37</b> – Superfície de resposta para a viscosidade relativa em função da concentração de colágeno e galactomanana de <i>Adenantha pavonina</i> .....	89
<b>FIGURA 38</b> – Curvas de contorno para a viscosidade relativa em função da concentração de colágeno e galactomanana de <i>Adenantha pavonina</i> .....	90

- FIGURA 39** – Variação da capacidade molhante ( $W_s$ ), do coeficiente de adesão ( $W_a$ ), coeficiente de coesão ( $W_c$ ) dos revestimentos de diferentes proporções de colgal de *C. pulcherrima*, em manga, em função da percentagem de glicerol ..... 91
- FIGURA 40** – Variação da capacidade molhante ( $W_s$ ), do coeficiente de adesão ( $W_a$ ), coeficiente de coesão ( $W_c$ ) dos revestimentos de diferentes proporções de colgal de *A. pavonina* (carol), em manga, em função da percentagem de glicerol ..... 92
- FIGURA 41** – Variação da capacidade molhante ( $W_s$ ), do coeficiente de adesão ( $W_a$ ), coeficiente de coesão ( $W_c$ ) dos revestimentos de diferentes proporções de colgal de *C. pulcherrima*, em maçã, em função da percentagem de glicerol ..... 93
- FIGURA 42** – Variação da capacidade molhante ( $W_s$ ), do coeficiente de adesão ( $W_a$ ), coeficiente de coesão ( $W_c$ ) dos revestimentos de diferentes proporções de colgal de *A. pavonina*, em maçã, em função da percentagem de glicerol ..... 94

## ABREVIATURAS

---

Col .....	Colágeno
ColSol .....	Solução de colágeno
Gal .....	Galactomanana
ColGal .....	Colágeno-Galactomanana
ColGal-gli .....	Colágeno-Galactomanana-Glicerol
GalSol .....	Solução de galactomanana
Man/Gal .....	Manose / Galactose
Td .....	Temperatura de desnaturação
TG .....	Termogravimetria
IV .....	Espectroscopia no infravermelho
W <sub>s</sub> .....	Capacidade molhante
W <sub>a</sub> .....	Coefficiente de adesão
W <sub>c</sub> .....	Coefficiente de coesão
DCCR .....	Delineamento Composto Central Rotacional

## LISTA DE TABELAS

---

<b>TABELA 1</b> – Composição típica, em porcentagem, de amidos mais encontrados comercialmente.....	25
<b>TABELA 2</b> – Valores Utilizados no DCCR Para Viscosidade Relativa das Misturas de Colágeno e Galactomanana de <i>Adenantha pavonina</i> .....	84
<b>TABELA 3</b> – Valores Utilizados no DCCR Para Viscosidade Relativa das Misturas de Colágeno e Galactomanana de <i>Caesalpinia pulcherrima</i> .....	84
<b>TABELA 4</b> – Planejamento Fatorial, Valores Codificados e Originais das Variáveis de Estudo (Concentração de Colágeno e Galactomanana de <i>Adenantha pavonina</i> ) e Respostas (Viscosidade Relativa) .....	85
<b>TABELA 5</b> – Planejamento Fatorial, Valores Codificados e Originais das Variáveis de Estudo (Concentração de Colágeno e Galactomanana de <i>Caesalpinia pulcherrima</i> ) e Respostas (Viscosidade Relativa) .....	86
<b>TABELA 6</b> – Coeficientes de Regressão Para a Resposta da Viscosidade Relativa das Misturas Colágeno-Galactomanana de <i>Caesalpinia pulcherrima</i> .....	87
<b>TABELA 7</b> – Coeficientes de Regressão Para a Resposta da Viscosidade Relativa das Misturas Colágeno-Galactomanana de <i>Adenantha pavonina</i> .....	87

## SUMÁRIO

---

<b>RESUMO</b> .....	x
<b>LISTA DE FIGURAS</b> .....	xii
<b>ABREVIATURAS</b> .....	xv
<b>LISTA DE TABELAS</b> .....	xvi
<b>1. INTRODUÇÃO</b> .....	19
1.1. Revestimentos Comestíveis .....	21
1.2. Carboidratos .....	23
1.2.1. Amido .....	24
1.2.2. Carragenana .....	26
1.2.3. Quitosana .....	27
1.2.4. Galactomananas .....	29
1.3. Proteínas .....	33
1.3.1. Gelatina .....	33
1.3.2. Glúten .....	34
1.3.3. Colágeno .....	35
1.4. Blendas ou Misturas de Compostos Filmogênicos .....	39
1.5. Frutos .....	40
1.5.1. Manga .....	40
1.5.2. Maçã .....	42
1.6. Técnicas de Caracterização dos Filmes e Soluções de Revestimento .....	43
1.6.1. Análise Térmica .....	43
1.6.1.1. Termogravimetria (TG) .....	43
1.6.1.2. Instrumentos da Técnica (TG) .....	44
1.6.2. Espectrometria no Infravermelho por Reflectância Total Atenuada (ATR) .....	45
1.6.3. Absorção de Umidade .....	45
1.6.4. Ensaios de Viscosidade (Viscosidade Relativa) .....	46
1.6.5. Capacidade Molhante e Eficiência do Revestimento Comestível .....	46
1.6.6. Metodologia do Planejamento Fatorial .....	49
1.6.6.1. Vantagens do Planejamento Experimental .....	49
<b>2. HIPÓTESE DE TRABALHO</b> .....	53
<b>3. ESTRATÉGIAS EXPERIMENTAIS</b> .....	54
<b>4. PARTE EXPERIMENTAL</b> .....	55
4.1. Materiais e Métodos .....	55
4.1.1. Solventes e Reagentes .....	55
4.1.2. Animais .....	55
4.1.3. Sementes .....	55
4.1.4. Colágeno .....	55
4.1.5. Frutos .....	56
4.2. Métodos de Preparação .....	56
4.2.1. Obtenção do Polissacarídeo .....	56

4.2.1.1. Obtenção do Endosperma das Sementes .....	56
4.2.1.2. Obtenção da Galactomanana em Solução .....	56
4.2.2. Obtenção do Colágeno Solúvel .....	58
4.2.3. Preparação das Películas de Revestimento .....	59
4.2.3.1. Preparação dos Filmes de Colágeno-Galactomanana (ColGal) .....	59
4.3. Ensaio Toxicológicos .....	59
4.3.1. Toxicidade aguda oral (dose simples) .....	59
4.3.2. Toxicidade Subcrônica .....	60
4.4. Análise das Propriedades Físico-Químicas dos Filmes .....	60
4.4.1. Análise Térmica .....	61
4.4.2. Espectrometria no Infravermelho por Reflectância Total Atenuada (ATR) .....	61
4.4.3. Absorção de Umidade .....	61
4.4.4. Ensaio de Viscosidade (Viscosidade Relativa) .....	62
4.4.5. Capacidade Molhante e Eficiência do Revestimento Comestível .....	62
<b>5. RESULTADOS E DISCUSSÃO</b> .....	64
5.1. Toxicidade da galactomanana de sementes de <i>A. Pavonina</i> e <i>C. Pulcherrima</i> .....	64
5.1.1. Toxicidade Aguda (dose simples) .....	64
5.1.2. Toxicidade Subcrônica .....	64
5.1.2.1. Variação do Peso Corpóreo .....	64
5.1.2.2. Níveis Glicêmicos .....	69
5.1.2.3. Colesterol Total .....	71
5.2. Espectros no Infravermelho por ATR .....	74
5.3. Termogravimetria (TG) .....	77
5.4. Absorção de Umidade .....	78
5.5. Ensaio de Viscosidade (Viscosidade Relativa) .....	79
5.5.1. Viscosidade Relativa da Solução de Colágeno .....	79
5.5.2. Viscosidade Relativa da Solução de Galactomanana de <i>A. pavonina</i> .....	80
5.5.3. Viscosidade Relativa da Solução de Galactomanana de <i>C. Pulcherrima</i> .....	81
5.6. Otimização de Viscosidade Relativa das Misturas ColGal .....	83
5.6.1. Valores Utilizados no DCCR Para Misturas ColGal de <i>A. pavonina</i> .....	84
5.6.2. Valores Utilizados no DCCR Para Misturas ColGal de <i>C. pulcherrima</i> .....	84
5.6.3. Planejamento Fatorial Para Misturas ColGal de <i>A. pavonina</i> .....	85
5.6.4. Planejamento Fatorial Para Misturas ColGal de <i>C. pulcherrima</i> .....	86
5.6.5. Coeficientes de Regressão Para Misturas ColGal de <i>C. pulcherrima</i> .....	87
5.6.6. Coeficientes de Regressão Para Misturas ColGal de <i>A. pavonina</i> .....	87
5.7. Capacidade Molhante (Molhabilidade) .....	90
5.7.1. Misturas ColGal de <i>C. pulcherrima</i> Analisadas em Manga .....	91
5.7.2. Misturas ColGal de <i>A. Pavonina</i> Analisadas em Manga .....	92
5.7.3. Misturas ColGal de <i>C. pulcherrima</i> Analisadas em Maçã .....	93
5.7.4. Misturas ColGal de <i>A. Pavonina</i> Analisadas em Maçã .....	94
<b>6. CONCLUSÕES</b> .....	96
<b>7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS</b> .....	98



## 1. INTRODUÇÃO

---

As maiores perdas na qualidade e quantidade de frutos frescos ocorrem entre a colheita e o consumo, estimando-se perdas entre 25 e 80% devido ao apodrecimento. Um dos principais problemas, no transporte, armazenamento e comercialização de frutas e cereais, está na senescência dos mesmos. Este fato, enquanto resulta em um grande desperdício econômico em países desenvolvidos, em países tropicais assume proporções devastadoras (WILLS *et al.*, 1981).

Sob condições ideais, a maioria das plantas, incluindo seus frutos, respira aerobicamente. A respiração aeróbica envolve a quebra de moléculas de carboidratos obtidos durante a fotossíntese. Durante o processo respiratório normal, a planta usa oxigênio da atmosfera como um aceptor de elétrons no processo de fosforilação e libera CO<sub>2</sub> (ASSIS, 2003).

Quando o fruto é colhido, há uma interrupção no balanço gasoso, ocorrendo um alto influxo do oxigênio com perda proporcional de CO<sub>2</sub>. Nesta nova condição (alta concentração de O<sub>2</sub> com baixa de CO<sub>2</sub>) as células internas não são renovadas e a respiração aumenta o que provoca uma perda metabólica levando o fruto a um gradual amadurecimento e eventual senescência.

A modificação da atmosfera ambiente no armazenamento de produtos agrícolas, com a redução no conteúdo de O<sub>2</sub> e aumento de CO<sub>2</sub>, resulta em diminuição da taxa respiratória e prolongamento da vida útil desses produtos.

Têm sido desenvolvidas, com sucesso, várias técnicas que permitem o alargamento do tempo de prateleira de frutos frescos, técnicas estas que se baseiam em um melhor conhecimento do processo respiratório. O controle e a modificação da atmosfera durante o armazenamento têm sido utilizados na preservação dos frutos, verificando-se uma redução das alterações qualitativas e das perdas durante esta etapa.

As técnicas mais utilizadas na modificação da atmosfera de armazenamento de frutos são o envolvimento com filmes plásticos, acondicionamento em embalagens ou cobertura por películas. As películas funcionam como barreiras semipermeáveis capazes de assegurar a qualidade do alimento além de serem biodegradáveis, oferecendo embalagens alternativas sem causar danos ambientais. A atmosfera modificada, criada pelo revestimento,

gera um aprisionamento físico de CO<sub>2</sub>, dentro do fruto e uma parcial ocupação dos poros, reduzindo, desta forma, a troca gasosa, ou seja, reduzindo a taxa de respiração. Se a permeação de oxigênio (O<sub>2</sub>) para o seu interior é reduzida, ocorre uma prolongação do tempo de maturação (ASSIS, 2003).

O uso de ceras como a de carnaúba, ou de emulsões de ceras como cobertura superficial reduz a perda de umidade e retarda o enrugamento, bem como proporciona uma aparência lustrosa, o que é muito apreciado pelo consumidor. As ceras usadas comercialmente são, em geral, formulações contendo misturas de ceras derivadas do petróleo ou de vegetais. Seu emprego em frutas que são consumidas após a retirada das cascas, isto não causa maiores problemas, no entanto, quando as frutas são consumidas *in natura*, o sabor oriundo do revestimento inibe seu uso. Além das barreiras eficientes, as películas devem ser compatíveis com o alimento em suas características organolépticas e funcionais.

Os revestimentos comestíveis em frutos frescos surgem como uma alternativa ao armazenamento por atmosfera modificada (PARK, 1999). O emprego de revestimentos e coberturas comestíveis, produzidos a partir de polissacarídeos (não tóxicos) de origem vegetal, é visto, como uma alternativa para aumentar a vida de prateleira desses alimentos, protegendo-os dos efeitos da umidade e do oxigênio e retardando, assim, a sua deterioração, sem introduzir materiais de sabor desagradável e/ou prejudiciais à saúde.

Usar revestimentos e coberturas em frutas e vegetais com o objetivo de aumentar seu período de preservação não consistem em prática recente. Segundo Hardenburg (1967), emulsões derivadas de óleos minerais têm sido empregadas desde o século XIII na China, na conservação de frutos cítricos e em outros produtos que eram transportados por longas distâncias por via marítima. Na década de 1950, a cera de carnaúba foi introduzida para esse fim, mas, devido à sua aparência fosca resultante de sua aplicação, foram misturados com polietileno e parafina. Nos anos de 1960, ceras e vernizes processados a partir de gomas solúveis em água se tornaram populares no revestimento de frutas em geral. As coberturas denominadas comestíveis como hoje conhecemos são mais recentes, e datam das décadas de 1980 e 1990, quando os produtores tiveram um maior interesse, devido à expansão da oferta de produtos processados. A indústria dos chamados alimentos minimamente processados foi inicialmente desenvolvida para suprir restaurantes, hotéis e instituições similares. Nas últimas décadas, contudo, em função das conveniências da vida moderna, os produtos processados experimentaram uma significativa expansão, com oferta de opções no varejo e facilidade de escolha para o consumo direto (ASSIS, 2003).

As mudanças nos padrões nutricionais e os benefícios creditados a uma alimentação saudável formaram a grande força impulsionadora desses produtos e têm refletido, desde então, em âmbito mundial, uma atenção para as pesquisas de novos materiais com propriedades bactericidas naturais e conservantes que possam ser convenientemente empregados em alimentos (WILEY, 1997).

De acordo com Clemente (1999), frutas e vegetais minimamente processados foram introduzidos no Brasil no início da década de 1990, em São Paulo. Estima-se hoje um crescimento na taxa de, pelo menos 20% ao ano, tendo movimentado, em 1998, cerca de R\$ 450 milhões, só no mercado nacional de vegetais minimamente processados (FARES; NANTES, 2001).

### **1.1. Revestimentos Comestíveis**

Revestimento comestível é definido como uma fina camada de material comestível, depositada em um alimento como revestimento, que vem sendo utilizado para estender a vida pós-colheita de vegetais. Sua finalidade é inibir ou reduzir a migração de umidade, oxigênio, dióxido de carbono, aromas, dentre outros, pois promovem barreiras semipermeáveis. Além disso, podem transportar ingredientes alimentícios como antioxidantes, antimicrobianos e flavorizantes e/ou melhorar a integridade mecânica ou as características de manuseio do alimento (KROCHTA; MULDER-JOHNSTON, 1997).

As películas e os revestimentos comestíveis se inserem numa categoria única de materiais para embalagem, diferindo dos outros pelo simples fato de serem comestíveis. As películas e os revestimentos diferem entre si no modo de preparação e aplicação nos alimentos. Os revestimentos comestíveis são aplicados e formados diretamente no alimento, quer pela adição de uma solução formadora de filmes ou de compostos fundidos. Podem ser adicionados por aspersão, imersão, fluidização ou por aplicação com um pincel (CUQ *et al.*, 1995). Os revestimentos comestíveis integram o produto alimentar final, e, portanto não deverão ter impacto nas características sensoriais do alimento (GUILBERT *et al.*, 1997). As películas comestíveis, por outro lado, são estruturas independentes que são posteriormente aplicadas nos alimentos.

A aplicação de revestimentos protetores comestíveis para prolongar o tempo de prateleira dos alimentos não é nova. O revestimento de laranjas e limões, com cera, para

evitar a desidratação já era praticado nos séculos XII e XIII pelos chineses (HARDENBURG, 1967). Muito embora estes revestimentos abrandassem a perda de água também inibiam a troca de gases, naturais da respiração, provocando a fermentação do fruto.

Estes revestimentos podem consistir em três materiais básicos: polissacarídeos (gomas, celulose, amido, alginatos, carragenanas, pectinas), proteínas (colágeno, gelatina, zeína, proteína de soja, glúten e proteína do soro de leite) e lipídeos (BALDWIN *et al.*, 1995, KROCHTA; MULDER-JOHNSTON, 1997).

A escolha e constituição dos materiais empregados para formar a película comestível dependem de parâmetros como custo, disponibilidade, propriedades mecânicas eficientes (resistência e flexibilidade), propriedades ópticas (cor e opacidade), espessura, permeabilidade ao vapor de água e de gases como O<sub>2</sub> e CO<sub>2</sub>, solubilidade em água e propriedades sensoriais. Essas propriedades dependem do biopolímero usado (conformação, peso molecular, distribuição de cargas, polaridade), das condições de fabricação (pH, concentração de proteínas, tratamento térmico da solução, tipo e teor de aditivos, como os plastificantes) e das condições ambientais (temperatura e umidade relativa), que são importantes devido à natureza higroscópica dos biopolímeros e do plastificante usado (MAHMOUD; SAVELLO, 1992, CUQ *et al.*, 1996).

O uso de plastificantes, geralmente polióis, que reduzem as interações intermoleculares entre cadeias adjacentes do biopolímero, resultando no aumento da mobilidade dessas cadeias e, conseqüentemente, em materiais flexíveis é essencial na elaboração de películas comestíveis (GONTARD, *et al.*, 1993; CUQ, *et al.*, 1997). A diminuição da força e o aumento da deformação na ruptura com o aumento do plastificante são comportamentos típicos desses tipos de filmes (GONTARD, 1991; CUQ *et al.*, 1995; PARRIS *et al.*, 1995). A presença de plastificantes diminui a intensidade das interações proteína-proteína aumentando a mobilidade das cadeias polipeptídicas e tornando os filmes menos resistentes e mais deformáveis (CUQ, 1996a, 1996b).

A produção de revestimentos comestíveis pode fazer-se por um dos seguintes mecanismos (KESTER; FENNEMA, 1986):

- Coacervação simples: quando um hidrocolóide, disperso em água, é precipitado ou sofre uma mudança de fase após a evaporação do solvente (secagem), ou depois da adição de um não-eletrólito hidrossolúvel no qual o hidrocolóide é insolúvel (ex.

etanol), ou após um ajuste de pH ou adição de um eletrólito que induza o *salting-out* ou a formação de ligações cruzadas.

- Coacervação complexa: quando duas soluções de hidrocolóides com cargas opostas são misturadas, causando a interação e precipitação do complexo polimérico.
- Gelificação ou coagulação térmica: quando o aquecimento da macromolécula, que provoca a desnaturação, é seguido por gelificação (ex. proteínas) ou precipitação, ou quando o arrefecimento de uma dispersão de hidrocolóide provoca a gelificação (ex. gelatina ou agar).

## 1.2. Carboidratos

Os carboidratos são poliidroxialdeídos ou poliidroxicetonas, ou substâncias que liberam esses compostos por hidrólise. Compreendem as biomoléculas mais abundantes na face da terra. Cada ano a fotossíntese realizada pelas plantas e pelas algas converte mais de 100 bilhões de toneladas de CO<sub>2</sub> e H<sub>2</sub>O em celulose e outros produtos vegetais. Certos carboidratos (açúcar comum e amido) são as bases da nutrição humana na maioria das partes do mundo e a oxidação dos carboidratos é a principal via metabólica liberadora de energia em muitas células não-fotossintéticas. Os carboidratos desempenham diferentes funções, como estrutural, reserva ou proteção (LEHNINGER *et al.*, 2005). Estão envolvidos em processos biológicos tais como infecção, em certas patologias, na imunológica do sangue, no reconhecimento e adesão celular, como receptores ou sinalizadores (DWEK, 1996). A função biológica destas moléculas bem como suas propriedades físico-químicas são determinadas pela estrutura primária, ou seja, a seqüência de monossacarídeos que compõe um oligossacarídeo ou polissacarídeo, configuração e posição das ligações glicosídicas e tamanho e configuração do anel. É fundamental também sua estrutura conformacional (BRANT, 1980).

Existem, segundo o seu tamanho, três classes principais de carboidratos: monossacarídeos, oligossacarídeos e polissacarídeos (a palavra “sacarídeo” é derivada do grego *sakkharon* e significa “açúcar”). Os **monossacarídeos** consistem de uma única unidade de poliidroxialdeído ou poliidroxicetona. O monossacarídeo mais abundante da natureza é a D-glucose. Os **oligossacarídeos** consistem de cadeias curtas de unidades monossacarídicas unidas entre si por ligações glicosídicas características. Típica desta classe é a sacarose, ou

açúcar de cana, a qual consiste de dois açúcares, D-glucose e D-frutose, cada um com seis átomos de carbono, unidos covalentemente entre si. Os **polissacarídeos** consistem de longas cadeias contendo centenas ou milhares de unidades monossacarídicas. Os polissacarídeos mais abundantes são amido e celulose, sintetizados pelos vegetais, consistem de unidades recorrentes de D-glucose, mas que diferem entre si no tipo de ligação glicosídica (LEHNINGER *et al.*, 2005). São também muito importantes as hemiceluloses, componentes da parede celular das plantas que além de função estrutural podem também desempenhar um papel de proteção contra o estresse hídrico.

### 1.2.1. Amido

Amido é uma matéria-prima existente em grande quantidade, com baixo custo, e de fácil manuseio apresentando-se por isso como uma alternativa na preparação de revestimentos comestíveis.

O amido consiste em grânulos que diferem bastante no seu tamanho e forma, dependendo do vegetal de onde é obtido. Na célula vegetal, o amido é armazenado em partículas sub-celulares denominadas de grãos de amido. O grão de amido consiste em duas estruturas poliméricas de glucose, amilose e amilopectina, contendo ainda, água, lipídeos, proteínas e íons minerais (DZIEDZIC; KEARSLEY, 1995).

O conteúdo em amilose varia de 14 a 27%, dependendo da espécie vegetal considerada, sendo também possível encontrar dentro da mesma espécie, dependendo da variedade, relações amilose/amilopectina diferentes. A amilose é responsável pela capacidade de formação de revestimentos dos amidos. A amilose é uma cadeia linear de unidades de glucose, unidas por ligações glicosídicas  $\alpha$ -(1→4), apresentando uma estrutura conformacional em hélice podendo, no entanto, estar presentes algumas ramificações em quantidades muito pequenas (DZIEDZIC; KEARSLEY, 1995).

A Tabela 1 apresenta uma análise geral dos amidos mais comuns.

**TABELA 1** – Composição típica, em percentagem, de amidos mais encontrados comercialmente (DZIEDZIC; KEARSLEY, 1995).

Amido	Umidade	Lipídio	Proteína	Cinzas	Amilose	Amilopectina
Milho	13	0,70	0,15	0,12	23,23	62,80
Batata	19	0,08	0,06	0,10	16,96	63,80
Trigo	14	0,80	0,30	0,15	22,88	61,87
Tapioca	13	0,20	0,20	0,20	12,10	74,30

A amilopectina, pelo contrário, tem um elevado teor de ramificações (DZIEDZIC; KEARSLEY, 1995).

As películas desenvolvidas a partir de amilose são descritas como isotrópicas, inodoras, sem sabor, sem cor, não tóxicas e absorvidas biologicamente. Exibem características físicas, resistência química e propriedades mecânicas similares às das películas plásticas (WOLFF *et al.*, 1951).

Processos de produção de revestimentos e películas de amido com elevado teor em amilose foram desenvolvidos (MARK *et al.*, 1966). Estes filmes apresentam baixa permeabilidade ao oxigênio, em um intervalo de temperaturas de 5 a 25 °C e valores de umidade relativa que podem ir até 100%. Foi verificado que a adição de plastificantes aumenta a mobilidade da cadeia polimérica e a permeabilidade gasosa (BANKER, 1966). O revestimento à base de amilose, quando aplicado a batatas e produtos delas derivados, melhora a aparência, textura, sabor e estabilidade (MURRAY *et al.*, 1971).

É possível induzir a reação dos grupos hidroxila do amido produzindo ésteres, tais como os acetatos e fosfatos, e éteres, tal como o derivado de éter hidroxipropila. Têm sido produzidos filmes solúveis em água de amido de milho com um teor de 1,1% em amilose hidroxipropilada, e com um conteúdo aparente em amilose de 71% (ROTH; MEHLTRETTER, 1967). Este derivado hidroxipropila pode ser combinado com outros ingredientes de forma a melhorar a sua flexibilidade e ajustar a taxa de arrefecimento e/ou secagem, entre outros efeitos (JOKAY *et al.*, 1967).

Murray e Luft (1973) relataram que, em comparação com as amostras sem revestimento a base de amido, os pedaços de maçã com revestimento a base de amido apresentavam melhor textura, sabor e cor.

Martino *et al.* (1998) apresentaram um estudo relativo ao efeito que um revestimento à base de amido teria na qualidade de morangos. Neste estudo foram testados diferentes tipos de amido (classificados de acordo com o seu teor em amilose) e diferentes concentrações de glicerol (0 a 20 g/L). Verificou-se que as aplicações destes revestimentos à base de amido prolongaram o tempo de prateleira dos morangos, mantendo-se a firmeza do fruto durante 12 dias. A adição de glicerol demonstrou ser necessária para a manutenção da integridade do revestimento bem como para a melhoria do seu desempenho; a concentração ótima encontrada foi de 20 g/L. Obtiveram-se as menores perdas de peso (por evaporação de água) e a manutenção da firmeza do fruto para o amido com conteúdo elevado em amilose (65%, m/v). Foram estudados dois agentes plastificantes, o glicerol e o sorbitol, a adição de óleo de girassol e de agentes antimicrobianos. Estes investigadores concluíram que o sorbitol apresentava menor permeabilidade ao vapor de água, ao dióxido de carbono e ao oxigênio, que a adição de agentes anti-microbianos (ácido cítrico e sorbato de potássio) diminuía o número de infecções e que o óleo de girassol reduzia a permeabilidade ao vapor, controlando-se assim a perda de peso.

### 1.2.2. Carragenana

A carragenana é extraída de várias espécies de algas vermelhas, entre elas a extraída de *Hypnea mulciformis*. A carragenana é uma mistura complexa de vários polissacarídeos. As frações de carragenana dominantes são kappa ( $\kappa$ ), iota ( $\iota$ ) e lambda ( $\lambda$ ), estas frações diferem entre si no éster sulfato e no conteúdo em 3,6-anidro- $\alpha$ -D-galactose (MORRIS *et al.*, 1980). As variações destes componentes influenciam a hidratação, a força do gel e a sua textura, a temperatura de fusão e de gelificação, a sinerese e as sinergias com outros compostos.

A  $\kappa$ -carragenana contem o menor número de grupos sulfato e a maior quantidade de unidades de 3,6-anidro- $\alpha$ -D-galactose. A gelificação do  $\iota$ - e da  $\kappa$ -carragenana ocorre tanto com íons monovalentes como com íons divalentes. Em geral, os cátions  $K^+$ ,  $Rb^+$  e  $Cs^+$  favorecem a gelificação, enquanto que os cátions  $Li^+$  e  $Na^+$  são menos eficazes na promoção



da gelificação. Enquanto que a  $\kappa$ -carragenana é sensível ao potássio, a  $\iota$ -carragenana é sensível ao cálcio (NISPEROS-CARRIEDO, 1994), sensibilidade esta traduzida pela formação de um gel.

A  $\lambda$ -carragenana não gelifica; mas pode ser, no entanto adicionada a outras carragenanas para reduzir a fragilidade e diminuir a tendência para a sinerese. As carragenanas disponíveis comercialmente são, normalmente, misturas dos três tipos de frações atrás referidas.

É importante conhecer o conteúdo iônico do sistema em que se quer utilizar a carragenana. Por exemplo, o potássio e o cálcio são essenciais para a gelificação ao mesmo tempo em que aumentam a temperatura de fusão e a de gelificação. Todas as carragenanas são solúveis em água quente. Os sais de sódio da carragenana  $\iota$  e  $\kappa$  são solúveis em água fria.

Filmes deste polissacarídeo são incolores, e com boa resistência à força de tração, podendo a sua flexibilidade ser otimizada com a adição de um plastificante.

O revestimento de queijos com filmes sintéticos, como método de regulação da umidade e de proteção contra contaminação por microrganismos, é um método já bem conhecido de todos. Existem vários queijos no mercado que, para evitar a perda de umidade, são envoltos em filme ou em cera. O estudo efetuado por Nussinovitch e Kampf (2003) nesta área apresenta alternativas aos filmes sintéticos. Estes investigadores estudaram as propriedades mecânicas e físicas de queijos revestidos com soluções de carragenana, alginato e goma gelana. Todos os revestimentos reduziram a perda de peso do queijo (devido à desidratação), sendo o revestimento com carragenana o mais vantajoso. Estas coberturas contribuíram também para uma menor redução do pH, obtendo-se assim um queijo com melhor qualidade. Os queijos revestidos apresentaram uma textura mais macia do que os não revestidos.

### 1.2.3. Quitosana

A quitosana (poli- $\beta$ -1,4-glucosamina) é preparada comercialmente pela desacetilação da quitina, que é um dos polímeros naturais mais abundantes em organismos vivos, tais como crustáceos, insetos e fungos.

Devido à sua capacidade para formar revestimentos semipermeáveis, espera-se que a quitosana possa modificar a atmosfera interna e reduzir as perdas por transpiração minimizando a senescência dos frutos. A preparação de revestimentos de quitosana tem sido citada por vários autores (KESTER; FENEMA, 1986; LABUZA; BREENE, 1989; KITTUR; THARANATHAN, 2003).

Os revestimentos de quitosana são fortes, de longa duração, flexíveis e difíceis de rasgar tendo ainda a vantagem de serem comestíveis (KITTUR; THARANATHAN, 2003). As propriedades mecânicas do revestimento de quitosana são comparáveis às de muitos revestimentos poliméricos existentes no mercado.

Assis *et al.* (2003), Campana-Filho; Desbriè (2000), Shahidi *et al.* (1999), Coma *et al.* (2002), No *et al.* (2002), Feng *et al.* (1994), Jung *et al.* (1999) referiram que a quitosana inibe o crescimento microbiano.

A inibição do crescimento microbiano é atribuída à ação das enzimas quitonolíticas, como a quitinase, que degradam as paredes celulares dos fungos e provocam extração de agentes antimicrobianos como a fitoalexina e a pisatina (HIRANO; NAGAO, 1989; COMA *et al.* 2002).

Mauch *et al.* (1984) mostraram que a quitosana induz a produção da quitinase. A concentração mínima de quitosana que inibe o crescimento bacteriano varia de cultura para cultura. Essas variações devem-se, provavelmente, às diferenças entre o grau de polimerização e o grau de acetilação (percentagem de grupos acetil na cadeia) da quitosana, sendo que a quitosana com um baixo grau de polimerização e um grau de acetilação de 7,5% é mais eficaz (KITTUR; THARANATHAN, 2003).

Têm-se desenvolvido vários estudos no âmbito da preservação de frutos e vegetais utilizando revestimentos de quitosana, tendo-se obtido uma redução significativa na contaminação por microrganismos. Alguns dos frutos estudados são:

- Morango (EL GHAOUTH *et al.*, 1991; ZHANG ; QUANTICK, 1998; ROMANAZZI *et al.*, 2000)
- Maçã (DU *et al.*, 1998)
- Lichia (ZHANG; QUANTICK, 1997)
- Uva (ROMANAZZI *et al.*, 2002)

O efeito antifúngico da quitosana em morangos foi testado *in vitro* e *in vivo*, tendo-se demonstrado que revestimentos de quitosana com um conteúdo de 7,5% de  $-NH_2$  reduzem radialmente o crescimento de *Botrytis cinerea* e *Rhizopus stolonifer* (EL GHAOUTH *et al.*, 1992). Em 2000, Arul e colaboradores testaram o efeito de um spray de quitosana na pré-colheita do morango. Foram testadas concentrações de quitosana de 2, 4 e 6 g/L tendo-se verificado que frutos pré-tratados duas vezes (com um intervalo de 10 dias) com uma solução de 6 g/L e armazenados a 3 °C mantiveram a sua qualidade durante quatro semanas.

El Ghaouth *et al.* (1991) apresentaram um estudo relativo ao efeito que um revestimento com quitosana teria em morangos frescos. O revestimento era composto por 1 a 1,5% (m/v) de quitosana, 2,5% (v/v) de HCl (10 mol/L) e 0,1% (v/v) de Tween 80. Os frutos revestidos com quitosana, armazenados a 4 °C apresentavam-se mais firmes e com maior teor em ácidos tituláveis. Verificou-se também que a diferença na firmeza e no número de frutos infectados não era significativa para as duas concentrações de quitosana estudadas.

Um estudo muito similar ao anterior foi efetuado por Zhang e Quantick (1998), tendo-se testado também o efeito de um revestimento à base de quitosana em morangos e framboesas. O estudo efetuado consistiu na imersão, durante 1 minuto, destes frutos numa solução com 1 ou 2% (m/v) de quitosana, 0,1% (m/v) de Tween 80 e 2% (m/v) de ácido glutâmico. Este grupo de investigadores verificou que o revestimento com quitosana teve um efeito positivo na firmeza, no teor em ácido titulável, no conteúdo em vitamina C e no conteúdo em antocianinas quer nos morangos quer nas framboesas, armazenados a 4 °C. No entanto, o aumento da concentração de quitosana não resultou num aumento significativo dos parâmetros atrás referidos. Verificou-se também um aumento da atividade da quitinase e da  $\beta$ -1,3-glucanase, sendo possível que o mecanismo de defesa do próprio fruto tenha sido reforçado, resultado de acordo com MAUCH *et al.* (1984).

#### **1.2.4. Galactomananas**

As galactomananas são polissacarídeos de reserva presentes em endospermas de sementes principalmente de leguminosas. A sua função na planta também está relacionada com a retenção e regulação de água durante a germinação além de defesa contra predadores (SCHERBURKHIN; ANULOV, 1999).

A maioria dos estudos desenvolvidos com galactomananas visa principalmente o interesse comercial que envolve estes polissacarídeos, com aplicações nas diferentes áreas da indústria. Estas aplicações são decorrentes das propriedades reológicas das soluções aquosas, formando soluções de alta viscosidade em baixas concentrações. As galactomananas são amplamente utilizadas como agentes espessantes, estabilizantes, gelificantes, encapsuladores, em uma variedade de aplicações industriais. Por não serem digeríveis, podem ainda ser usadas para aumentar o teor de fibras em alimentos (KABIR *et al.*, 1999).

As galactomananas são constituídas em geral, de cadeias lineares de D-manose unidas por ligações glicosídicas  $\beta$ -(1-4), com substituições de galactose ligadas a unidades de D-manose da cadeia linear através de ligações glicosídicas  $\alpha$ -(1-6) (DEA; MORRISON, 1975) (Figura 1).

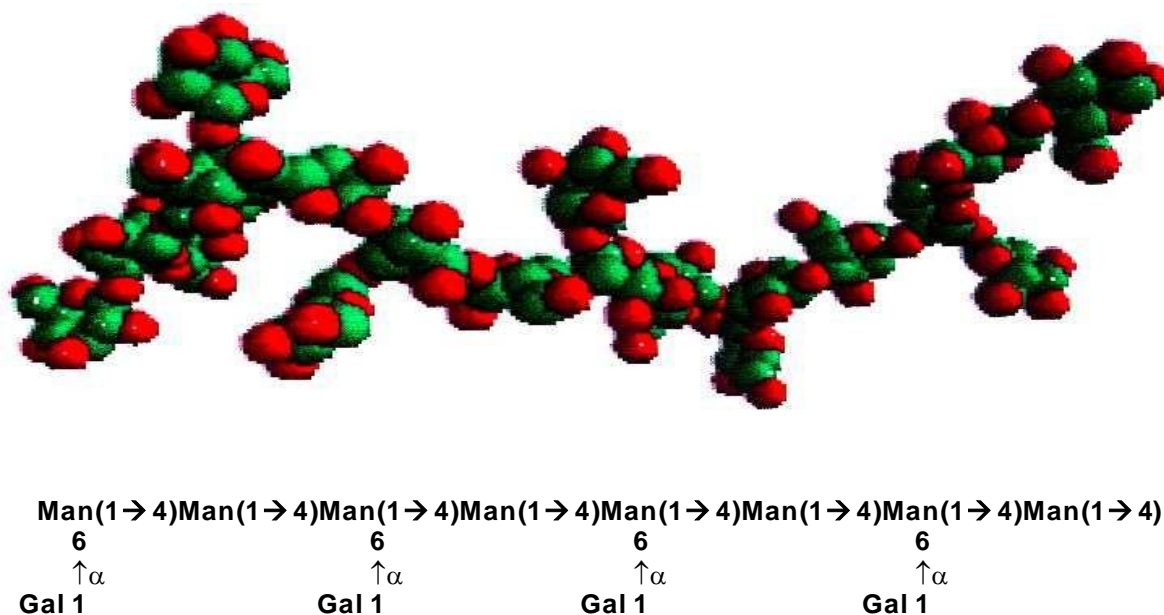


FIGURA 1 – Estrutura clássica das galactomananas.

As propriedades físico-químicas e a conformação das galactomananas estão estritamente relacionadas com a relação Man/Gal e a distribuição de galactose ao longo da cadeia principal. A solubilidade em água é afetada pelo grau de substituição de galactose na cadeia principal. A galactomanana de goma de alfarroba (*Ceratonia siliqua*), com razão M/G de 3,5:1 apresenta baixa solubilidade à temperatura ambiente quando comparada com a goma



leguminosas. As leguminosas constituem uma das principais fontes de galactomananas, como têm comprovado as pesquisas que as identificaram em inúmeras espécies desta família. Podem ser também encontradas em algumas espécies das famílias Annonaceae, Convolvulaceae, Ebenaceae, Loganiaceae e Palmae (DEA; MORRISON, 1975; DEY, 1978). Embora muitas galactomananas tenham sido isoladas nos últimos anos, somente as galactomananas de guar e de alfarroba são utilizadas comercialmente. A goma de alfarroba é a mais conhecida e uma das mais antigas gomas extraídas de sementes.

As galactomananas podem também ser encontradas em fontes microbianas, em leveduras e em fungos, assim como a D-manose e a D-galactose são encontradas em outros polissacarídeos de plantas, como glucomananas, mananas e galactanas (MATOS, 2000).

A obtenção de galactomananas que possam substituir em parte ou totalmente as gomas tradicionais pode trazer muitos benefícios econômicos e sociais, levando-se em conta que estes polímeros não possuem nenhum valor agregado no momento.

Segundo Azero (1999), a demanda no Brasil por hidrocolóides e por polímeros biocompatíveis é crescente e, apesar das condições favoráveis à sua produção, as empresas nacionais dependem da importação desses produtos. Dentre os produtos de maior interesse estão as galactomananas e as carragenanas. As galactomananas dão origem a soluções aquosas de viscosidade elevada, mesmo a baixas concentrações (0,5 a 1%) o que as torna comercialmente úteis, principalmente como agentes espessantes. As aplicações das galactomananas são múltiplas e encontram a sua utilização em diversas indústrias alimentícias e farmacêuticas.

A galactomanana de *Adenanthera pavonina* (Carolina) foi empregada como matriz de afinidade para isolamento de lectinas galactose-específicas de sementes de *Artocarpus incisa*, *Vaitarea macrocarpa*, *Abrus precatorius*, *Abrus pulchellus*. Sua estrutura é típica das galactomananas de leguminosas, uma cadeia linear de D-manose com ligações glicosídicas do tipo  $\beta$ -(1-4), e ramificações de galactose ligadas a unidades de D-manose da cadeia principal por ligações glicosídicas  $\alpha$ -(1-6). A proporção M/G para *Adenanthera pavonina* é de 1,8:1 (TAVARES, 1998).

Outras galactomananas, isoladas de sementes de *Caesalpinia pulcherrima* (BRAGA, 2002), *Sophora japonica*, *Delonix regia*, *Schizolobium parahybae* (MATOS, 2000), *Parkinsonia aculeata* (GARROS-ROSA, 2000), também se mostraram capazes de se ligar a

lectinas  $\alpha$ -D-galactose ligantes e servirem de matrizes para isolamento das mesmas. A proporção M/G para *Caesalpinia pulcherrima* é de 2,8:1 (AZERO, 1999).

### 1.3. Proteínas

Pesquisas com proteínas obtidas de fontes renováveis para a produção de revestimentos de alimentos têm se intensificado nas últimas décadas (HERNÁNDEZ-MUÑOZ *et al.*, 2004). Uma característica das proteínas, explorada há muito tempo, é a habilidade de formar uma matriz contínua. Por essa razão, muitas proteínas de origem animal e vegetal estão sendo amplamente utilizadas na tecnologia de produção de filmes comestíveis (GENNADIOS *et al.*, 1994; TORRES, 1994; VANIN *et al.*, 2005).

As proteínas compreendem interessantes biomateriais porque possuem uma estrutura específica composta de vinte diferentes aminoácidos que confere as mesmas amplas propriedades funcionais e formadoras de filmes (CUQ *et al.*, 1995). Essas macromoléculas juntamente com os carboidratos se colocam como potenciais substituintes dos derivados do petróleo utilizados na fabricação industrial de embalagens de alimentos. Filmes baseados em proteínas, em geral, se apresentam como excelentes barreiras de trocas gasosas, com boa permeabilidade seletiva e baixa umidade relativa (GONTARD *et al.*, 1996). Inúmeras proteínas de alto peso molecular têm sido utilizadas na produção de biofilmes, tais como gelatina, colágeno, proteínas miofibrilares, glúten, proteína do soro de leite (whey protein), proteína de milho (zeína) entre outras.

#### 1.3.1. Gelatina

A gelatina foi uma das primeiras matérias-primas empregadas na produção de biomateriais (GENNADIOS *et al.*, 1994) e também foi submetida a várias patentes, sobretudo na área farmacêutica (TORRES, 1994). Trata-se de uma abundante matéria-prima, com produção mundial, de baixo custo e com boas propriedades de formação de filmes. Por essa razão, a gelatina continua a ser amplamente utilizada em estudos sobre filmes comestíveis. Aspectos relacionados à estrutura da gelatina e suas propriedades funcionais foram recentemente revisados (ARVANITOYANNIS, 2002).

A gelatina, um derivado solúvel do colágeno, é obtida por meio de tratamento ácido ou alcalino a fim de clivar um número suficiente de ligações cruzadas do colágeno. A remoção parcial de grupos amida resulta num aumento de grupos carboxila na molécula de gelatina, baixando seu ponto isoelétrico (ARVANITTOYANNIS *et al.*, 1998).

Da mesma forma que o colágeno, as cadeias de gelatina são macromoléculas com tendência principalmente intercadeia invés de interagir intracadeia e ligações de hidrogênio (ARVANITTOYANNIS, 2002). Ela forma uma rede tridimensional com zonas de junções micro-cristalinas intermoleculares e a desidratação deste sistema podem resultar em filmes quebradiços. Com a intenção de melhorar a flexibilidade, agentes plastificantes são adicionados para reduzir as interações intercadeia (TORRES, 1994).

Filmes produzidos com gelatina já foram bem caracterizados quanto aos diversos aspectos. Carvalho *et al.* (1997a) estudaram as propriedades mecânicas em função do pH e das concentrações de gelatina e sorbitol na solução filmogênica. Carvalho *et al.* (1997b) e Menegalli *et al.* (1999) estudaram a secagem de filmes de gelatina plastificados com sorbitol, com ênfase no efeito das condições de secagem sobre a qualidade do filme formado. Sobral (1999) estudou a influência da espessura do filme sobre as propriedades mecânicas, permeabilidade ao vapor de água e coloração do filme formado. Recentemente, Vanin *et al.* (2005) analisaram o efeito de quatro plastificantes polióis (glicerol, propilenoglicol, dietilenoglicol e etilenoglicol) sobre as propriedades funcionais de filmes de gelatina.

### 1.3.2. Glúten

O glúten é um polímero renovável e biodegradável derivado de uma espécie agrônômica importante, o trigo. Ele possui boas propriedades formadoras de filmes e, similarmente a outros filmes de natureza protéica, funciona como barreira para as trocas de oxigênio e gás carbônico, além de apresentar baixa umidade e permeabilidade seletiva a outros gases (GONTARD *et al.*, 1996).

Cabe aqui destacar que filmes formados por proteínas de diferentes fontes como a soja (GENNADIOS *et al.*, 1996; KIM *et al.*, 2002), o leite (MILLER *et al.*, 1997) e glúten de trigo (ALI *et al.*, 1997; ROY *et al.*, 1999) sofrem modificações substanciais através de tratamento térmico controlado. Essas proteínas, como por exemplo, o glúten contém grupos



sulfidril e quando submetidas a aquecimento controlado formam ligações cruzadas através de reações de troca sulfidril-disulfeto (JENSEN, 1959).

O glúten é constituído basicamente de dois tipos de proteínas insolúveis em água, as gliadinas que constituem proteínas de baixo peso molecular e as glutelinas que possuem alto peso molecular. Gliadinas compreendem proteínas monoméricas únicas nas quais as pontes dissulfeto são intra-cadeia ou são ausentes ( $\omega$ -gliadinas), enquanto que as gluteninas formam polímeros de alto peso molecular estabilizados por pontes dissulfeto inter-cadeia (LASZTITY, 1986). Filmes daquelas duas frações foram produzidos e suas propriedades foram estudadas (HERNÁNDEZ-MUÑOZ; HERNÁNDEZ, 2001). Os filmes resultantes das gluteninas são mais fortes e funcionam melhor como barreira que filmes de gliadinas ou glúten inteiro. Filmes de gliadina mostram melhores propriedades ópticas, contudo não são resistentes a água. As propriedades daqueles tipos de filmes podem ser sensíveis a tratamentos térmicos, que poderiam resultar em propriedades de filmes melhoradas. Hernández-Muñoz *et al.* (2004) estudando filmes produzidos a partir das frações de glutelinas e gliadinas de glúten de trigo comercial, concluíram que o tratamento térmico pode efetivamente otimizar o uso e as aplicações daqueles filmes.

### 1.3.3. Colágeno

O colágeno, uma proteína fibrosa, é o principal constituinte do tecido conjuntivo dos mamíferos, tendo a função de manter a integridade estrutural do tecido e conferir resistência mecânica (BORNSTEIN, *et al.*, 1979). Está amplamente distribuído, formando os tendões, pele e ossos. Entre as proteínas o colágeno é singular devido a sua composição em aminoácidos, pois é a única proteína de mamíferos contendo grandes quantidades de hidroxiprolina, glicina e prolina.

A unidade molecular básica do colágeno, chamada de tropocolágeno, consiste de três cadeias polipeptídicas, denominadas  $\alpha$ , entrelaçadas, em sua maior parte, na conformação de uma longa hélice tripla, de 300 nm de comprimento e 1,5 nm de diâmetro (Figura 3).

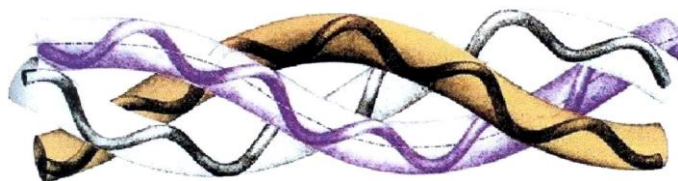


FIGURA 3 – Arranjo da hélice tripla do Colágeno (VOET, 1990).

A composição em aminoácidos do colágeno é única em relação às outras proteínas, com teores em glicina, prolina e hidroxiprolina correspondendo a 33, 12 e 11% respectivamente. Possui também 0,7% de hidroxilisina. Os aminoácidos polares constituem quase 40% da molécula, dos quais 11% são básicos e 9% ácidos; os outros 17% correspondem a aminoácidos hidroxilados (RAMACHADRAN, 1967).

A estrutura em hélice tripla é possível graças a sua seqüência primária peculiar, na qual o triplete (Gly-X-Y) se repete ao longo das cadeias polipeptídicas, em que X e Y podem ser prolina ou hidroxiprolina respectivamente, e os restantes, cerca de dois terços, estão ocupados por outros aminoácidos que são essenciais para a organização do colágeno em fibras (Figura 4.a).

A ausência de cadeia lateral nos resíduos de glicina (Gly) favorece o enovelamento das cadeias, com estes resíduos se localizando no interior da hélice, onde não há espaço para cadeias laterais. A distância entre cada resíduo de Gly é 8,7 Å (NIMNI, 1988). A separação entre resíduos individuais nas cadeias não permite a formação de ligações de hidrogênio intracadeias, como é o caso das hélices  $\alpha$  nas proteínas globulares, mas apenas ligações de hidrogênio intercadeias. As cadeias  $\alpha$  do tropocolágeno formam ligações de hidrogênio entre si, através dos grupamentos -NH dos resíduos de Gly e grupos carbonílicos de um resíduo de cadeia vizinha. Os grupos hidroxílicos de resíduos de hidroxiprolina e moléculas de água também participam destas ligações, o que contribui para a estabilidade da hélice tripla (BURJANADZE, 1982).

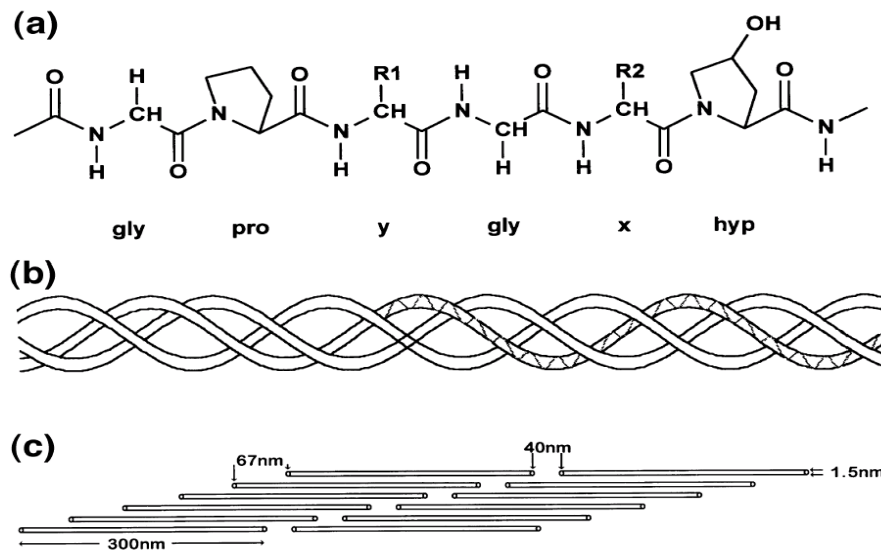


FIGURA 4 – Estrutura química do colágeno tipo I. (a) Sequência primária de aminoácidos, (b) Estrutura secundária em hélice e terciária em hélice tripla, (c) Estrutura quaternária.

As cadeias laterais dos resíduos estão direcionadas para fora da hélice, onde elas podem interagir com cadeias laterais de outras moléculas de tropocolágeno, formando um determinado empacotamento macromolecular. Neste arranjo macromolecular, cada cinco moléculas de tropocolágeno se organizam lado a lado, deslocadas em  $\frac{1}{4}$  de seu comprimento em relação à molécula adjacente, por forças resultantes, principalmente, de interações eletrostáticas e hidrofóbicas, no modelo conhecido como quarto alternado penta-fibrilar (SMITH, 1968 *apud* FIGUEIRÓ, 2002), para formar as microfibrilas, que se agregam formando as fibras que compõem a matriz colagênica dos tecidos. Micrografias eletrônicas de fibrilas de colágeno coradas indicam que as moléculas de tropocolágeno estão separadas por falhas de 40 nm e que as fileiras adjacentes são deslocadas de 67 nm. Como o comprimento do tropocolágeno é 300 nm (Figura 4c) a periodicidade de 67 nm, chamado período D, corresponderá a 234 resíduos (VEIS, 1982).

Durante a maturação das fibras se estabelece no colágeno o processo de reticulação natural entre resíduos das cadeias laterais de lisinas e hidroxilinas, presentes nos telopeptídeos. Estes são convertidos enzimaticamente em derivados aldeídicos, resultando em reticulações por reação com grupos amino, com formação de (RHC=NR') envolvendo diferentes cadeias da estrutura microfibrilar, o que confere estabilidade mecânica e biológica ao tecido. O progressivo decréscimo da solubilidade de tecidos colagenosos coincide com um gradual aumento da reticulação intermolecular (ROBINS; DUCAN, 1983).

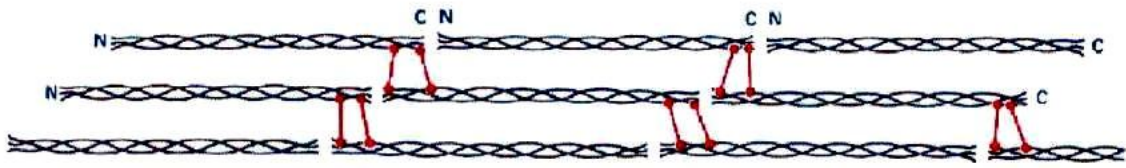


FIGURA 5 – Esquema da reticulação natural ao longo das fibras de colágeno.

Comumente o colágeno é obtido por processo de extração, tendo como matéria-prima tecido conjuntivo de animais jovens. Variando-se o pH e a alta concentração de sais do meio de extração é possível solubilizar o colágeno de matrizes ainda não reticuladas. As moléculas de colágeno formam soluções muito viscosas, estáveis em meio ácido, à baixa força iônica e à temperatura ambiente (MILLER *et al.*, 1982).

Com o aquecimento dessas soluções ocorrem grandes alterações nas propriedades físicas do colágeno devido à destruição da estrutura tridimensional da hélice tripla. Assim, o movimento térmico supera as forças que estabilizam a hélice, conduzindo a uma estrutura desordenada que corresponde à disposição das cadeias  $\alpha$  ao acaso. A transição estrutural ocorre a uma determinada temperatura de desnaturação,  $T_d$ , que pode ser alterada em função do solvente, pH ou pela presença de sais (FIGUEIRÓ, 2002).

Quando é adicionado sal ao colágeno solúvel em meio ácido, ou quando se eleva o pH para faixas próximas ao ponto isoelétrico,  $pI$ , do tropocolágeno, a proteína precipita na forma de fibras, cuja morfologia é similar a das fibras formadas *in vivo*. O processo de formação de estruturas filamentosas pelo arranjo ordenado das moléculas de colágeno é chamado fibrilogênese (PIEZ *et al.*, 1982).

Colágeno solúvel é obtido a partir de tratamento ácido, alcalino ou enzimático de tecidos animais, como pele por exemplo. Os tecidos de colágeno nativo possuem considerável força, entretanto, tal característica é facilmente perdida quando produtos são feitos a partir do colágeno solúvel. Vale destacar que esses produtos podem necessitar de tratamento com agentes químicos tais como o glutaraldeído para formar ligações cruzadas a fim de reter força adequada para determinadas finalidades (CHEUNG *et al.*, 1985).

O colágeno representa uma importante matéria-prima para a produção de filmes comestíveis e coberturas para carnes (GENNADIOS *et al.*, 1997). Tais filmes e coberturas preservam a qualidade dessas carnes quando frescas, congeladas ou processadas. Rice (1994) num estudo com cubos de carne enrolados em filmes comestíveis de colágeno e congelados a

-18 °C por 20 semanas verificou que aqueles não apresentaram diferenças significativas comparados aos controles feitos de cubos de carne enrolados em filmes plásticos em relação à oxidação, coloração, crescimento microbiano e atributos sensoriais.

#### **1.4. Blendas ou Misturas de Componentes Filmogênicos**

Dentre as principais limitações existentes no uso de proteínas para produção de filmes, preponderam a baixa resistência mecânica e a baixa permeabilidade à passagem de vapor de água comparados aos filmes de polímeros de origem sintética. Essa última característica é atribuída a hidrofobicidade oriunda das proteínas e as quantidades significativas de plastificantes como a glicerina e o sorbitol usadas para aumentar a flexibilidade. Entretanto, para filmes de colágeno (LIEBERMAN; GILBERT, 1973), glúten de trigo e zeína (AYDT *et al.*, 1991; GENNADIOS *et al.*, 1993; PARK; CHINNAN, 1995) boas propriedades como barreira ao oxigênio em ambientes com baixa umidade relativa foram relatados.

Uma das alternativas para diminuir essas limitações é o uso de componentes hidrofóbicos tais como lipídeos nas soluções formadoras de filmes (HERNÁNDEZ-MUÑOZ *et al.*, 2004). Outra maneira para melhorar a funcionalidade de filmes produzidos com proteínas seria a modificação da rede do polímero através de ligação cruzada das cadeias poliméricas. Isso pode ser viabilizado por meio de tratamento químico, físico ou enzimático devido à presença de grupos reativos nas cadeias laterais dos aminoácidos constituintes das proteínas. Por exemplo, Marquié *et al.*, (1995) com proteínas de sementes de algodão, Park *et al.*, (2000) com proteína de soja e Orliac *et al.*, (2002) com proteínas de girassol, todos, modificaram as redes do polímero filmogênico através do uso de aldeídos antes da preparação dos filmes com a intenção de melhorar as propriedades funcionais daqueles. Mahmoud & Savello, (1993) (whey protein), Lim *et al.*, (1998, 1999) (com proteína de clara de ovo e gelatina) e Larré *et al.*, (2000) (com glúten desaminado) utilizaram transglutaminase a fim de, enzimaticamente, introduzir ligações cruzadas nos polímeros. Irradiação UV foi utilizada como tratamento físico em proteínas de glúten de trigo, zeína de milho, albumina de ovo e caseinato sódico (RHIM *et al.*, 1999) com o intuito de também introduzir ligações cruzadas nos polímeros formadores de filmes.

Contudo, os compostos formadores de filmes podem interagir físico e/ou quimicamente, resultando em filmes ou coberturas com propriedades melhoradas quando combinados (TANADA-PALMU; GROSSO, 2005). A essas combinações ou misturas de componentes formadores de filmes denominamos blendas. O efeito ocasionado no filme produzido pela formação da blenda é chamado de sinergismo o que não necessariamente reflete a soma das propriedades individuais de cada componente da mistura. Por exemplo, Arvanitoyannis *et al.* (1998) estudaram as propriedades térmicas e funcionais de filmes comestíveis feitos de blendas de gelatina e alguns tipos de amido em função de vários tipos de plastificantes. Bertan *et al.* (2005) analisaram as propriedades micro-estruturais e físicas de filmes baseados em blendas de gelatina, ácidos graxos e triacetina usada como plastificante. Nesses estudos, com base nas propriedades analisadas, os materiais testados apresentaram características de filmes comestíveis.

Sionkowska *et al.* (2004) analisando blendas de colágeno e quitosana através da técnica de difração de raios - X constataram que a estrutura em hélice tripla é perdida com o aumento do conteúdo de quitosana. Por outro lado, Figueiró *et al.* (2004) verificaram que em filmes produzidos com colágeno e galactomanana de *Adenantha pavonina*, a integridade estrutural da tripla hélice do colágeno foi preservada e que a goma foi retida nas fibras do polímero. A retenção dessas propriedades dos dois polímeros no referido estudo permitirá o desenvolvimento de uma série de possíveis aplicações biomédicas, sobretudo, nas indústrias cosméticas e alimentícias.

## **1.5. Frutos**

### **1.5.1. Manga**

A mangueira pertence à família das Anacardiáceas, sendo uma árvore de grande porte e em forma de domo. *Mangifera indica* pode atingir 45 m de altura geralmente com uma circunferência de 3,6 m ou mais. A casca é rugosa, cinza escura e fibrosa. As folhas acumulam-se na ponta dos galhos e têm de 10 – 30 cm de comprimento por 2 – 10 cm de largura, acuminadas, de cor verde-escura brilhante, rosadas quando novas, com uma resina aromática quando amassada, folhas novas pendem verticalmente para baixo, enquanto a cor é rosa. Fruto com 5 – 20 cm de comprimento, carnoso, amarelo quando maduro fibroso. Muitas variedades de frutos podem ser encontradas em função do local onde a planta se encontra. Na

região nativa, as flores surgem de janeiro a março, e frutos maduros de abril a julho. Apesar de ser originária do Sul da Ásia, esta espécie se adaptou muito bem ao clima tropical, sendo amplamente cultivada nestas regiões.

A manga é um dos mais apreciados frutos de origem tropical, sendo atualmente cultivada em todos os países da faixa tropical e equatorial do mundo. Em 1998, esta foi a fruta que mais contribuiu para a pauta das exportações brasileiras de frutas frescas (SOUZA *et al.*, 2002). Em 2003, o Brasil foi responsável pela produção de 845 mil toneladas em uma área de 67 mil hectares, ocupando o segundo lugar como principal país exportador em quantidades (FAO, 2004). A manga encontra excelentes condições para o seu desenvolvimento e produção, sendo cultivada em quase todos os estados brasileiros. A Região Nordeste destaca-se no cenário nacional como grande produtora de manga tipo exportação, onde estão localizados os principais pólos de irrigação da zona semi-árida como a região do vale do rio São Francisco e o pólo agrícola de Mossoró-Açu no Rio Grande do Norte (PIMENTEL *et al.*, 2000). Devido às condições climáticas benéficas, os mangicultores podem planejar suas colheitas para qualquer período do ano, possibilitando aos mesmos, colocarem o produto no mercado em épocas de melhores preços (SOUZA *et al.*, 2002).

Para que o Brasil atenda às exigências dos mercados nacional e estrangeiro, se faz necessário o aprimoramento e desenvolvimento de novas tecnologias em conservação e processamento pós-colheita, reduzindo as perdas de qualidade dos frutos durante, principalmente, o transporte marítimo. Portanto, todos os cuidados tomados com esses frutos desde o momento da colheita, armazenamento, transporte e comercialização se justificam quando se obtém um produto de melhor qualidade que pode atingir um preço mais alto no mercado.

Como todo fruto de origem tropical, a manga apresenta obstáculos em relação a sua vida útil pós-colheita como uma elevada taxa respiratória. Quanto maior a taxa respiratória de um fruto, mais rápido será seu metabolismo e, portanto, mais rápido será seu amadurecimento e senescência (TUCKER, 1993). Mesmo depois de colhidos, os frutos continuam a realizar processos metabólicos como respiração e transpiração, com a diferença que as perdas de constituintes então observadas não são mais repostas pela planta-mãe. Isso requer reservas suficientes que permitam continuar o seu desenvolvimento depois da colheita.

A manga depois de colhida apresenta uma vida de armazenamento muito curta que varia entre 10 e 12 dias dependendo das condições de armazenamento. Para uma manga ganhar importância comercial, esta deve apresentar um conjunto de características como boa

palatabilidade, pouca fibra e razoáveis teores de açúcares e acidez (DONADIO, 1989), e para que estas características sejam obtidas, condições adequadas devem ser utilizadas durante o armazenamento.

### 1.5.2. Maçã

A macieira (*Malus domestica*, Borkh.), pertence à família Rosaceae, é originária da Europa e da Ásia. A exploração comercial no Brasil foi iniciada na década de 60, em Santa Catarina, e em poucos anos a maçã se transformou em produto de intensa comercialização no país, sendo que, das fruteiras de clima temperado, a macieira foi a que mais se desenvolveu nos últimos anos. Os Estados de Santa Catarina e Rio Grande do Sul são os principais produtores nacionais, sendo responsáveis por aproximadamente 90% da produção (Empresa de Pesquisa Agropecuária e Extensão Rural de Santa Catarina – Epagri, 2002).

O consumo de maçãs no Brasil foi sustentado, durante muito tempo, pelas importações, especialmente da Argentina. Em meados da década de 60, o Brasil era o 4º importador de maçãs no mundo e o consumo nacional per capita não passava de 2 kg/ano. No ano de 2002, entretanto, o Brasil exportou maçãs para a Europa e América do Norte. A produtividade média foi de 23 t/ha, no entanto alguns pomares produziram 60 t/ha, e o consumo per capita foi de aproximadamente 5 kg/ano (Epagri, 2002).

O pico de oferta de maçãs ocorre durante os meses de fevereiro a maio, onde os preços recebidos pelos produtores são historicamente mais baixos. Normalmente, é necessário armazenar cerca de 60% da safra, dependendo do ano (Epagri, 2002).

As maçãs podem ser conservadas por até três meses em câmara fria convencional, perdendo o sabor e a textura quando mantidos além, deste período. Em atmosfera controlada podem ser conservados por até cinco meses sem perder suas características iniciais (Epagri, 2002).

A industrialização da maçã no Brasil ainda é restrita devido basicamente à falta de matéria-prima. A produção nacional de 2003 foi de aproximadamente 829 mil toneladas e 85% desta produção foi destinada ao consumo *in natura*, mesmo aquelas com qualidade inferior. Os 15% restantes da produção foram encaminhados principalmente para a produção de suco concentrado (FNP, 2004).



## **1.6. Técnicas de Caracterização Físico-Química dos Filmes e Soluções de Revestimento**

Para caracterização físico-química dos filmes e soluções de revestimentos são utilizadas diversas técnicas que visam elucidar as interações e as propriedades dos componentes filmogênicos isolados e após a formação das blendas e misturas, dessa forma, é possível estabelecer a formulação ideal para cada tipo de fruto que será revestido.

### **1.6.1. Análise Térmica**

A análise térmica é definida como um grupo de métodos pelos quais as propriedades físicas ou químicas de uma substância, uma mistura e/ou um reativo são medidas como funções de temperatura ou tempo, enquanto a amostra está sujeita a um programa de temperatura controlada. O programa pode consistir em aquecer ou resfriar (dinâmico), ou manter a temperatura constante (isotérmica), ou qualquer seqüência destes.

Os métodos térmicos são técnicas de multicomponentes e incluem Termogravimetria (TG), Calorimetria Exploratória Diferencial (DSC) entre outras. Estes métodos são de grande utilidade para o controle da qualidade e aplicações de investigação sobre produtos industriais como polímeros, fármacos, metais e ligas.

#### **1.6.1.1. Termogravimetria (TG)**

Termogravimetria (TG) é a técnica na qual a mudança da massa de uma substância é medida em função da temperatura enquanto esta é submetida a uma programação controlada. Geralmente esta técnica é utilizada para observar a perda de massa da amostra em função da temperatura, porém nem todas as transições da amostra resultam em perda de massa, como fusão, cristalização e transição vítrea, mas fenômenos como dessecção, absorção, sublimação e decomposição podem ser observados, gerando assim informações sobre a estabilidade térmica da amostra, velocidade de reação e composição. As curvas de TG são gráficos de porcentagem de perda de massa versus temperatura.

### 1.6.1.2. Instrumentos da Técnica (TG)

Os instrumentos de TG consistem em uma balança analítica sensível, um forno, um sistema de gás de purga e um sistema de manejo de dados.

A balança mais comum tem uma faixa de 5 a 20 mg. A amostra deve estar colocada dentro do forno, o resto da balança deve estar termicamente isolado do forno. Coloca-se a amostra no recipiente sobre um facho de quartzo. Qualquer mudança no peso da amostra causa um desvio do feixe, o qual é registrado por um dos fotodiodos.

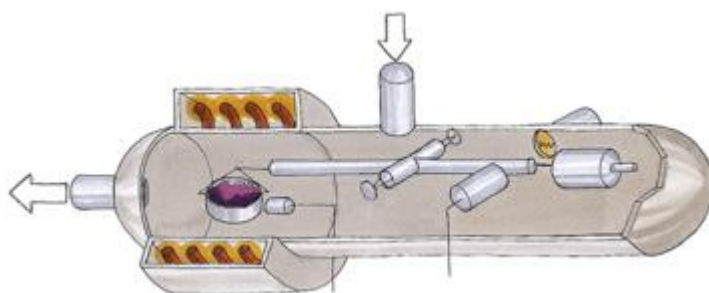


FIGURA 6 – Balança para análise termogravimétrica.

O facho volta a sua posição original zero por meio de uma corrente enviada a partir dos fotodiodos à espiral da balança. A corrente é proporcional à mudança de peso da amostra.

A maioria dos fornos tem uma temperatura que vai desde a temperatura ambiente até 1500 °C em atmosferas inertes ou reativas. O isolamento e o resfriamento do exterior do forno são necessários para evitar que o calor seja transferido à balança. O nitrogênio (N<sub>2</sub>) e o argônio (Ar) são comumente usados para purgar o forno e prevenir a oxidação da amostra.

A temperatura registrada em um termograma é a temperatura da amostra. Esta temperatura pode ser medida com um termopar pequeno diretamente na amostra, ou mais próximo possível do recipiente da amostra. As termobalanças modernas normalmente usam um controle de temperatura computadorizado que, automaticamente, compara a voltagem de saída do termopar com uma tabela de voltagem versus temperatura guardada na memória só para leitura.

### **1.6.2. Espectrometria no Infravermelho por Reflectância Total Atenuada (ATR)**

A condição para que ocorra absorção da radiação infravermelha é que haja variação do momento de dipolo elétrico da molécula como consequência de seu movimento vibracional ou rotacional (o momento de dipolo é determinado pela magnitude da diferença de carga e a distância entre dois centros de carga). Somente nestas circunstâncias, o campo elétrico alternante da radiação incidente interage com a molécula, originando os espectros. De outra forma, pode-se dizer que o espectro de absorção no infravermelho tem origem quando a radiação eletromagnética incidente tem uma componente com frequência correspondente a uma transição entre dois níveis vibracionais.

A espectroscopia de Reflexão Interna ou Reflectância Total Atenuada (ATR) é uma técnica utilizada para se obter espectros no infravermelho de amostras como: pastas, adesivos e pó que não podem ser analisados pelos métodos normais, como pastilhas ou filmes.

O princípio deste tipo de espectroscopia baseia-se no fato de que quando um feixe de radiação passa de um meio mais denso (cristal de ATR) para um meio menos denso (amostra), ocorre reflexão. A fração do feixe de luz incidente que é refletida aumenta conforme aumenta o ângulo de incidência, e quando excede um determinado ângulo crítico a reflexão é completa. No ponto de reflexão (de acordo com observações experimentais) o feixe atua como se penetrasse a uma pequena distância dentro da amostra. (SILVERSTEIN; BASSLER, 1974).

### **1.6.3. Absorção de Umidade**

A finalidade dos revestimentos comestíveis é que ele seja capaz de inibir ou reduzir a migração de umidade, oxigênio, dióxido de carbono, aromas, dentre outros, pois promovem barreiras semipermeáveis. Dessa forma, análises de absorção de umidade por parte dos revestimentos são realizadas como uma das técnicas de caracterização, neste trabalho esta técnica foi utilizada para avaliar o comportamento da absorção da umidade com o aumento da concentração de plastificante (glicerol).

#### 1.6.4. Ensaios de Viscosidade (Viscosidade Relativa)

O conhecimento das propriedades reológicas, como a viscosidade, das diferentes soluções proteína-polissacarídeo podem ser importantes para entender o comportamento das soluções como revestimentos e definir formulações para o estudo da capacidade molhante dos revestimentos nos frutos.

#### 1.6.5. Capacidade Molhante e Eficiência do Revestimento Comestível

A eficiência dos revestimentos comestíveis nos frutos e vegetais depende primariamente do controle da capacidade molhante da solução formadora do revestimento, afetando a espessura do revestimento (PARK, 1999). As formulações de revestimentos comestíveis deverão molhar e espalhar-se uniformemente na superfície do fruto. Após secagem, os revestimentos deverão ter uma adesão, coesão e durabilidade adequada (KROCHTA; MULDER-JOHNSTON, 1997).

A capacidade molhante de um sólido por um líquido é determinada pelo balanço entre as forças adesivas (coeficiente de adesão,  $W_a$ , Equação 1) do líquido no sólido e as forças coesivas (coeficiente de coesão,  $W_c$ , Equação 2) do líquido. Enquanto que as forças adesivas fazem com que o líquido se espalhe sobre a superfície sólida, as forças coesivas fazem com que o líquido se contraia.

$$W_a = \gamma_{LV} + \gamma_{SV} - \gamma_{SL} \quad [1] \quad W_c = 2 \cdot \gamma_{LV} \quad [2]$$

Onde:  $(\gamma_{SV})$ ,  $(\gamma_{SL})$ ,  $(\gamma_{LV})$  referem-se às Tensões Interfaciais sólido-vapor, sólido-líquido e líquido-vapor

Uma das características primárias de um sistema bi ou trifásico, contendo duas fases condensadas, em que pelo menos uma delas é um líquido, é o ângulo de contato do líquido na outra fase condensada ( $\theta$ ) (Figura 7). O ângulo de contato da gota de líquido na superfície sólida é definido pelo equilíbrio mecânico da gota sob a ação de três tensões interfaciais.

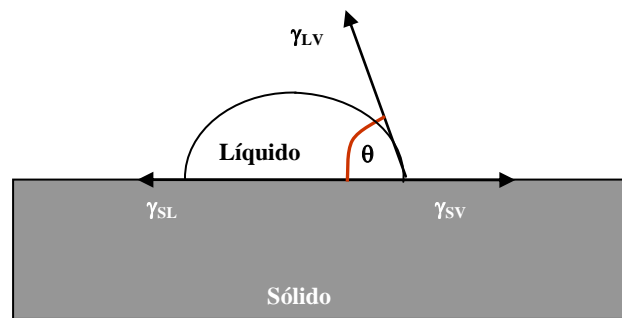


FIGURA 7 – Esquema representativo das tensões interfaciais existentes num sistema trifásico, em que duas das fases estão condensadas.

Esta relação de equilíbrio é conhecida como equação de Young (RULON; ROBERT, 1993):

$$\cos\theta = \frac{(\gamma_{SV} - \gamma_{SL})}{\gamma_{LV}} \quad [3]$$

A equação de Young fornece uma definição termodinâmica do ângulo de contato. No entanto, a sua verificação experimental é dificultada pelo fato dos valores de  $\gamma_{SL}$  e  $\gamma_{SV}$  não poderem ser determinados diretamente.

Geralmente, assume-se que a superfície sólida em questão é plana, sem qualquer tipo de irregularidades, mas de maneira geral isto não acontece. A primeira, e ainda mais útil, tentativa de correlação do ângulo de contato observado de um líquido num sólido com a rugosidade da superfície é a relação de Wenzel (1936) que propõe:

$$\gamma_{LV} \cdot \cos\theta = R_w \cdot (\gamma_{SV} - \gamma_{SL}) \quad [4]$$

Onde:  $R_w$  é definido como o fator de rugosidade

Embora a equação de Young seja muito útil na descrição do equilíbrio de humidificação é por vezes necessário definir outro termo que se indica do ponto de vista termodinâmico um determinado sistema líquido-sólido será molhante ( $\theta = 0^\circ$ ) ou não-molhante ( $\theta > 0^\circ$ ). Este termo denomina-se coeficiente de espalhamento ( $W_e$ ).

Quando um sólido entra em contato com um líquido na presença de vapor, o líquido irá aderir bem à superfície do sólido se a energia livre necessária para a criação de uma nova interface diminuir, isto é, o trabalho necessário para separar o sólido e o líquido da interface sólido-líquido deverá diminuir. O coeficiente de espalhamento ( $W_e$ ) no equilíbrio é definido pela Equação 5; para que o espalhamento ocorra espontaneamente à energia livre do processo ( $\Delta G$ ) terá que ser inferior a zero.

$$W_e = W_a - W_c = \gamma_{SV} - \gamma_{LV} - \gamma_{SL} \quad [5]$$

A determinação do coeficiente de espalhamento  $W_e$  permitirá comparar a capacidade molhante dos diferentes revestimentos estudados, possibilitando uma melhor compreensão dos resultados obtidos.

Como a capacidade molhante envolve a interação entre um líquido e um sólido, nos casos em que a superfície do sólido é bem molhada pelo líquido o ângulo de contato  $\theta$  é baixo. Nos casos em que o sólido é pouco molhado o ângulo de contato é alto. A Figura 8 mostra esses casos.

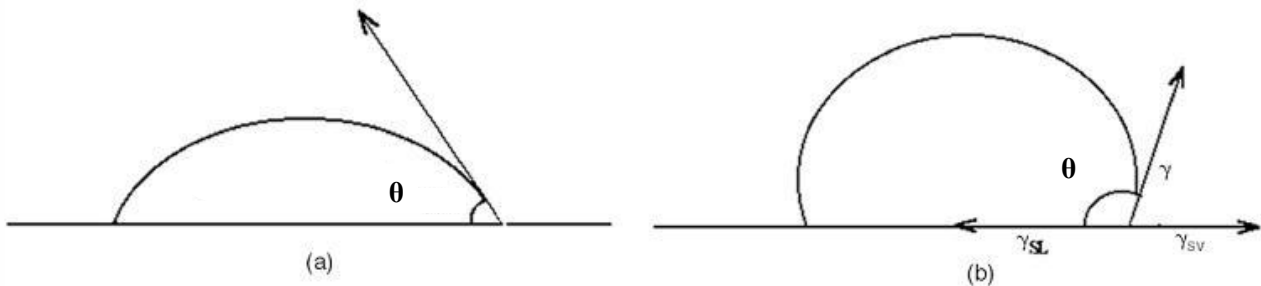


FIGURA 8 – Uma gota de líquido numa superfície pode (a) espalhar-se (baixo ângulo de contacto), alta capacidade molhante, ou (b) encolher-se (alto angulo de contacto, baixa capacidade molhante).

### **1.6.6. Metodologia do Planejamento Fatorial**

O Planejamento Experimental, baseado nos fundamentos estatísticos, é sem dúvida alguma uma ferramenta poderosa para se chegar às condições otimizadas de um processo, desenvolvimento da formulação de produtos dentro das especificações desejadas ou simplesmente para avaliar os efeitos ou impactos que os fatores têm nas respostas desejadas.

A necessidade crescente da otimização de produtos e processos, minimizando custos e tempos, maximizando rendimento, produtividade e qualidade de produtos, dentre outros objetivos, tem levado profissionais de diferentes formações a buscarem sistemáticas de planejamento de experimentos.

A metodologia do planejamento fatorial, associada à análise de superfície de resposta, é uma ferramenta fundamentada na teoria estatística, que fornece informações seguras sobre o processo, minimizando o empirismo que envolve técnicas de tentativa e erro (BOX *et al*, 1978 *apud* RODRIGUES, 2005).

Embora essa metodologia tenha sido proposta por Box na década de 50, somente nos últimos anos ela tem sido mais intensamente utilizada. Uma revisão da literatura, na base de dados do *Food Science and Technology Abstract* (FSTA) mostrou que nos últimos anos, houve um aumento crescente e exponencial do número de artigos que utilizaram análise de superfície de respostas e, conseqüentemente planejamentos fatoriais.

No entanto, para que o uso dessa metodologia atinja os objetivos desejados, é necessário haver uma integração entre o processo, a estatística e o bom senso, tanto da equipe responsável pela montagem dos experimentos, quanto da equipe responsável pela análise estatística e estratégica dos resultados.

#### **1.6.6.1. Vantagens do Planejamento Experimental**

1. Reduz o número de experiências ou repetições e melhora a qualidade da informação obtida através dos resultados. Isto significa uma sensível diminuição do trabalho, e conseqüentemente, do tempo e do custo final.

2. Os fatores são analisados simultaneamente. Assim, podemos verificar e quantificar efeitos sinérgicos e antagônicos entre os fatores de interesse. Dentre vários processos onde ocorrem interações entre os fatores. Se analisarmos separadamente cada fator, não atingiremos a condição otimizada, pois não conseguiremos detectar a interação entre eles.
3. É possível otimizar mais de uma resposta ao mesmo tempo. Esta é uma das grandes vantagens do planejamento fatorial. Podemos maximizar variáveis como rendimento, produtividade e pureza, e/ou minimizar as variáveis custo e contaminação, entre outras, individual ou simultaneamente (RODRIGUES, 2005).

Permite calcular e avaliar o erro experimental. Isto é fundamental para que possamos especificar o nível de confiança estatística com o qual poderemos estimar a reprodutibilidade do resultado desejado. Não é prudente confiar num resultado isolado. É desejável saber se ao repetirmos o processo  $n$  vezes ele terá comportamento semelhante, variando segundo um erro experimental esperado, de modo a assegurar a estabilidade do processo.

Quando um pesquisador necessita desenvolver ou melhorar um processo, ou a formulação de um produto, ele precisa planejar um procedimento experimental para avaliar os efeitos que suas variáveis independentes ou fatores têm sobre a(s) resposta(s). Parece inerente ao pesquisador, a opção por avaliar um fator por vez, mantendo as outras variáveis fixadas para “controlar” o processo. Ou seja, determinar as condições ótimas avaliando separadamente os fatores.

No entanto, nos últimos anos a procura por métodos científicos que diminuam os números de ensaios e aumentem a precisão dos resultados tem sido cada vez maior (RODRIGUES, 2005).

Haaland (1989) apresenta de uma forma bem interessante e esclarecedora os três caminhos que poderíamos adotar para a resolução de um problema experimental.

O primeiro método é o procedimento experimental mais difundido e usual, “*one-at-a-time*”, estudo de uma variável por vez, onde é avaliada uma das variáveis estudadas a diferentes condições e as demais são fixadas. Posteriormente o melhor valor encontrado é fixado e as outras variáveis são alteradas até que todas elas sejam consideradas. Este método pode ser usado, mas é bastante ineficiente. Se existirem interações entre as variáveis, o



método pode não encontrar uma solução para o problema experimental por não explorar completamente o espaço de soluções (Figura 9a).

O segundo método tradicional é a busca do resultado procurado através de uma matriz, onde todas as combinações são investigadas até obtenção de uma solução final. Este método tem a vantagem de explorar todo o espaço experimental, porém tem a grande desvantagem de necessitar um número grande de medidas (Figura 9b).

A resolução do problema através de um planejamento estatístico conhecido como planejamento experimental fatorial para a solução do projeto experimental pode ser feita usando um número menor de medidas e explorando todo o espaço experimental (Figura 9c).

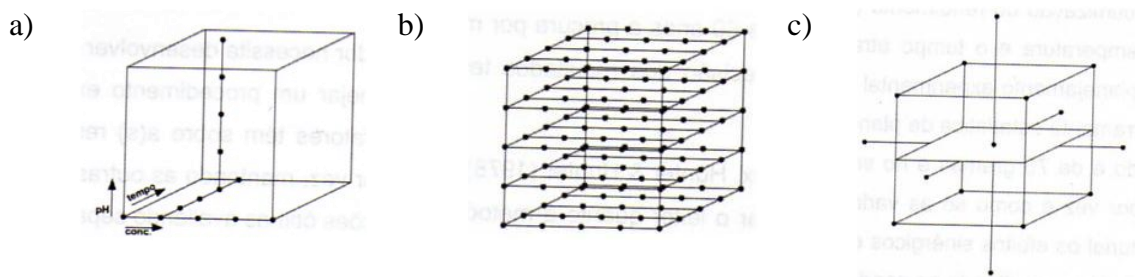


FIGURA 9 – Possibilidades de conduzir experimentos para 3 variáveis estudadas, (a) Análise de uma variável por vez, (b) Matriz com todas as combinações possíveis e (c) Delineamento composto central rotacional (DCCR) (HAALAND, 1989 *apud* RODRIGUES, 2005).

No caso de três variáveis independentes a serem estudadas em cinco situações (ou níveis) diferentes, o primeiro procedimento necessita no mínimo de 14 ensaios para a obtenção de melhor resposta desejada. No entanto, como mostra a Figura 9a, as condições estudadas ficariam limitadas àquela região espacial, não se conseguindo detectar efeitos de interação entre eles. Neste caso o melhor resultado obtido fica sempre muito aquém do valor otimizado.

O segundo caso exige um número muito grande de ensaios, 125 ensaios ( $5 \times 5 \times 5$ ), para explorar todas as 5 combinações dos 3 fatores. Este procedimento é demorado, de custo muito alto e desnecessário. Além disso, por não ter nenhum ensaio repetido não se pode calcular nenhum tipo de erro padrão inerente às manipulações experimentais. Isto é ruim, pois

pode haver algum resultado destoante dos demais que pode ter sido obtido por um erro experimental e que não é detectado.

No caso de planejamento fatorial completo, é necessário a realização de 17 ensaios (8 ensaios fatoriais representados pelos vértices do cubo + 6 ensaios nos pontos axiais para testar o modelo de 2ª ordem + 3 ensaios repetidos na condição central). Neste caso a região de estudo é maior com um menor número de ensaios a serem realizados, podendo-se calcular o erro experimental quando se toma o cuidado de repetir pelo menos três vezes a condição do ponto central, indispensável para a reprodutibilidade do processo. É possível, ainda, elaborar um modelo matemático, que se validado estatisticamente pode ser usado para obtenção da superfície de resposta e através desta análise determinar-se as condições otimizadas, conhecendo-se a significância estatística das respostas.

Por analogia, para dois fatores temos a representação gráfica ilustrada na Figura 15. A opção de um fator por vez necessita de 9 ou 10 ensaios, a matriz com todas as combinações possíveis 25 ensaios (5 x 5) e o planejamento composto central rotacional 11 ou 12 ensaios, incluindo 4 ou 4 repetições no ponto central.

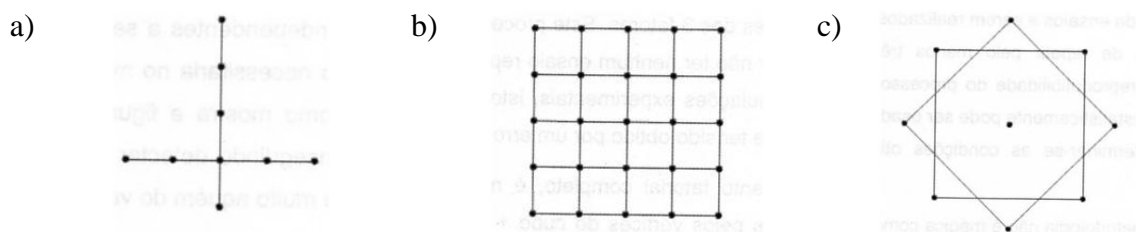


FIGURA 10 – Possibilidades de conduzir experimentos para 2 variáveis estudadas, (a) Análise de uma variável por vez, (b) Matriz com todas as combinações possíveis e (c) Delineamento composto central rotacional (DCCR).

## 2. HIPÓTESE DE TRABALHO

---

Os produtores de frutas vêm atualmente, diante da mudança dos padrões de consumo e da exigência cada vez maior dos consumidores quanto à qualidade das frutas frescas disponíveis no mercado. A necessidade do mercado de atender à demanda dos centros de consumo, que estão cada vez mais distantes dos centros de produção, faz com que seja necessário, prolongar a vida útil das frutas sem que estas percam seus atributos de proteção à saúde, em consequência do processo de senescência natural. Este problema tem sido controlado com o uso de embalagens que modificam a atmosfera ao redor do produto, associado ao armazenamento sob refrigeração.

A maioria das embalagens utilizadas é elaborada com produtos à base de petróleo que por não serem comestíveis podem trazer prejuízo no consumo integral da fruta. O emprego de películas de revestimento à base de proteínas e polissacarídeos naturais, atóxicos e comestíveis pode trazer benefícios tanto para a saúde dos consumidores como para o aumento do tempo de prateleira das frutas mais perecíveis.

Além do mais, visando reduzir ou até mesmo sanar alguns problemas apresentados pelos filmes produzidos com apenas um tipo de componente filmogênico, as blendas representam uma excelente estratégia.

Dessa forma, este trabalho visa à preparação e caracterização de Filmes Comestíveis não-tóxicos, preparados a partir de galactomanana extraído de endosperma de sementes de *Adenantha pavonina* e *Caesalpinia pulcherrima* e colágeno extraído de serosa bovina aditivados com glicerol com o objetivo de prolongar o tempo de prateleira de frutas.

### 3. ESTRATÉGIAS EXPERIMENTAIS

---

Em busca de testar a hipótese proposta, as seguintes estratégias experimentais foram seguidas:

1. Isolamento de polissacarídeos de sementes;
2. Extração de colágeno de serosa bovina;
3. Avaliação da toxicidade dos polissacarídeos isolados;
4. Preparação de películas de revestimento, a partir de polissacarídeos isolados e colágeno variando-se a concentração de glicerol;
5. Caracterização físico-química das películas e escolha da melhor concentração de glicerol para os filmes;
6. Preparação de blendas variando-se a proporção de polissacarídeo e colágeno;
7. Otimização de ensaios de viscosidade para as soluções de Colágeno-Galactomanana usando o Programa Statistica: Experimental Design;
8. Avaliação da molhabilidade para diferentes proporções de Colágeno-Galactomanana e glicerol em manga e maçã.

## 4. PARTE EXPERIMENTAL

---

### 4.1. MATERIAIS E MÉTODOS

#### 4.1.1. Solventes e Reagentes

Foram utilizados álcool comercial, solventes e reagentes de grau PA, descritos a seguir: ácido acético, NaCl, NaOH, acetona, glicerol.

#### 4.1.2. Animais

Foram utilizados ratos albinos sadios da linhagem Wistar, obtidos do biotério da Universidade Federal do Ceará e mantidos no Laboratório Experimentação Animal da Universidade de Fortaleza sob condições adequadas em regime alimentar clássico de laboratório, com água *ad libitum*, temperatura ( $20\text{ °C} \pm 2$ ) e umidade ( $30\% \pm 5$ ).

#### 4.1.3. Sementes

Sementes de *Adenantha pavonina* e *Caesalpinia pulcherrima* foram coletadas no campus da Universidade Federal do Ceará, em Fortaleza e depois de devida seleção e lavagem foram armazenadas para posterior utilização.

#### 4.1.4. Colágeno

Para obtenção do colágeno, foi utilizada a serosa bovina de aproximadamente 5 anos de idade. A serosa, desengordurada e conservada em sal, foi obtida de frigoríficos da região, onde é utilizada para produção de embutidos e mantida congelada por volta de  $-5\text{ °C}$  até antes de sua utilização. Após sucessivas lavagens com água para remoção de sal, a serosa foi tratada com NaOH 0,15 mol/L durante 1h para remoção de substâncias não colagênicas, em seguida foi lavada com água até a neutralização do pH da solução de lavagem, o excesso

de água foi removido com auxílio de papel de filtro, e em seguida a mesma foi reduzida a pedaços de aproximadamente 1 cm de comprimento.

#### **4.1.5. Frutos**

Como modelo experimental para os testes de molhabilidade, utilizou-se manga e maçã que foram colhidos nos estádios de maturação comercial (vermelho).

## **4.2. MÉTODOS DE PREPARAÇÃO**

### **4.2.1. Obtenção do Polissacarídeo**

#### **4.2.1.1. Obtenção do Endosperma das Sementes de *A. pavonina* e *C. pulcherrima***

Sementes quiescentes foram submetidas à fervura em água por um período de 20 minutos e deixadas por 12h a 25 °C para intumescimento. As sementes foram separadas manualmente em endosperma, tegumento e cotilédone, o endosperma foi congelado para posterior utilização.

#### **4.2.1.2. Obtenção da Galactomanana em Solução**

Cada 10g de endosperma foi homogeneizado em 500 mL de ácido acético 0,1% até obtenção de uma solução viscosa. O material foi peneirado (40 mesh) e a solução homogênea foi precipitada com álcool etílico 96° GL na relação de solução/álcool (1:2, v:v) e ao resíduo foi acrescido ácido acético 0,1% para uma nova extração. O precipitado, galactomanana (Gal), foi deixado secar em dessecador e guardado sob a forma de pó seco, para uso posterior. A galactomanana obtida foi diluída em solução de ácido acético 0,1% até uma solução de concentração de 10 mg/mL. A Figura 11 detalha o procedimento.

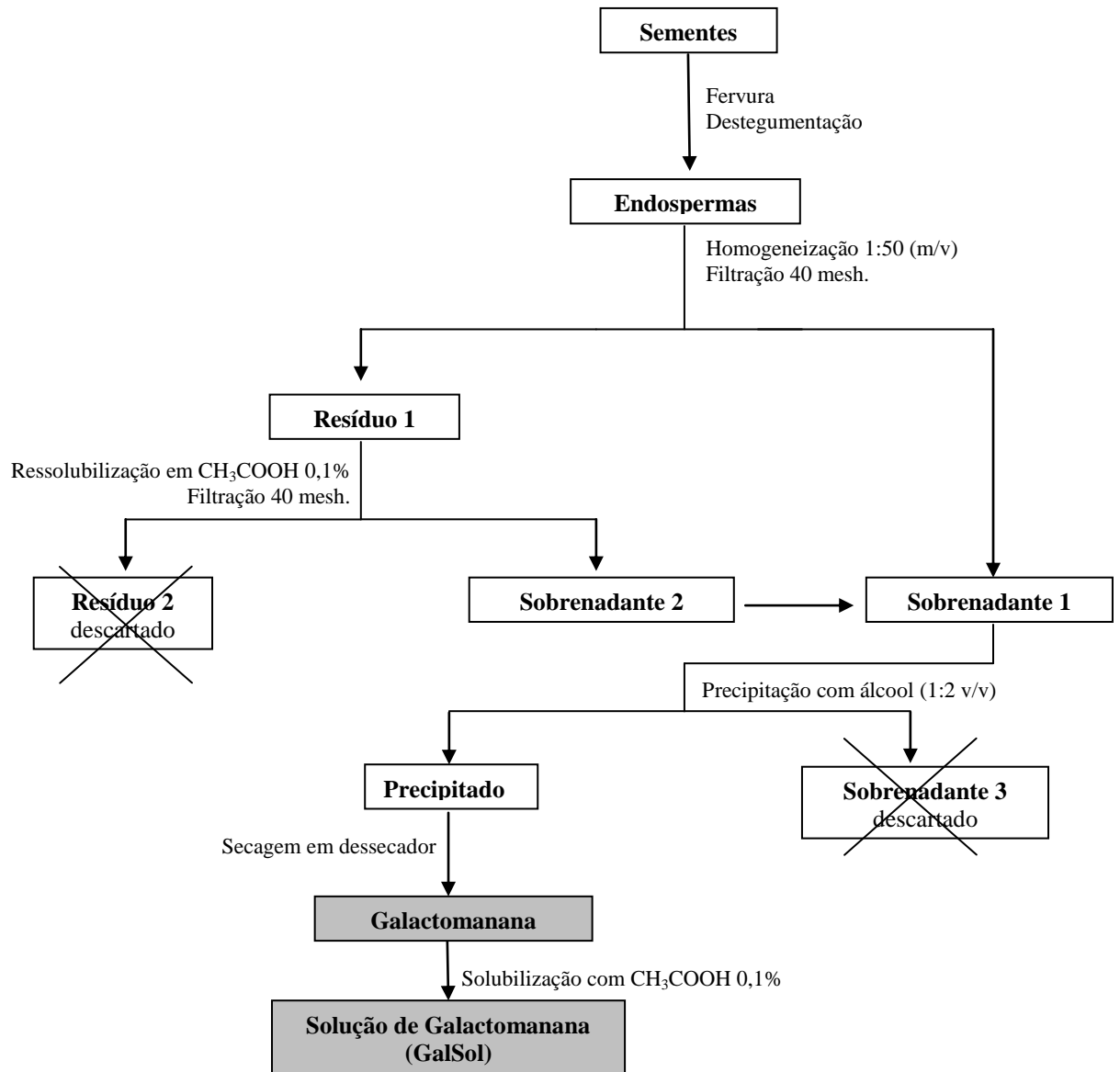


FIGURA 11 – Fluxograma de obtenção de galactomanana endospérmica.

#### 4.2.2. Obtenção do Colágeno Solúvel

O colágeno foi solubilizado, a partir de serosa bovina, em solução de ácido acético 0,1%, seguindo um protocolo de purificação e diluição, de forma que a concentração final de colágeno correspondesse a 10 mg/g. A Figura 12 detalha o procedimento.

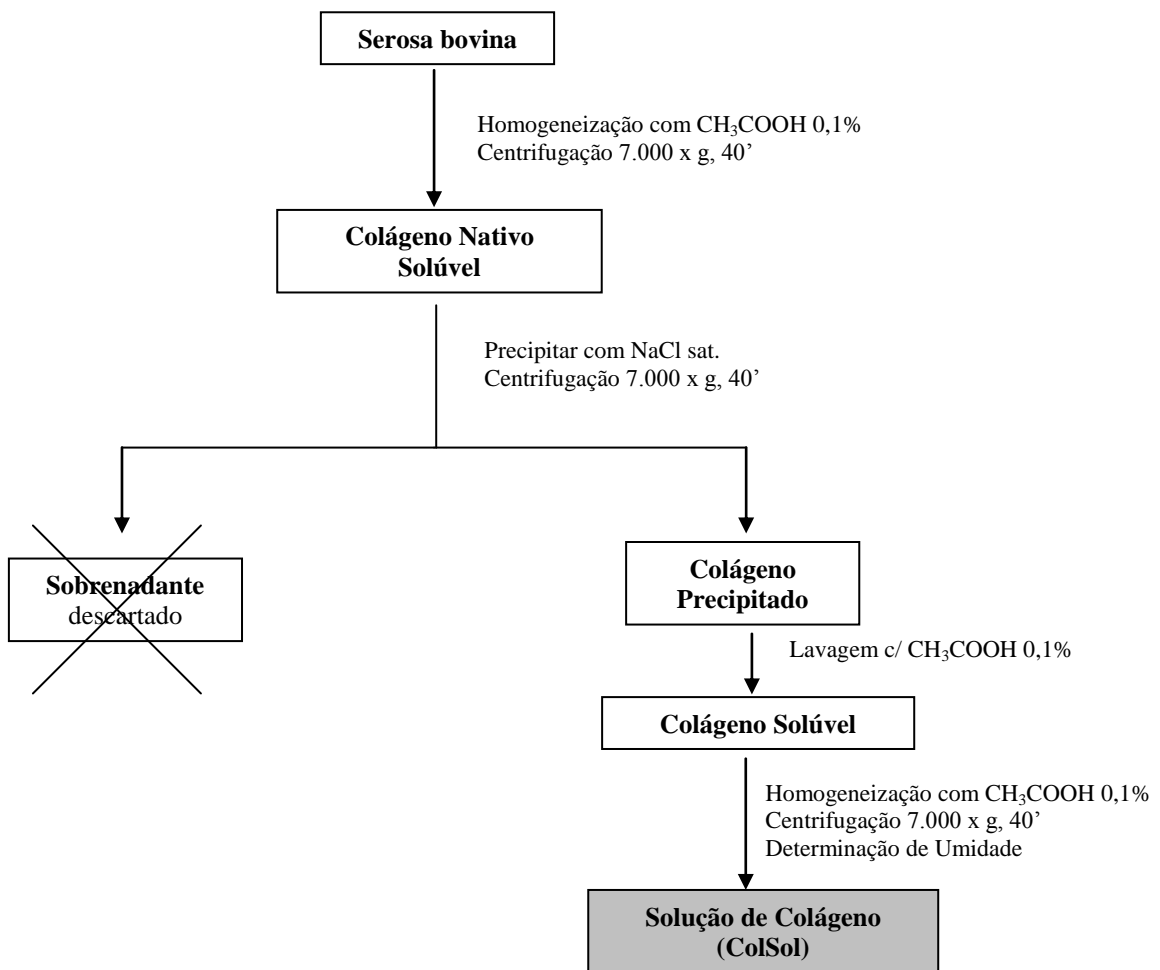


FIGURA 12 – Fluxograma de obtenção de colágeno de serosa bovina.



### **4.2.3. Preparação das Películas de Revestimento**

#### **4.2.3.1. Preparação dos Filmes de Colágeno-Galactomanana (ColGal)**

A solução de colágeno (10 mg/g) foi adicionada à solução de galactomanana (10 mg/mL) isolada de endosperma de sementes de *Adenanthera pavonina* com homogeneização, de modo que se obteve misturas de ColGal na proporção de (1:1).

A solução resultante foi dividida em 4 partes iguais, e em três delas foram adicionadas glicerol nas percentagens de 1,00, 2,50 e 6,00%, respectivamente.

Os filmes foram preparados a partir das soluções de ColGal, ColGal-gli 1,00%, ColGal-gli 2,50% e ColGal-gli 6,00% conformados em moldes de acrílico e secos em capela de fluxo laminar. A partir desses filmes foram feitas análises para observar o efeito do glicerol nas propriedades físico-químicas dos filmes.

### **4.3. ENSAIOS TOXICOLÓGICOS**

#### **4.3.1. Toxicidade Aguda Oral (dose simples)**

As galactomananas extraídas das sementes selecionadas foram analisadas para avaliação da toxicidade aguda (dose simples), utilizando ratos albinos da linhagem Wistar.

Animais jovens e adultos hígidos foram aclimatados às condições experimentais (temperatura  $20\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2$  e umidade  $30\% \pm 5$ ) durante um período de cinco dias. Após esta adaptação, os animais foram aleatoriamente divididos em dois grupos, com dez animais (cinco machos e cinco fêmeas). As fêmeas foram nulíparas e não grávidas. Os animais foram agrupados em caixas por sexo, sob um regime alimentar conveniente, ração tipo purina e água potável *ad libitum*. Os níveis de dose foram estabelecidos para cinco doses suficientemente espaçadas. Foi utilizado um grupo controle com o mesmo número de animais. Os animais foram mantidos em jejum durante a noite anterior ao experimento. A amostra foi administrada aos animais através de sonda gástrica nas dosagens de 10, 20, 30, 40 e 50mg/g de animal. Observações foram feitas aos 30, 60, 120 e 360 minutos e, depois, a cada 24 horas até 14 dias. Após este período os animais foram pesados.

### **4.3.2. Toxicidade Subcrônica**

Tem como objetivo fornecer informações acerca dos riscos potenciais para a saúde, resultantes de uma exposição de doses repetidas das galactomananas isoladas em um período limitado de tempo. Os cuidados, como adaptação ao ambiente experimental, regime alimentar, ciclos de 12 horas no claro e 12 horas no escuro, foram tomados. O nível de doses foi estabelecido para três doses suficientemente espaçadas para mostrar diferenças na graduação dos efeitos tóxicos. As doses foram administradas sempre no mesmo período do dia durante 90 dias, utilizando 20 animais (10 machos e 10 fêmeas) para cada nível de dose. Um grupo satélite de vinte animais foi tratado com a dose mais alta, durante noventa dias e, em seguida, foi cuidadosamente observado para analisar o caráter reversível e a persistência ou aparecimento de diferentes efeitos tóxicos durante um período adicional de 28 dias após a última administração do período experimental (BRITO, 1994). Os sinais de toxicidade foram devidamente registrados, observando as alterações da pele, pêlos, mucosas, olhos, sistemas circulatório e respiratório, sistemas nervosos, central e periférico, atividade somatomotriz e manifestações comportamentais em geral. Os animais foram diariamente pesados. No final do experimento todos os animais tiveram seu sangue coletado por punção retro ocular para determinações bioquímicas, em seguida foram sacrificados, com exceção daqueles do grupo satélite, e necropsiados.

### **4.4. ANÁLISE DAS PROPRIEDADES FÍSICO-QUÍMICAS DOS FILMES**

Foram realizadas análises físico-químicas de Espectros de absorção no Infravermelho por Reflectância Total Atenuada – ATR, Propriedades Térmicas (Termogravimetria - TG), Absorção de Umidade, Ensaio de Viscosidade e Capacidade Molhante. Essas análises foram realizadas no Laboratório de Telecomunicações, Engenharia e Ciência dos Materiais (LOCEM) do Departamento de Física da Universidade Federal do Ceará (UFC), no Laboratório de Lectinas e Glicoconjugados (LABLEC) do Centro de Ciências da Saúde da Universidade de Fortaleza (UNIFOR), no Departamento de Química Orgânica e Inorgânica da UFC, no Centro de Engenharia Biológica da Universidade do Minho em Portugal e no LABLEC do Departamento de Bioquímica e Biologia Molecular da UFC.

#### 4.4.1. Análise Térmica

Foi estudada através da perda de massa em função da temperatura por Termogravimetria (TG), em filmes de Colágeno-Galactomanana de *Adenantha pavonina* (ColGal) e Colágeno-Galactomanana-glicerol (ColGal-gli) com concentrações de glicerol de 1,00, 2,50 e 6,00%. A preparação dos filmes de ColGal e ColGal-gli segue o esquema mencionado no item 4.2.3.1.

Os ensaios foram realizados em equipamento Shimadzu TGA-50H. As amostras, filmes com peso em torno de 10 mg, foram colocados em cadinhos de platina selados e aquecidos em atmosfera de N<sub>2</sub> com taxa de aquecimento de 10 °C/min em uma faixa de temperatura de 10 a 600 °C.

#### 4.4.2. Espectrometria no Infravermelho por Reflectância Total Atenuada (ATR)

Os espectros de infravermelho foram obtidos utilizando um aparelho Shimadzu FTIR 8300, com filmes de Colágeno-Galactomanana de *Adenantha pavonina* (ColGal) e Colágeno-Galactomanana-glicerol (ColGal-gli) com concentrações de glicerol de 1,00, 2,50 e 6,00% obtidos de misturas de soluções de colágeno e galactomanana em concentrações de 5 mg/g. Os filmes foram formatados em fôrmas de acrílico com dimensões de 1 x 1 cm e secos em atmosfera de P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>.

#### 4.4.3. Absorção de Umidade

Foram utilizados filmes de Colágeno-Galactomanana de *Adenantha pavonina* aditivados com concentrações de glicerol de 1,00 e 6,00%. Os filmes com peso em torno de 10 mg foram mantidos previamente em dessecador a vácuo à temperatura ambiente por 24hs. A seguir cada filme foi colocado em uma balança de Faraday sob umidade relativa de 75% proporcionado por uma solução de NaCl saturado.

#### 4.4.4. Ensaio de Viscosidade (Viscosidade Relativa)

Os tempos de escoamento das soluções foram determinados em viscosímetro capilar Tipo Ostwald ref. 75, em banho termostático Marca Quimis, à temperatura controlada de 26 °C.

As soluções de galactomananas de *Adenantha pavonina* e *Caesalpinia pulcherrima* (2,0 mg/mL) foram obtidas por dispersão em ácido acético 0,1% a temperatura de 25 °C, sob agitação por 12hs. Diluições posteriores foram realizadas para as concentrações de 0,5; 0,75; 1,0 e 1,5 mg/mL.

As soluções de colágeno tiveram sua concentração determinada por determinação de massa seca. Diluições posteriores foram realizadas para concentrações de 0,5; 0,75; 1,0; 2,0 mg/g.

As misturas foram preparadas misturando-se as soluções de colágeno e galactomanana sob constante agitação de acordo com os fatoriais indicados nas Tabelas 2 e 3.

#### 4.4.5. Capacidade Molhante e Eficiência do Revestimento Comestível

Para se obter a capacidade molhante dos revestimentos foi necessário determinar o ângulo de contato do revestimento nas superfícies da manga e maçã.

Foram testadas as misturas de Colágeno-Galactomanana de *Adenantha pavonina* e Colágeno-Galactomanana de *Caesalpinia pulcherrima* nas proporções: 1,5%Col-0,5%Gal, 1,0%Col-1,0%Gal e 0,5%Col-1,5%Gal, variando-se as concentrações de glicerol em 0; 0,5; 1,0 e 1,5%.

As misturas foram retiradas com uma seringa de 500 µL (Hamilton, Suíça), sendo o diâmetro da agulha determinado com um micrómetro digital 0-25 mm (Mitutoyo, E.U.A.). As análises das várias soluções estudadas foram determinadas utilizando o método da gota pendente disponível no medidor de ângulo de contacto OCA 20 (Dataphysics, Alemanha), selecionando a aproximação de Laplace-Young como método de cálculo.

Os frutos foram lavados com água destilada e só então foi retirada uma secção retangular que se fixou de forma adequada a um pedaço de vidro retangular. Para a

determinação do ângulo de contato das soluções recorreu-se ao método da gota séssil, disponível no medidor de ângulo de contato OCA 20 (Dataphysics, Alemanha). As medições foram feitas o mais rapidamente possível de modo a evitar alterações na superfície testada (provocadas pela desidratação do tecido).

## 5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

---

### 5.1. Toxicidade da Galactomanana de Endosperma de Sementes de *Adenantha pavonina* e *Caesalpinia pulcherrima*

#### 5.1.1. Toxicidade Aguda (dose simples)

Os sinais de toxicidade tais como alterações da pele, pêlos, mucosas, olhos, sistemas circulatório e respiratório, sistemas nervoso central e periférico não foram observados durante o período de realização do experimento, desta forma podemos sugerir que a galactomanana de *Adenantha pavonina* e *Caesalpinia pulcherrima* não apresentam toxicidade aguda.

#### 5.1.2. Toxicidade Subcrônica

Os ensaios de toxicidade subcrônica têm como objetivo fornecer informações acerca dos riscos potenciais para a saúde, resultantes de uma exposição de doses repetidas da galactomanana em um período limitado de tempo, mais precisamente 90 dias.

Assim como no ensaio da toxicidade aguda os sinais de toxicidade não foram observados durante o experimento. Diversos parâmetros foram determinados, todos se apresentando dentro de uma variação normal, não indicando nenhuma característica de toxicidade.

##### 5.1.2.1. Variação do Peso Corpóreo

A variação do peso corpóreo, tanto nos animais machos como nas fêmeas, não apresenta alteração que indique a perda de peso por efeito tóxico ou antinutricional. As Figuras 13, 14, 15 e 16 a seguir mostram as variações de peso corpóreo, para animais machos e fêmeas submetidos à alimentação das galactomananas isoladas, com indicação do desvio padrão de cada grupo e as inclinações das curvas positivas, de no máximo 5%, características de animais adultos.

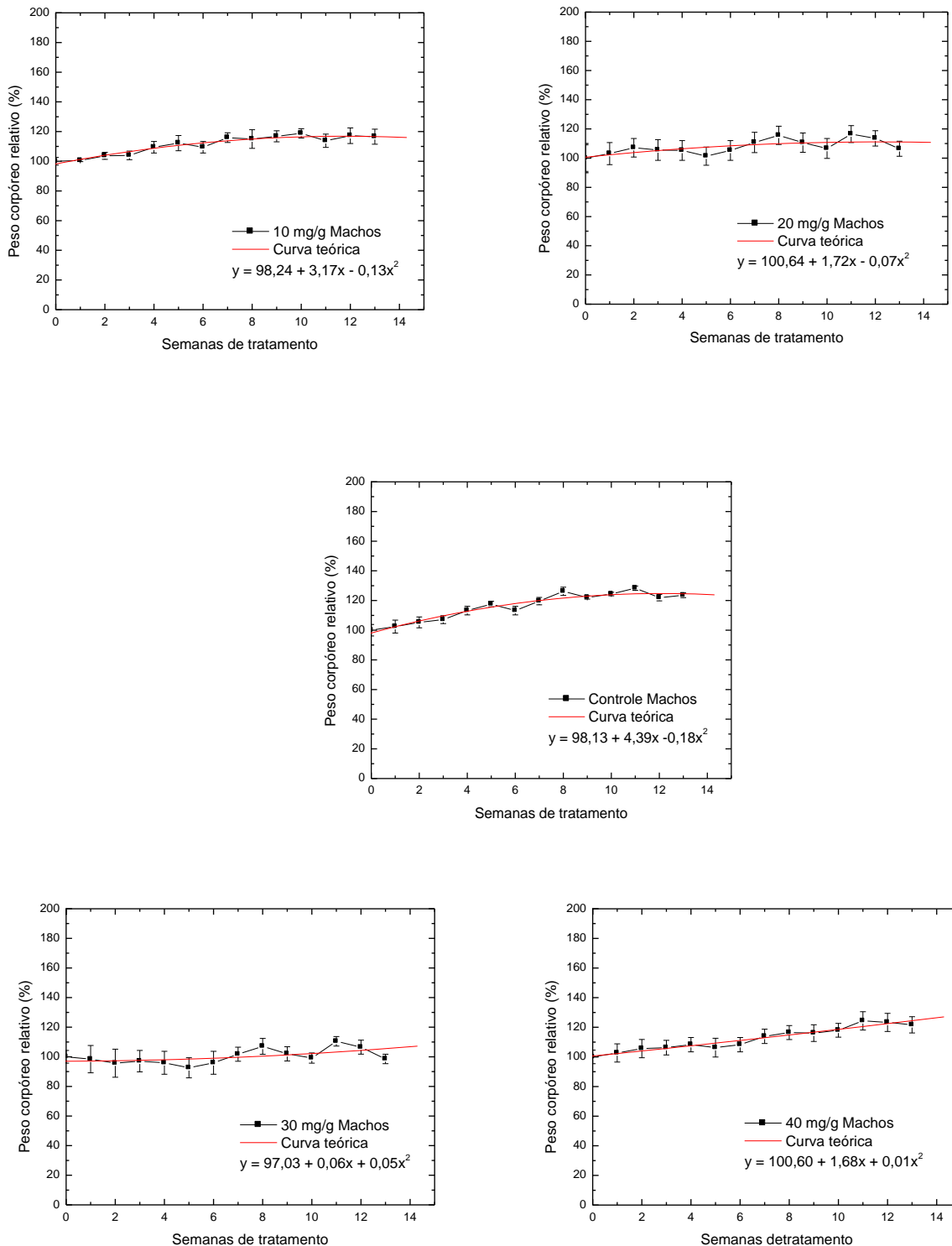


FIGURA 13: Comportamento do peso corpóreo de ratos machos submetidos a tratamento com galactomanana de *Adenantha pavonina*.

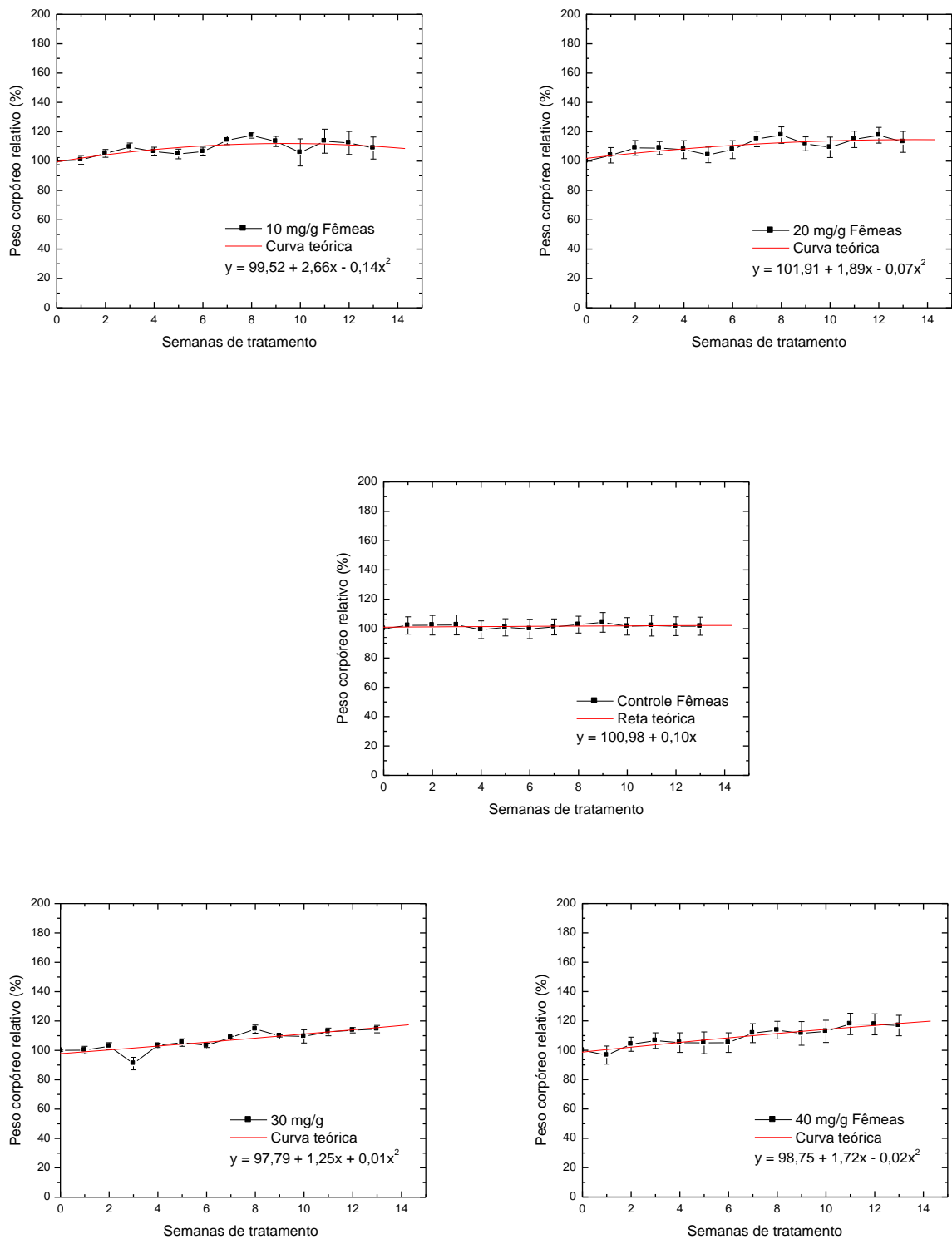


FIGURA 14: Comportamento do peso corpóreo de ratos fêmeas submetidos a tratamento com galactomanana de *Adenantha pavonina*.



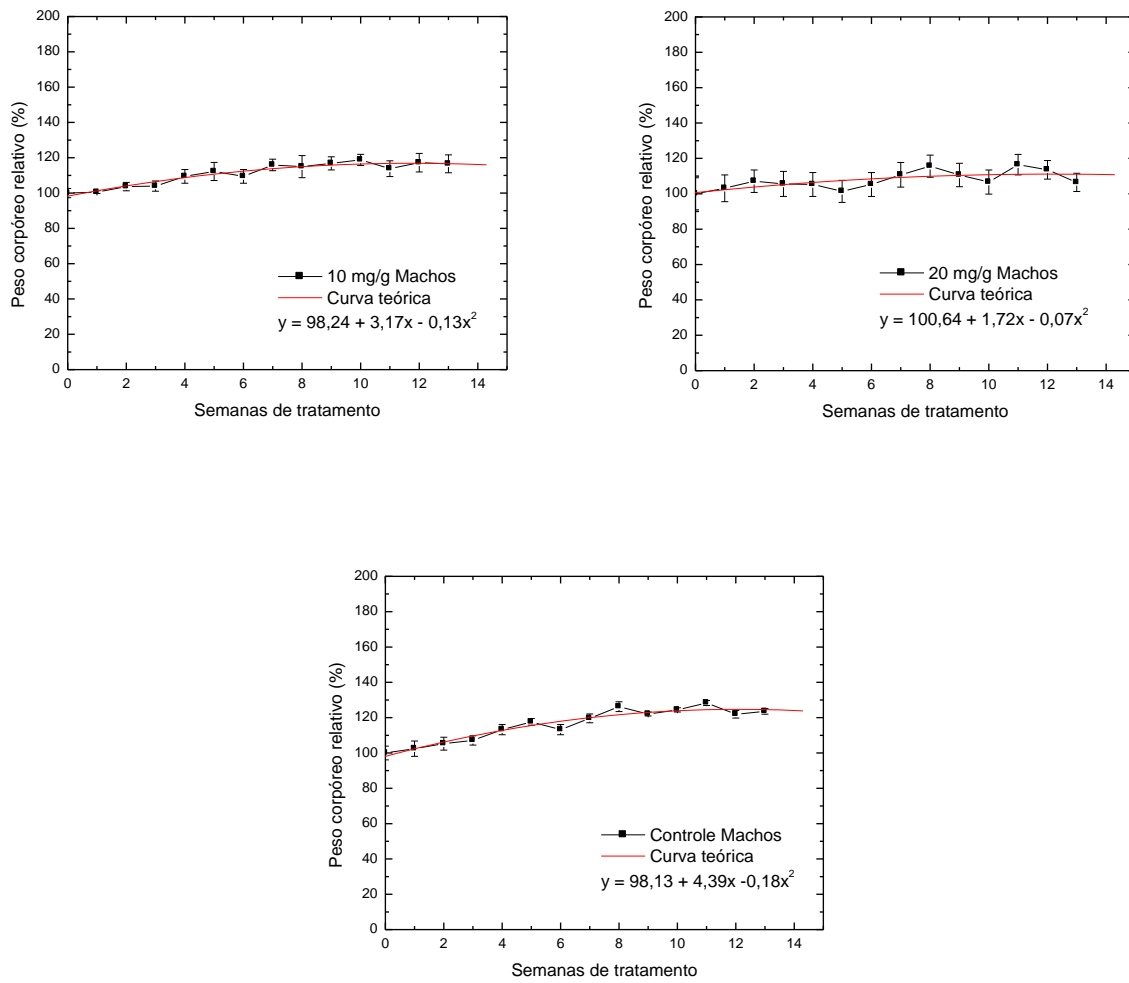


FIGURA 15: Comportamento do peso corpóreo de ratos machos submetidos a tratamento com galactomanana de *Caesalpinia pulcherrima*.

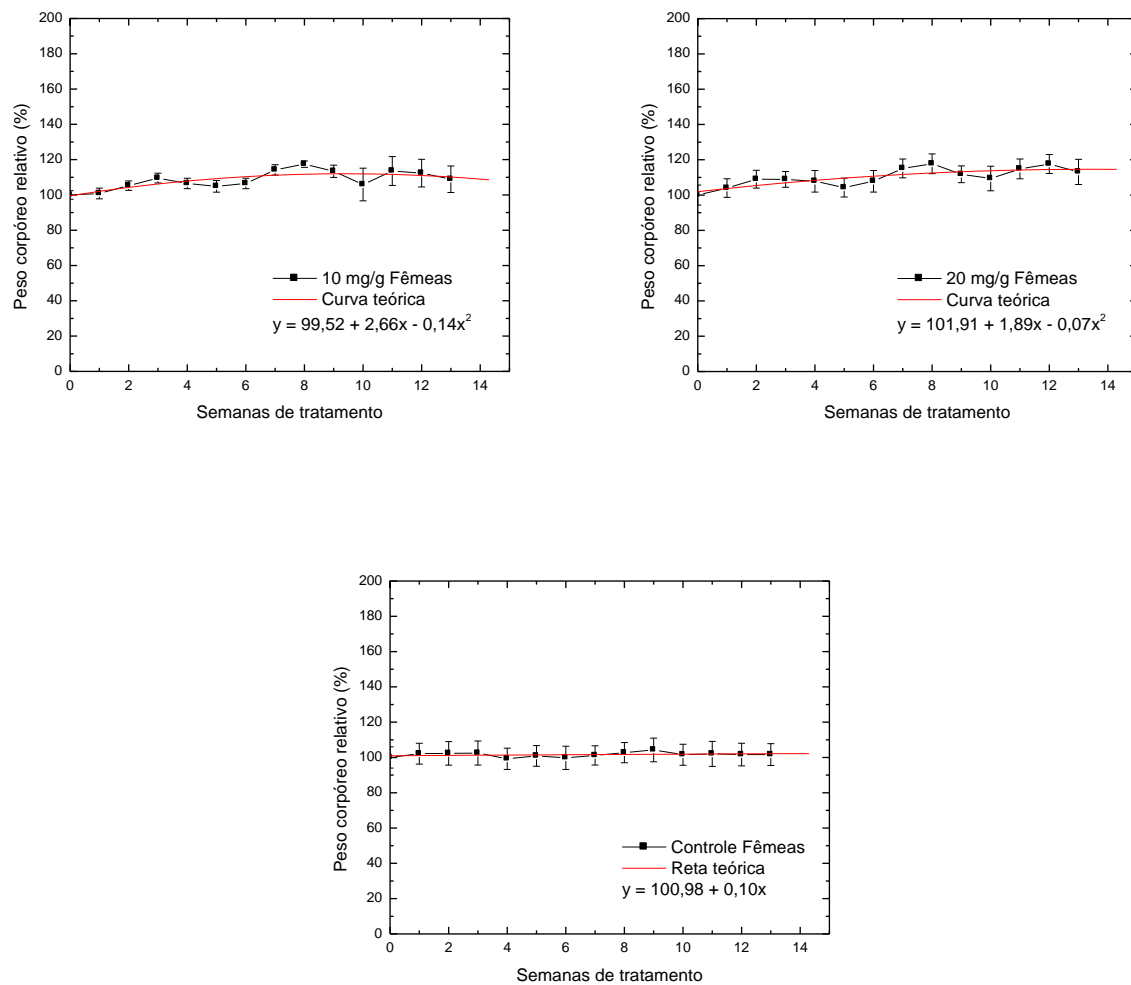


FIGURA 16: Comportamento do peso corpóreo de ratos fêmeas submetidos a tratamento com galactomanana de *Caesalpinia pulcherrima*.

As Figuras 13, 14, 15 e 16 mostram as variações de peso corpóreo dos animais machos e fêmeas respectivamente submetidas à alimentação de galactomanana de *Caesalpinia pulcherrima* e *Adenantha pavonina*, apresentadas em bloco, onde podemos observar que as diferenças se encontram dentro das faixas do desvio padrão. Isso indica um comportamento típico de não toxicidade.

### 5.1.2.2. Níveis Glicêmicos

Ao final do experimento, os animais tiveram seu sangue coletado e foram sacrificados. Foi determinado, no plasma o teor de glucose e os dados obtidos estão apresentados nas Figuras 17, 18, 19 e 20.

Podemos observar um comportamento normal, para os dois grupos (machos e fêmeas), para todas as doses empregadas, com valores dentro do desvio padrão obtido, indicando uma não toxicidade das gomas.

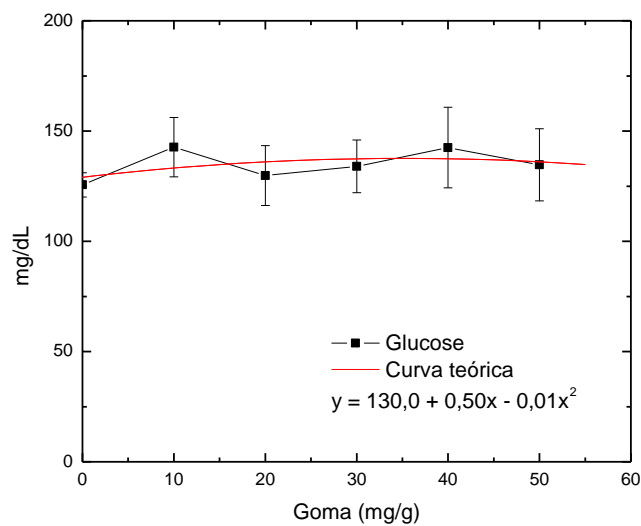


FIGURA 17 – Variação da Glicemia de ratos machos submetidos a tratamento com galactomanana de *Adenantha pavonina*.

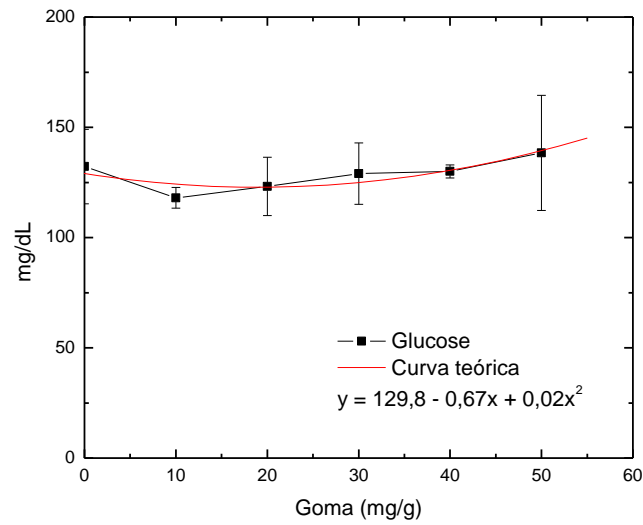


FIGURA 18 – Variação da Glicemia de ratos fêmeas submetidos a tratamento com galactomanana de *Adenantha pavonina*.

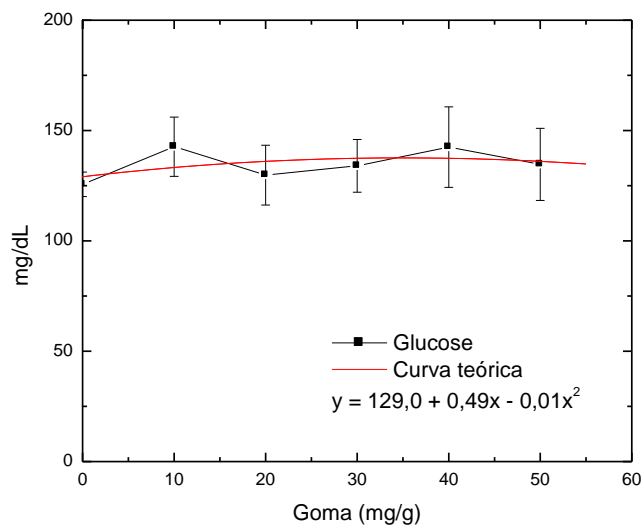


FIGURA 19 – Variação da Glicemia de ratos machos submetidos a tratamento com galactomanana de *Caesalpinia pulcherrima*.

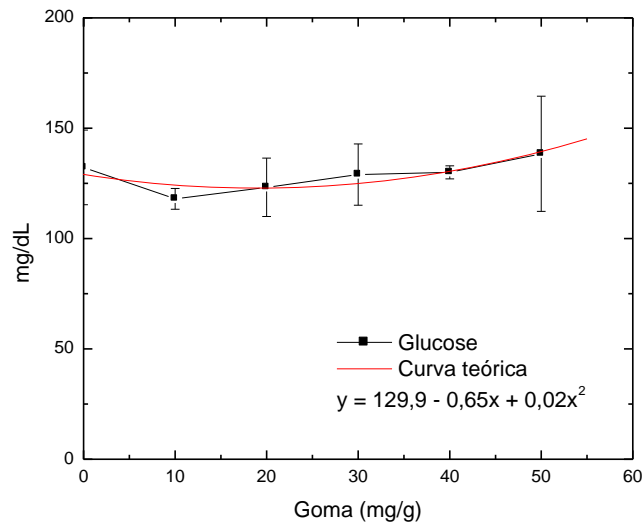


FIGURA 20 – Variação da Glicemia de ratos fêmeas submetidos a tratamento com galactomanana de *Caesalpinia pulcherrima*.

### 5.1.2.3. Colesterol Total

Ao final do experimento, os animais foram sacrificados e o sangue coletado. Foi determinado, no plasma o teor de colesterol total e os dados obtidos estão apresentados nas Figuras 21, 22, 23 e 24.

Podemos observar um comportamento normal, para os dois grupos (machos e fêmeas), para todas as doses empregadas, com valores dentro do desvio padrão obtido, indicando uma não toxicidade da goma.

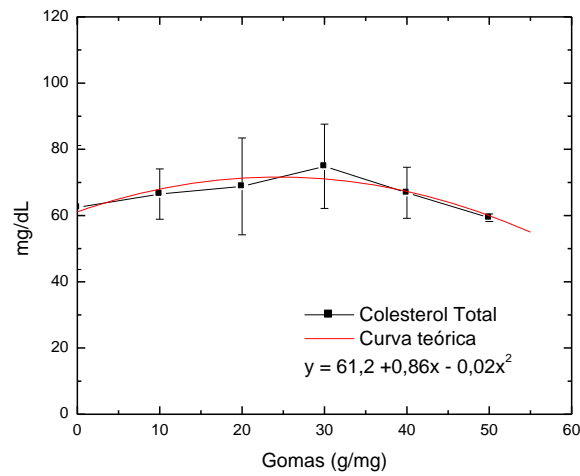


FIGURA 21 – Variação do colesterol total de ratos machos submetidos a tratamento com galactomanana de *Adenantha pavonina*.

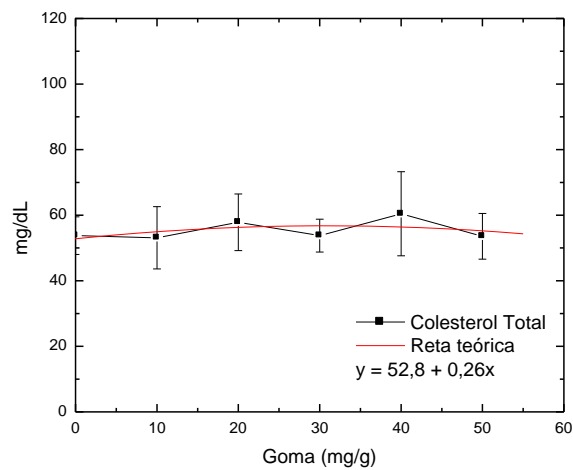


FIGURA 22 – Variação do colesterol total de ratos fêmeas submetidos a tratamento com galactomanana de *Adenantha pavonina*.

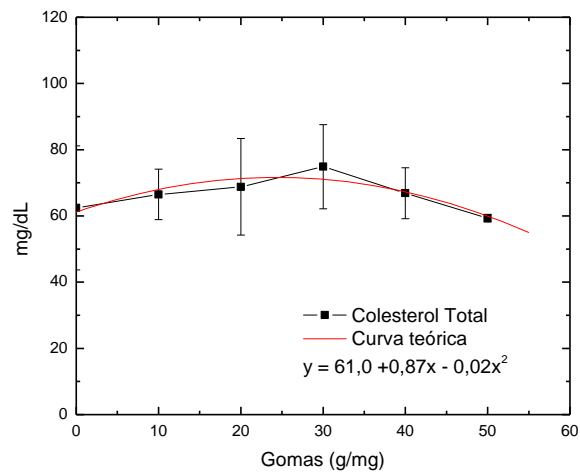


FIGURA 23 – Variação do colesterol total de ratos machos submetidos a tratamento com galactomanana de *Caesalpinia pulcherrima*.

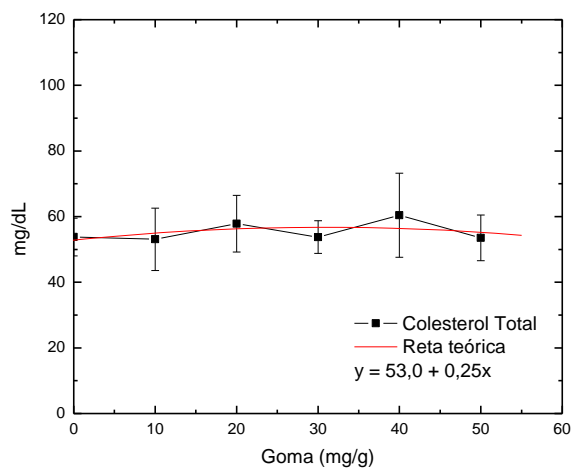


FIGURA 24 – Variação do colesterol total de ratos fêmeas submetidos a tratamento com galactomanana de *Caesalpinia pulcherrima*.

## 5.2. Espectros no Infravermelho por Reflectância Total Atenuada – ATR

O infravermelho é uma técnica de caracterização utilizada para determinação de grupamentos característicos. É uma técnica rápida e simples para identificação qualitativa de polímeros e conferir a integridade da hélice tripla do colágeno.

A análise das bandas no infravermelho de polissacarídeos é dificultada pela complexidade das moléculas. Esta dificuldade de interpretação deve-se ao grande número de interações inter e intramoleculares e ao elevado comprimento das cadeias (TEIXEIRA, 2001).

Espectros de absorção no infravermelho por ATR foram realizados para determinar os principais grupamentos presentes nos filmes, conferir a integridade da hélice tripla do colágeno e avaliar as diferenças estruturais nos filmes com a adição de diferentes concentrações de glicerol.

Os espectros resultantes apresentam as bandas características de galactomananas, comparando com os espectros de goma de alfarroba, guar (AZERO, 1999) e colágeno (GEORGE; VEIS, 1991).

A integridade da hélice tripla do colágeno pode ser demonstrada através de determinação da razão entre as absorbâncias das bandas em 1235 e 1450  $\text{cm}^{-1}$ . Estas bandas correspondem às vibrações no plano do tipo amida III, devido ao estiramento C-N e a vibração N-H, e a estereoquímica dos anéis pirrolidínicos respectivamente (GEORGE; VEIS, 1991). A banda em 1450  $\text{cm}^{-1}$  serve como padrão interno já que se mostra invariável em relação à ocorrência da desnaturação da proteína, enquanto a banda amida III é muito sensível à presença de estrutura terciária do colágeno. A integridade da hélice tripla fica demonstrada quando a razão entre as absorbâncias destas bandas ( $A_{1235}/A_{1450}$ ) é igual ou próxima a 1,0 em colágeno na forma ácida (GORDON *et al.*, 1974).

A Figura 25 apresenta o espectro no infravermelho de filmes de ColGal, em que mostra bandas típicas para amida I, em 1654  $\text{cm}^{-1}$ , devido ao estiramento da carbonila, e bandas de amida II, em 1552  $\text{cm}^{-1}$ , devido às vibrações no plano da ligação N-H e ao estiramento de C-N. As bandas referentes às vibrações no plano do tipo amida III, devido ao estiramento C-N e à vibração N-H, e a estereoquímica dos anéis pirrolidínicos aparecem nas regiões de 1247 e 1460  $\text{cm}^{-1}$  respectivamente. A razão como demonstrada a  $A_{1235}/A_{1450} \cong 1$  confirma a integridade estrutural do colágeno obtido.



As bandas observadas na região de 3000 a 3500  $\text{cm}^{-1}$  representam o estiramento O-H, a região de 2800 a 2900  $\text{cm}^{-1}$  referem-se à ligação C-H. As bandas na região entre 900 a 1350  $\text{cm}^{-1}$  são referentes às deformações angulares e axiais de ligações simples C-O, C-C-H e C-O-H. As bandas em 812 e 866  $\text{cm}^{-1}$  são indicativo da presença de unidades de  $\alpha$ -D-galactopirranose e unidades de  $\beta$ -D-manopirranose, respectivamente. Estas bandas são características de galactomananas e estão em concordância ao espectro obtido por AZERO (1999).

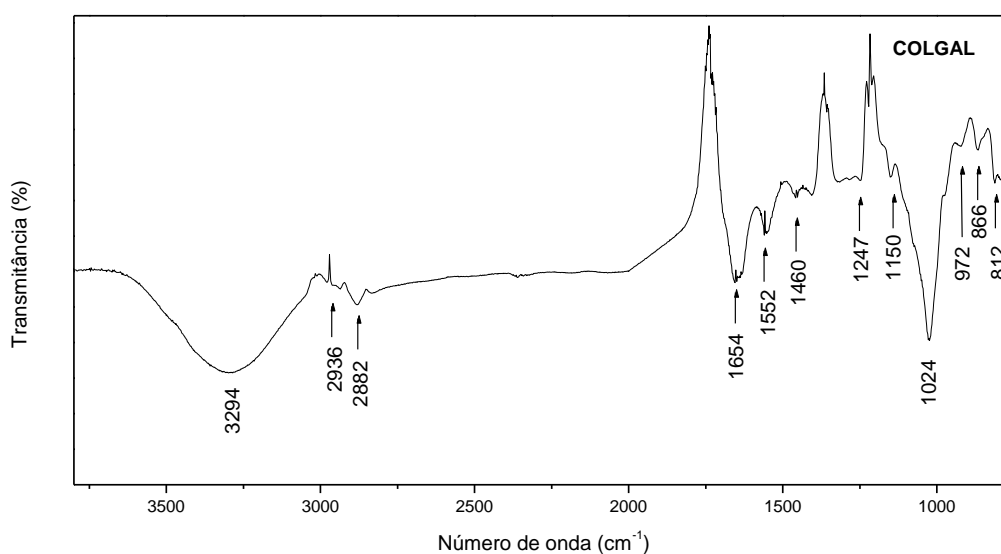


FIGURA 25 – Espectro de absorção no infravermelho de filmes de ColGal.

As Figuras 26, 27 e 28 mostram respectivamente os espectros no infravermelho para filmes de ColGal-gli 1,00%, ColGal-gli 2,50% e ColGal-gli 6,00%. As bandas típicas de colágeno (amida I, II e III) aparecem nas mesmas regiões em todos os espectros. As relações,  $A_{1235}/A_{1450}$  para os filmes de ColGal-gli 1,00%, ColGal-gli 2,50% e ColGal-gli 6,00%, respectivamente foram 1,1; 0,95 e 0,8 demonstrando a manutenção da integridade estrutural do colágeno quando misturado a galactomanana e ao glicerol. Nos espectros são conservadas as bandas típicas de galactomananas.

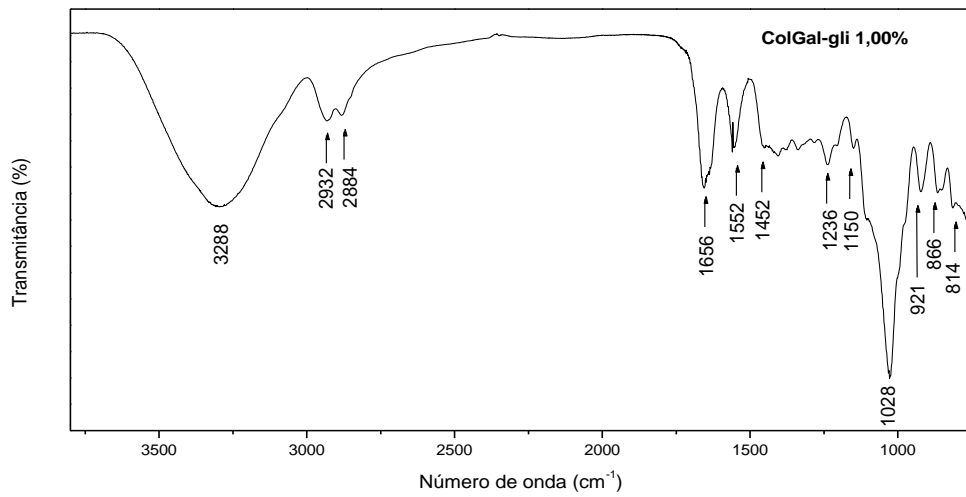


FIGURA 26 – Espectro de absorção no infravermelho de filmes de ColGal-gli 1,00%.

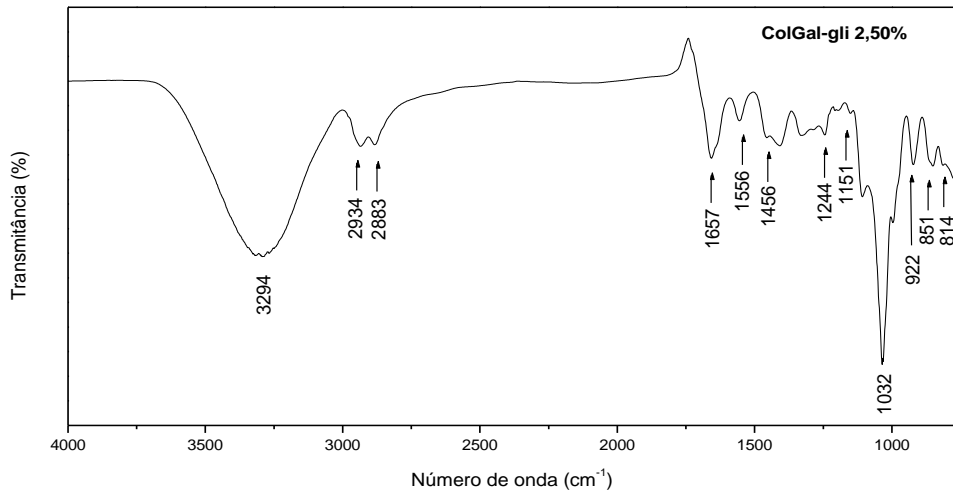


FIGURA 27 – Espectro de absorção no infravermelho de filmes de ColGal-gli 2,50%.

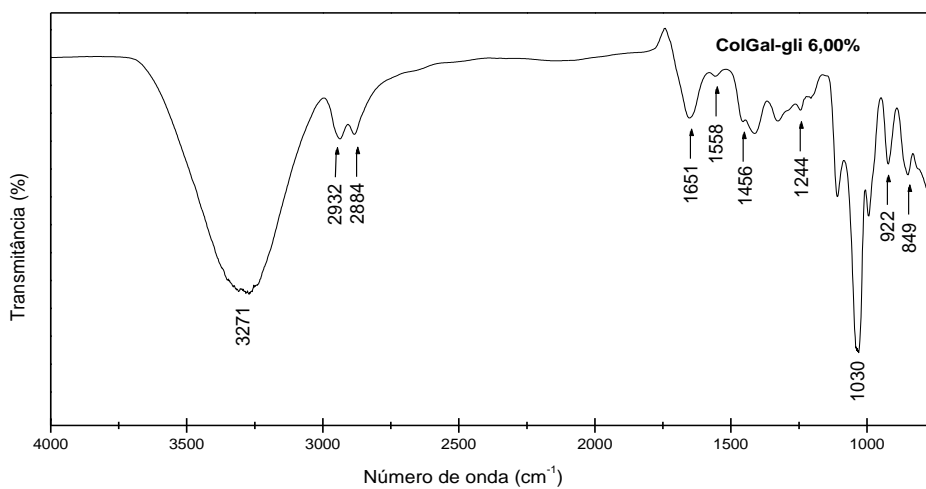


FIGURA 28 – Espectro de absorção no infravermelho de filmes de ColGal-gli 6,00%.

Comparando-se os espectros dos filmes com o aumento da concentração de glicerol, verifica-se um aumento de intensidade dos picos na região de 3000 a 3500  $\text{cm}^{-1}$  devido ao estiramento O-H e na região de 2800 a 2900  $\text{cm}^{-1}$  referente à ligação C-H, o que indica a presença do glicerol nos filmes.

### 5.3. Termogravimetria (TG)

A análise termogravimétrica permite observar a perda de massa em função da temperatura. Esta técnica é utilizada para caracterizar a estabilidade térmica de polímeros a várias condições experimentais.

A Figura 29 mostra os termogramas para os filmes de ColGal, ColGal-gli 1,00%, ColGal-gli 2,50% e ColGal-gli 6,00%, na proporção (1:1) de Colágeno-Galactomanana de *Adenanthera pavonina*.

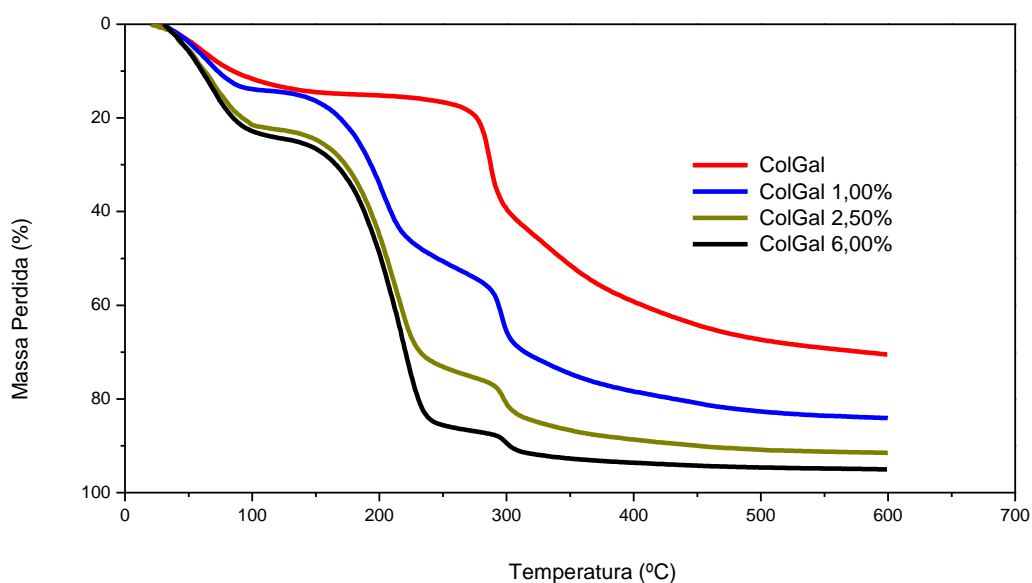


FIGURA 29 – Termogramas dos filmes de ColGal e ColGal-gli.

Observamos nas curvas de TG perda de massa de 11,7, 13,9, 21,5 e 22,9% para os filmes de ColGal, ColGal-gli 1,00%, ColGal-gli 2,50% e ColGal-gli 6,00%, respectivamente, da temperatura ambiente até aproximadamente 100 °C. Relaciona-se esta perda à umidade existente nos filmes, pode-se perceber uma semelhança nas curvas dos filmes com 2,50 e 6,00% de glicerol, indicando que o aumento na concentração de glicerol a partir de 2,50% não produz efeitos pronunciados em termos de umidade dos filmes. Pode-se observar ainda acentuada perda de massa nos filmes com glicerol na temperatura a partir de 180 °C, sendo de 23,7, 32,9, e 35,8% para os filmes de ColGal-gli 1,00%, ColGal-gli 2,50% e ColGal-gli 6,00%, respectivamente, esta perda deve estar relacionada com a saída da água que faz parte da estrutura interna dos polímeros. Continuando a análise das curvas, observamos uma transição somente nos filmes aditivados com glicerol, no intervalo de temperatura de 290 a 300 °C, com perda de 57,8, 77,2 e 87,7% em massa para os filmes com 1,00, 2,50 e 6,00% de glicerol, respectivamente, esta transição deve estar relacionada com a degradação térmica do glicerol, que tem ponto de ebulição em 290 °C e conseqüente degradação dos polímeros.

#### **5.4. Absorção de Umidade**

Foram feitas medidas de absorção de umidade para os filmes de ColGal-gli com o objetivo de avaliar o comportamento da taxa de absorção com o aumento da concentração de glicerol.

A Figura 30 mostra as curvas de absorção de umidade para filmes aditivados com 1,00 e 6,00% de glicerol, em que podemos observar uma transição no filme com 6,00% de glicerol no tempo de 360 min e absorção de 67% de umidade, o mesmo ocorrendo com o filme com 1,00% de glicerol, porém neste a transição ocorre num tempo de 110 min e absorção de 83%. Esta transição deve estar relacionada com diferentes formas de absorção, uma vez que, temos nos filmes diferentes materiais.

Podemos perceber que o aumento na concentração do glicerol provoca uma diminuição da taxa de absorção de umidade, como visto nas curvas de TG, a umidade dos filmes cresce com o aumento da concentração de glicerol, tendo, portanto, uma menor capacidade de absorção, indicando certa saturação de umidade dos filmes.

A redução das interações intermoleculares entre as cadeias dos biopolímeros por parte do glicerol produz interfaces ativas que aumentam a retenção de água entre as matrizes internas de suas moléculas.

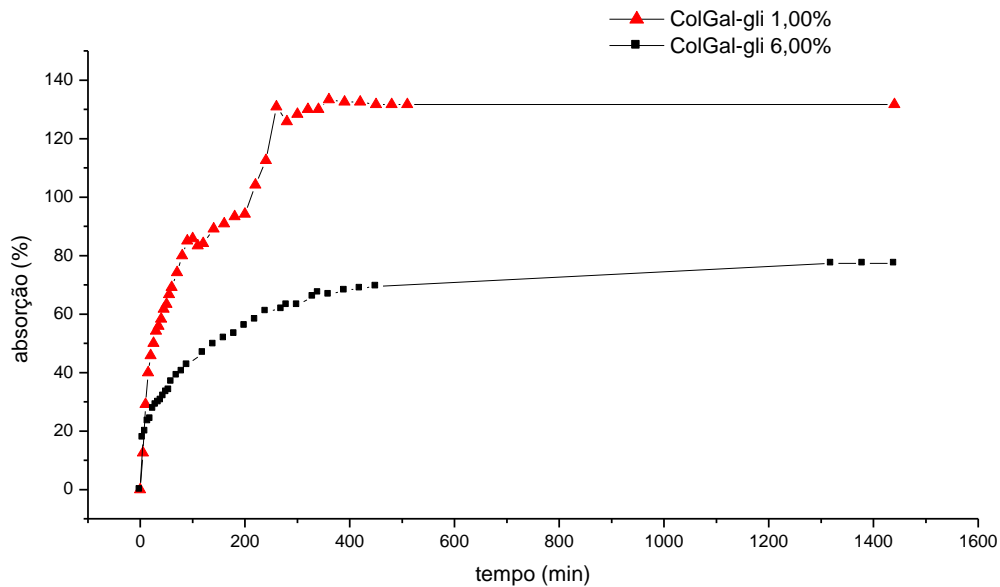


FIGURA 30 – Curvas de absorção de umidade para filmes de ColGal-gli.

## 5.5. Ensaio de Viscosidade (Viscosidade Relativa)

A Viscosidade Relativa das soluções e das misturas foi realizada com o objetivo de entender o comportamento viscosimétrico após a mistura dos constituintes e encontrar a melhor formulação de Colágeno-Galactomanana para propor como uso no revestimento comestível de frutos.

### 5.5.1. Viscosidade Relativa da Solução de Colágeno

As moléculas de colágeno formam soluções muito viscosas, estáveis em meio ácido, pH 3,5, à baixa força iônica e à temperatura ambiente. As viscosidades relativas das soluções foram determinadas para diferentes concentrações de colágeno para se obter os

níveis extremos e utilizá-los para montagem do fatorial usado no Delineamento Composto Central Rotacional (DCCR).

A Figura 31 mostra o comportamento da viscosidade relativa de soluções de colágeno com o aumento da concentração da proteína. Observa-se que as soluções de concentração inferior a 0,75 mg/g apresentam baixas viscosidades, sendo praticamente o valor da viscosidade do solvente. A curva teórica foi obtida por Fit Polinomial de segunda ordem.

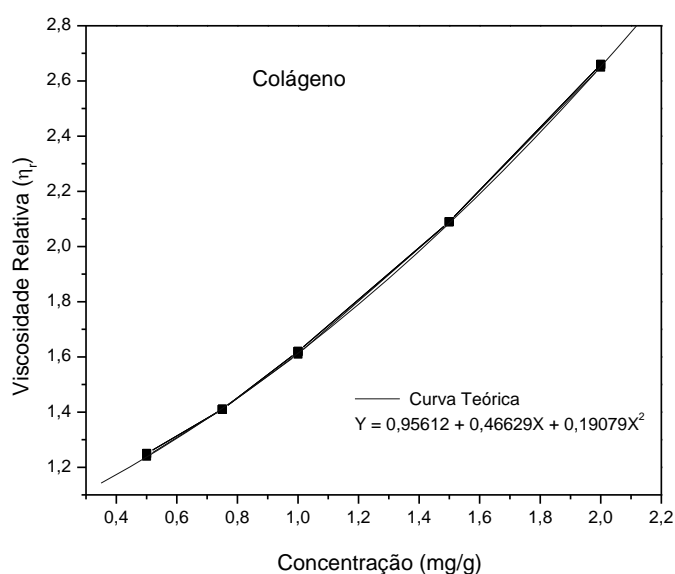


FIGURA 31 – Efeito da concentração na viscosidade relativa da solução de colágeno.

### 5.5.2. Viscosidade Relativa da Solução de Galactomanana de *A. pavonina*

A Figura 32 mostra o comportamento da viscosidade relativa de soluções de galactomanana de *Adenantha pavonina* com o aumento da concentração. Observa-se que a solução deste polissacarídeo apresenta viscosidade bastante superior à solução de colágeno nas mesmas concentrações, resultado esperado, visto que além das ramificações que apresentam este polissacarídeo, ocorrem ainda inúmeras interações nas suas cadeias adjacentes. A curva teórica foi obtida por Fit Polinomial de segunda ordem.

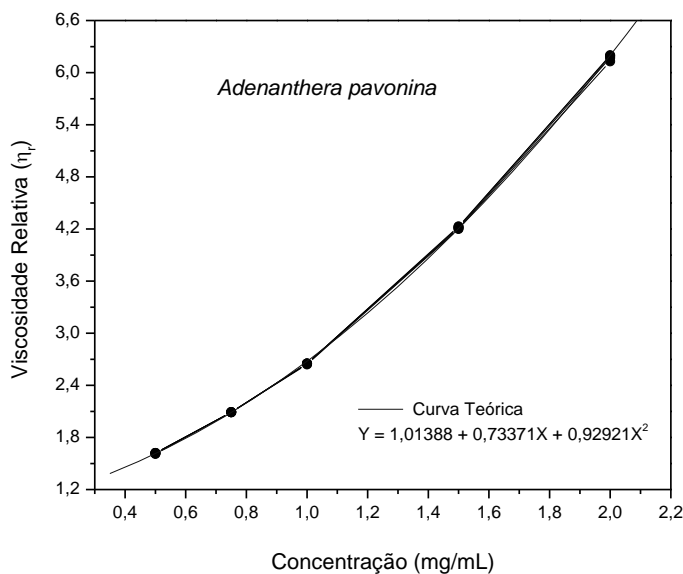


FIGURA 32 – Efeito da concentração na viscosidade relativa da solução de galactomanana de *Adenantha pavonina*.

### 5.5.3. Viscosidade Relativa da Solução de Galactomanana de *C. pulcherrima*

A Figura 33 mostra o comportamento da viscosidade relativa de soluções de galactomanana de *Caesalpinia pulcherrima* com o aumento da concentração. Em comparação com as viscosidades das soluções de colágeno e de galactomanana de *A. pavonina*, pudemos observar que nas mesmas concentrações este polissacarídeo é o que apresenta a maior viscosidade, isto deve estar relacionado ao fato de que este polímero apresenta maior relação Man/Gal (2,8:1) quando comparado com a relação Man/Gal de *A. pavonina* (1,8:1), conseqüentemente possibilitando ao polissacarídeo de *Caesalpinia* uma maior intensidade nas interações entre suas cadeias poliméricas. A curva teórica foi obtida por Fit Polinomial de segunda ordem.

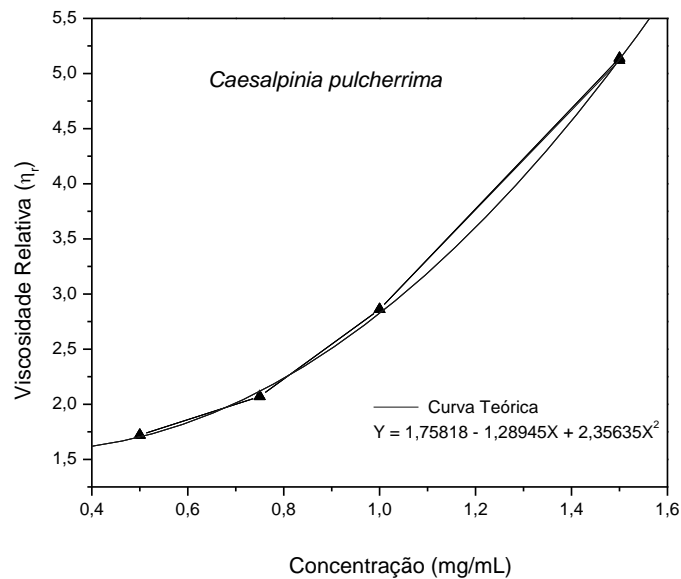


FIGURA 33 – Efeito da concentração na viscosidade relativa da solução de galactomanana de *Caesalpinia pulcherrima*.

A Figura 34 compara a viscosidade relativa das três soluções e como já visto anteriormente a solução de galactomanana de *C. pulcherrima* é que apresenta a maior viscosidade, seguido da solução de galactomanana de *A. pavonina* e de colágeno, com esses resultados pode-se escolher as melhores concentrações para montagem do fatorial e do planejamento experimental para análise do tempo de escoamento das misturas e observar a influência de cada variável nesse tempo e ainda verificar se ocorre interação entre as variáveis, colágeno e galactomanana.

Os níveis utilizados e os ensaios experimentais deste planejamento estão apresentados nas Tabelas 2, 3, 4 e 5 respectivamente.



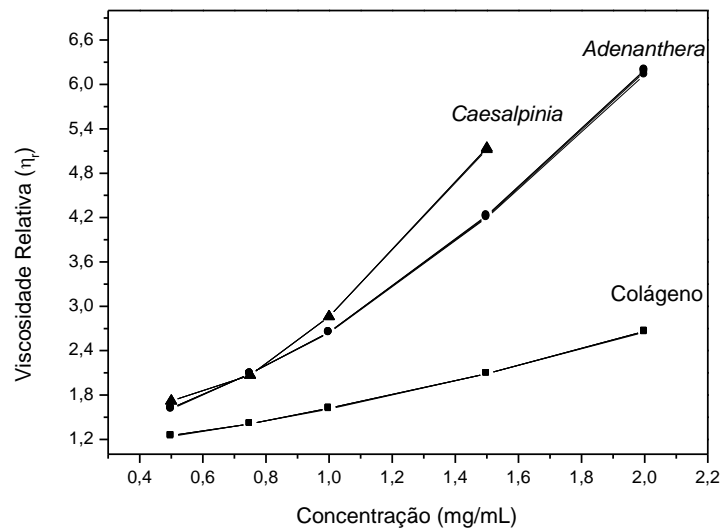


FIGURA 34 – Efeito da concentração na viscosidade relativa das soluções de colágeno e galactomananas de *Caesalpinia pulcherrima* e *Adenantha pavonina*.

### 5.6. Otimização da Viscosidade Relativa ( $\eta_r$ ) das Misturas ColGal Por Planejamento Experimental

As condições para maximização de ensaios de viscosidade das misturas de Colágeno-Galactomanana foram determinadas usando Designer Experimental. Os efeitos da variação da concentração de colágeno e galactomanana na viscosidade relativa das misturas foram verificados usando superfície de resposta e curva de contorno.

O uso do Designer Fatorial e a Superfície de Resposta são importantes para determinar as ótimas concentrações de Colágeno-Galactomanana para efeitos desejáveis da viscosidade relativa das misturas.

Os limites de concentrações estabelecidos foram determinados por análises das viscosidades relativas das soluções de colágeno, galactomanana de *Caesalpinia pulcherrima* e *Adenantha pavonina*, tendo como base a maior e a menor concentração capaz de ter boa reprodutibilidade nas leituras.

Observa-se que conforme as concentrações das soluções de colágeno e galactomanana as viscosidades variaram de aproximadamente 1,2 a 6,0, temos que em baixas

concentrações observa-se praticamente somente a viscosidade do solvente (CH<sub>3</sub>COOH 0,1%) e em maiores concentrações há impossibilidade operacional do equipamento que faz as análises, como entupimento do capilar do viscosímetro, portanto, foram escolhidos níveis de concentração para cada solução em função desses parâmetros.

**5.6.1. TABELA 2 – Valores Utilizados no DCCR Para Viscosidade Relativa das Misturas de Colágeno e Galactomanana de *Adenantha pavonina***

Variável	-1,41	-1	0	+1	+1,41
<b>Colágeno (mg/g)</b>	0,75	0,94	1,40	1,86	2,00
<i>Adenantha</i> (mg/mL)	0,75	0,85	1,10	1,40	1,50

**5.6.2. TABELA 3 – Valores Utilizados no DCCR Para Viscosidade Relativa das Misturas de Colágeno e Galactomanana de *Caesalpinia pulcherrima***

Variável	-1,41	-1	0	+1	+1,41
<b>Colágeno (mg/g)</b>	0,75	0,94	1,40	1,86	2,00
<i>Caesalpinia</i> (mg/mL)	0,50	0,57	0,75	0,93	1,00

**5.6.3. TABELA 4 – Planejamento Fatorial, Valores Codificados e Originais das Variáveis de Estudo (Concentração de Colágeno e Galactomanana de *Adenanthera pavonina*) e Respostas (Viscosidade Relativa)**

Ensaio	Valores Codificados		Valores Reais		Viscosidade Relativa
	Colágeno (mg/g)	<i>Adenanthera</i> (mg/mL)	Colágeno (mg/g)	<i>Adenanthera</i> (mg/mL)	
1	-1	-1	0,94	0,85	3,13
2	1	-1	1,86	0,85	4,87
3	-1	1	0,94	1,40	6,57
4	1	1	1,86	1,40	9,14
5	-1,41	0	0,75	1,10	4,20
6	1,41	0	2,00	1,10	7,50
7	0	-1,41	1,40	0,75	3,70
8	0	1,41	1,40	1,50	9,51
9	0	0	1,40	1,10	5,44
10	0	0	1,40	1,10	5,43
11	0	0	1,40	1,10	5,43
12	0	0	1,40	1,10	5,43

**5.6.4. TABELA 5 – Planejamento Fatorial, Valores Codificados e Originais das Variáveis de Estudo (Concentração de Colágeno e Galactomanana de *Caesalpinia pulcherrima*) e Respostas (Viscosidade Relativa).**

Ensaio	Valores Codificados		Valores Reais		Viscosidade Relativa
	Colágeno (mg/g)	<i>Caesalpinia</i> (mg/mL)	Colágeno (mg/g)	<i>Caesalpinia</i> (mg/mL)	
1	-1	-1	0,94	0,57	2,78
2	1	-1	1,86	0,57	4,61
3	-1	1	0,94	0,93	3,67
4	1	1	1,86	0,93	6,01
5	-1,41	0	0,75	0,75	3,38
6	1,41	0	2,00	0,75	5,46
7	0	-1,41	1,40	0,50	3,65
8	0	1,41	1,40	1,00	4,92
9	0	0	1,40	0,75	3,78
10	0	0	1,40	0,75	3,79
11	0	0	1,40	0,75	3,79
12	0	0	1,40	0,75	3,79

Através dos resultados é possível avaliar um modelo matemático para a viscosidade relativa das misturas ColGal.

Foram considerados significativos os processos (tabelas 6 e 7) com p – valores menores que 5% ( $p < 0,05$ ), limite de confiança de 95%. Assim todos os termos foram significativos.

Nas tabelas de coeficientes de regressão (6 e 7) os termos lineares estão associados à letra L e os termos quadráticos com a letra Q.

O modelo com as variáveis codificadas que representa a viscosidade relativa em função da concentração de colágeno e galactomanana de *Caesalpinia pulcherrima* na faixa estudada, está demonstrado abaixo:

$$\text{Viscosidade Relativa} = 3,79 + 0,89 \text{ Col} + 0,29 \text{ Col}^2 + 0,51 \text{ Gal} + 0,23 \text{ Gal}^2 + 0,13 \text{ Col Gal}$$

**5.6.5. TABELA 6 – Coeficientes de Regressão Para a Resposta da Viscosidade Relativa das Misturas Colágeno-Galactomanana de *Caesalpinia pulcherrima*.**

Fatores	Coefficiente de regressão	Erro padrão	p – valor	Lim. de conf. -95%	Lim. de conf. +95%
Média	3,79	0,002	< 0,00001	3,78	3,80
Colágeno (L)	0,89	0,002	< 0,00001	0,88	0,89
Colágeno (Q)	0,29	0,002	< 0,00001	0,29	0,30
<i>Caesalpinia</i> (L)	0,51	0,002	< 0,00001	0,51	0,52
<i>Caesalpinia</i> (Q)	0,23	0,002	< 0,00001	0,22	0,23
Col x Gal	0,13	0,002	< 0,00002	0,12	0,14

O modelo com as variáveis codificadas que representa a viscosidade relativa em função da concentração de colágeno e galactomanana de *Adenantha pavonina* na faixa estudada, está demonstrado abaixo:

$$\text{Viscosidade Relativa} = 5,43 + 1,12 \text{ Col} + 0,13 \text{ Col}^2 + 1,99 \text{ Gal} + 0,51 \text{ Gal}^2 + 0,21 \text{ Col Gal}$$

**5.6.6. TABELA 7 – Coeficientes de Regressão Para a Resposta da Viscosidade Relativa das Misturas Colágeno-Galactomanana de *Adenantha pavonina*.**

Fatores	Coefficiente de regressão	Erro padrão	p – valor	Lim. de conf. -95%	Lim. de conf. +95%
Média	5,43	0,002	< 0,00001	5,42	5,44
Colágeno (L)	1,12	0,002	< 0,00001	1,12	1,13
Colágeno (Q)	0,13	0,002	< 0,00001	0,13	0,14
<i>Adenantha</i> (L)	1,99	0,002	< 0,00001	1,99	2,00
<i>Adenantha</i> (Q)	0,51	0,002	< 0,00001	0,50	0,52
Col x Gal	0,21	0,002	< 0,00001	0,20	0,22

Através das superfícies de resposta geradas pelos modelos (Figura 35 e 36), podem-se obter as concentrações de colágeno e galactomanana que resultam em maior viscosidade relativa. É possível verificar através das superfícies e curvas de contorno que para a concentração de colágeno a faixa ótima é de 2,0 a 2,2 mg/g e para a concentração de galactomanana de *C. pulcherrima* está entre 1,1 e 1,2 mg/mL. As condições ótimas poderiam ser obtidas derivando-se as equações para se obter os pontos críticos. No entanto, a análise de superfície de resposta, nome da metodologia empregada, é muito importante, pois visualiza o quanto é significativo ou não o processo.

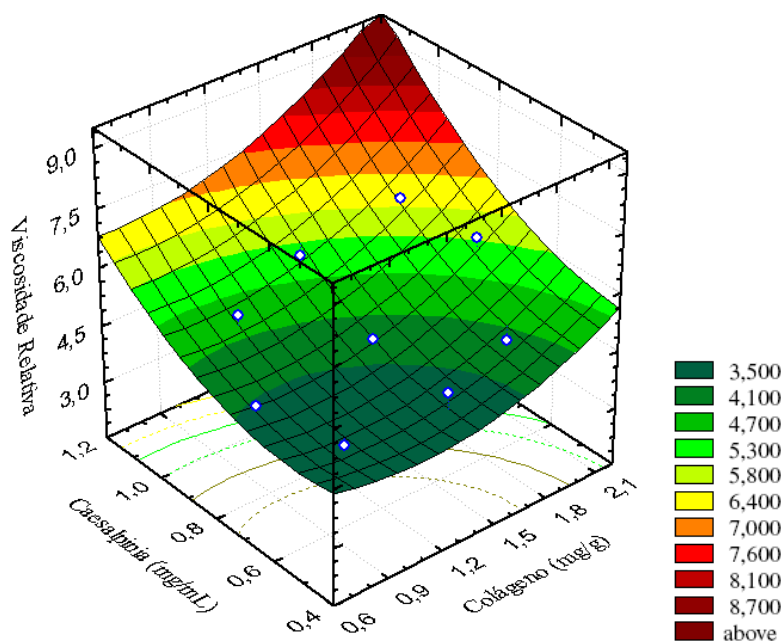


FIGURA 35 – Superfície de resposta para a viscosidade relativa em função da concentração de colágeno e galactomanana de *Caesalpinia pulcherrima*.

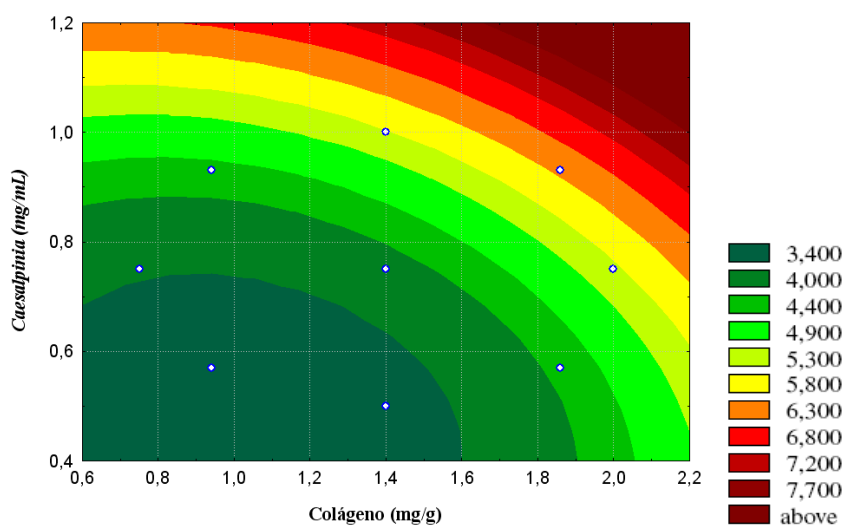


FIGURA 36 – Curvas de contorno para a viscosidade relativa em função da concentração de colágeno e galactomanana de *Caesalpinia pulcherrima*.

Quando analisamos a superfície de resposta e as curvas de contorno (Figuras 37 e 38) das misturas preparadas a partir de colágeno e galactomanana de *A. pavonina* observamos que as condições máximas de viscosidade para colágeno apresenta uma faixa semelhante às misturas preparadas com galactomanana de *C. pulcherrima* sendo de 2,0 a 2,2 mg/g, porém para galactomanana de *A. pavonina* há um aumento na concentração comparado com a de *C. pulcherrima*, sendo de 1,4 a 1,6 mg/mL, porém é observado ainda diferença quanto a

viscosidade quando comparadas as duas misturas, resultado esperado, uma vez que as faixas de concentração utilizadas para as galactomananas foram diferentes, em virtude da maior viscosidade da *C. pulcherrima*.

Analisando as Tabelas 6 e 7, observamos que ocorreu interação positiva (sinergismo) entre os constituintes das misturas, visto que para a interação Col x Gal de *Caesalpinia pulcherrima* tivemos um coeficiente de regressão de 0,30 e um ligeiro decréscimo na interação Col x Gal de *Adenantha pavonina* com coeficiente de regressão de 0,21. Os resultados mostram que a variável que mais contribui para o aumento da viscosidade relativa das misturas Col x Gal de *A. pavonina* são as galactomananas. Um incremento na concentração de galactomanana (nível -1 para +1) conduziu a um acréscimo na viscosidade relativa. Por outro lado nas misturas de Col x Gal de *C. pulcherrima* a influência da galactomanana não foi tão significativa, nessa mistura o colágeno apresentou-se como variável que mais contribui para o aumento da viscosidade. Esta diferença deve estar relacionado ao fato de que esses polissacarídeos apresentam razões de Man/Gal bastante diferentes (*C. pulcherrima* 2,8:1 e *A. pavonina* 1,8:1), conseqüentemente proporcionando diferentes formas de interações inter e intra-molecular entre o colágeno e entre as próprias galactomananas.

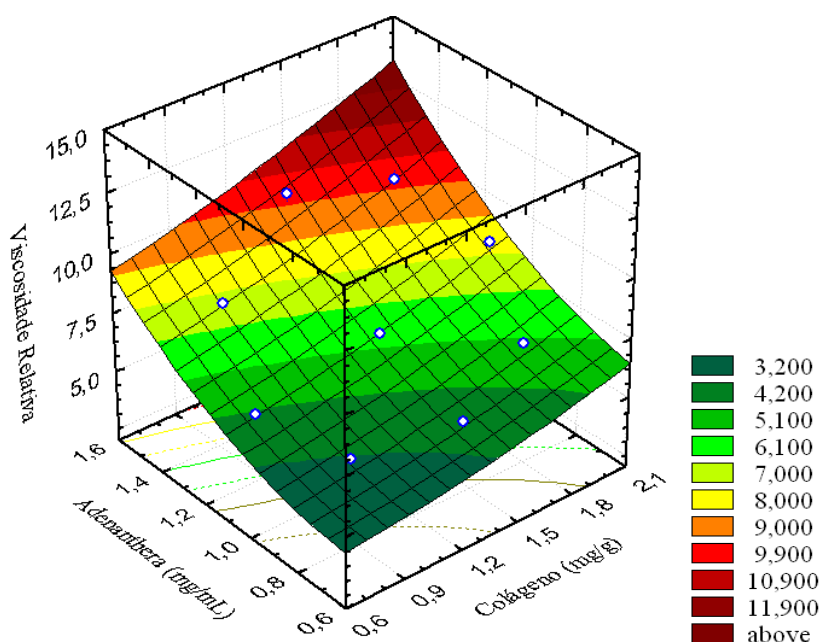


FIGURA 37 – Superfície de resposta para a viscosidade relativa em função da concentração de colágeno e galactomanana de *Adenantha pavonina*.

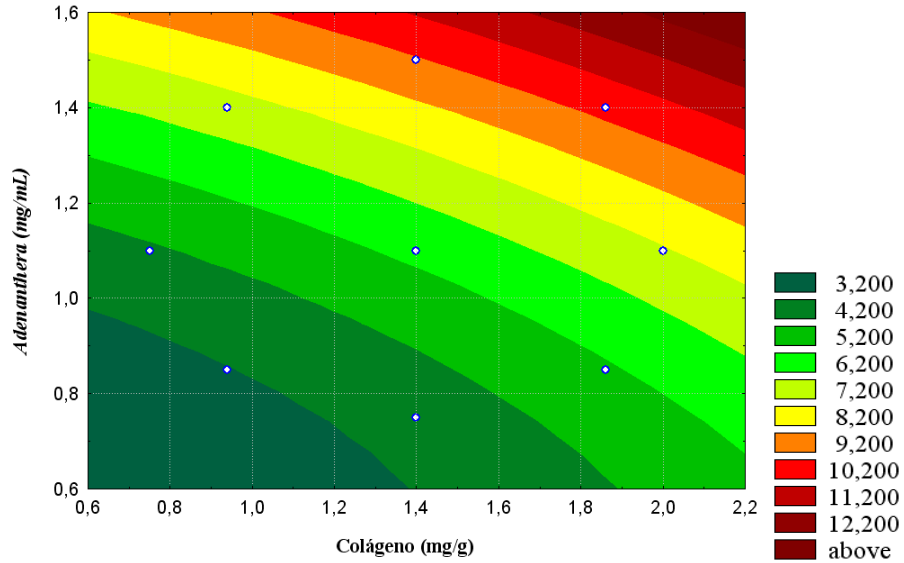


FIGURA 38 – Curvas de contorno para a viscosidade relativa em função da concentração de colágeno e galactomanana de *Adenanthera pavonina*.

### 5.7. Capacidade Molhante (Molhabilidade)

A capacidade molhante ( $W_s$ ) de um sólido por um líquido é determinado pelo balanço entre as forças adesivas (trabalho de adesão:  $W_a$ ) do líquido no sólido e as forças coesivas (trabalho de coesão:  $W_c$ ) do líquido. As forças adesivas fazem o líquido se espalhar sobre a superfície do sólido, enquanto as forças coesivas fazem com ele se comprima.

Na preparação de soluções de revestimento é ideal que estas apresentem uma boa molhabilidade para que a solução possa revestir toda a superfície do fruto e manter-se coesa.



### 5.7.1. Misturas ColGal de *Caesalpinia pulcherrima* Analisadas em Manga

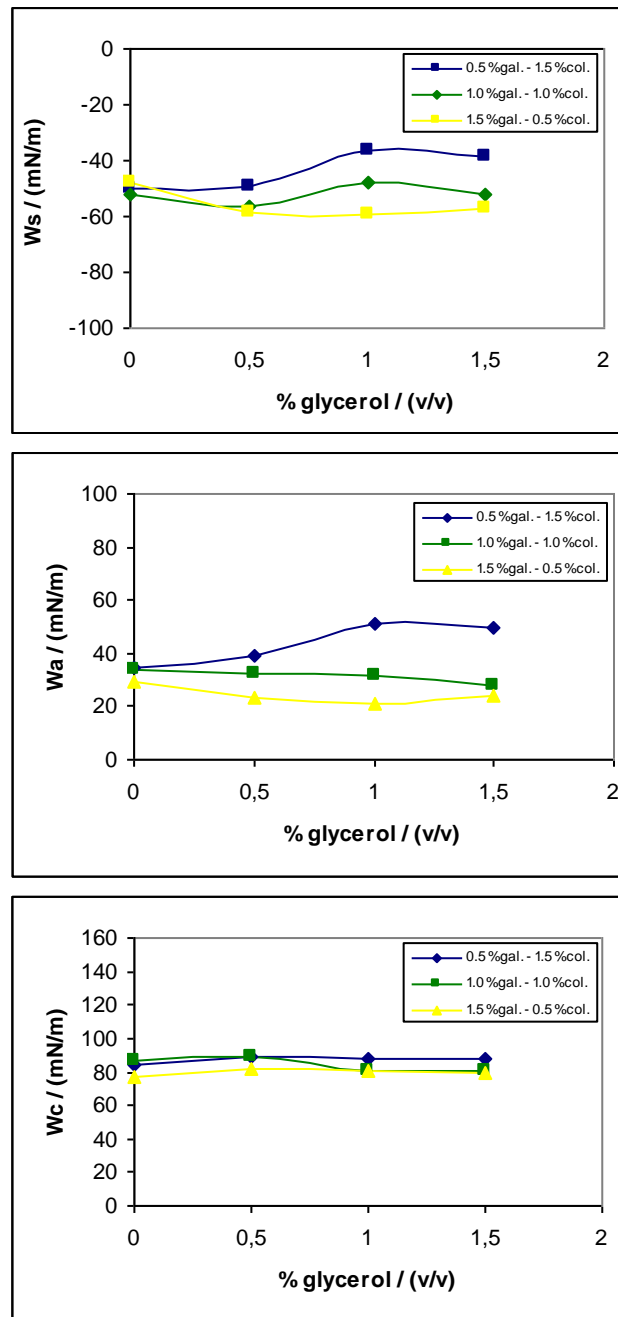


FIGURA 39 – Variação da capacidade molhante ( $W_s$ ), do coeficiente de adesão ( $W_a$ ), coeficiente de coesão ( $W_c$ ) dos revestimentos de diferentes proporções de ColGal de *Caesalpinia pulcherrima*, em manga, em função da percentagem de glicerol.

### 5.7.2. Misturas ColGal de *Adenanthera pavonina* Analisadas em Manga

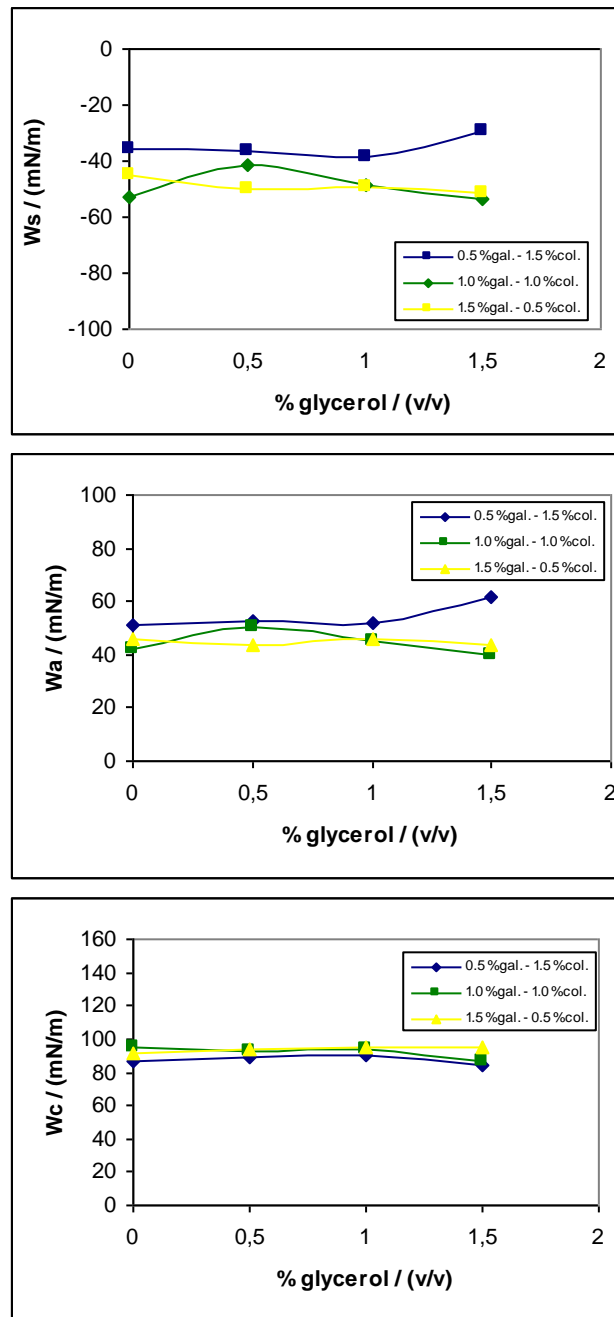


FIGURA 40 – Variação da capacidade molhante ( $W_s$ ), do coeficiente de adesão ( $W_a$ ), coeficiente de coesão ( $W_c$ ) dos revestimentos de diferentes proporções de ColGal de *Adenanthera pavonina*, em manga, em função da percentagem de glicerol.

### 5.7.3. Misturas ColGal de *Caesalpinia pulcherrima* Analisadas em Maçã

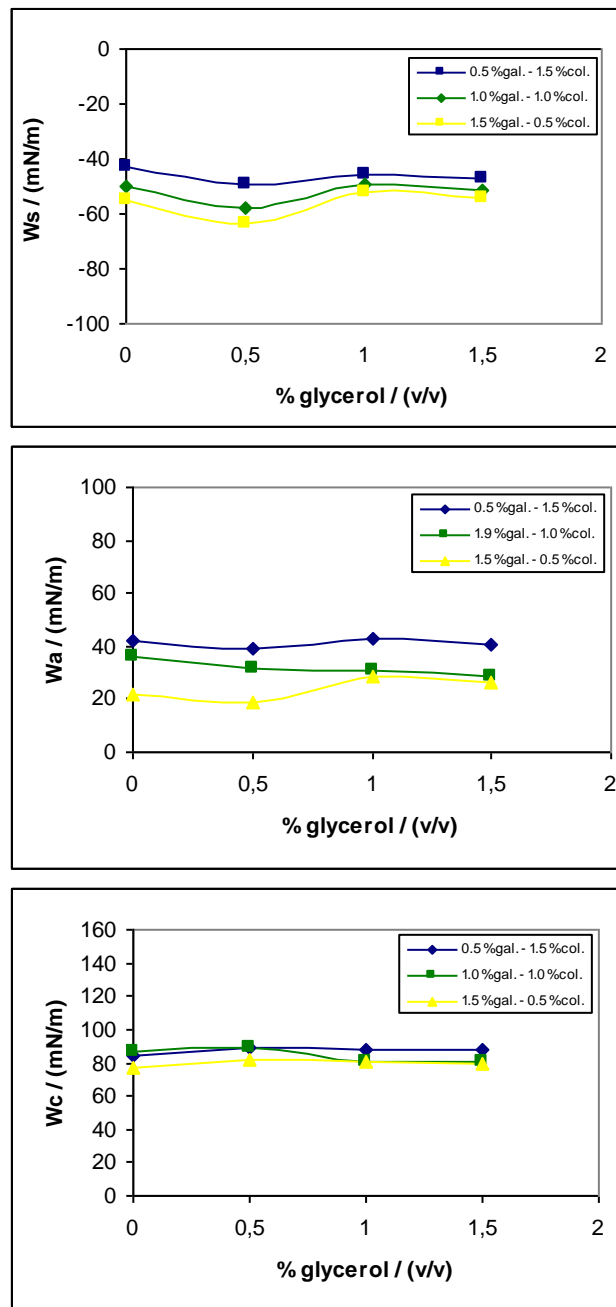


FIGURA 41 – Variação da capacidade molhante ( $W_s$ ), do coeficiente de adesão ( $W_a$ ), coeficiente de coesão ( $W_c$ ) dos revestimentos de diferentes proporções de ColGal de *Caesalpinia pulcherrima*, em maçã, em função da percentagem de glicerol.

#### 5.7.4. Misturas ColGal de *Adenanthera pavonina* Analisadas em Maçã

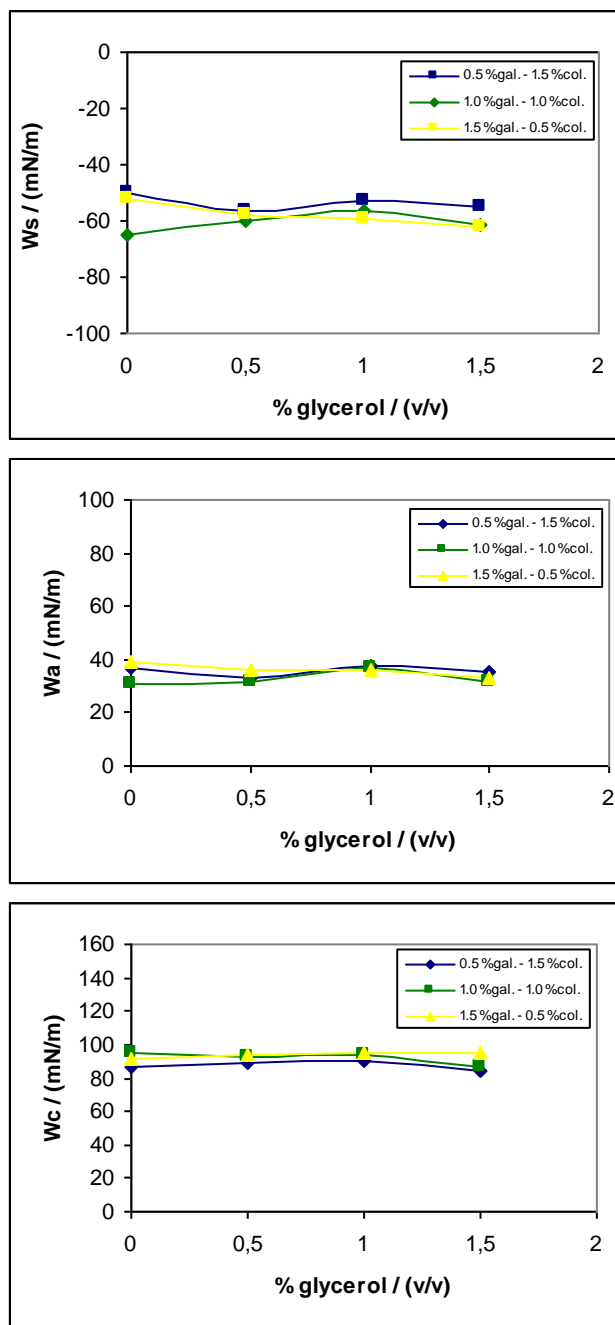


FIGURA 42 – Variação da capacidade molhante ( $W_s$ ), do coeficiente de adesão ( $W_a$ ), coeficiente de coesão ( $W_c$ ) dos revestimentos de diferentes proporções de ColGal de *Adenanthera pavonina*, em maçã, em função da percentagem de glicerol.

Analisando os gráficos das Figuras 39, 40, 41 e 42 observa-se os melhores resultados para capacidade molhante ( $W_s$ ) das blendas analisados em manga e maçã, este resultados estão representados a seguir:

➤ **Melhores Valores de Ws analisados em Manga com:**

• **Misturas ColGal de *Caesalpinia pulcherrima***

-36,5981 (0,5% Galactomanana – 1,5% Colágeno – 1% Glicerol)

-38,3849 (0,5% Galactomanana – 1,5% Colágeno – 1,5% Glicerol)

• **Misturas ColGal de *Adenantha pavonina***

-35,8671 (0,5% Galactomanana – 1,5% Colágeno – 0% Glicerol)

-29,0697 (0,5% Galactomanana – 1,5% Colágeno – 1,5% Glicerol)

➤ **Melhores Valores de Ws analisados em Maçã com:**

• **Misturas ColGal de *Caesalpinia pulcherrima***

-42,7864 (0,5% Galactomanana – 1,5% Colágeno – 0% Glicerol)

-45,4606 (0,5% Galactomanana – 1,5% Colágeno – 1 % Glicerol)

-47,488 (0,5% Galactomanana – 1,5% Colágeno – 1,5 % Glicerol)

• **Misturas ColGal de *Adenantha pavonina***

-50,0103 (0,5% Galactomanana – 1,5% Colágeno – 0% Glicerol)

-52,1074 (1,5% Galactomanana – 0,5% Colágeno – 0 % Glicerol)

-53,2064 (0,5% Galactomanana – 1,5% Colágeno – 1,0 % Glicerol)

-55,2064 (0,5% Galactomanana – 1,5% Colágeno – 1,5 % Glicerol)

Analisando os resultados obtidos para os coeficientes de adesão, coesão e espalhamento em simultâneo pode considerar que a capacidade molhante é otimizada com 1% (v/v) de glicerol, porém estes valores são aproximadamente constantes, parecendo indicar que a variação da percentagem deste plastificante não produz grandes alterações nestes parâmetros.

Observa-se ainda pequenas alterações nos parâmetros mencionados quando ocorrem variações nas proporções de colágeno e galactomanana, dessa forma, temos que a maior influência nos parâmetros está na concentração de colágeno das misturas, visto que os melhores resultados de molhabilidade para as frutas analisadas mostram uma proporção de 0,5% de Gal com 1,5% de colágeno.

## 6. CONCLUSÕES

---

Dos resultados apresentados neste trabalho podemos concluir que:

- Os polissacarídeos podem ser extraídos de sementes de uma forma rápida e barata, podendo ser aplicadas como revestimentos
- A galactomanana isolada do endosperma de sementes de *Adenanthera pavonina* e *Caesalpinia pulcherrima* não apresentaram toxicidade aguda e subcrônica, ou seja, nas condições experimentais a galactomanana não apresentou riscos potenciais para a saúde quando administrada por via oral resultante de uma exposição de doses repetidas por um período de tempo limitado (90 dias).
- A solução de Colágeno-Galactomanana quando aditivados com glicerol nas concentrações de 1,00, 2,50 e 6,00%, formam filmes.
- A integridade estrutural do colágeno nos filmes é mantida após a adição do glicerol.
- A taxa de absorção de umidade dos filmes diminui com o aumento da concentração do glicerol.
- A umidade dos filmes cresce com o aumento da concentração do glicerol.
- A partir de 2,50% de glicerol temos uma saturação de água nas cadeias internas dos filmes, resultando dessa forma, uma diminuição da absorção de umidade.
- Os melhores resultados obtidos relativos à capacidade molhante ( $W_s$ ) para cada fruto foram os seguintes:
  - Manga:
    - Revestimento com mistura de Colágeno (1,5%)-Polissacarídeo de *Caesalpinia pulcherrima* (0,5%)-glicerol (1%)
    - Revestimento com mistura de Colágeno (1,5%)-Polissacarídeo de *Adenanthera pavonina* (0,5%)-glicerol (1,5%)
  - Maçã:
    - Revestimento com mistura de Colágeno (1,5%)-Polissacarídeo de *Caesalpinia pulcherrima* (0,5%)-glicerol (0%)

- Revestimento com mistura de Colágeno (1,5%)-Polissacarídeo de *Adenantha pavonina* (0,5%)-glicerol (0%)
- As condições otimizadas para a viscosidade relativa das misturas são:
  - Misturas ColGal de *Caesalpinia pulcherrima*:
    - Colágeno: 2,0 a 2,2 mg/g
    - Galactomanana: 1,1 a 1,2 mg/mL
  - Misturas ColGal de *Adenantha pavonina*:
    - Colágeno: 2,0 a 2,2 mg/g
    - Galactomanana: 1,4 a 1,6 mg/mL

## 7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

---

ABREU, R. F. A. (2005). **Sistemas de liberação de drogas sítio-dirigidos, utilizando galactomanana de *Adenantha pavonina* L. como carreadores.** Dissertação de Mestrado apresentada ao Departamento de Bioquímica e Biologia Molecular da Universidade Federal do Ceará, Fortaleza.

ALI, Y.; GHORPADE, V. M.; HANNA, M. A. (1997). Properties of thermally treated wheat gluten films. **Industrial Crops and Products**, **6**: 177-184.

ANDRADE, C. T.; AZERO, E. G.; LUCIANO, L.; GONÇALVES, M. P. (1999). Solutions properties of the galactomannans extracted from the seeds of *Caesalpinia pulcherrima* and *Cassia javanica*: comparison with locust bean gum. **International Journal of Biological Macromolecules**, **26**: 181-185.

ARUL, J.; REDDY, M.; CORCUFF, R.; CASTAIGNE, F. (2000). Effect of pre-harvest chitosan sprays on post-harvest infection by *Botrytis cinerea* and quality of strawberry fruit. **Postharvest Biology and Technology**. **20** (1): 39-51.

ARVANITOYANNIS, I. S. (2002). Formation and properties of collagen and gelatin films and coatings. In: GENNADIOS, A. (Ed) **Protein-based films and coatings** pp. 275-304. Boca Raton: CRC Press, 275-304.

ARVANITOYANNIS, I.; NAKAYAMA, A.; AIBA, S. (1998). Edible films made from hydroxypropyl starch and gelatin and plasticized by polyols and water. **Carbohydrate Polymers** **36**: 105-119.

ASSIS, O. B. G.; LEONI, A. M. (2003). Filmes comestíveis de quitosana. **Revista Biotecnologia Ciência e Desenvolvimento**, **30**: 33-38.

AYDT, T. P.; WELLER, C. L.; TESTIN, R. F. (1991). Mechanical and barrier properties of edible corn and wheat protein films. **Transactions of the ASAE**, **34**: 207-211.



AZERO, E. G. R. (1999). **Galactomananas de fontes não-tradicionais e sua utilização em misturas**. Tese de Doutorado apresentada no Instituto de Macromoléculas Professora Eloísa Mano da Universidade Federal do Rio de Janeiro, 216 pp.

BALDWIN, E. A.; NISPEROS-CARRIEDO, M. O.; BAKER R. A. (1995). Edible coatings for lightly processed fruits and vegetables. **HortScience**, **30** (1): 35-38.

BANKER, G. (1966). Film coating theory and practice. **Journal of Pharmacology Science**, **55**: 81-89.

BERTAN, L. C.; TANADA-PALMU, P. S.; SIANI, A. C.; GROSSO, C. R. F. (2005). Effect of fatty acids and “Brazilian elerni” on composite films based on gelatin. **Food Hydrocolloids** **19**: 73-82.

BORNSTEIN, P.; TRAUB, W. (1979). **The Proteins**. Academia Press, Inc. Neurath. v. 8, n. 2, p. 117-122. citado por FIGUEIRÓ (2002).

BOX, G. E. P.; HUNTER, W. G.; HUNTER, J. S. (1978). *Statistic for experimenters: An introduction to designs, data analysis and model building*. **Wiley**. New York. Citado por RODRIGUES (2005).

BRAGA, R. C. (2002). **Goma endospérmica de *Caesalpinia pulcherrima* L: utilização como matriz de afinidade no isolamento de lectinas galactose-ligantes**. Dissertação de Mestrado apresentada ao Departamento de Bioquímica e Biologia Molecular da Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 88pp.

BRANT, D. A. (1980). Conformation and behavior of polysaccharides in solution. In: PREISS, J., Ed. **The Biochemistry of Plants**. New York: Academic Press. 3, p. 425-472.

BRITO, A. S. (1994). **Manual de Ensaio Toxicológicos *In Vivo***. Ciências Médicas, Campinas, 122 p. citado por ABREU, (2005).

BURJANADZE, T. V. (1982). Stabilization of collagen structure. Dependence of collagen denaturation enthalpy on the imino acid content., **Biopolymers**, v. 21, p. 1587, citado por FIGUEIRÓ (2002).

CAMPANA-FILHO, S. P.; DESBRIÈRES, J. (2000). Chitin, chitosan and derivatives. In **Natural polymers and agrofibers composites**. São Carlos: Embrapa Instrumentação Agropecuária, p. 41-71.

CARVALHO, R. A.; SOBRAL, P. J. A.; MENEGALLI, F. (1997a). Elaboração de biofilmes a base de gelatina. In: **Proceedings of “Workshop sobre Biopolímeros”** (pp. 94-97), Pirassununga, (SP) Abril, 15-17.

CARVALHO, R. A.; SOBRAL, P. J. A.; MENEGALLI, F.; ROQUES, M. A. (1997b) Drying of thermosensitive biofilms. In: **Proceedings of Inter American Drying Conference**. (pp. 302-309), Itú, (SP) July, 15-18.

CHEUNG, C. T.; NATASHA, P.; KO, E. C.; NIMNI, M. E. (1985). Mechanism of crosslinking of proteins by glutaraldehyde III. Reaction with collagen in tissue. **Connective Tissue Research**, **13**: 109-115.

CLEMENTE, E. S. (1999). Mercado de vegetais minimamente processados. **Seminário sobre hortaliças minimamente processadas**. ESALQ-USP, Piracicaba, SP, citado por ASSIS (2003).

COMA, V.; MARTIAL-GROS, A.; GARREAU, S.; COPINET, A.; SALIN, F.; DECHAMPS, A. (2002). Edible antimicrobial films based on chitosan matrix. **J. Food Sci.** p. 1162-1169.

CUQ, B. (1996a). **Mise en forme et caractérisation de biomatériaux à base de protéines myofibrillaires**. Montpellier: Université de Montpellier II, 213p. Thèse de Doctorat, citado por MONTERREY-QUINTERO (2000).

CUQ, B.; AYMARD, C.; CUQ, J. L.; GUILBERT, S. (1995). Edible packaging films based on fish myofibrillar proteins: formulation and functional properties. **Journal of Food Science**, **60 (6)**: 1369-1374, citado por MONTERREY-QUINTERO (1999).

CUQ, B.; GONTARD, N.; CUQ, J. L.; GUILBERT, S. (1996). Functional properties of myofibrillar protein-based biopackaging as affected by film thickness. **Journal of Food Science** **61 (3)**: 580-583, citado por MONTERREY-QUINTERO (2000).

CUQ, B.; GONTARD, N.; CUQ, J.L.; GUILBERT, S. (1997). Selected functional properties of fish myofibrillar protein-based films as affected by hydrophilic plasticizers. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, **45** 622-626, citado por SOBRAL, *et al*, (2004).

CUQ, J. L. (1996b). **Technologie des protéines**. Montpellier: Université Montpellier II, 200p. Apostila, citado por MONTERREY-QUINTERO (2000).

DEA, I. C. M.; MORRISON, A. (1975). Chemistry and interruptions of seed galactomannans., **Advance in Carbohydr. Chem. And Biochem.** **31**: 241-312.

DEY, P. M. (1978). Biochemistry os Plant Galactomannans. **Adv. Carbohydrate Chemistry Biochemistry**, **35**: 341-376.

DONADIO, L. C. Variedades de Manga. (1989). In: JERONIMO, E. M. **Efeito do Uso de Embalagens Associadas a Armazenamento sob Refrigeração, na Conservação Pós-Colheita de Mangas `Tommy Atkins` e `Palmer`**. Dissertação de Mestrado apresentada a Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias da UNESP. 121p. Jaboticabal-SP.

DU, J.; GEMMA, H.; IWAHORI, S. (1998). Effects of chitosan coating on the storability and on the ultrastructural changes of Jonagold apple fruit in storage. **Food Preservation Science** **24 (1)**: 23-19.

DWEK, R. A. (1996). Glycobiology: toward understanding the functions of sugars. **Chem. Rev.** **96**: 683-720.

DZIEDZIC, S.; KEARSLEY, M. (1995). The technology of starch production. In DZIEDZIC, S.; KEARSLEY, M. Ed. **Handbook of starch hydrolysis products and their derivatives**. Blackie Academic & Professional.

EL GHAOUTH, A.; ARUL, J.; ASSELIN, A.; BENHAMON, N. (1992). Antifungal activity of chitosan on post-harvest pathogens: induction of morphological and cytological variations on *Rhizopus stolonifer*. **Mycological Research** **96**: 769-779.

EL GHAOUTH, A.; ARUL, J.; PONNAMPALAM, R.; BOULET, M. (1991). Chitosan coating effect on storability and quality of fresh strawberries. **Journal of Food Science** **56 (6)**: 1618-1620.

EMPRESA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA E EXTENSÃO RURAL DE SANTA CATARINA (Epagri) (2002). **A cultura macieira**. Florianópolis. 743p.

FAO. Dados agrícolas da FAOSTAT – Producción – cultivos primários – mango. Disponível em [www.fao.org](http://www.fao.org). Acessado em Dezembro de 2004.

FARES, C. B.; NANTES, J. F. D. (2001). Transações comerciais entre a indústria de vegetais minimamente processados e o setor varejista. **IV Congresso Internacional de Economia e Gestão de Redes Agroalimentares**, citado por ASSIS (2003).

FENG, S. W.; LI, C. F.; SHIH, D. Y. C. (1994). Antifungal activity of Chitosan and its preservative affect on low-sugar candied kumquat. **J. of Food Prot.** p. 136-140.

FIGUEIRÓ, S. D. (2002). **Filmes de galactomanana-colágeno: caracterização físico-química e uso na detecção de lectinas**. Tese de Doutorado apresentada ao Departamento de Bioquímica e Biologia Molecular da Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 109pp.

FIGUEIRÓ, S. D.; GÓES, J. C.; MOREIRA, R. A.; SOMBRA, A. S. B. (2004). On the physico-chemical and dielectric properties of glutaraldehyde crosslinked galactomannan-collagen films. **Carbohydrate Polymers** **56**: 313-320.

FNP Consultoria & Comercio. **Agriannual 2004**: Anuário da Agricultura Brasileira. São Paulo, 2004. p. 24-35: Horticultura.

GARROS-ROSA, I. (2000). **Galactomananas de *Parkinsonia aculeata* L.: Caracterização estrutural e aplicação no isolamento de lectinas ligantes de galactose**. Tese de Doutorado apresentada ao Departamento de Bioquímica e Biologia Molecular da Universidade Federal do Ceará. Fortaleza, 114p.

GENNADIOS, A.; GHORPADE, V. M.; WELLER, C. L.; ANNA, M. A. (1996). Heat curing of soy protein films. **Transactions of the ASAE**, **39**: 575-579.

GENNADIOS, A.; MCHUGH, T. H.; WELLER, C. L.; KROCHTA, J. M. Edible coatings and films based on proteins. In: KROCHTA, J. M.; BALDWIN, E. A.; NISPEROS-CARRIEDO, M. (1994). (Eds). **Edible coatings and films to improve food quality** pp. 210-278. Lancaster: Technomic Pub. Co. Inc.

GENNADIOS, A.; WELLER, C. L.; TESTIN, R. F. (1993). Temperature effect on oxygen permeability of edible protein based films. **Journal of Food Science**, **58**: 212-214, 219.

GEORGE, A.; VEIS, A. (1991). FTIRS in H<sub>2</sub>O demonstrate that collagen monomers undergo a conformacional transition prior to thermal self-assembly *in vitro.*, **Biochemistry**, v. 30, p. 2372-2377.

GONTARD, N. (1991). **Films et enrobages comestibles: étude et amélioration des propriétés filmogènes du gluten.** Université de Montpellier II. Thèse de Doctorat, citado por MONTERREY-QUINTERO; SOBRAL, (2000).

GONTARD, N.; GUILBERT, S.; CUQ, J. L. (1993). Water and glycerol as plasticizer affect mechanical and water vapor barrier properties of an edible wheat gluten film. **Journal of Food Science**, **58**: 206-211, citado por SOBRAL, *et al*, (2004).

GONTARD, N.; THIBAUT, R.; CUQ, B.; GUILBERT, S. (1996). Influence of relative humidity and film composition on oxygen and carbon dioxide permeabilities of edible films. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, **44**: 1064-1069.

GORDON, P. L.; YANNAS, I. V.; BURUKE, J. F.; LORD, R. C. (1974). The far infrared spectrum of collagen. **Macromolecules**, v. 7, p. 954-956. citado por FIGUEIRÓ (2002).

GUILBERT, S.; CUQ, B.; GONTARD, N. (1997). Recent innovations in edible and/or biodegradable packing materials. **Food Additives and Contaminants**: **14**, 741-751.

HAALAND, P. D. (1989). **Experimental Designer in Biotechnology.** Marcel Dekker, INC. N. Y. citado por RODRIGUES, 2005.

HARDENBURG, R. (1967). **Wax and related coatings for horticultural products - A bibliography.** Agricultural Research Service Bulletin; United States Department of Agriculture, 51-15.

HERNÁNDEZ-MUÑOZ, P.; HERNÁNDEZ, R. J. (2001). Glutenin and gliadin films from wheat gluten: preparation and properties. Book of abstracts. Session 73D, poster 36. **Annual Meeting of Institute of Food Technologists**, New Orleans, Louisiana, Chicago, IL: Institute of Food Technologists.

HERNÁNDEZ-MUÑOZ, P.; VILLALOBOS, R.; CHIRALT, A. (2004). Effect of thermal treatments on functional properties of edible films made from wheat gluten fractions. **Food Hydrocolloids 18**: 647-654.

HIRANO, D.; NAGAO, N. (1989). Effects of chitosan, pectic acid, lysozyme and chitinase on the growth of several phytopathogens. **Agr. Biol. And Chem.** p. 3065-3071.

JENSEN, E. V. (1959). Sulfhydryl-disulfide interchange. **Science, 130**: 1319-1323.

JOKAY, L.; NELSON, G.; POWELL, E. (1967). Development of edible amylaceous coatings for foods. **Food technology, 31**: 12-14.

JUNG, B. O.; KIM, C. O.; CHOI, K. K.; LEE, Y. M.; KIM, J. J. (1999). Preparation of amphiphilic chitosan and their antimicrobial activities. **J. Appl. Polym. Sci.** p. 1713-1719.

KABIR, I. G. A.; PENHASI, A. B.; RUBINSTEIN, A. A. (1999). Characterization of crosslinked guar by thermal analysis. **Carbohydrate Research, 316**: 6-13.

KESTER, J.; FENNEMA, O. (1986). Edible films and coatings: a review, **Food technology, 40 (12)**: 47-59.

KIM, K. M.; WELLER, C. L.; HANNA, M. A.; GENNADIOS, A. (2002). Heat curing of soy protein films at atmospheric and sub-atmospheric conditions. **Journal of Food Science, 67**: 708-713.

KITTUR, F.; THARANATHAN, R. (2003). Chitin – the undisputed biomolecule of great potential. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition 43 (1)**: 61-87.

KROCHTA, J.; MULDER-JOHNSTON, C. (1997). Edible and biodegradable polymer films challenges and opportunities. **Food Technology 51 (2)**: 61-74.

LABUZA, T.; BREENE, W. (1989). Application of active packing for improvement of shelf life and nutritional availability of fresh and extended shelf life in foods. **Journal of Food Processing and Preservation 13**: 1-69.

LARRE, C.; DESSERME, C.; BARDOT, J.; GUEGUEN, J. (2000). Properties of deaminated gluten films enzymatically cross-linked. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, **48**: 5444-5449.

LASZTITY, R. (1986). Recent results in the investigation of the structure of the gluten complex. **Die Nahrung**, **30**: 235-244.

LEHNINGER, A. L.; NELSON, D. L.; COX, M. M., (2005). **Princípios de Bioquímica**, traduzido por Arnaldo Antonio Simões, Wilson Roberto Navega Lodi. 2. ed. São Paulo, Savier.

LIEBERMAN, E. R.; GILBERT, S. G. (1973). Gas permeation of collagen films as affected by cross-linkage, moisture, and plasticizer content. **Journal of Polymer Science**, **41**: 33-43.

LIM, L. T.; MINE, Y.; TUNG, M. A. (1998). Transglutaminase cross-linked egg white protein films: tensile properties and oxygen permeability. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, **46 (10)**: 4022-4029.

LIM, L. T.; MINE, Y.; TUNG, M. A. (1999). Barrier and tensile properties of transglutaminase cross-linked gelatin films as affected by relative humidity, temperature, and glycerol content. **Journal of Food Science**, **64 (4)**: 616-622.

MAHMOUD, R.; SAVELLO, P. A. (1993). Solubility and hydrolyzability of films produced by transglutaminase catalytic crosslinking of whey protein. **Journal of Dairy Science**, **76 (1)**: 29-35.

MAHMOUD, R.; SAVELLO, P.A. (1992). Mechanical properties of water vapor transferability through whey protein films. **Journal of Dairy Science**, **75 (4)**: 942-946, citado por SOBRAL (2000).

MARK, A.; ROTH, W.; RIST, C. (1996). Oxygen Permeability of amylo maize starch films. **Food technology**, **20 (1)**: 75.

MARQUIÉ, C.; AYMARD, C.; CUQ, J. L.; GUILBERT, S. (1995). Biodegradable packaging made from cottonseed flour: formation and improvement by chemical treatments with

gossypol, formaldehyde and glutaraldehyde. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, **43**: 2762-2767.

MARTINO, M.; GARCIA, M.; ZARITZKY, N. (1998). Starch-based coatings: Effect on refrigerated strawberry (*Fragaria ananassa*) quality. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, **76**: 411-420.

MATOS, V. C., (2000). **Gomas endospérmicas de *Delonix regia* e *Schizolobium parahybae***. Tese de Doutorado apresentada ao Departamento de Bioquímica e Biologia Molecular da Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 113pp.

MAUCH, F.; HADWIGER, L.; BOLLER, T. (1984). Ethylene: symptom, not signal for the induction of chitinase and  $\beta$ -1,3-glucanase in pea pods by pathogens and elicitors. **Plant Physiology**, **76**: 607-610.

MENEGALLI, F.; SOBRAL, P. J. A.; ROQUE, M. A.; LAURENT, S. (1999). Characteristics of gelatin biofilms in relation to drying process condition near melting. **Drying Technology** **17**: 1697-1706.

MILLER, E. M., RHODES, R. K., (1982). **Methods in Enzimology**, v. 82, p. 33-64, citado por FIGUEIRÓ (2002).

MILLER, K. S.; CHIANG, M. T.; KROCHTA, J. M. (1997). Heat curing of whey protein films. **Journal of Food Science**, **62**: 1189-1193.

MONTERREY-QUINTERO, E. S.; SOBRAL, P. J. A. (1999). Caracterização de propriedades mecânicas e óticas de biofilmes a base de proteínas miofibrilares de tilápia-do-nilo usando uma metodologia de superfície-resposta., **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 19, n. 2.

MONTERREY-QUINTERO, E. S.; SOBRAL, P. J. A. (2000). Preparo e caracterização de proteínas miofibrilares de tilápia-do-nilo para elaboração de biofilmes. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.35, n.1, p.179-189.



MORRIS, E.; REES, D.; ROBINSON, G. (1980). Cation-specific aggregation of carrageenan helices: domain model of polymer gel structure. **Journal of Molecular Biology**, **138**: 349-362.

MURRAY, D.; LUFT, L. (1973). Low-D.E. corn starch hydrolysates. **Food technology**, **37** (3): 32-40.

MURRAY, D.; MAROTTA, N.; BOETTGER, R. (1971). **U.S: Patent 3, 597, 227**.

NIMNI, T. G., (1988). Molecular Structure and functions of collagen. **Collagen: Biochemistry**, CRC Press, v. 1, p. 1-77. citado por FIGUEIRÓ (2002).

NISPEROS-CARRIEDO, M. (1994). Edible coatings and films based on polysaccharides. In: KROCHTA, J.; BALDWIN, E.; NISPEROS-CARRIEDO, M. Ed. **Edible Coatings and Films to Improve Food Quality**. Technomic Publishing Company.

NO, H. K.; PARJ, N. Y.; LEE, S. H.; MEYERS, S. P. (2002). Antibacterial activity of chitosan and chitosan oligomers with different molecular weights. **Intern. J. Food Microbiology**, p. 65-72.

NUSSINOVITCH, A.; KAMPF, N. (2003). Hydrocolloid coating of cheeses. **Food Hydrocolloids**, **14**: 531-537.

ORLIAC, O.; ROUILLY, A.; SILVESTRE, F.; RIGAL, L. (2002). Effect of additives on the mechanical properties, hydrophobicity and water uptake of thermo-moulded films produced from sunflower protein isolate. **Polymer**, **43**: 5417-5425.

PARK, H. (1999). Development of advanced edible coatings for fruits. **Trends in Food Science and Technology**. vol. 10, p. 254-260.

PARK, H. J.; CHINNAN, M. S. (1995). Gas and water vapor barrier properties of edible films from protein and cellulosic materials. **Journal of Food Engineering**, **25**: 497-507.

PARK, S. K., BAE, D. H., RHEE, K. C. (2000). Soy protein biopolymers cross-linked with glutaraldehyde. **Journal of the American Oil Chemists' Society**, **77** (8): 879-883.

PARRIS, N.; COFFIN, D. R.; JOUBRAN, R. F.; PESSEN, H. (1995). Composition factors affecting the water vapor permeability and tensile properties of hydrophilic films. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, **43**: 1432-1435.

PETKOWICZ, C. L. O.; SIERAKOWSKI, M.R.; GANTER, J.L.M.S.; REICHER, F. (1998). Galactomannans and arabinans from seeds of *Caesalpinaceae*. **Phytochemistry** **49** (3): 737-743.

PIEZ, K. A. (1982). **Plants Lectins.**, Cambridge, Univ. Press., N. York, citado por FIGUEIRÓ (2002).

PIMENTEL, C. R. M. (2000). Frutas do Brasil: Manga Pós-colheita. Fortaleza: **Embrapa Agroindústria Tropical**.

RAMACHANDRAN, G. N. (1967). **Treatise of Collagen**, London, Academic Press, v. 1, citado por FIGUEIRÓ (2002).

RHIM, J. W.; GENNADIOS, A.; DEJING, F.; WELLER, C. L.; HANNA, M. A. (1999). Properties of ultraviolet irradiated protein films. **Lebensmittel Wissenschaft und Technologie**, **32**: 129-133.

RICE, J. (1994). What's new in edible films? **Food Processing**, **55** (7): 61-62.

ROBINS, S. P., DUNCAN, A. (1983). Cross-linking of collagen., **Biochemical Journal**, v. 215, p. 175, citado por FIGUEIRÓ (2002).

RODRIGUES, M. I.; IEMMA, A. F. (2005). **Planejamento de Experimentos e Otimização de Processos**. 1ª edição, Campinas, SP, Casa do Pão Editora.

ROMANAZZI, G.; NIGRO, F.; IPPOLITO, A. (2000). Effetto di trattamenti pre e postraccolta con chitosano sui marciumi della fragola in conservazione. **Frutticoltura** **62** (5): 71-75.

ROMANAZZI, G.; NIGRO, F.; IPPOLITO, A.; DI VENERE, D.; SALERNO, M. (2002). Effects of pre- and postharvest chitosan treatments to control storage grey mold of table grapes. **Journal of Food Science** **67** (5): 1862-1867.

ROTH, W.; MEHLTRETTER, C. (1967). Some properties of hydroxypropylated amylo maize starch films. **Food technology**, **31**: 72-74.

ROY, S.; WELLER, C. L.; GENNADIOS, A.; ZEECE, M. G.; TESTIN, R. F. (1999). Physical and molecular properties of wheat gluten films cast from heated film-forming solutions. **Journal of Food Science**, **64**: 57-60.

RULON, J.; ROBERT, H. (1993). Wetting of low-energy surfaces. In Wettability. **Marcel Dekker Inc.**, eds. Berg, J. C., ISBN 0-8247-9046-4.

SCHERBURKHIN, V. D.; ANULOV, O. V. (1999). Legume seed galactomannans. **Applied Biochemistry and Microbiology**, **35**(3): 229-244.

SHAHIDI, F.; ARACHCHI, J. K. V.; JEON, Y. J. (1999). Food applications of chitin and chitosans. **Trends in Food Sci. Tech.**, p. 37-51.

SILVERSTEIN, R. M.; BASSLER, G. C. (1974). **Spectrometric identification of organic compounds**. 5. ed. New York, John Wiley, p. 91-261.

SIONKOWSKA, A.; WISNIEWSKI, M.; SKOPINSKA, J.; KENNEDY, C. J.; WESS, T. J. (2004). Molecular interactions in collagen and chitosan blends. **Biomaterials** **25**: 795-801.

SMITH, J. W. (1968). Molecular pattern in native collagen. **Nature**, v. 219, p. 157. citado por FIGUEIRÓ (2002).

SOBRAL, P. J. A. (1999). Propriedades funcionais de biofilmes de gelatina em função da espessura. **Ciência & Engenharia**, **8**: 60-67.

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

SOBRAL, P. J. A.; GARCIA, F. T.; HABITANTE, A. N. Q. B.; MONTERREY-QUINTERO, E. S. (2004). Propriedades de filmes comestíveis produzidos com diferentes concentrações de plastificantes e de proteínas do músculo de tilápia-do-nilo. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 39, n. 3, p. 255-262.

SOUZA, J. S. (2002). In: GENÚ, P. J. de C.; PINTO, A. C. de Q. A Cultura da Mangueira. **Embrapa de Informação Tecnológica**: 21-28. Brasília-DF.

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

TAVARES, R. O. (1998). **Galactomanana de *Adenantha pavonina* L. Aplicação para o isolamento de lectinas galactose-específicas**. Dissertação de Mestrado apresentada ao Departamento de Bioquímica e Biologia Molecular da Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 95pp.

TEIXEIRA, D. M. A. (2001). **Aplicação de goma exsudada no isolamento de lectinas galactose-ligantes**. Dissertação de Mestrado apresentada ao Departamento de Bioquímica e Biologia Molecular da Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 126pp.

TORRES, J. A. (1994). Edible films and coatings from proteins. In: HETTIARACHCHY, N. S.; ZIEGLER, G. R. (Eds), **Protein Functionality in Food Systems** pp.467-507, New York: Marcel Dekker.

TUCKER, G. (1993). Introduction. In: SEYMOUR, G.; TAYLOR, J.; TUCKER, G. **Biochemistry of fruit ripening**. Ed. Chapman-Hall, London, 453p. p. 1-51.

VANIN, F. M.; SOBRAL, P. J. A.; MENEGALLI, F. C.; CARVALHO, R. A.; HABITANTE, A. M. Q. B. (2005). Effects of plasticizers and their concentrations on thermal and functional properties of gelatin-based films. **Food Hydrocolloids**, **19**: 899-907.

VEIS, A. (1982). Collagen fibrillogenesis. **Connective Tissue Research**, v. 10, p. 11-24.

VOET, D.; VOET, J. G. (1990). **Biochemistry**, John Willey & Sons, New York.

WENZEL, R. N. (1936). Resistance of solid surfaces to wetting by water. **Industrial Chemistry Engineering**. Vol. 28, p. 988-994.

WILEY, R. C. (1997). Métodos de conservación de las frutas y hortalizas mínimamente procesadas y refrigeradas. In: Wiley, R. C. Ed. **Frutas y hortalizas mínimamente procesadas y refrigeradas**. Zaragoza: Editorial Acribia, p. 65-129, citado por ASSIS (2003).

WILLS, R.; LEE, T.; GRAHAM, D.; MCGLASSON, W.; HALL, E. (1981). **Postharvest, an Introduction to the Physiology and Handling of Fruit and Vegetables**. Avi Publishing Co. Inc.

WOLFF, I.; DAVIS, H.; CLUSKEY, J.; GUNDRUM, L.; RIST, C. (1951). Preparation of films from amylase. **Industrial Chemistry Engineering**, **43**: 915-919.

ZHANG, D.; QUANTICK, P. (1997). Effects of chitosan coating on enzymatic browning and decay during postharvest storage of litchi (*Litchi chinensis Sonn.*) fruit. **Postharvest Biology and Technology**, **12 (2)**: 195-202.

ZHANG, D.; QUANTICK, P. (1998). Antifungal effects of chitosan coating on fresh strawberries and raspberries during storage. **Journal of Horticultural Science e Biotechnology**, **73(6)**: 763-767.