

**UNIVERSIDADE TECNOLÓGICA FEDERAL DO PARANÁ**

**COORDENAÇÃO DE TECNOLOGIA EM ALIMENTOS**

**BIANCA ALVES TEIXEIRA**

**CRISTIANO LUIS PERON**

**PRODUÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DE BIOFILME A BASE DE  
AMIDO, BISSURFACTANTE E CELULOSE BACTERIANA**

**PONTA GROSSA**

**2013**

**BIANCA ALVES TEIXEIRA**

**CRISTIANO LUIS PERON**

**PRODUÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DE BIOFILME A BASE DE  
AMIDO, BIODISSURFACTANTE E CELULOSE BACTERIANA**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao curso de Graduação em Tecnologia de Alimentos, Universidade Tecnológica Federal do Paraná, como um dos requisitos à obtenção do título de Tecnólogo em Alimentos.

Orientadora: Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> Denise Milléo Almeida

PONTA GROSSA

2013



---

## **TERMO DE APROVAÇÃO**

### **PRODUÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DE BIOFILME A BASE DE AMIDO BIOSURFACTANTE E CÉLULA BACTERIANA**

por

**BIANCA ALVES TEIXEIRA**  
**CRISTIANO LUIZ PERON**

Este Trabalho de Conclusão de Curso (TCC) foi apresentado no dia 27 de março de 2013 como requisito parcial para a obtenção do título de Tecnólogo em Alimentos. Os candidatos foram arguidos pela Banca Examinadora composta pelos professores abaixo assinados. Após deliberação, a Banca Examinadora considerou o trabalho aprovado.

---

**Profa. Dra. Denise Milléo Almeida**  
Professora Orientadora

---

**Profa. Dra. Rosilene Aparecida Prestes**  
Membro titular

---

**Prof. Dr. Luis Antonio Pinheiro**  
Membro titular

## **DEDICATÓRIA**

A nossa orientadora Professora Denise Milléo Almeida, pela proposta de realização deste trabalho, auxílio e compreensão diante das dificuldades enfrentadas, que tornaram possíveis a realização deste trabalho.

## **AGRADECIMENTOS**

A Deus que nos deu força, para que pudéssemos concluir mais uma etapa importantes e decisiva em nossas vidas.

A Universidade Tecnológica Federal do Paraná, pela oportunidade de realização deste trabalho.

A orientadora Denise Milléo Almeida, pela idealização e condução do projeto que deu origem a este trabalho. Agradecemos pela orientação, apoio e compreensão, fundamentais para o desenvolvimento deste trabalho.

As estagiárias do laboratório de Microbiologia da Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Marcela Liviero Passador e Sabrina Barbosa Rosini, pelos auxílios prestados e momentos de descontração durante as horas em que passávamos no laboratório para a realização deste trabalho.

Aos professores Rosilene Aparecida Prestes e Luis Antonio Pinheiro, pelo auxílio prestado em momentos de dúvidas e na realização de análises complexas.

## RESUMO

Teixeira, Bianca Alves; Peron Cristiano Luis. **Obtenção e Caracterização de Biofilme a Base de Fécula de Batata, Amido, Biossurfactante e Celulose Bacteriana**. 2013. Monografia. Departamento de Tecnologia em Alimentos, Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Ponta Grossa, 2013.

O objetivo deste trabalho foi desenvolver e caracterizar biofilme a base de amido, celulose bacteriana, biossurfactante e glicerol. Os biofilmes tiveram como matriz a fécula de batata (3 g) e pelo método de Mistura Ternária foram avaliados as concentrações de celulose bacteriana (40, 50, 60, 70%), biossurfactante (4,45, 9,80, 14,25, 19,95%), glicerol (25,55, 30,20, 35,75, 40,05%), sendo produzidos pela técnica de *casting*. Os biofilmes foram analisados quanto à espessura, gramatura, densidade, cor, solubilidade, índice de intumescimento, isoterma de adsorção, taxa de permeabilidade ao vapor de água, permeabilidade ao vapor de água, análise estrutural por microscopia eletrônica de varredura e a biodegradação. Os biofilmes formaram uma matriz coesa, porém irregular com presença de grânulos. Biofilmes com maiores concentrações de celulose bacteriana apresentaram menor espessura e gramatura, baixa solubilidade, reduzida capacidade de manutenção da integridade do biofilme a água, confirmado pela alta taxa de permeabilidade ao vapor de água e com maior degradação em 30 e 40 dias. Com o aumento no teor de biossurfactante e glicerol os biofilmes mostraram maior solubilidade em água, com coloração levemente acinzentada e baixa luminosidade. Biofilmes com 60% de celulose bacteriana, 9,80% de biosurfactante e 30,20% de glicerol, submerso por 10 minutos em água deionizada, tiveram maior índice de intumescimento. Portanto, os biofilmes formados por fécula de batata, celulose bacteriana, biosurfactante e glicerol se caracterizaram, de modo geral, com boa barreira à luz, manutenção da umidade e com potencial de biodegradabilidade.

## **ABSTRACT**

Teixeira, Bianca Alves, Cristiano Luis Peron. Collection and Characterization of Film Base Potato Starch, Starch, Cellulose and Bacterial biosurfactant. 2013. Monograph. Department of Food Technology, Federal Technological University of Paraná, Ponta Grossa, 2013.

## LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1 - INDICE DE INTUMESCIMENTO EM BIOFILMES DE DIFERENTES CONCENTRAÇÕES DE CELULOSE BACTERIANA, BISSURFACTANTE E GLICEROL EM pH 7,0.....	24
FIGURA 2 - ISOTERMAS DE ADSORÇÃO DE ÁGUA EM BIOFILMES COM DIFERENTES TRATAMENTOS, AJUSTADAS PELO MODELO MATEMÁTICO DE GUGGENHEIM-ANDERSON-DE BOER (GAB).....	26
FIGURA 3 - MICROGRAFIAS DOS BIOFILMES OBTIDAS POR MEIO DE MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE VARREDURA (MEV).....	30
FIGURA 4 - EVOLUÇÃO DA BIODEGRADABILIDADE DE BIOFILMES COM DIFERENTES CONCENTRAÇÕES DE CELULOSE BACTERIANA, BISSURFACTANTE E GLICEROL.....	32

## LISTA DE TABELAS

TABELA 1 -	PLANEJAMENTO EXPERIMENTAL POR MODELO DE MISTURA TERNÁRIA UTILIZADO NA ELABORAÇÃO DOS FILMES.....	14
TABELA 2 -	CORRELAÇÃO ENTRE CONCENTRAÇÃO DE H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> % E ATIVIDADE DE ÁGUA.....	16
TABELA 3 -	RESULTADO DAS PROPRIEDADES ESPESSURA, GRAMATURA E DENSIDADE EM BIOFILMES COM DIFERENTES CONCENTRAÇÕES DE CELULOSE BACTERIANA, BISSURFACTANTE E GLICEROL.....	19
TABELA 4 -	CARACTERISTICAS DE COR EM BIOFILMES COM DIFERENTES CONCENTRAÇÕES DE CELULOSE BACTERIANA, BISSURFACTANTE E GLICEROL.....	21
TABELA 5 -	SOLUBILIDADE EM BIOFILMES COM DIFERENTES CONCEBTRAÇÕES DE CELULOSE BACTERIANA, BISSURFACTANTE E GLICEROL.....	23
TABELA 6 -	TAXA DE PERMEABILIDADE AO VAPOR DE ÁGUA E PERMEABILIDADE AO VAPOR DE ÁGUA EM FILMES DE CELULOSE BACTERIANA, BISSURFACTANTE E GLICEROL.....	28

## LISTA DE SIGLAS

NaOH -	Hidróxido de Sódio
HCl -	Ácido clorídrico
DBO -	Demanda Bioquímica de Oxigênio
MEV -	Microscopia Eletrônica de Varredura
CaCl <sub>2</sub> -	Cloreto de Cálcio
CB -	Celulose Bacteriana
BS -	Biosurfactante
GL -	Glicerol
TPVA -	Taxa de Permeabilidade ao Vapor de Água
PVA -	Permeabilidade ao Vapor de Água

## SUMÁRIO

	<b>LISTA DE FIGURAS.....</b>	<b>7</b>
	<b>LISTA DE TABELAS.....</b>	<b>8</b>
	<b>LISTA DE SIGLAS.....</b>	<b>9</b>
<b>1</b>	<b>INTRODUÇÃO.....</b>	<b>11</b>
1.1	OBJETIVOS.....	12
<b>2</b>	<b>MATERIAL E MÉTODOS.....</b>	<b>12</b>
2.1	MATERIAIS.....	12
2.2	PROCESSO DE PRODUÇÃO, PURIFICAÇÃO E OBTENÇÃO DE FIBRAS CELULOSE BACTERIANA.....	12
2.3	PRODUÇÃO E PURIFICAÇÃO DE BIOSURFACTANTE.....	13
2.4	PRODUÇÃO DOS FILMES POLIMÉRICOS.....	14
2.5	CARACTERIZAÇÃO DAS PROPRIEDADES FÍSICAS, QUÍMICAS e DE BARREIRA .....	14
2.5.1	Propriedades físicas e químicas.....	15
2.5.2	Propriedades de barreira.....	16
2.6	ANÁLISE DE DADOS.....	19
<b>3</b>	<b>RESULTADOS E DISCUSSÕES.....</b>	<b>19</b>
3.1	ESPESSURA, GRAMATURA E DENSIDADE.....	19
3.2	COR.....	21
3.3	SOLUBILIDADE, ÍNDICE DE INTUMESCIMENTO E ISOTERMA DE ADSORÇÃO DE ÁGUA DOS FILMES.....	22
3.4	TAXA DE PERMEABILIDADE AO VAPOR DE ÁGUA (TPVA) E PERMEABILIDADE AO VAPOR DE ÁGUA (PVA) DOS FILMES.....	27
3.5	ANÁLISE ESTRUTURAL DOS BIOFILMES POR MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE VARREDURA (MEV).....	29
3.6	BIODEGRADABILIDADE DO BIOFILME.....	31
<b>4</b>	<b>CONCLUSÃO.....</b>	<b>34</b>
<b>5</b>	<b>REFERÊNCIAS.....</b>	<b>35</b>

## 1 INTRODUÇÃO

A busca por polímeros biodegradáveis para compor as embalagens vem como alternativa para minimizar o acúmulo de resíduos sólidos provocada pelos materiais sintéticos (JAYASEKARA et al., 2004). O interesse nestes materiais biodegradáveis na área de alimentos está na conscientização dos consumidores ao dano ambiental causada pelas embalagens não biodegradáveis (ELIZONDO, SOBRAL e MENEGALLI, 2009).

A utilização de matérias-primas como polissacarídeos obtido a partir de fontes agrícolas e microbianas surge como uma nova oportunidade de materiais na área de filmes biodegradáveis (TAPIA-BLÁCIDO et al., 2007; FANG et al., 2005) e tem chamado a atenção do seguimento de embalagens na criação de novos mercados para setor (BATISTA et al., 2005).

O amido combina abundância, preço, comportamento termoplástico, além de biodegradabilidade, no entanto, os filmes oriundos destes possuem baixa resistência mecânica e alta hidrofobicidade (GALDEANO et al., 2009). Os polissacarídeos de origem microbiana apresentam como novas perspectivas para auxiliar as propriedades de barreira e mecânica dos filmes. A celulose bacteriana, produzida por *Acetobacter xylinum*, tem como propriedades e características a permeabilidade para líquidos e gases, alta pureza química, cristalinidade, alta força de tensão, elasticidade, durabilidade, biodegradabilidade, sendo também atóxica e não alérgica (MATEOS, 2007; PACHECO, 2004).

A principal dificuldade da produção de filmes de amido e polímeros sintéticos está na baixa compatibilidade entre eles, pois o amido se apresenta altamente hidrofílico e os sintéticos são na maioria hidrofóbicos, resultando em misturas com baixas propriedades mecânicas (LOWDIN, DELLA VALLE e COLONNA, 1995). A incorporação de algum aditivo, como plastificantes ou compatibilizantes, se torna essencial para junção entre os componentes da mistura dos filmes (SHAH, BANDOP ADHYAY e BELLARE, 1995).

Os biossurfactantes atuam como dispersantes e/ou solubilizantes de compostos orgânicos, apresentando baixa solubilidade em água, promovendo redução superficial e interfacial, conferindo capacidade de detergência,

emulsificação, lubrificação, solubilização e dispersão de fases em soluções (DESAI e BANAT, 1997).

Os plastificantes devem ser compatíveis com o biopolímero e, os mais estudados em combinação com os filmes de amido são os polióis, como o glicerol e o sorbitol, materiais que interagem com as cadeias de amido, aumentando a mobilidade molecular e, conseqüentemente, a flexibilidade dos seus filmes. Outro efeito é o aumento da hidrofiliicidade e permeabilidade ao vapor de água dos filmes plastificados, já que a maioria dos plastificantes empregados em filmes de amido tem caráter hidrofílico (MALI et al, 2004).

Portanto, uma alternativa para melhorar as propriedades físicas dos filmes está na preparação de blendas poliméricas, mediante o uso combinado de polímeros. A mistura freqüentemente exibe propriedades superiores quando comparadas às propriedades de cada componente polimérico individualmente (LAURINDO, 2007).

## 1.1 OBJETIVO

O objetivo deste trabalho foi desenvolver e caracterizar biofilme a base de amido, biosurfactante e celulose bacteriana.

## 2 MATERIAL E MÉTODOS

### 2.1 Materiais

Os principais materiais utilizados neste trabalho foram celulose bacteriana produzida por *Acetobacter xylinum* ATCC 23769, biosurfactante produzido por *Pseudomonas aeruginosa* (UPEDA 761), glicerol (Merck) e fécula de batata (Yoki).

### 2.2 Processo de produção, purificação e obtenção de fibras celulose bacteriana

A produção de celulose bacteriana foi desenvolvida em meio de cultivo Alaban (100 g.L<sup>-1</sup> de sacarose; 5 g.L<sup>-1</sup> de fosfato ácido de potássio; 2,5 g.L<sup>-1</sup> de

extrato de levedura; 0,6 g.L<sup>-1</sup> de sulfato de amônia; 0,2 g.L<sup>-1</sup> de sulfato de magnésio heptahidratado) previamente esterilizado em autoclave a 121°C por 15 minutos e inoculado de 5% (v/v) do microrganismo, em ambiente asséptico, sendo incubado em estufa bacteriológica (QUIMIS) a 30°C± 2°C, por 120 horas, com cultivo estático. Decorrido esse tempo a celulose bacteriana foi retirada do caldo de fermentação e aquecida até a fervura por 10 minutos, para destruição do microrganismo.

No processo de purificação as películas foram submetidas a sucessivas lavagens com água deionizada, com posterior tratamento com NaOH 0,1N a 90°C por 30 minutos, e novamente lavagens com água deionizada.

Para obtenção de fibras de celulose houve a submersão da celulose bacteriana em solução de ácido oxálico a 15% e autoclavada a 121°C a 15 libras de pressão por 20 minutos, processo repetido até formação de fibras isoladas. As fibras de celulose foram submetidas a várias lavagens para a retirada do ácido oxálico e conduzidas à secagem em estufa com circulação de ar (QUIMIS – modelo Q317B) 50°C±2°C por uma hora.

### 2.3 Produção e purificação de Biosurfactante

Para produção de biosurfactante foram adicionados 2 % (v/v) do inóculo, *Pseudomona aeruginosa* (UPEDA 761), em 100 mL de meio de cultivo Luria Bertani (LB) (triptona 10 g.L<sup>-1</sup>, NaCl 10 g.L<sup>-1</sup>, extrato de levedura 5 g.L<sup>-1</sup>), e incubados sob agitação a 150 rpm (Incubadora TE -420, São Paulo, Brasil) a temperatura de 37°C ± 2°C por 96 horas.

Para a purificação do biosurfactante o caldo foi acidificado em pH 2 com solução de ácido clorídrico 6N (HCl 6N), resfriado a 4°C por 24 horas. Decorrido este tempo o caldo acidificado foi centrifugado a 3900 rpm por 45 minutos, e após a centrifugação foi realizada lavagem com água destilada e submetido a uma nova centrifugação.

## 2.4 Produção dos filmes poliméricos

Foram produzidos soluções filmogênica com 3 g de fécula de batata em 100 mL de água destilada sob agitação de 50 rpm, durante 25 minutos a 60°C. Outros componentes como celulose bacteriana, biosurfactante e glicerol foram adicionados posteriormente, seguindo planejamento experimental por Modelo de Mistura Ternária (Tabela 1), com peso total de 2 gramas.

Tabela 1 – Planejamento experimental por modelo de mistura ternária utilizado na elaboração dos filmes

Tratamentos	Componentes da Mistura (%)		
	Celulose Bacteriana (CB)	Biosurfactante (BS)	Glicerol (GL)
1	70,00	4,45	25,55
2	60,00	9,80	30,20
3	50,00	14,25	35,75
4	40,00	19,95	40,05

Após resfriamento, os filmes foram produzidos pela técnica de *casting* (Yang e Paulson, 2000), ou seja, colocadas em placas de vidro com área de 170 x 170 x 30 mm e secas em estufa com circulação de ar (QUIMIS – modelo Q317B) 30°C±2°C por 24 horas.

Os filmes foram mantidos em frascos hermético contendo solução ácido sulfúrico (Vetec) a 20°C, com 56% de umidade relativa (UR), em estufa de DBO (Thelga-Modelo T34P) até a realização das análises.

## 2.5 Caracterização das propriedades físicas, químicas e de barreira

Os biofilmes foram caracterizados por meio das propriedades físicas, químicas, de barreira e mecânica, como, espessura, gramatura, densidade, solubilidade, cor, solubilidade, índice de intumescimento (Ii%), isoterma de adsorção, taxa de permeabilidade ao vapor de água, permeabilidade ao vapor de água, microscopia eletrônica de varredura (MEV) e análise de biodegradação.

### 2.5.1 Propriedades físicas e químicas

A espessura, gramatura e densidade foram realizados segundo Sarantópoulos et. al (2002). A medida da espessura foi obtida com micrômetro (Mitutoyo) com resolução 0,001, em corpos de prova de 4cm<sup>2</sup> e os resultados expressos em milímetros. A gramatura foi determinada pela pesagem de uma área de 2 cm<sup>2</sup> do corpo de prova e os resultados expressos em g.m<sup>-2</sup>. A densidade foi determinada utilizando copos de prova de 2cm<sup>2</sup> e os valores foram expressos em g.cm<sup>-3</sup>.

As cores dos biofilmes foram medidas de acordo com a escala L\*, a\* e b\* ou CIELAB, recomendada pela Commision Internationale de LEclairage (CIE), utilizando um colorímetro Hunterlab (Hunterlab Ultrascan PRO).

O sistema tri-axial ("tristimulus") de cores fornece três eixos com as coordenadas L\*, a\* e b\* para determinar a coloração dos filmes. No eixo x a coordenada a\* varia do vermelho (+ a\*) ao verde (- a\*); no eixo y, a coordenada b\* do amarelo (+b\*) ao azul (-b\*) e o eixo z corresponde às cores que vão do branco (+L\*) ao preto (-L\*).

Análise estrutural dos filmes por microscopia eletrônica de varredura (MEV), os corpos de prova foram metalizados com ouro usando IC-50 ION COATER (Shimadzu), por 10 minutos. As imagens foram obtidas por meio do Microscópio Eletrônico de Varredura (Shimadzu - modelo SSX 550 SUPER SCAN).

A biodegradabilidade dos biofilmes foi avaliada através do aspecto visual do filme exposto ao solo fértil, com concentração inicial de microrganismos de 1,5 x 10<sup>12</sup>, pH 7,1, umidade 10,06%. Os corpos de prova (4,0 x 4,0 cm) foram submersos a uma profundidade de 6 cm da superfície, em copos descartáveis contendo terra de horta e mantidos por 40 dias a temperatura de 25°C±1°C. Em intervalos de 7, 15, 30 e 40 dias os filmes eram retirados, lavados e fotografados para posterior comparação visual, sendo um teste qualitativo. Para o tratamento controle os biofilmes foram mantidos em solo estéril.

## 2.5.2 Propriedades de barreira

A solubilidade em água foi determinada segundo Gontard et al. (1994), com corpos de prova de 2 cm<sup>2</sup> e os resultados expressos em porcentagem de massa solubilizada em relação à massa inicial.

O índice de intumescimento dos biofilmes foi determinado segundo Cavalcanti et al. (2002), em solução com pH 6,0 e expressos em porcentagem (%).

As isotermas de adsorção foram determinadas em temperatura de 20°C±1°C pelo método estático (Mortola et al., 2003). A obtenção de valores de umidade relativa (UR) foi entre 5% e 100%, e obtida por diferentes concentrações de solução de ácido sulfúrico P.A. (Tabela 2).

Tabela 2 - Correlação entre concentração de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>(%) e atividade de água

Concentração de H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> (%)	Atividade de água (Aw)
	20°C
0	0,100
5	0,980
10	0,955
20	0,879
30	0,749
40	0,562
50	0,355
55	0,258
60	0,167
80	0,053

Fonte: Ditchfield (2000)

Os biofilmes foram secos em estufa a 50°C±1°C por 2 horas, resfriados em dessecador, e pesados 0,5 g, obtendo a massa inicial. Os biofilmes foram mantidos em frascos hermeticamente fechados, contendo solução de ácido sulfúrico (Tabela 1), em 10 contrações diferentes e acondicionados em estufa de DBO (Thelga – modelo T34P) a 20°C±0,5°C. Foram realizadas pesagens

em balança analítica (Shimadzu AX 200)± 0,0001 a cada 24 horas, até a obtenção da umidade de equilíbrio com três massas constantes. Os biofilmes foram secos em estufa a 105°C±1°C, por 24 horas. Após resfriados os biofilmes foram pesados, para a obtenção do valor da umidade de equilíbrio por meio da equação 1 e, os resultados expressos em g de água por 100g<sup>-1</sup> de matéria seca.

$$X_{eq} = \frac{m_{eq} - m_s}{m_s} \quad (\text{Eq.1})$$

Onde,

$x_{eq}$ : umidade de equilíbrio (b. s.) (g de água por 100g<sup>-1</sup> de matéria seca)

$m_{eq}$ : massa da amostra no equilíbrio (g)

$m_s$ : massa da amostra seca (g)

Os resultados foram ajustados matematicamente pelo modelo de GAB (Guggenheim – Anderson – de Boer), segundo equação 2.

$$X_{eq} = \frac{KCX_m aw}{(1 - Kaw)(1 - Kaw + CKaw)} \quad (\text{Eq.2})$$

Onde:

$X_{eq}$ : umidade de equilíbrio (g de água por 100 g<sup>-1</sup> de matéria seca);

$K$ : constante de GAB relacionada à energia de interação das moléculas absorvidas na multicamada;

$C$ : constante relacionada à energia de interação das moléculas absorvidas na monocamada;

$X_m$ : umidade na monocamada (g de água por 100 g<sup>-1</sup> de matéria seca)

$aw$ : atividade de água (UR/100)

A taxa de permeabilidade ao vapor de água foi determinada por gravimetria pelo método padrão da norma da *American Society for testing and materials – ASTM E96-00* (SARANTÓPOULOS et al., 2002).

Os corpos de prova apresentaram área de 0,002551 m<sup>2</sup> e aplicados em cápsulas de alumínio contendo 5g de CaCl<sub>2</sub> (anidro), seco em estufa a 150°C ± 1°C por 24h, e vedados com silicone. As cápsulas foram acondicionadas em frascos hermeticamente fechados contendo solução saturada de cloreto de sódio. Todo o conjunto foi colocado em estufa de DBO (Thelga – Modelo T34P) a 20°C ± 0,5°C, proporcionando uma umidade relativa de 75%.

A permeabilidade do biofilme foi calculada por meio de regressão linear entre o ganho de peso (g) e o tempo (h) durante o experimento. O coeficiente angular da reta determinou a quantidade de água ganho pelo tempo (tg α). A TPVA foi calculada segundo a equação 3 e expressa em g H<sub>2</sub>O.m<sup>-2</sup>. dia<sup>-1</sup>.

$$TPVA = \frac{tg\alpha}{A} \quad (\text{Eq. 3})$$

Onde,

$$TPVA = g \text{ H}_2\text{O m}^{-2} \cdot \text{dia}^{-1}$$

Tg α = coeficiente angular da reta

A = área em (m<sup>2</sup>)

Com o resultado da TPVA foi calculado a permeabilidade ao vapor de água (PVA) por meio da equação 4, os resultados expressos em g H<sub>2</sub>O mm m<sup>-2</sup>.dia<sup>-1</sup>.mmHg<sup>-1</sup>.

$$PVA = \frac{100 \cdot TPVA \cdot e}{p \cdot URe} \quad (\text{Eq. 4})$$

Onde,

$$PVA = g\text{H}_2\text{O} \cdot \text{mm} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{dia}^{-1} \cdot \text{mmHg}^{-1}$$

e= espessura do biofilme (mm)

p = pressão de vapor de água pura na temperatura de 20°C, expressa em mmHg

UR<sub>e</sub> = umidade relativa a 20°C

## 2.6 Análise dos dados

Os resultados foram submetidos à análise de variância (ANOVA) e as médias comparadas pelo teste de Tukey, ao nível de 95% de confiança ( $\alpha$  0,05). Para o teste de Tukey foi utilizado o seguinte programa: Sistema para análise e separação de médias em experimentos agrícolas pelos métodos Scott-Knott, Tukey e Duncan (CANTERI et al., 2001).

## 3 RESULTADOS E DISCUSSÕES

### 3.1 Espessura, Gramatura e Densidade

Não houve diferenças significativas ( $p \leq 0,05$ ) nos valores de espessura entre os tratamentos, porém, foram observadas diferenças para gramatura e densidade, confirmadas pelo teste de Tukey (Tabela 3).

TABELA 3 - Resultados das propriedades espessura, gramatura e densidade, em biofilmes com diferentes concentrações de celulose bacteriana, biossurfactante e glicerol.

Propriedades			
Tratamentos	Espessura (mm)	Gramatura ( $\text{g.m}^{-2}$ )	Densidade ( $\text{g.cm}^{-3}$ )
1	$0,13^a \pm 0,02$	$134^b \pm 1,11$	$1,09^a \pm 0,29$
2	$0,15^a \pm 0,01$	$142^b \pm 3,06$	$0,95^{ab} \pm 0,01$
3	$0,18^a \pm 0,02$	$136^b \pm 10,39$	$0,60^b \pm 0,07$
4	$0,15^a \pm 0,01$	$158^a \pm 7,20$	$1,08^a \pm 0,07$

NOTA - Médias seguidas de mesma letra nas colunas não diferem entre si pelo Teste de Tukey, em nível de 5% de probabilidade. São apresentados os valores médios das triplicatas e o respectivo desvio padrão.

O controle da espessura dos filmes avalia a uniformidade dos filmes produzidos, a repetibilidade da medida de suas propriedades e a validade das comparações entre filmes. A espessura influencia na resistência mecânica e

nas propriedades de barreira ao vapor d'água do material (OLIVEIRA et al., 1996).

Na confecção dos filmes a técnica de *casting* se mostrou adequada pela regularidade no controle da espessura, com variação não significativa confirmada pelo teste de Tukey ( $p \geq 0.05$ ). No entanto, foi observado que biofilmes com maior concentração de biossurfactante e glicerol apresentaram maiores espessuras. Este aspecto também foi verificado por Mota (2009) em filmes formados por blendas poliméricas de amido de lírio-do-brejo (*Hedychium coronarium*) e amido de fruto-do-lobo (*Solanum lycocarpum* St. Hill) onde a espessura do filme aumentou com a adição do plastificante. Valores semelhantes também foram observados por Dias (2008) em filmes de amido e de farinha de arroz. No entanto, menores espessuras foram encontrados por Henrique et al. (2008), em filmes de amido modificado de mandioca, em que as espessuras variaram de 0,0213 a 0,1202 mm e, por Rhim (2004) em filmes de fécula de mandioca com espessuras entre 0,056 a 0,069 mm. .

Sendo a gramatura definida como o peso de uma determinada área do material, está diretamente relacionada à resistência mecânica e de barreira dos filmes (OLIVEIRA et al., 1996; SARANTÓPOULOS et al., 2002). A gramatura apresentou valores entre 134 a 158 g.m<sup>-2</sup> (Tabela 2.0) e os tratamentos 1 (70% CB; 4,45% BS; 25,55% GL), 2 (60% CB; 9,80% BS; 30,20% GL) e 3 (50% CB; 14,25% BS; 35,75% GL) não mostraram diferença significativa, confirmada pelo teste de Tukey ( $p \geq 0.05$ ). No entanto, foi observado que o tratamento 4 (40% CB; 19,95% BS; 40,05% GL) apresentou aumento de 17,91% na gramatura, em relação ao tratamento 1 (70% CB; 4,45% BS; 25,55% GL) possivelmente pelo acréscimo nos teores de biossurfactante e glicerol no filme. Os biofilmes produzidos neste trabalho indicam maior resistência mecânica e de barreira, comparado com filmes de policloreto de vinila (PVC) comercial, com 40,95 g.m<sup>2</sup>. Porém, valores maiores de gramatura foram verificados por Henrique et al., (2008) com variações de 200 a 500 g.m<sup>-2</sup> em diferentes filmes de amidos modificados.

A densidade dos filmes apresentou variação de 0,60 a 1,09 g.cm<sup>-3</sup>, com aumento de 81,66%, entre os tratamentos, sendo verificado maior densidade em compósitos com alta concentração de celulose bacteriana. A densidade de

um polímero está relacionada à composição química, ao peso molecular (moléculas individuais) e a forma como estão compactadas as moléculas (cristalinidade) (SARANTÓPOULOS et al., 2002). Segundo Vandamme et al. (1998), a celulose bacteriana apresenta alta cristalinidade, o que pode ter conduzido a um aumento na densidade no filme produzido.

Henrique et al. (2008) obtiveram resultados de 0,06 e 0,12 mm para filmes produzidos a partir de amido modificado de mandioca sob diferentes concentrações.

### 3.2 Cor

A cor pode ser considerada um importante parâmetro de caracterização dos biofilmes, pois está associada com a matéria-prima utilizada na elaboração dos mesmos (VICENTINI, 2003).

A análise de variância mostrou diferença significativa ( $p \leq 0,05$ ) entre as médias dos tratamentos, em todos os parâmetros de cor (Luminosidade, Cromo a\* e Cromo b\*) e confirmada pelo teste de Tukey (Tabela 3).

Tabela 4 - Características de cor em biofilmes com diferentes concentrações de celulose bacteriana, biossurfactante e glicerol.

Tratamentos	Cor		
	Luminosidade (L*)	Croma a*	Croma b*
1	45,63 <sup>a</sup> ± 1,30	0,93 <sup>a</sup> ± 0,18	3,57 <sup>a</sup> ± 0,87
2	45,94 <sup>a</sup> ± 0,31	0,95 <sup>a</sup> ± 0,02	3,37 <sup>a</sup> ± 0,72
3	42,62 <sup>b</sup> ± 0,77	0,50 <sup>b</sup> ± 0,12	1,75 <sup>b</sup> ± 0,70
4	41,42 <sup>b</sup> ± 0,78	0,34 <sup>b</sup> ± 0,05	2,14 <sup>ab</sup> ± 0,57

NOTA - Médias seguidas de mesma letra nas colunas não diferem entre si pelo Teste de Tukey, em nível de 5% de probabilidade. São apresentados os valores médios das triplicatas e o respectivo desvio padrão.

Os valores de L\* indicam a luminosidade na faixa de 100 (branco) a zero (preto), que o diferencia em claro e escuro. Os biofilmes apresentaram variação entre 41,42 a 45,94, mostrando diferença de 9,8%, indicando filmes com

coloração intermediária. No entanto, filmes mais escuros foram observados onde a concentração era maior de glicerol e biossurfactante e, menor de celulose bacteriana. De modo geral, houve uma reduzida luminosidade em todos os tratamentos, que pode estar associada à alta concentração das moléculas na matriz do biofilme, em que foram adicionados 5g de soluto na solução filmogênica.

O croma  $a^*$  indica a variação de cor do verde (- 60) ao vermelho (+ 60). Os biofilmes mostraram variação de 0,34 a 0,95 entre os tratamentos, com valores positivos, indicativo para o componente vermelho, com diferença significativa ( $p \leq 0,05$ ) e confirmado pelo teste de Tukey.

Os valores obtidos do croma  $b^*$  estão relacionados com variação das cores do azul (- 60) a amarelo (+ 60). Os resultados obtidos do croma  $b^*$  mostraram variação entre 1,75 a 3,57, com diferença de 51%, com valores positivos para o componente amarelo. Os maiores valores do croma  $b^*$  foram observados nos biofilmes com maior concentração de celulose bacteriana, influenciada pela sua coloração levemente amarelada.

No entanto, considerando que os valores do croma  $a^*$  e  $b^*$  foram localizados muito próximos do zero, há indicativo que os filmes apresentaram coloração levemente acinzentada segundo a escala de cores do colorímetro Hunterlab.

Silva et al. (2007) obtiveram como resultados a coloração de transparente e brilhante para biofilmes obtidos a partir de amido de milho, fécula de batata e fécula de mandioca, para todas as concentrações testadas.

### 3.3 Solubilidade, índice de intumescimento e Isoterma de adsorção de água dos filmes

A solubilidade em água variou de 95,77 a 99,56%, com um percentual de variação 3,8%, obtendo diferença significativa entre os tratamentos ( $p \leq 0,05$ ) e confirmada pelo teste de Tukey (Tabela 4).

Tabela 5 - Solubilidade em biofilmes com diferentes concentrações de celulose bacteriana, biossurfactante e glicerol

Tratamentos	Solubilidade (%)
1	96,28 <sup>c</sup> ± 0,00
2	95,77 <sup>d</sup> ± 0,03
3	99,56 <sup>a</sup> ± 0,01
4	98,20 <sup>b</sup> ± 0,00

NOTA - Médias seguidas de mesma letra nas colunas não diferem entre si pelo Teste de Tukey, em nível de 5% de probabilidade. São apresentados os valores médios das triplicatas e o respectivo desvio padrão.

Maiores solubilidades foram observadas em biofilmes com concentrações altas de glicerol e baixas de celulose bacteriana. A capacidade hidrofílica do glicerol pode estar relacionada à quantidade de hidroxilas de sua molécula e, quando adicionada em matrizes poliméricas polares formam uma maior quantidade de pontes de hidrogênio com a água (Mchugh e Krochata, 1994), resultando biofilmes mais solúveis. No entanto, a celulose bacteriana consiste em um polímero insolúvel em água formado por ligações beta (1→4)-D-glicosídicas, com cadeia linear (Jonas e Farah, 1998), o que dificulta sua solubilização.

A alta solubilidade observada, em média de 97,45%, indica a aplicação destes biofilmes como embalagens comestíveis, onde a dissolução torna-se benéfica sensorialmente. No entanto, segundo Fakhouri et al. (2007) quando o alimento for semi-líquido ou houver a presença de exsudação, biofilmes de elevada solubilidade não são indicados.

O índice de intumescimento está relacionado ao grau de hidratação dos biofilmes. Considerando este aspecto, foi verificada diferença significativa ( $p \leq 0,05$ ) no grau de hidratação entre os tratamentos em todos os tempos (Figura 1).

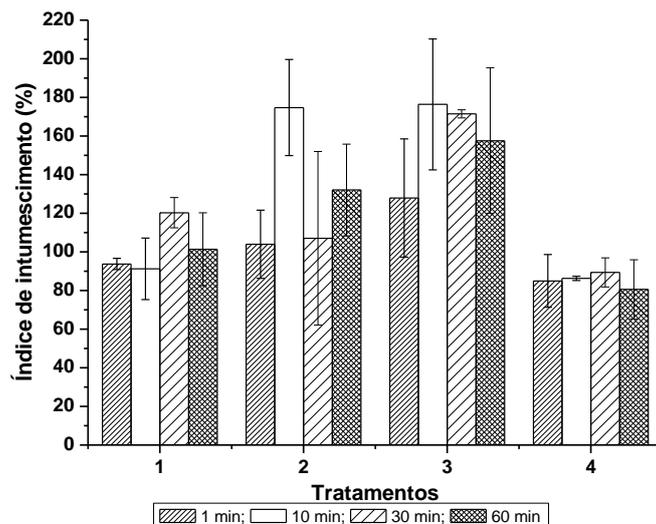


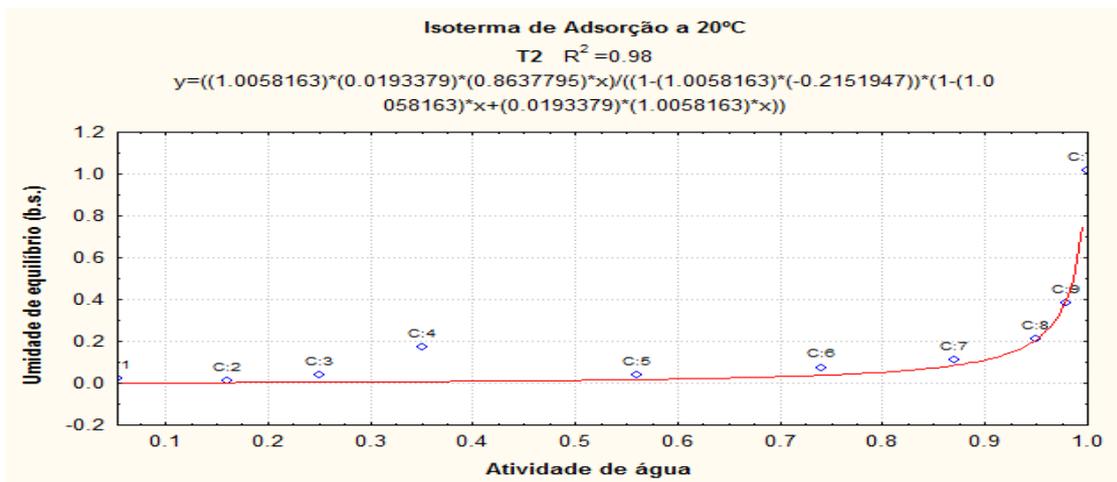
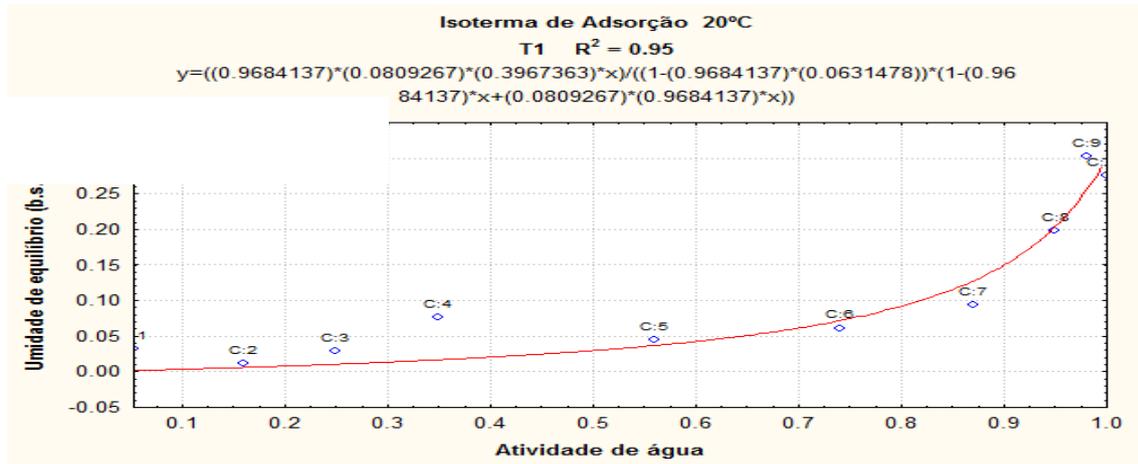
Figura 1 - Índice de intumescimento em biofilmes de diferentes concentrações de celulose bacteriana, biossurfactante e glicerol em pH 7,0

Com a diminuição da celulose bacteriana, aumento do glicerol e biossurfactante houve elevação no índice de intumescimento em todos os tratamentos, com exceção do tratamento 4 (40% CB; 19,95% BS; 40,05% GL), quando mostrou menores índice de intumescimento 85,00%, 86,25%, 89,35% e 80,60%, em todos os tempos analisados, 1, 10, 30 e 60 minutos, respectivamente. Este aspecto pode estar relacionado ao aumento da concentração de biossurfactante e glicerol na matriz do biofilme e menor quantidade de celulose bacteriana. Phisalaphong e Jatupaiboon (2008) verificaram maior capacidade de absorção à água em filmes de celulose bacteriana, 482%, em água deionizada.

Em trabalho desenvolvido por Fakhouri et al. (2007) foi encontrado valores de 24,38% para biofilmes produzidos com gelatina e amido de trigo e 30,20% para biofilmes produzidos a partir de gelatina e amido de arroz. Portanto, valores inferiores ao observado neste trabalho.

As isotermas de adsorção de umidade descrevem a relação entre o conteúdo de umidade de equilíbrio do biofilme em relação a sua atividade de água em determinada temperatura. As isotermas forneceram informações sobre a hidrofiliicidade dos biofilmes sob diferentes valores de umidade relativa, entre 5,3% a 100%. O modelo de Guggenheim – Anderson - de Boer (GAB) foi

utilizado para representar as isotermas de sorção de água e forneceu altos coeficientes de correlação, indicando significativa a representação dos dados (Figura 2).



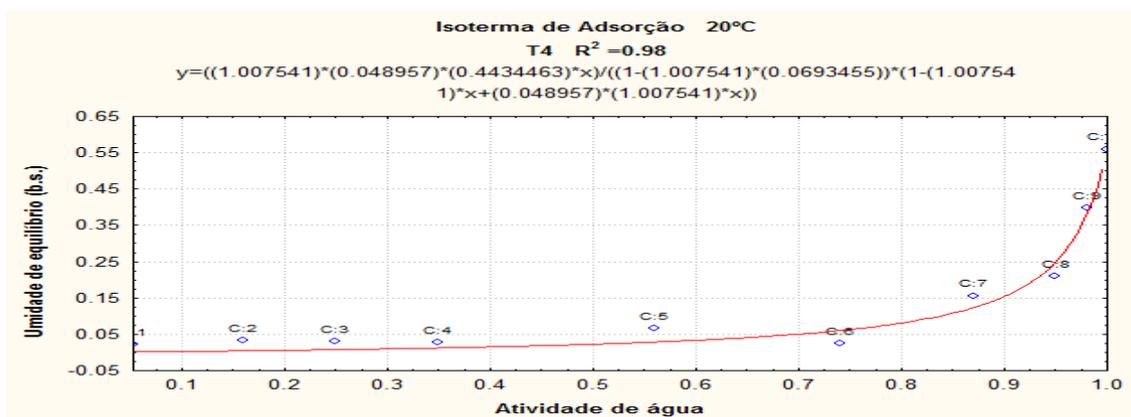


Figura 2 - Isotermas de adsorção de água em biofilmes com diferentes tratamentos, ajustadas pelo modelo matemático de Guggenheim – Anderson - de Boer (GAB)

As isotermas de adsorção apresentaram as curvas em formato de J, típicas de alimentos com grande quantidade de açúcar e solutos e, que têm pouca adsorção por capilaridade. Os pontos críticos da umidade de equilíbrio foram observados entre os tratamentos 1, 2, 3 e 4, com valores de 0,39, 0,86, 0,54 e 0,44 g de água por 100 g de biofilme seco, respectivamente, que pode ser absorvida em uma única camada.

O ponto crítico de uma isoterma determina o limite da atividade de água e da umidade de equilíbrio, que acima do qual o produto acelera as suas transformações (MOURA e GERMER, 2004). Desta forma, o tratamento 1, com maior concentração de celulose bacteriana, demonstrou baixa capacidade de manutenção da integridade do biofilme a água. Estes resultados podem estar relacionados às características da celulose bacteriana, como a alta cristalinidade, devido ao diâmetro menor das suas microfibrilas, o que proporciona elevada capacidade de retenção e absorção de água e baixa capacidade de dessorção (PHISALAPHONG e JATUPAIBOON, 2008).

Em temperatura de 20°C e mantido constante, o ponto crítico das isotermas (Figura 2) dos tratamentos 1, 2, 3 e 4 apresentou atividades de água de 0,8, 0,95, 0,90 e 0,90, respectivamente, e, que as umidades de equilíbrio aumentaram com a elevação da atividade de água.

### 3.4 Taxa de permeabilidade ao vapor de água (TPVA) e permeabilidade ao vapor de água (PVA) dos biofilmes

Nos resultados de TPVA e PVA não foram verificadas diferenças significativas ( $p \geq 0,05$ ) entre os tratamentos, e confirmados pelo teste de Tukey ( $p \leq 0,05$ ). Os valores da TPVA e PVA variaram entre 2,36 a 2,71 ( $\text{g H}_2\text{O m}^{-2} \cdot \text{h}^{-1}$ ) e 1,29 a 1,48 ( $\text{g H}_2\text{O} \cdot \text{mm} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{dia}^{-1} \cdot \text{mmHg}^{-1}$ ), respectivamente (Tabela 5).

TABELA 6 - Taxa de permeabilidade ao vapor de água e permeabilidade ao vapor de água em filmes de com celulose bacteriana, biossurfactante e glicerol.

Tratamentos	Propriedades de Barreira	
	TPVA ( $\text{g H}_2\text{O} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{h}^{-1}$ )	PVA ( $\text{g H}_2\text{O mm} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{dia}^{-1} \cdot \text{mmHg}^{-1}$ )
1	2,71 <sup>a</sup> ±0,51	1,48 <sup>a</sup> ±0,28
2	2,63 <sup>a</sup> ±0,26	1,44 <sup>a</sup> ±0,14
3	2,36 <sup>a</sup> ±0,47	1,29 <sup>a</sup> ±0,25
4	2,49 <sup>a</sup> ±0,30	1,36 <sup>a</sup> ±0,16

NOTA - Médias seguidas de mesma letra nas colunas não diferem entre si pelo Teste de Tukey, em nível de 5% de probabilidade. São apresentados os valores médios das triplicatas e o respectivo desvio padrão.

O tratamento 3 (50% CB; 14,25% BS; 35,75% GL) apresentou menor taxa de permeabilidade ao vapor de água, ou seja,  $2,36 \text{ g H}_2\text{O} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{h}^{-1}$ , e este aspecto pode estar relacionado a espessura encontrada que foi de 0,18 mm, ou seja, quanto maior for a espessura do biofilme menor será sua permeabilidade. Segundo a lei de difusão de Fick, e a lei de sorção de Henry, a taxa de permeabilidade ao vapor de água (TPVA) varia com o inverso da espessura do filme (CHEN, 1995; CUQ et al., 1996).

Os resultados obtidos por nós para os biofilmes a base de amido, celulose bacteriana e glicerol tiveram menores taxas de TPVA, que variou de 2,36 a 2,71  $\text{g} \cdot \text{mm} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{d} \cdot \text{kPa}$  em relação aos resultados obtidos por Fakhouri et al. (2007), (2,44 a 5,53) para filmes produzidos a base de gelatina e amido de batata e gelatina e amido de trigo.

Davanço, Tanada-Palmu e Grosso (2007) obtiveram resultados para TPVA que variaram de 1,9 a 9,5 g.mm.m<sup>-2</sup>.d.kPa para filmes compostos de gelatina, triacetina, ácido esteárico ou capróico. Verificando que os resultados obtidos nos filmes a base de amido, celulose bacteriana e biossurfactante não tiveram grande variação entre os tratamentos testados.

Souza et al. (2011), encontrou resultados maiores para a TPVA (6,62 a 10,55 g.mm.m<sup>-2</sup>.d.kPa) para filmes produzidos a partir de amido de mandioca com adição de polpas de manga e acerola, verificando-se que a adição de pequenas quantidade de polpa contribuíram para um aumento na permeabilidade do filme, resultado contrário ao obtido pela adição da celulose nos filmes produzidos neste trabalho.

### 3.5 Análise estrutural dos biofilmes por microscopia eletrônica de varredura (MEV)

A microscopia eletrônica de varredura (MEV) fornece informações estruturais dos biofilmes, como homogeneidade, presença de rupturas, falhas, bolhas, entre outros. Estes aspectos podem influenciar nas propriedades mecânicas do material.

As análises foram realizadas nas superfícies dos biofilmes e mostraram uma matriz coesa, porém, irregular com presença de partículas insolúveis, provavelmente causada pela presença da celulose bacteriana (Figura 3).

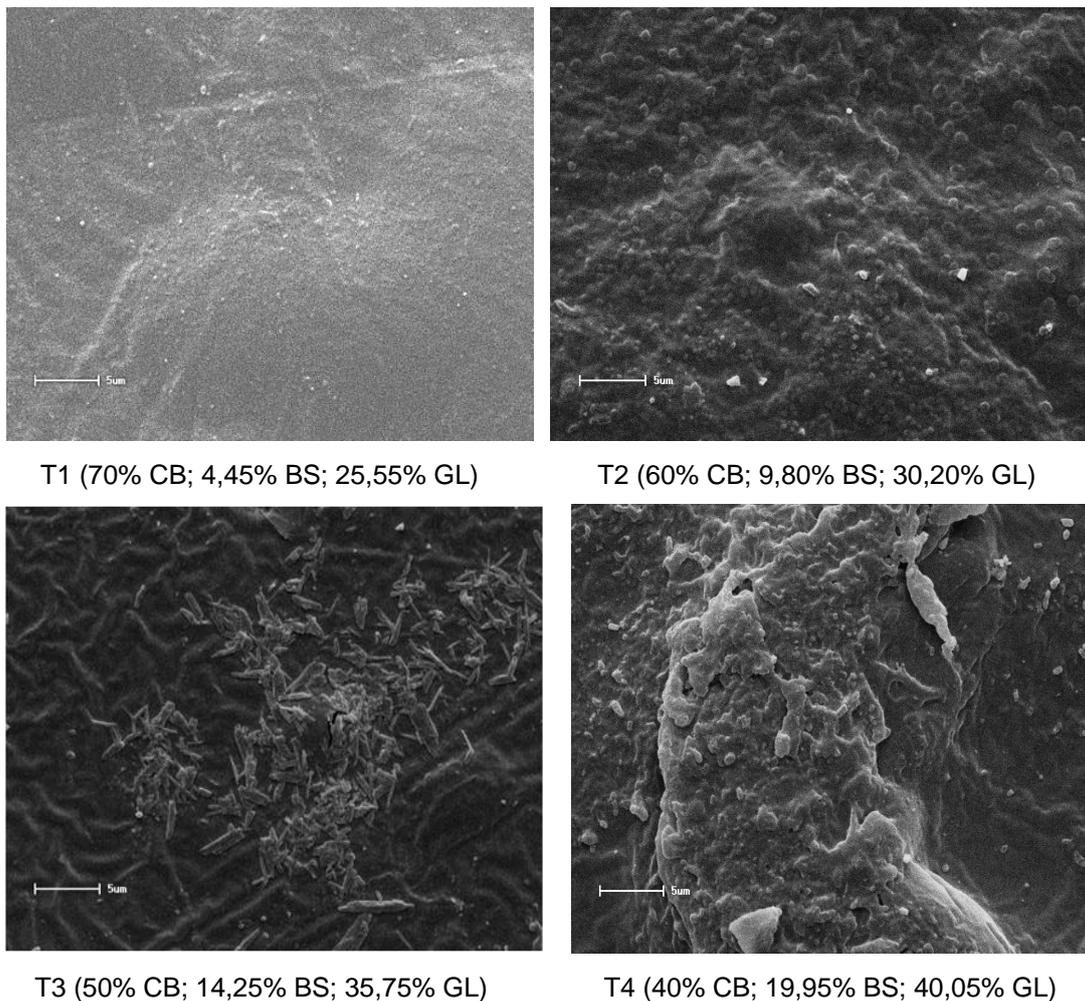


Figura 3 - Micrografias dos biofilmes obtidas por meio de microscopia eletrônica de varredura (MEV), com aumento de 2400 x.

Bierhalz et al. (2010), encontrou estruturas lisas, homogêneas, bem compactadas, sem indícios de separação das fases para biofilmes ativos produzidos a base de pectina BTM e de pectina BTM/alginato reticulados com cálcio. Os resultados obtidos por nós mostram a presença de partículas insolúveis, que podem ter sido causadas pela presença da celulose bacteriana.

Bukzem, et al. (2012) obteve resultados semelhantes para filmes produzidos a base de fécula de mandioca e bagaço de cevada obtidos por extrusão termoplástica, onde encontraram uma superfície heterogênea com

destaque para as fibras. Neste trabalho obteve-se uma matriz coesa, porém com partículas insolúveis, provavelmente causadas pela adição de celulose bacteriana ao filme.

Matta Junior, et al. (2011) encontrou uma matriz com arranjo desordenado de grânulos e seus fragmentos para filmes produzidos a base de amido de ervilha associado a goma xantana e glicerol, afastando-se muito dos resultados obtidos neste trabalho.

### 3.6 BIODEGRADABILIDADE DO BIOFILME

Em solo com umidade de 10,06%, pH de 7,11 e armazenados em temperatura de  $25^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$  foi verificado que todos os tratamentos, nos intervalos de 0 hora a 15 dias, não apresentaram indícios de biodegradação visível. Os tratamentos 1 (70% CB; 4,45% BS; 25,55% GL) e 2 (60% CB; 9.80 BS; 30,20% GL) apresentaram nos tempos de 30 e 40 dias maiores pontos de degradação (Figura 4). Este aspecto pode estar relacionado à maior concentração de celulose bacteriana nestes tratamentos, pois se trata de um polímero formado por moléculas de glicose unidas por ligações glicosídicas  $\beta$  (1  $\rightarrow$  4), formando cadeias lineares não-ramificadas longas (Raven et al., 2001), com elevada capacidade de retenção e absorção de água (Czaja et al., 2006), favorecendo a biodegradabilidade pelos micro-organismos do solo.

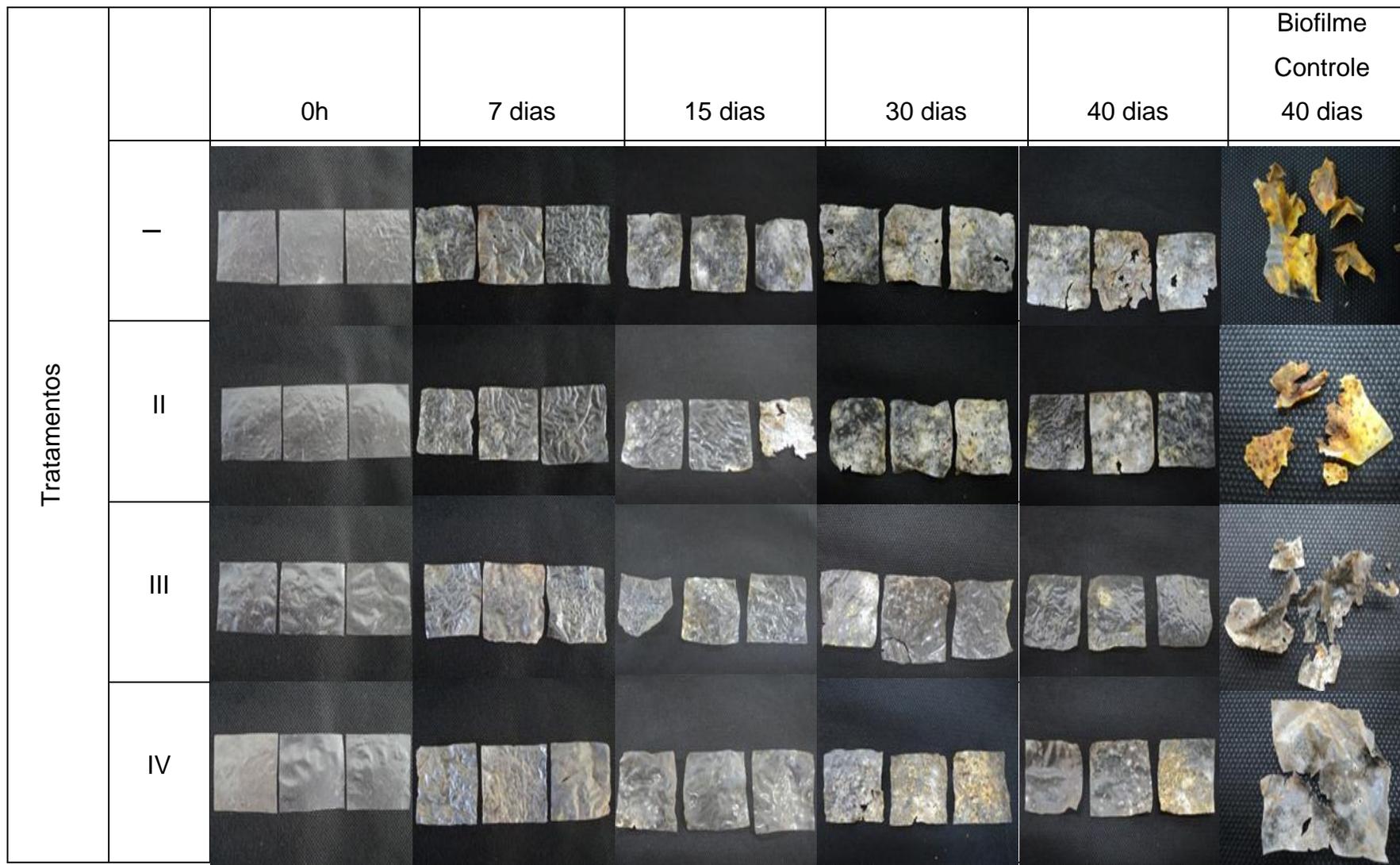


Figura 4 - Evolução da biodegradabilidade de biofilmes com diferentes concentrações de celulose bacteriana, biosurfactante e glicerol.

Nota – Imagens dos biofilmes em triplicata nos tempos de 0 hora, 7, 15, 30 e 40 dias.

Gomes et al. (2008) obteve filmes escuros, frágeis, com manchas escuras na superfície, como indicação de degradação, para filmes produzidos com 40 e 60% de amido e filmes produzidos com 100 e 80% de amido apresentaram degradação total a partir do 3º dia, mostrando um melhor resultado para filmes com maior concentração de amido em relação aos formados por celulose bacteriana, biosurfactante.

Brukzem et al. (2012) e Mota (2009) encontram tempos médios de degradação total de 7 dias para filmes produzidos a base de fécula de mandioca e bagaço de cevada e filmes produzidos a base de amido de frutadinho e lírio-do-brejo, respectivamente; Os filmes a base amido, biosurfactante e celulose bacteriana apresentaram nos tempos de 30 e 40 dias maiores pontos de degradação, efeito que pode estar relacionado a alta concentração de celulose bacteriana nos filmes.

## 4 CONCLUSÃO

Os biofilmes produzidos por fécula de batata, celulose bacteriana, biossurfactante e glicerol formaram uma matriz coesa, porém irregular com presença de grânulos.

Biofilmes com maiores concentrações de celulose bacteriana apresentaram menor espessura e gramatura, baixa solubilidade, reduzida capacidade de manutenção da integridade do biofilme a água, confirmado pelos altos valores da taxa de permeabilidade ao vapor de água e ainda maior degradação em 30 e 40 dias. Com o aumento no teor de biossurfactante e glicerol os filmes mostraram maior solubilidade em água, com coloração levemente acinzentada e baixa luminosidade. Biofilmes com 60% de celulose bacteriana, 9,80% de biossurfactante e 30,20% de glicerol, submerso por 10 minutos em água deionizada, tiveram maior índice de intumescimento.

Portanto, os biofilmes formados por fécula de batata, celulose bacteriana, biossurfactante e glicerol se caracterizaram, de modo geral, com boa barreira à luz, manutenção da umidade e com potencial de biodegradabilidade.

## 5 REFERÊNCIAS

ALMEIDA, Denise. M. Biofilme de blenda de fécula de batata e celulose bacteriana na conservação de fruta minimamente processada. Tese (Doutorado) - **Programa de Pós-Graduação em Processos Biotecnológicos Agroindustriais, Universidade Federal do Paraná**. Curitiba, 2010.

BATISTA, J. A.; TANADA-PALMU, P. S.; GROSSO, C. R.F. Efeito da adição de ácidos graxos em filmes à base de pectina. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 25, nº. 4, p. 2005. Disponível em: <[http://www.scielo.br/scielo.php?pid=S010120612005000400025&script=sci\\_ar\\_ttext](http://www.scielo.br/scielo.php?pid=S010120612005000400025&script=sci_ar_ttext)>. Acesso em: 10 de outubro 2012.

BIERHALZ, Andréia. C. K. Confecção e Caracterização de biofilmes ativos à base de pectina BTM e de pectina BTM/alginato reticulados com cálcio. Dissertação (Mestrado) – **Engenharia Química, Universidade Estadual de Campinas**. Campinas, 2010. Disponível em: <http://www.bibliotecadigital.unicamp.br/document/?code=000772452>. Acesso em: 12 de março 2013.

BUKZEM, A. L.; SANTOS, D. M.; ASCHERI, D. P. R. Filmes biodegradáveis a base de fécula de mandioca e bagaço de cevada obtidos por extrusão termoplástica. **Revista Agrotecnologia, Anápolis**, v.3, n. 2, p 89-107, 2012. Disponível em: < [www.bdpa.cnptia.embrapa.br/busca?b...t...](http://www.bdpa.cnptia.embrapa.br/busca?b...t...)>. Acesso em: 20 de março 2013.

CANTERI, M. G., ALTHAUS, R. A., VIRGENS FILHO, J. S., GIGLIOTI, E. A., GODOY, C. V. SASM- agri. Sistema para análise e separação de médios em experimentos agrícolas pelos métodos Scott. Knott, Tukey e Duncan. **Revista brasileira de agrocomputação**, V.1, N.2, p. 18-24, 2001.

DAVANÇO, T.; TANADA-PALMU, P.; GROSSO, C. Filmes compostos de gelatina, triacetina, ácido esteárico ou capróico: efeito de pH e da adição de surfactantes sobre a funcionalidade dos filmes. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 27(2), p. 408-416, 2007. Disponível em: <[http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0101-20612007000200034](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0101-20612007000200034)>. Acesso em: 20 de março 2013.

DESAI, A. J.; BANAT, I.M. Emulsifier production by *Pseudomonas fluorescens* during the growth on hydrocarbons. **Current Science**, v.57, p. 500-501, 1997. Disponível em: <<http://www.biotecnologia.com.br/revista/bio30/biosurfactantes.pdf>>. Acesso em: 20 de dezembro 2012.

D. Tapia-Blácido; MAURI, N.A.; MENEGALLI, F.C.; SOBRAL, P.J.; AÑÓN, M.C. **J Food Sci**. 2007, 72, 293-300.

ELIZONDO, N.J.; SOBRAL, P. J.A.; MENEGALLI, F. C. Development of films based on blends of *Amaranthus cruentus* flour and poly(vinyl alcohol). **Rev. Carbohydrate Polymers**, v. 75, p.592, 2009.

FAKHOURI, Farayade. M.; FONTES, Luciana. C. B.; GONÇALVES, Priscila. V. M.; MILANEZ, Cibele. R.; STELL, Caroline. J.; COLLARES-QUEIROZ, Fernanda. P.. Filmes e coberturas comestíveis compostas á base de amidos nativos e gelatina na conservação e aceitação sensorial de uvas Crimson. **Ciência e Tecnologia de Alimentos. Campinas**, 2007. Disponível em: <<http://www.scielo.br/pdf/cta/v27n2/26.pdf>>. Acesso em: 15 de março 2013.

FANG, J.M.; FOWLER, P.A.; ESCRIG, C.; GONZALEZ, R.; COSTA, J.A.; CHAMUDIS, L. Development of biodegradable laminate films derived from naturally occurring carbohydrate polymers. **Carbohydrate Polymers**, v. 60, nº 1, p. 39–42, 2005.

GALDEANO, M.C.; GROSSMANN, M.E.V.; MALI, S.; BELO-PEREZ, L.A.; GARCIA, M.A.; ZAMUDIO-FLORES, P.B. Effects of production process and plasticizers on stability of films and sheets of oat starch. **Materials Science and Engineering C**, v. 29 (2009) 492– 498pg.

GOMES, Anida. M. M. Preparação, Caracterização e Avaliação da biodegradabilidade de blendas de amido/quitosana/PVA. Tese (Doutorado) – **Programa de Pós-Graduação em Química Inorgânica, Universidade Federal do Ceará**. Fortaleza, 2008. Disponível em: < <http://www.repositorio.ufc.br:8080/ri/handle/123456789/1110>>. Acesso em: 10 de março 2013.

HENRIQUE, C. M.; CEREDA, M. P.; SARMENTO, S. B. S. Características físicas de filmes biodegradáveis produzidos a partir de amidos modificados de mandioca. **Ciência e Tecnologia em Alimentos**. Campinas, 2008. Disponível em: < <http://www.scielo.br/pdf/cta/v28n1/32.pdf>>. Acesso em: 02 de fevereiro 2013.

JAYASEKARA, P. C. L.; YEE, S. M.; ZENTELLA, M. C.; MARVÁN, E. E. **Tip Rev. Espec. em Cienc. Quím.-Biol.** 2004, 01, 18-25.

JONAS, R.; FARAH, L. F. Production and application of microbial cellulose. **Polymer Degradation and Stability**, v.59, n.1-3, p.101-106, 1998.

LAURINDO, J. B.; PELEG, M. Mechanical measurements in puffed Rice cakes. **Journal of Texture Studies**, v.38, p.619-634, 2007.

LOWDIN, D.; DELLA VALLE, G.; COLONNA, P. Influence of amylase content on starch films and foams. **Carbohydrate Polymers**, v.27, n°4, p. 261-270, 1995.

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

MATEOS, Simone Biehler. **Pele descartável**. Disponível em: <[http://ww.cni.org.br//produtos//diversos//src//rev44\\_tecnologia.pdf](http://ww.cni.org.br//produtos//diversos//src//rev44_tecnologia.pdf)>. Acesso em: 07/02/07.

MATTA, M. D.; SARMENTO, S. B. S.; SARANTÓPOULOS, C I. L.; ZOCCHI, S.S. Propriedades de barreira e solubilidade de filmes de amido de ervilha associado com goma xantana e glicerol. **Polímeros**, v.21, n.1 p.67-72, 2011. Disponível em; < [http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0104-14282011000100014](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0104-14282011000100014)>. Acesso em: 21 de março 2013.

MCHUGH, T. H., KROCHTA, J. M. Sorbitol-vs glycerol-plasticized whey protein edible films: integrated oxygen permeability and tensile property evaluation. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.42, 841-845, 1994.

MOURA, S. C. S. R., GERMER, S. P. M. **Reações de transformação e vida-deprateleira de alimentos processados**. Manual técnico n.6, 3ª Ed., Campinas: Instituto de Tecnologia em Alimentos (ITAL), 2004.

NADIARID, J.E.; Sobral, P.J.A.; Florencia C.M. Development of films based on blends of *Amaranthuscruentus* flour and poly(vinyl alcohol). **Carbohydrate Polymers**, v.75, (2009) 592–598.

OLIVEIRA, L. M. Ensaio para avaliação de embalagens plásticas flexíveis. Campinas: **Centro de Tecnologia de Embalagem, CETEA**, p. 219, 1996. Disponível em: <[http://www.scielo.br/scielo.php?pid=S0101-20612008000100033&script=sci\\_arttext&tIng=pt](http://www.scielo.br/scielo.php?pid=S0101-20612008000100033&script=sci_arttext&tIng=pt)>. Acesso em: 13 de fevereiro 2013.

OLIVEIRA, L. M. de; ALVES, R. M. V.; SARANTÓPOULOS, C. I. G. L.; PADULA, M.; GARCIA, E. E. C.; CAOLTRO, L. Ensaio para avaliação de embalagens plásticas flexíveis. Campinas: **Centro de Tecnologia de Embalagem /ITAL**, 1996, 216P. Disponível em: <<http://www.scielo.br/pdf/%0D/po/v14n3/21565.pdf>> Acesso em: 25 de janeiro 2013.

PACHECO, J. L. C.; YEE, S. M.; ZENTELLA, M. C.; MARVÁN, E. E. Celulosa Bacteriana en Gluconacetobacter xylinum: Biosíntesis y Aplicaciones. **Tip Revista Especializada en Ciencias Químico-Biológicas**. Junio, año/vol.7,número 001, p. 18-25. 2004 Universidade Nacional Autónoma de México.

PHISALAPHONG M.; SUWANMAJO, T.; TAMMARATE, P. Synthesis and characterization of bacterial cellulose/alginate blend membranes. **Journal of Applied polymers Science**, v.107, p. 3419-3424, 2008.

SARANTÓPOULOS, C.G.L.; OLIVEIRA, L.M.; PADULA, M.; COLTRO, L.; ALVES, R.M.V; GRACIA, E.E.C. Embalagens Plásticas Flexíveis: principais polímeros e avaliação de propriedades. **CETEA/ ITAL**, Campinas, 2002.

SHAH, P. B.; BANDOPADHYAY, S.; BELLARE, J. R. Environmentally degradable starch filled low density polyethylene. **Polymer Degradation and Stability**, v. 47, nº 2, p.165-173, 1995.

SOUZA, C. O.; SILVA, L. T.; DRUZIAN, J. T. Estudo Comparativo da Caracterização de filmes biodegradáveis de amido de mandioca, contendo polpas de manga e de acerola. **Química Nova**, v.35, p.262-267, 2012.

VANDAMME, E.J. BAETS, S de; VABAELEN, A.; JORIS, K.; WUFF, P. de. Improved productio of bacterial cellulose and its application potencial. **Polymer Degradation and Stability**, v 59, n.1, p. 93-99, 1998.

VICENTINI, N. M. **Elaboração e caracterização de filmes comestíveis à base de fécula de mandioca para uso em pós-colheita.** 2003. 198f. Tese (Doutorado em Agronomia) – Faculdade de Ciências Agronômicas, Universidade Estadual Paulista, Botucatu, 2003.