

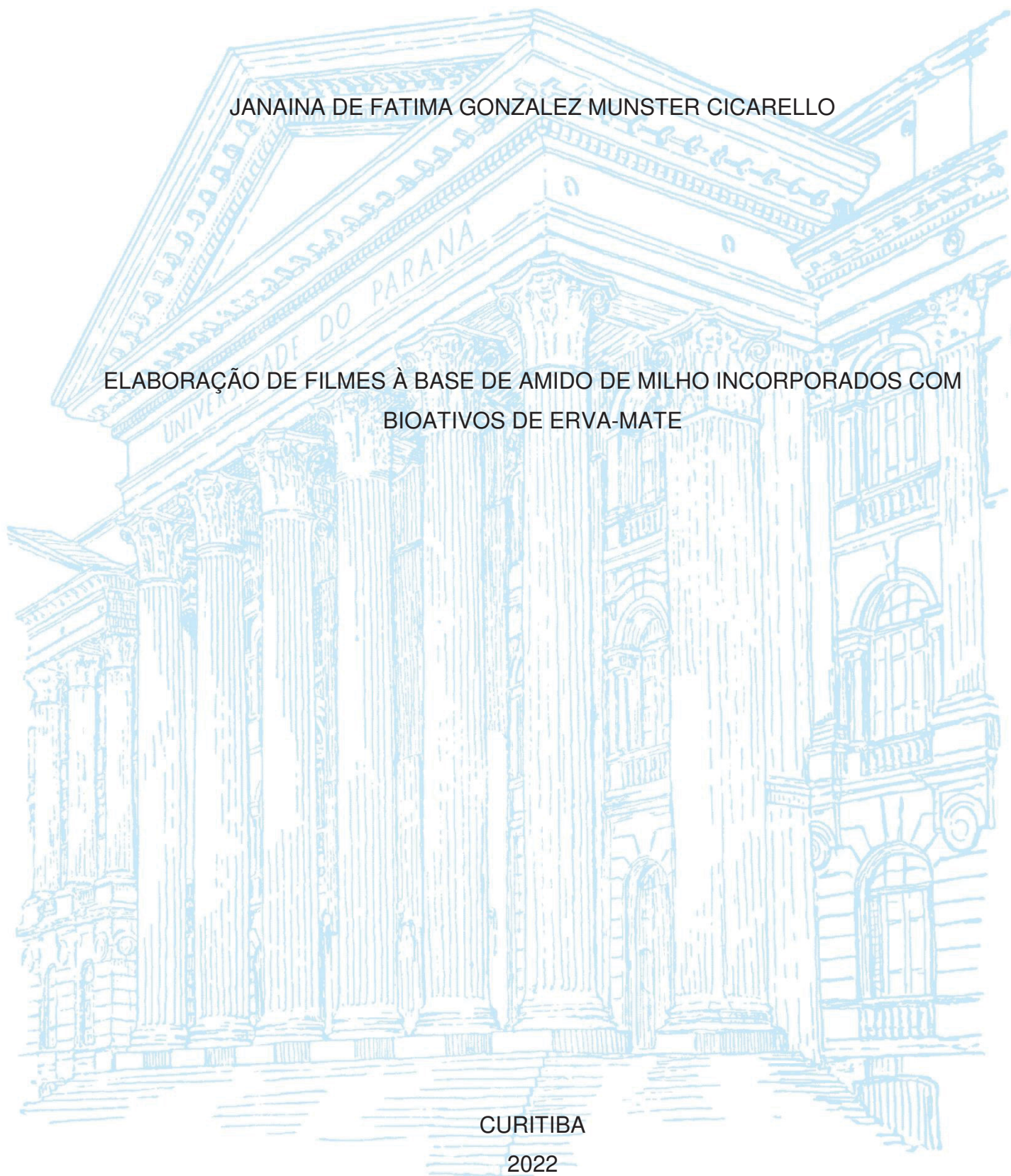
UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ

JANAINA DE FATIMA GONZALEZ MUNSTER CICARELLO

ELABORAÇÃO DE FILMES À BASE DE AMIDO DE MILHO INCORPORADOS COM
BIOATIVOS DE ERVA-MATE

CURITIBA

2022



JANAINA DE FATIMA GONZALEZ MUNSTER CICARELLO

ELABORAÇÃO DE FILMES À BASE DE AMIDO DE MILHO INCORPORADOS COM
BIOATIVOS DE ERVA-MATE

Dissertação apresentada ao Curso de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas, Setor de Ciências da Saúde, da Universidade Federal do Paraná, como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Ciências Farmacêuticas.

Orientador: Prof. Dr. Marcelo Lazzarotto

CURITIBA

2022

Cicarello, Janaina de Fatima Gonzalez Munster
Elaboração de filmes à base de amido de milho incorporados com bioativos de erva-mate [recurso eletrônico] / Janaina de Fatima Gonzalez Munster – Curitiba, 2022.

1 recurso online: PDF.

Dissertação (mestrado) – Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas. Setor de Ciências da Saúde, Universidade Federal do Paraná, 2022

Orientador: Prof. Dr. Marcelo Lazzarotto

1. Compostos fenólicos. 2. Amido. 3. Erva-mate. 4. Celulose. I. Lazzarotto, Marcelo. II. Universidade Federal do Paraná. III. Título.

CDD 615.19

TERMO DE APROVAÇÃO

Os membros da Banca Examinadora designada pelo Colegiado do Programa de Pós-Graduação CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS da Universidade Federal do Paraná foram convocados para realizar a arguição da dissertação de Mestrado de **JANAINA DE FATIMA GONZALEZ MUNSTER CICARELLO** intitulada: **ELABORAÇÃO DE FILMES À BASE DE AMIDO DE MILHO INCORPORADOS COM BIOATIVOS DE ERVA-MATE**, sob orientação do Prof. Dr. MARCELO LAZZAROTTO, que após terem inquirido a aluna e realizada a avaliação do trabalho, são de parecer pela sua aprovação no rito de defesa.

A outorga do título de mestra está sujeita à homologação pelo colegiado, ao atendimento de todas as indicações e correções solicitadas pela banca e ao pleno atendimento das demandas regimentais do Programa de Pós-Graduação.

CURITIBA, 16 de Novembro de 2022.



MARCELO LAZZAROTTO

Presidente da Banca Examinadora



SAMANTA DALIANA GOLIN PACHECO
Avaliador Externo (UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ)



MARCELA MOHALLEM OLIVEIRA
Avaliador Externo (UNIVERSIDADE TECNOLÓGICA FEDERAL DO PARANÁ)

AGRADECIMENTO

A Deus toda Glória e honra! Em quem confio de todo o coração, que me capacitou e fortaleceu em cada momento a superar a paralisia do medo e transpor dificuldades.

Agradeço a meu esposo que, com todo seu amor e suporte, não me deixou desistir, sendo parte importante na construção deste trabalho em todas as etapas.

Agradeço a toda minha família por suas orações e apoio, em especial: meus pais, pois sem eles nada disso seria possível, por seus sábios ensinamentos; a meus irmãos e cunhada por sempre me incentivarem e tornarem o caminho mais divertido. A minha querida vó, que no início do projeto partiu, sua lembrança e força foram minha inspiração.

À Embrapa, por não só fornecer o espaço e recursos, mas pela oportunidade de encontrar amigos (equipe e colegas) que fizeram diferença no decorrer do desenvolvimento do trabalho.

À Capes pelo financiamento; ao orientador Marcelo pela confiança para a realização deste projeto; à UFPR por ser o veículo desta experiência profissional; à banca por aceitar o convite e suas contribuições para tornar o conteúdo melhor: professoras Samanta e Marcela; esta que, além de conselhos, dispôs de análises na UTFPR.

A cada um que partilhou desse processo, muito obrigada!
Não seria possível realizar nada disso sozinha e sei que nunca estive

RESUMO

Materiais biodegradáveis estão sendo estudados como substitutos aos produtos à base de petróleo. Dentre as principais matrizes, o amido tem sido amplamente utilizado para a produção de filmes pela sua acessibilidade no custo e uma gama diversa de fontes e modificações aplicadas na estrutura deste polímero. Como beneficiamento destas matrizes, a incorporação de fontes vegetais em substituição aos aditivos sintéticos tem o intuito de agregar fitoquímicos com potencial de conservante natural. Para isso, empregou-se o extrato aquoso de erva-mate, conhecida como *Ilex paraguariensis* A. St.-Hil, planta que apresenta conteúdo rico em compostos fenólicos. Três concentrações foram produzidas por meio da técnica de crioconcentração, obtendo-se as seguintes soluções de erva-mate: crio diluída (D), extrato inicial (EI) e crioconcentrada (C), eficazes para elevar o teor de compostos fenólicos, como confirmado pela análise de CFT – Compostos Fenólicos Totais. As soluções de erva-mate foram incorporadas no processo de produção do filme via método *casting*. Outra forma de melhoramento das propriedades dos biofilmes foi estudada através da adição de celulose microfibrilada (MFC) ao filme. A solubilidade dos filmes foi apropriada para auxiliar na sua degradabilidade. Caracterizações térmicas foram avaliadas do ponto de vista da análise termogravimétrica que mostrou modificações na estabilidade térmica desses biofilmes e uma maior energia foi requerida para a pirólise final dos materiais. Com a adição da celulose microfibrilada, a curva termogravimétrica revelou mais etapas com variações de massa mais distribuídas. Em contrapartida, para a análise em espectroscopia no infravermelho não se notou variação entre as estruturas das matrizes de amido com adição de MFC, isto porque as bandas características de amido e celulose se sobrepõem. Contudo, nos filmes com matriz de amido de milho com MFC, amido de milho modificado e o mesmo incorporado com MFC, foi possível perceber um aumento da intensidade de bandas com o aumento da concentração de solução de erva-mate incorporada. Estudou-se a capacidade das quatro matrizes (M, R, Mc e Rc) proporcionarem a liberação de seus conteúdos fenólicos em cinco períodos de tempo: 12, 24, 48, 72 e 216 horas. Não foi percebida diferença entre os períodos aplicados; no entanto, quanto maior a concentração de erva-mate incorporada, dentro do máximo obtido pela crioconcentração, maior foi o teor obtido. A proteção fornecida aos compostos bioativos ao incorporá-los na matriz de amido – glicerol torna o material viável para aplicações sustentáveis.

Palavras-chave: compostos fenólicos; amido; erva-mate; celulose.

ABSTRACT

Biodegradable materials are being studied as substitutes for petroleum-based products. Among the main matrices, starch has been widely used for the production of films due to its accessibility in cost and a wide range of sources and modifications applied to the structure of this polymer. As a improvement to these matrices, the incorporation of plant sources in place of synthetic additives is intended to add phytochemicals with potential as a natural preservative. For this, we used the aqueous extract of yerba mate, known as *Ilex paraguariensis*, a plant that has a rich content in phenolic compounds. Three concentrations were produced using the cryoconcentration technique, obtaining the following solutions of yerba mate: diluted cryo (D), initial extract (EI) and cryoconcentrated (C), effective to increase the content of phenolic compounds, as confirmed by the analysis of Total Phenolic Compounds. Yerba mate solutions were incorporated into the film production process by the casting method. Another way of improving the properties of biofilms was studied through the addition of microfibrillated cellulose (MFC) to the film. The solubility of the films was appropriate to aid in their degradability. Thermal characterizations were evaluated from the point of view of thermogravimetric analysis that showed changes in the thermal stability of these biofilms and greater energy was required for the final pyrolysis of the materials. With the addition of microfibrillated cellulose, the thermogravimetric curve revealed more steps with more distributed mass variations. On the other hand, for the infrared spectroscopy analysis, there was no variation between the structures of the starch matrices with the addition of MFC, because the characteristic bands of starch and cellulose overlap. However, in the films with corn starch matrix with MFC, modified corn starch and the same incorporated with MFC, it was possible to notice an increase in the intensity of bands with the increase of the concentration of incorporated yerba mate solution. The ability of the four matrices (M, R, Mc and Rc) to provide the release of their phenolic contents was studied in five time periods: 12, 24, 48, 72 and 216 hours. There was no difference between the applied periods; however, the higher the concentration of yerba mate incorporated, within the maximum obtained by cryoconcentration, the higher the content obtained. The protection provided to bioactive compounds by incorporating them into the starch-glycerol matrix makes the material viable for sustainable applications.

Keywords: phenolic compounds; starch; yerba mate; cellulose.

LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1 – CATEGORIA DAS NANO EMBALAGENS DE ALIMENTOS E SUA IMPORTÂNCIA TECNOLÓGICA PARA O SETOR INDUSTRIAL.....	19
FIGURA 2 – ETAPAS DE PREPARAÇÃO DO AMIDO NATIVO E SUAS DUAS PRINCIPAIS ESTRUTURAS POLIMÉRICAS, AMIOSE E AMILOPECTINA.....	22
FIGURA 3 – REPRESENTAÇÃO ESQUEMÁTICA DA GELATINIZAÇÃO E RETROGRADAÇÃO DO AMIDO.....	24
FIGURA 4 – ESTRUTURA CELULOSE.....	30
FIGURA 5 – PROCESSO DE PREPARAÇÃO DE BIOCOMPÓSITO À BASE DE AMIDO COM REFORÇO DE CELULOSE MICROFIBRILADA.....	31
FIGURA 6 – GRÁFICO GENÉRICO DE UMA CURVA TERMOGRAVIMÉTRICA, DERIVADA PRIMEIRA (DTG) E A ENERGIA ENVOLVIDA NO PROCESSO DE DECOMPOSIÇÃO (DTA)	34
FIGURA 7 – ESQUEMA FUNCIONAMENTO ACESSÓRIO ATR.....	36
FIGURA 8 – SUBDIVISÃO DOS COMPOSTOS BIOATIVOS PRESENTES EM ALIMENTOS DE ORIGEM VEGETAL.....	38
FIGURA 9 – ESTRUTURA GERAL DOS POLIFENÓIS.....	40
FIGURA 10 – ÁRVORE ERVA-MATE.....	42
FIGURA 11 – ESTRUTURAS DAS XANTINAS: TEOFILINA (1,3-DIMETILXANTINA), TEOBROMINA (3,7-DIMETILXANTINA) E CAFÉINA (1,3,7-TRIMETILXANTINA) ...	44
FIGURA 12 – EXEMPLOS DE METASSAPONINAS (ISOMEROS) PRESENTES NA ERVA-MATE.....	44
FIGURA 13 – FLUXO DE PREPARAÇÃO DOS BIOFILMES DE AMIDO DE MILHO E AMIDO DE MILHO MODIFICADO.....	52
FIGURA 14 – IMAGEM DE UM EXEMPLAR PARA CADA BIOFILME PRODUZIDO E BREVE DESCRIÇÃO DA APARÊNCIA E ASPECTO GERAIS PARA CADA GRUPO DE FILME.....	59
FIGURA 15 – GRÁFICO DA UMIDADE DOS FILMES.....	64
FIGURA 16 – GRÁFICO DA SOLUBILIDADE DOS FILMES.....	64
FIGURA 17 – GRÁFICOS TGA, DTG E DTA DOS BIOFILMES DA MATRIZ AMIDO DE MILHO: CONTROLE E INCORPORADOS COM SOLUÇÕES DE ERVA-MATE, A PARTIR DO CULTIVAR BRS 408.....	66

FIGURA 18 – GRÁFICOS TGA, DTG E DTA DOS BIOFILMES DA MATRIZ AMIDO DE MILHO: CONTROLE E INCORPORADOS COM SOLUÇÕES DE ERVA-MATE, A PARTIR DO CULTIVAR BRS 409.....	66
FIGURA 19 – GRÁFICOS TGA, DTG E DTA DOS FILMES DA MATRIZ AMIDO DE MILHO MODIFICADO: CONTROLE E INCORPORADOS COM SOLUÇÕES DE ERVA-MATE, A PARTIR DO CULTIVAR BRS 408.....	69
FIGURA 20 – GRÁFICOS TGA, DTG E DTA DOS FILMES DA MATRIZ AMIDO DE MILHO MODIFICADO: CONTROLE E INCORPORADOS COM SOLUÇÕES DE ERVA-MATE, A PARTIR DO CULTIVAR BRS 409.....	70
FIGURA 21 – GRÁFICOS TGA, DTG E DTA DOS FILMES DA MATRIZ AMIDO DE MILHO COM ADIÇÃO DE MFC: CONTROLE E INCORPORADOS COM SOLUÇÕES DE EM, A PARTIR DO CULTIVAR BRS 408.....	73
FIGURA 22 – GRÁFICOS TGA, DTG E DTA DOS FILMES DA MATRIZ AMIDO DE MILHO COM ADIÇÃO DE MFC: CONTROLE E INCORPORADOS COM SOLUÇÕES DE EM, A PARTIR DO CULTIVAR BRS 409.....	73
FIGURA 23 – GRÁFICOS TGA, DTG E DTA DOS FILMES DA MATRIZ AMIDO MODIFICADO (R) COM ADIÇÃO DE MFC: CONTROLE E INCORPORADOS COM SOLUÇÕES DE EM, A PARTIR DO CULTIVAR BRS 408.....	74
FIGURA 24 – GRÁFICOS TGA, DTG E DTA DOS FILMES DA MATRIZ AMIDO MODIFICADO (R) COM ADIÇÃO DE MFC: CONTROLE E INCORPORADOS COM SOLUÇÕES DE EM, A PARTIR DO CULTIVAR BRS 409.....	75
FIGURA 25 – ESPECTROS FTIR – ATR DOS BIOFILMES DE AMIDO DE MILHO (M).....	79
FIGURA 26 – ESPECTROS FTIR – ATR DOS BIOFILMES DE AMIDO DE MILHO COM ADIÇÃO DE MFC (MC).....	79
FIGURA 27 – ESPECTROS FTIR – ATR DOS BIOFILMES DE AMIDO DE MILHO MODIFICADO (R).....	80
FIGURA 28 – ESPECTROS FTIR – ATR DOS BIOFILMES DE AMIDO DE MILHO MODIFICADO COM ADIÇÃO DE MFC (RC).....	80
FIGURA 29 – ESPECTROS FTIR – ATR DOS BIOFILMES NA REGIÃO DE 1500 CM ⁻¹ A 800 CM ⁻¹	82
FIGURA 30 – GRÁFICO DE LIBERAÇÃO DOS POLIFENÓIS TOTAIS (EAG/G DE BIOFILME) EM RELAÇÃO AO PERÍODO DE EXPOSIÇÃO.....	86

FIGURA 31 – GRÁFICO DE LIBERAÇÃO DOS POLIFENÓIS TOTAIS (EAG/G DE BIOFILME) EM RELAÇÃO AO PERÍODO DE EXPOSIÇÃO.....86

LISTA DE TABELAS

TABELA 1 – RÓTULO, TEORES DA COMPOSIÇÃO DE CADA MATERIAL E SOLUÇÕES EMPREGADOS NA CONFECCÃO DAS QUATRO VARIÁVEIS DE BIOFILMES.....	51
TABELA 2 – DILUIÇÕES EMPREGADAS PARA A CURVA DE CALIBRAÇÃO, A PARTIR DO PADRÃO DE ÁCIDO GÁLICO.....	54
TABELA 3 – ATRIBUTOS DAS SOLUÇÕES DE CADA CULTIVAR DE ERVA-MATE, MOSTRANDO O CFT E DENSIDADE RELATIVA COM SEUS RESPECTIVOS DESVIOS PADRÕES.....	58
TABELA 4 – MASSA MÉDIA DOS FILMES EM RELAÇÃO A CADA CULTIVAR EMPREGADO.....	60
TABELA 5 – CÓDIGO, UMIDADE, SOLUBILIDADE E ESPESSURA DOS BIOFILMES CONTROLE E INCORPORADOS COM AS SOLUÇÕES DE ERVA-MATE.....	62
TABELA 6 – ESTIMATIVAS DAS TEMPERATURAS DOS EVENTOS PRINCIPAIS, PERCENTUAL DE MASSA PERDIDA (MP) E CINZAS, PARA AS AMOSTRAS DOS BIOFILMES DE AMIDO DE MILHO (M).	67
TABELA 7 – ESTIMATIVAS DAS TEMPERATURAS DOS EVENTOS PRINCIPAIS, PERCENTUAL DE MASSA PERDIDA (MP) E CINZAS, PARA AS AMOSTRAS DOS BIOFILMES DE AMIDO DE MILHO MODIFICADO (R).....	71
TABELA 8 – ESTIMATIVAS DAS TEMPERATURAS DOS EVENTOS PRINCIPAIS, PERCENTUAL DE MASSA PERDIDA (MP) E CINZAS, PARA AS AMOSTRAS DOS BIOFILMES DE AMIDO DE MILHO COM ADIÇÃO DE MFC (Mc).....	72
TABELA 9 – ESTIMATIVAS DAS TEMPERATURAS DOS EVENTOS PRINCIPAIS, PERCENTUAL DE MASSA PERDIDA (MP) E CINZAS, PARA AS AMOSTRAS DOS BIOFILMES DE AMIDO DE MILHO MODIFICADO E COM ADIÇÃO DE MFC (Rc).....	76
TABELA 10 – RESULTADOS DA LIBERAÇÃO DE POLIFENÓIS TOTAIS EM MEIO AQUOSO PARA OS BIOFILMES AMOSTRADOS.....	84

LISTA DE ABREVIATURAS OU SIGLAS

C – Solução de erva-mate crioconcentrada

D – Solução de erva-mate crio diluído

EI – Solução de erva-mate extrato inicial

EM – Erva-mate

M – Biofilme de amido de milho comercial

MFC – Celulose microfibrilada

M0 – Biofilme de amido de milho controle

M1 – Biofilme de amido de milho incorporado com solução de erva mate crio diluída

M2 – Biofilme de amido de milho incorporado com solução de erva mate extrato inicial

M3 – Biofilme de amido de milho incorporado com solução de erva mate crioconcentrada

Mc – Biofilme de amido de milho comercial com MFC

Mc0 – Biofilme de amido de milho com MFC controle

Mc1 – Biofilme de amido de milho com MFC incorporado com solução de erva mate crio diluída

Mc2 – Biofilme de amido de milho com MFC incorporado com solução de erva mate extrato inicial

Mc3 – Biofilme de amido de milho com MFC incorporado com solução de erva mate crioconcentrada

R – Biofilme de amido de milho modificado – Rigesa

R0 – Biofilme de amido modificado de milho controle

R1 – Biofilme de amido de milho modificado incorporado com solução de erva mate crio diluída

R2 – Biofilme de amido de milho modificado incorporado com solução de erva mate extrato inicial

R3 – Biofilme de amido de milho modificado incorporado com solução de erva mate crioconcentrada

Rc – Biofilme de amido de milho modificado – Rigesa com MFC

Rc0 – Biofilme de amido de milho modificado com MFC controle

Rc1 – Biofilme de amido de milho modificado com MFC incorporado com solução de erva mate crio diluída

Rc2 – Biofilme de amido de milho modificado com MFC incorporado com solução de erva mate extrato inicial

Rc3 – Biofilme de amido de milho modificado com MFC incorporado com solução de erva mate crioconcentrada

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	16
1.1 OBJETIVOS	17
1.1.1 Objetivo geral	17
1.1.2 Objetivos específicos.....	17
2 REVISÃO DE LITERATURA	18
2.1 FILMES DE MATRIZES SUSTENTÁVEIS PARA EMBALAGENS.....	18
2.1.1 Embalagem ativa.....	20
2.2 AMIDO.....	21
2.2.1 Gelatinização do amido	23
2.2.2 Métodos de produção de Filme - <i>Casting</i>	25
2.2.3 Filmes de amido e celulose	27
2.3 PROPRIEDADES DOS BIOFILMES	29
2.3.1 Propriedades de barreira.....	29
2.3.2 Adição de fibras naturais	30
2.3.3 Solubilidade.....	32
2.3.4 Propriedades térmicas.....	32
2.3.5 Propriedades espectroscópicas – Espectroscopia no Infravermelho	35
2.4 COMPOSTOS BIOATIVOS.....	37
2.4.1 Polifenóis.....	39
2.4.2 Erva-mate.....	42
2.4.3 Crioconcentração	46
2.5 LIBERAÇÃO DO ATIVO INCORPORADO AOS BIOFILMES	48
3 METODOLOGIA	50
3.1 ELABORAÇÃO DOS BIOFILMES.....	50
3.1.1 Extração da erva-mate:	50
3.1.2 Crioconcentração	50
3.1.3 Incorporação dos bioativos às matrizes	50
3.2 ATRIBUTOS DAS SOLUÇÕES DE ERVA-MATE.....	52
3.2.1 Densidade das soluções de EM	52
3.2.2 Sólidos Totais.....	53
3.2.3 Teor de Compostos Fenólicos Totais (CFT).....	53
3.3 CARACTERIZAÇÃO DOS BIOFILMES.....	55
3.3.1 Espessura	55

3.3.2 Teor de umidade e Solubilidade.....	55
3.3.3 Liberação <i>in vitro</i> do conteúdo fenólico dos Biofilmes.....	56
3.3.4 Termogravimetria	56
3.3.5 Espectrofotômetro no Infravermelho por transformada de Fourier modo de Reflexão Total Atenuada (IVFT-ATR)	56
4 RESULTADOS.....	58
4.1 CARACTERIZAÇÃO DAS SOLUÇÕES DE ERVA-MATE	58
4.2 CARACTERIZAÇÃO DOS BIOFILMES.....	59
4.2.1 Análises Físicas	59
4.2.2 Análise termogravimétrica	65
4.2.3 Análise Espectroscópica no Infravermelho (IVFT – ATR)	77
4.2.4 Liberação <i>in vitro</i>	84
5 CONCLUSÃO	87
REFERÊNCIAS.....	88

1 INTRODUÇÃO

De acordo com o PNUMA (Programa das Nações Unidas para o Meio Ambiente) a produção global de plástico aumentou exponencialmente, e apenas 12% deste material foi incinerado e 9% reciclado. O restante foi descartado em aterros ou lançado no meio ambiente. Em colaboração a isso, a pandemia ocasionada pelo novo coronavírus, desencadeou um aumento acentuado na demanda de plásticos (HAZROL, et al., 2022). Assim, incentivos estão em desenvolvimento para soluções deste desastre, que pode afetar tanto a saúde humana, causada por contaminações, quanto a vida marinha e até mesmo influenciar mudanças climáticas pela liberação de carbono (Relatório da ONU sobre poluição plástica alerta sobre falsas soluções e confirma necessidade de ação global urgente – PNUMA).

Inovação tecnológica para auxiliar a sustentabilidade vem em conjunto com os esforços para o desenvolvimento de embalagens e produtos nutracêuticos com matrizes acessíveis e incorporadas com ativos naturais. Dentre os polissacarídeos, o amido tem sido amplamente utilizado para a produção de filmes devido ao baixo custo de produção a partir de fontes renováveis e suas propriedades que favorecem a formação de filmes (DO EVANGELHO et al., 2019). Este material empregado como embalagem biodegradável pode também ser um material carreador de substâncias bioativas e funcionais (MADELLA e MELLO, 2022).

Os consumidores estão preocupados em reduzir o uso de aditivos sintéticos; há um interesse particular na indústria alimentícia pelo uso de conservantes naturais (DO EVANGELHO et al., 2019). Neste trabalho foram desenvolvidos materiais poliméricos com matriz amilácea incorporada à bioativos provenientes da folha de Erva-Mate, *Ilex paraguariensis* A. St.-Hil. Esta planta, da família aquifoliácea, é conhecida por seu conteúdo rico em fitoquímicos, em destaque os compostos fenólicos, com propriedades farmacológicas em potencial para aplicação farmacêutica.

O extrato foi submetido a processo de crioconcentração; dessa forma, avaliou-se a potencialidade dessa técnica para incorporar maiores concentrações de ativos desta planta e a capacidade de liberação por parte do biopolímero adotado. Também, foi acrescentado reforço de celulose microfibrilada de pinus, produto disponibilizado pela Embrapa Florestas, para averiguar a possibilidade de melhoramento do material.

1.1 OBJETIVOS

1.1.1 Objetivo geral

Elaborar filmes com matriz polimérica de base biológica e incorporar bioativos com soluções em diferentes concentrações a partir do extrato de erva-mate.

1.1.2 Objetivos específicos

- Extração e crioconcentração dos bioativos da erva-mate;
- Produção de biofilmes, pelo método *casting*, de amido de milho comercial e amido de milho modificado;
- Produção de biofilmes adicionando reforço de celulose microfibrilada de pinus;
- Incorporação dos compostos bioativos durante o processo de produção dos biofilmes;
- Avaliação das propriedades das soluções de erva-mate e biofilmes;
- Caracterização dos biofilmes através da termogravimetria e espectroscopia de Infravermelho com refletância total atenuada.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 FILMES DE MATRIZES SUSTENTÁVEIS PARA EMBALAGENS

Os plásticos mais utilizados são os derivados do petróleo, por seu baixo custo de produção e suas propriedades físico-químicas versáteis: resistência a degradação, leveza, flexibilidade, resiliência, entre outros. Entretanto, também é conhecido o prejuízo ambiental decorrente de sua baixa degradabilidade e emissões de dióxido de carbono durante a produção (KUMAR et al., 2020). Várias centenas de milhares de toneladas de plásticos são descartados em ambientes marinhos a cada ano e se acumulam nas regiões oceânicas. Este descarte inapropriado afeta a vida marinha e atinge, por meio de contaminações, a saúde humana; e até mesmo pode contribuir com as mudanças climáticas pela liberação de carbono (Relatório da ONU sobre poluição plástica alerta sobre falsas soluções e confirma necessidade de ação global urgente – PNUMA).

A utilização de polímeros naturais e renováveis para a produção de filmes destinados à fabricação de embalagens é uma solução inovadora e ecológica. A demanda atual dos consumidores por produtos alimentícios mais duráveis torna necessário o desenvolvimento de materiais ecologicamente corretos e funcionais. As embalagens com compostos ativos são um exemplo disso, pois podem melhorar a qualidade dos produtos e contribuir ainda mais ao valor nutricional dos alimentos (MORAES et al., 2014; MEDINA-JARAMILLO et al., 2017).

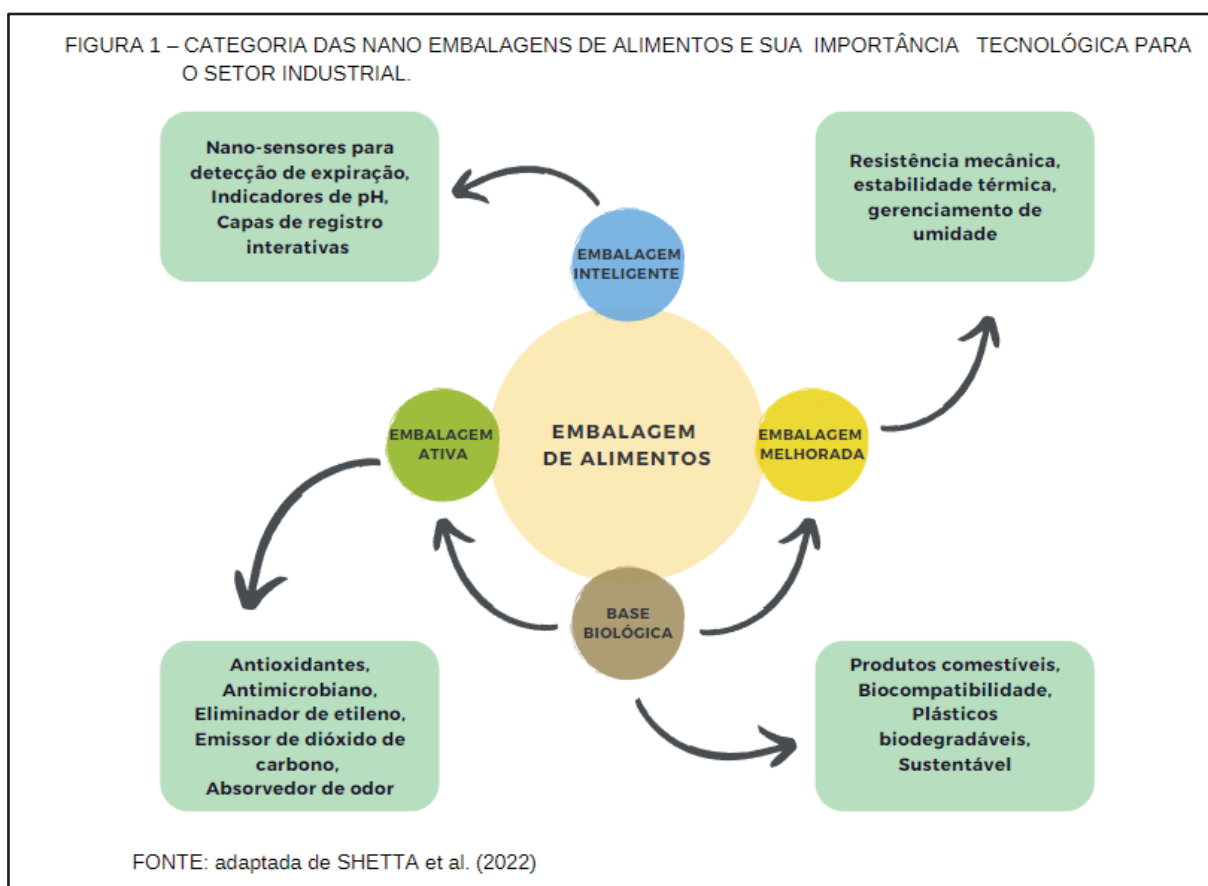
Os esforços atuais em direção à sustentabilidade têm se voltado, portanto, para a fabricação de matrizes com nanocompósitos e cobertura de superfície através da utilização de biopolímeros e componentes bioativos. Substâncias podem ser incorporadas aos biopolímeros para transformá-los em bionanocompósitos (SHETTA et al., 2022).

Os compósitos são produzidos pela combinação de dois ou mais materiais com propriedades físicas ou químicas distintas entre si; quando se trata de nanocompósitos poliméricos, essa combinação contém uma fase contínua (matriz polimérica) e uma fase dispersa (não contínua) que apresenta uma de suas dimensões em escala nanométrica (MARTINS et al., 2022).

Os nanocompósitos são novas alternativas aos métodos tradicionais de melhoria das propriedades dos polímeros devido às suas propriedades físicas,

mecânicas e químicas mais desejáveis. As propriedades aprimoradas destes nanomateriais estimulam o desenvolvimento sua aplicação para o sistema de entrega de alimentos nutracêuticos (PRIMOŽIČ et al., 2021).

Na FIGURA 1 são apresentadas quatro categorias principais de embalagens de alimentos: embalagens inteligentes, embalagem com melhoria, embalagem ativa e com base biológica. Para cada uma das categorias são descritas as principais características e suas relações com as demais.



Os filmes com base biológica, como o amido, têm atraído a atenção dos pesquisadores nos últimos anos. Cui e colaboradores (2021) relataram que matrizes a partir desta fonte são degradáveis, renováveis, com bom custo-benefício. Os pesquisadores ainda destacam que a adição de extrato de plantas, óleos essenciais, e nanopartículas a filmes de amido pode melhorar as propriedades bactericidas, antioxidantes e de barreira ultravioleta, ao vapor de água e ao oxigênio.

2.1.1 Embalagem ativa

A embalagem ativa é um conceito que foi introduzido como um sistema que altera a condição da embalagem para estender ou melhorar a segurança e as propriedades sensoriais, mantendo a qualidade dos produtos alimentícios. Este sistema de embalagem surgiu com o objetivo de satisfazer a demanda do consumidor por alimentos naturais, frescos e seguros (KNAPP et al., 2019; MEDINA-JARAMILLO et al., 2017)

As embalagens antimicrobianas estão entre as formas mais promissoras de sistemas de embalagens ativas; busca-se um sistema capaz de matar ou inibir a deterioração e os microrganismos patogênicos que estão contaminando os alimentos (KUORWEL et al., 2013). Essa função pode ser alcançada adicionando agentes antimicrobianos no sistema de embalagem e/ou usando polímeros antimicrobianos que atendem aos requisitos convencionais de embalagem.

Han (2003) ressalta-se que não existe agente antimicrobiano trabalhando efetivamente contra todos os microrganismos patogênicos e deteriorantes, pois há uma variedade de fisiologias dos microrganismos com mecanismos antimicrobianos característicos. E a inserção de agentes antimicrobianos no sistema de embalagem ou pelo uso de materiais poliméricos antimicrobianos, de acordo com o autor, mostra geralmente três tipos de modos: liberação, absorção e imobilização.

O autor descreve que no primeiro caso ocorre a migração de agentes antimicrobianos para alimentos ou *headspace* dentro das embalagens. Já a absorção remove fatores essenciais do crescimento microbiano dos sistemas alimentares e inibe o crescimento de microrganismos. Por fim, o sistema de imobilização não libera agentes antimicrobianos, mas suprime o crescimento de microrganismos na superfície de contato. O sistema de liberação é o que se enquadra em atender o objetivo deste trabalho, visto que foram incorporados bioativos com o intuito de diminuir a propagação dos microrganismos através de superfícies de contato.

Feng et al. (2018) revelam que filmes de amido não exibem atividade antibacteriana por si só, entretanto, Do Evangelho et al. (2019) declaram que os filmes de amido serviram como impedimento físico ao desenvolvimento das colônias no desenvolvimento de *S. aureus* e *L. monocytogenes*. Ao adicionarem óleo essencial de laranja à matriz de amido de milho concluíram que esta é adequada para a

incorporação de agentes antimicrobianos por ser capaz de armazenar/encapsular o ativo e liberá-lo durante o contato direto com a superfície contaminada do meio (ágar).

Desse modo, substâncias ativas naturais que têm efeitos antibacterianos são amplamente utilizadas pela adição à matriz de amido. Alguns candidatos de extratos vegetais com efeitos antibacterianos são polifenóis, flavonoides, taninos e alcaloides. Estas substâncias têm e podem danificar as membranas celulares, interferir no transporte ativo e inibir a atividade enzimática (CUI et al., 2021). Atualmente, devido à pandemia causada pelo novo coronavírus, responsável por causar a Síndrome Respiratório Aguda Grave (SARS-Cov 2), busca-se também tecnologia em embalagens e recipientes com capacidade antiviral.

Sendo assim, os filmes de amido apresentam-se como candidatos promissores à substituição parcial dos polímeros sintéticos, além disso, pode-se incorporar fibras de celulose para melhorar a qualidade deste produto (MORAES et al., 2014). Dessa forma, ao incorporar bioativos a este compósito, este pode ser enquadrados nas três categorias descritas na FIGURA 1: Embalagem com base biológica, ativa e melhorada. Assim, pode-se atender um terço do interesse da indústria alimentícia.

2.2 AMIDO

O amido é um abundante polímero natural e empregado em diversos campos, como: alimentos, têxtil, papel, cosméticos, plásticos e farmacêuticos. Favorecido por seu baixo custo, abundância, biodegradabilidade e comestibilidade, este material tem relevância para diversas pesquisas (JI et al., 2019).

O amido de milho comercial é extraído por meio do processo de moagem de milho úmido, e diferencia-se dos demais carboidratos por ocorrer na natureza como partículas parcialmente cristalinas – *grânulos*. Tem-se bem estabelecidas as duas principais estruturas poliméricas presentes nesta matéria prima: uma com característica predominante linear – *amilose*, e outra ramificada – *amilopectina* (DAMODARAN e PARKIN, 2019).

A amilose é constituída por unidades α -D-glicopiranosil unidas por ligações (1 \rightarrow 4); algumas moléculas de amilose contém ramificações ligadas em α (1 \rightarrow 6) à cadeia principal. O arranjo espacial deste polímero confere à molécula forma helicoidal ou espiral, que em seu interior predomina átomos de hidrogênio e é

hidrofóbico/lipofílico, enquanto em seu exterior abrange os grupos hidroxilas. (DAMODARAN e PARKIN, 2019). A amilose, ainda, apresenta excelentes propriedades formadoras de filme, deixando-o transparente e incolor (CUI et al., 2021). Visto que, é a molécula responsável pela formação da rede tridimensional durante o processo de gelatinização (LÓPEZ et al., 2010).

Enquanto a amilopectina de cadeias de glucano ligadas por α - 1,4 ligadas por ligações α - 1,6, possui ramificações curtas que são agrupadas e ocorrem em grânulos, apresentando-se como duplas-hélices. As ramificações de cadeias longas se estendem além de um único aglomerado, proporcionando conexões intragrupos ao longo de todo o comprimento das moléculas de amilopectina (DAMODARAN e PARKIN, 2019). A FIGURA 2, a seguir, representa o esquema das etapas do processo de obtenção do amido de milho nativo e as duas principais estruturas poliméricas que o compõem.



A origem botânica, período de formação e condições de crescimento influenciam na forma, tamanho, composição e estrutura molecular dos grânulos de amido (GARCÍA-GUZMÁN et al., 2022). No geral, a amilopectina constitui cerca de 75% (com base na massa) da maioria dos amidos comuns, enquanto os demais 25% ficam por conta da amilose (DAMODARAN e PARKIN, 2019 p. 136 - 138).

Garcá-Guzmán et al. (2022) consentem que a região cristalina na molécula de amido possa ser formada pela reticulação das cadeias laterais da amilopectina, enquanto a amilose é encontrada na região amorfa do grânulo como uma única molécula aleatoriamente intercalada entre as moléculas de amilopectina (GARCÍA-GUZMÁN et al.,2022). A amilopectina é, estrutural e funcionalmente, a mais importante das duas frações. Ao passo que, a amilose pode influenciar a organização das duplas hélices, interferindo na densidade de empacotamento das cadeias de amilopectina (DENARDIN e SILVA, 2009).

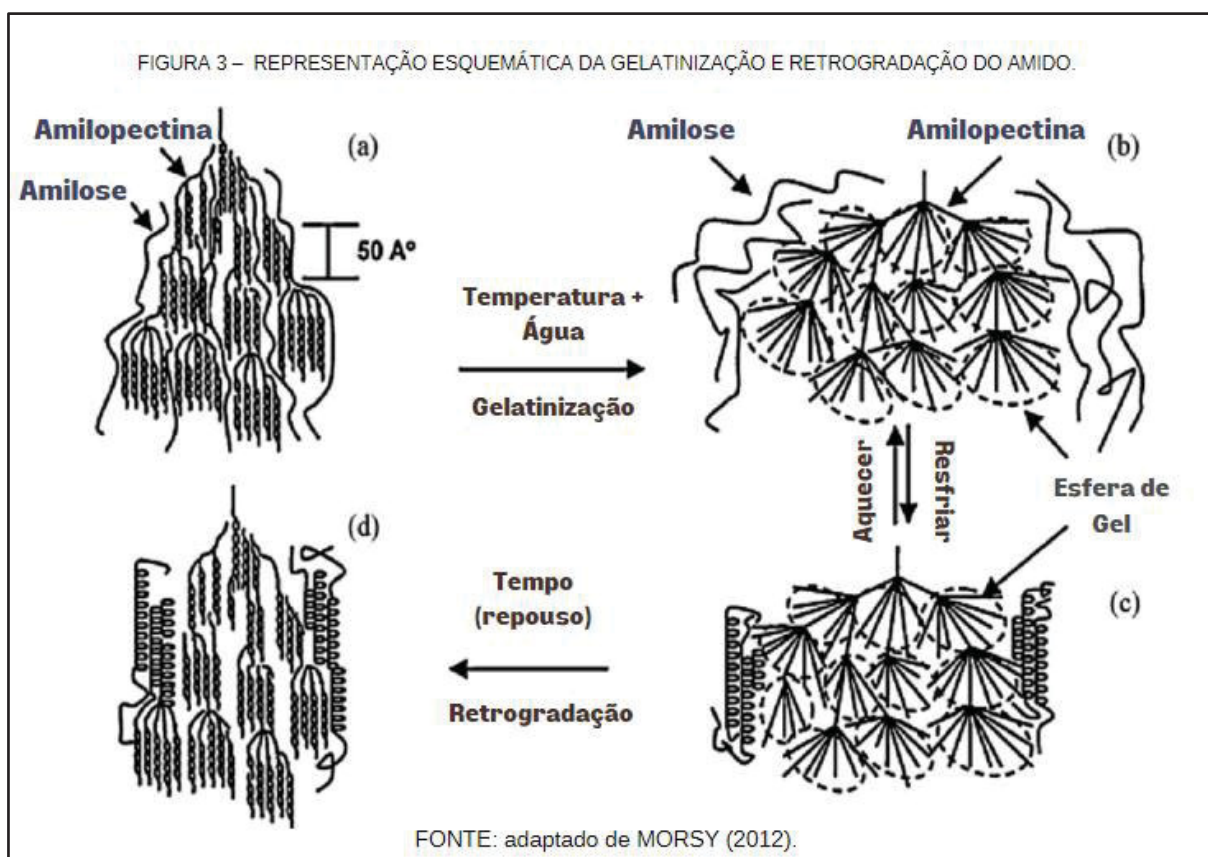
Modificações químicas e físicas têm sido relatadas para melhorar o desempenho de materiais à base de amido em ambientes úmidos. As modificações químicas dos amidos são realizadas pela incorporação de grupos funcionais nas macromoléculas do amido. As principais modificações são: redução; oxidação (hidrolítica, enzimática); substituição (eterificação, esterificação) e reticulação (diéter, diéster). Além disso, a incorporação de fibras naturais em materiais à base de amido também reduz sua absorção de água, no entanto, esses materiais também requerem um alto teor de fibras para diminuir sua hidrofiliidade, ou através da modificação química ou física. (GARCÍA-GUZMÁN et al.,2022)

Amidos nativos e modificados podem ser, então, usados no desenvolvimento de embalagens ecologicamente corretas. O amido nativo tem recebido considerável atenção por ser um material formador de matriz apropriado pois apresenta uma superfície lisa e uniforme. Além disso, a modificação química dessa estrutura polimérica pode ser uma ferramenta útil para personalizar o desempenho geral de filmes e revestimentos de amido, especialmente para a produção de materiais com baixa sensibilidade à água (LÓPEZ et al., 2010; DO EVANGELHO et al., 2019).

2.2.1 Gelatinização do amido

A capacidade dos polímeros presentes nos grânulos do amido de se reestruturarem em meio aquoso e aquecimento formando uma estrutura uniforme e com propriedades plásticas configura seu potencial de aplicação para embalagens. De modo geral, esse processo é conhecido como gelatinização, onde ocorre o rompimento da associação intermolecular entre as moléculas de amilose e amilopectina. Depois de dissolver as moléculas de amido no aquecimento, forma-se uma solução altamente viscosa, mudando para um estado de gelificação forte

(retrogradação) no armazenamento por longos períodos (TAKO et al., 2014). A FIGURA 3 apresenta um esquema de todo o processo da gelatinização e retrogradação do amido.



Esse processo endotérmico de formação de gel incide em uma temperatura de cerca de 55 - 70 °C – dependendo da fonte de amido, assim, os grânulos absorvem água e incham; com o passar do tempo, se tornam cada vez mais permeáveis à água e aos solutos. A viscosidade da suspensão aumenta significativamente, até a formação de uma pasta, demonstrando que quase toda água foi absorvida pelos grânulos (CAMPBELL-PLATT, 2015).

A amilopectina gelatinizada inicialmente permanece em um estado amorfo antes que as esferas de gel de cadeias ramificadas curtas sejam formadas. Por outro lado, a amilose parcialmente lixiviada da amilopectina e com resfriamento forma cristais de hélice simples do tipo V (MORSY, 2012).

Ao atingir o intumescimento máximo, inicia-se a ruptura dos grânulos, que está associada à diminuição da viscosidade. Durante o resfriamento, a retrogradação ocorre quando polímeros de amido solubilizado e grânulos remanescentes se

reassociaem em uma estrutura ordenada; isso faz com que os cristais do tipo V se reorganizem em uma estrutura mais cristalina (BERTUZZI et al., 2007; MORSY, 2012).

A formação dessa estrutura ordenada acompanha uma série de mudanças físicas, como exsudação de água e aumento do grau de cristalinidade, além do aparecimento de polimorfos cristalinos. Isso resulta na transformação de uma pasta de amido em um gel firme que consiste em uma rede tridimensional. A retrogradação é um processo contínuo, que envolve inicialmente a recristalização rápida das moléculas de amilose seguida por uma recristalização lenta das moléculas de amilopectina (WANG et al., 2015).

As presenças de outros componentes, como sais, influenciam as características do gel, principalmente por competirem pela água disponível, limitando ou evitando a gelatinização. O açúcar, por exemplo, reduz a força do gel e diminui a viscosidade, sendo os dissacarídeos mais significativos que os monossacarídeos em gerar esse efeito. Também, as gorduras e ácidos graxos formam complexos com a amilose, o que retarda o inchaço dos grânulos. Igualmente, condições ácidas também afetam a formação do filme por meio da hidrólise ácida do amido, que reduz sua viscosidade (CAMPBELL-PLATT, 2015).

A formação de filmes de amido depende principalmente das características de retrogradação do amido. Depois que os grânulos de amido são gelatinizados, moldados e secos, os grupos hidroxila entre a amilose e amilopectina são combinados através de ligações de hidrogênio intermoleculares para formar o filme de amido (CUI et al., 2021).

2.2.2 Métodos de produção de Filme - *Casting*

Suspensões filmogênicas podem ser usadas para obter revestimentos ou filmes. Os filmes de amido podem ser obtidos por *casting*, extrusão ou laminação, semelhantes aos processos utilizados na indústria de polímeros sintéticos (LÓPEZ et al., 2010). A extrusão/termocompressão é a forma mais comum de método utilizado para a produção de materiais plásticos, devido ao seu rápido aumento de temperatura e operação simples (CUI et al., 2021). Entretanto, a temperatura de extrusão está relacionada à degradação térmica do agente antimicrobiano, e a energia mecânica específica indica a severidade das condições do processo que também induzem a

degradação dos agentes (HAN, 2003). Ou seja, as condições de operação precisam ser otimizadas para fazer um bom filme de amido, pois afetarão seriamente o desempenho do material. Portanto, o método requer que os polímeros ou as substâncias bioativas adicionadas sejam capazes de suportar altas temperaturas (CUI et al., 2021).

Casting é um método comum de produção em pequena escala usado para obter filmes biodegradáveis. Essa técnica simples produz filmes que podem ser facilmente removidos de placas com espessura variável dependendo do peso da suspensão filmogênica utilizada (LÓPEZ et al., 2010). No caso deste método, usa-se solvente para moldar filmes, a solubilidade e a reatividade dos agentes antimicrobianos e polímeros aos solventes são os fatores críticos. A solubilidade refere-se à distribuição homogênea dos agentes nos materiais poliméricos e a reatividade se conecta à perda de atividade dos agentes antimicrobianos reativos (HAN, 2003).

O método casting é muito utilizado em laboratório para desenvolver diferentes filmes com várias fontes de amido. Ele ocorre em três passos principais: primeiramente, em aquecimento, a pasta de amido é gelatinizada com adição de um plastificante, geralmente glicerina, para dar flexibilidade ao filme; na sequência, a mistura é vertida em um molde; por fim, seca-se por alguns dias para obter o filme de amido. Neste método, a concentração do amido geralmente está entre 5% e 10%. Concentrações menores que 5% prejudicam a formação do filme após a secagem e mais que 10% a viscosidade impede verter a mistura no molde (CUI et al., 2021).

Há ainda a influência do plastificante na formação do filme que reduz a resistência à tração de filmes a base de amido. A energia mecânica e térmica fornecida durante a preparação destroem as ligações hidroxilas internas do amido. A presença do plastificante reduz a forte atração intermolecular entre as cadeias de amido e promove a formação de ligações de hidrogênio entre os plastificantes e as moléculas de amido. A água, por sua volatilidade, não é preferida para ser o único plastificante usado, então o glicerol é geralmente incluído na composição do filme (Knapp et al., 2019; MORSY, 2012).

A vantagem do método casting é que o filme tem alta transparência e boa flexibilidade. No entanto, também é caracterizada pela baixa eficiência de produção, o que limita a aplicação de filmes à base de amido. Para melhorar a atividade biológica e as propriedades mecânicas de filmes a base de amido, podem ser adicionados

substâncias ativas, substâncias moleculares pequenas e nanomateriais (CUI et al., 2021).

2.2.3 Filmes de amido e celulose

Em conformidade com Cui et al. (2021), a não toxicidade, biocompatibilidade e fácil manipulação do amido, proporciona inúmeros potenciais de utilização deste material. Uma delas é adição a esta matriz polimérica de substâncias sensíveis ao pH para monitorar possíveis mudanças em alimentos perecíveis, como as antocianinas, que servem como um bom indicador ácido-base e antioxidante natural.

Além disso, a matriz de amido de milho é considerada um bom veículo para a entrega de compostos bioativos. Teixeira et al. (2015) testou a capacidade do amido tratado por alta pressão hidrostática (HHP) em se ligar e transportar sais de zinco e magnésio e antioxidantes naturais de extratos de erva-mate (*Ilex paraguariensis*). Os autores verificaram que o tipo de carreador de amido não afetou a carga total de polifenóis. Além disso, a análise de HPLC mostrou que a composição relativa de polifenóis do extrato de erva-mate foi mantida. Portanto, o amido de milho foi adequado para transportar sais minerais e extrato de erva-mate simultaneamente.

Eskandarinia et al. (2018) prepararam filmes de amido de milho carregados com extrato etanólico de própolis usando o método *casting* e estudaram as propriedades mecânicas e químicas e propriedades antibacterianas do filme. Seus resultados de pesquisa mostraram-se promissores para aplicação como curativo, principalmente pela presença do extrato etanólico de própolis que apresentou propriedades antibacterianas e aumentou a hidrofobicidade.

Aliabadi e colaboradores (2020) produziram filmes de amido e celulose microfibrilada aos quais incluíram extrato de folha de erva-mate de *Ilex paraguariensis* A. St.-Hil. Com o objetivo de ser uma alternativa potencial como curativos de cicatrização de feridas. Assim, investigaram o efeito da mistura do extrato de erva-mate durante e após a desfibrilação de *Eucalyptus sp.* papel kraft branqueado por moagem ultrafina. Os resultados encontrados mostraram que o extrato de erva-mate aumentou a resistência do filme, e a celulose desfibrilada é capaz de proteger os compostos bioativos do extrato. Neste trabalho, os filmes também apresentam atividade antibacteriana contra dois patógenos conhecidos *S. aureus* e *E. coli*, com alta atividade antioxidante. Isso foi atribuído aos compostos bioativos que

apresentaram cicatrização mais rápida *in vitro* de feridas, sugerindo que filmes de celulose microfibrilada (MFC) contendo extrato de erva-mate podem ser uma alternativa potencial como curativos de cicatrização de feridas.

No trabalho desenvolvido por Jaramillo et al. (2016), filmes biodegradáveis e comestíveis à base de amido-glicerol contendo diferentes concentrações de extrato de erva-mate (0,5 e 20% em peso) como antioxidante natural foram elaborados. Os pesquisadores, com o objetivo de obter filmes promissores para serem usados como embalagens, demonstraram que o extrato de erva-mate atuou como plastificante, e a incorporação dos bioativos naturais melhorou a biodegradabilidade dos filmes em compostagem e preservou sua estabilidade em meios ácidos e alcalinos. Isso foi explicado pela redução nas interações moleculares entre as cadeias amido-amido e um fortalecimento das interações de ligação de hidrogênio entre os grupos hidroxila do amido e os compostos polares do extrato.

Knapp et al. (2021) verificaram que a atividade antioxidante dos filmes de amido por sequestro de DPPH• aumentou proporcionalmente com a concentração do extrato de erva-mate. Este comportamento foi explicado pelo aumento de compostos fenólicos aumentando com a adição do extrato de erva-mate nos filmes de amido. Esses fenóis atuam como antioxidantes naturais e eliminam os radicais livres DPPH•. Assim, conhecendo a eficácia dos filmes de amido com extrato de erva-mate na eliminação de radicais livres de alimentos embalados, é possível prolongar a vida útil desses alimentos. Como sugestão os autores declaram ainda que alimentos gordurosos são uma boa aplicação para estes biofilmes, pois os ácidos graxos podem sofrer processos oxidativos, alterar características sensoriais e nutricionais; e os antioxidantes retardarão essas reações.

Outra aplicação interessante é o potencial de utilização dos filmes para incidentes de descarga de águas residuais oleosas. O método preferido de separação óleo-água é usar filtros super-hidrofóbicos ou superoleofóbicos subaquáticos. Até o momento, existem poucos estudos sobre filmes de separação óleo-água à base de amido, a maioria dos quais são preparados em conjunto com outros biopolímeros, como celulose poli (éter-éter-cetona) e polidimetilsiloxano (CUI et al., 2021).

2.3 PROPRIEDADES DOS BIOFILMES

Filmes à base de amido têm amplas perspectivas de aplicação através da adição de outros compostos, como polifenóis, óleos essenciais e nanopartículas. Os filmes também podem apresentar propriedades antibacterianas, antioxidantes, de barreira ultravioleta, barreira de vapor de água e barreira de oxigênio. Estas características são extremamente benéficas para a conservação de alimentos perecíveis, como frutas e hortaliças, frutos do mar, carnes e outros alimentos (CUI et al., 2021).

2.3.1 Propriedades de barreira

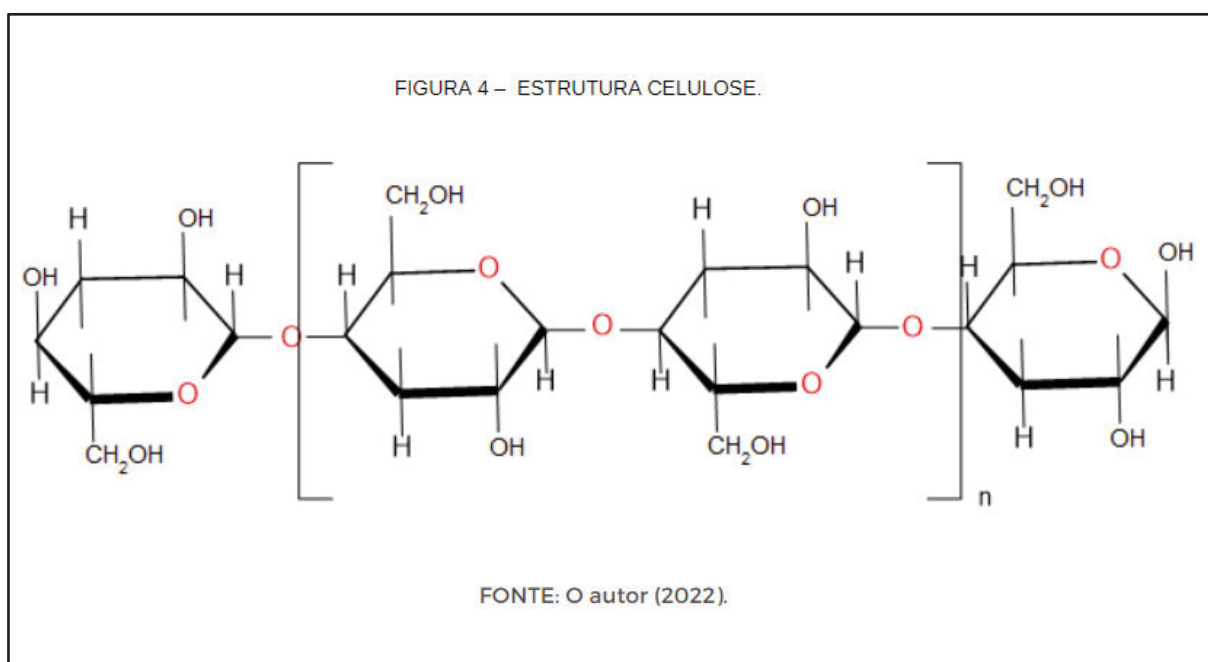
As propriedades de barreira à luz são aspectos importantes para embalagens de alimentos, sendo que alguns produtos requerem embalagens opacas e outros sistemas de embalagem transparentes. O objetivo é proteger os alimentos da luz e da radiação Ultravioleta (UV) (KNAPP et al., 2019), visto que, os radicais livres são facilmente formados na presença da radiação UV. Eles reduzem a qualidade dos alimentos devido à oxidação de lipídios, destruição de nutrientes e antioxidantes, alteração de cores e pigmentos, além de possibilitar a formação de cheiros indesejáveis.

Logo, o desenvolvimento de filme a base de amido que possam resistir à radiação UV é crucial para diversas aplicações, como embalagens de alimentos, produtos nutracêuticos, curativos, entre outras aplicações. Os extratos vegetais são ricos em polifenóis e estes compostos aromáticos podem atuar como uma excelente barreira UV (CUI et al., 2021).

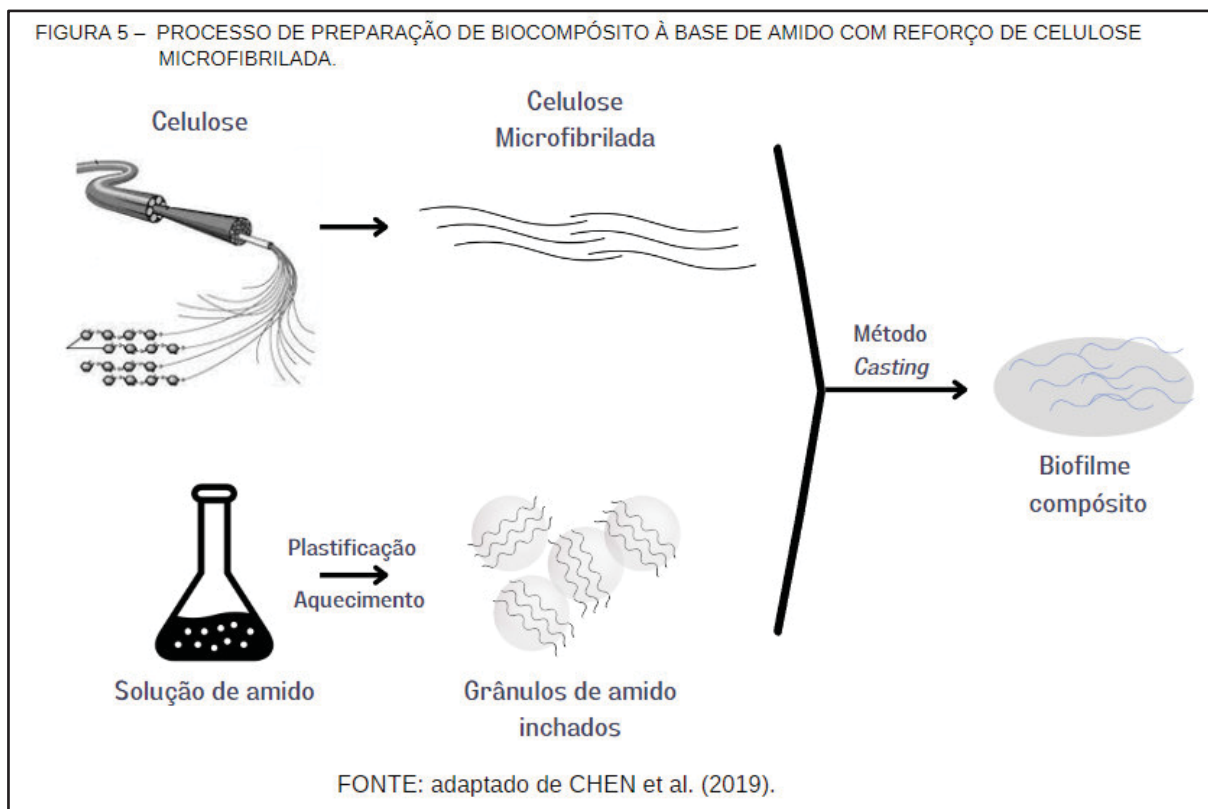
Outra propriedade de barreira importante que afeta a qualidade dos produtos é a baixa transmissibilidade de oxigênio (CUI et al., 2021). Os filmes de amido possuem propriedades de barreira ao oxigênio satisfatórias, por isso são adequados para preservação de alimentos visto no trabalho de Aghazadeh et al. (2017) que compararam as propriedades de filmes comestíveis. Filmes de amido de milho evidenciaram um valor de 0,0090 cc mm/m² d kPa de permeabilidade ao oxigênio e não houve diferença significativa desta propriedade com os demais revestimentos estudados.

2.3.2 Adição de fibras naturais

A incorporação de fibras lignocelulósicas orgânicas têm sido estudadas para melhorar as propriedades dos filmes de amido. As fibras naturais são usadas na produção de compósitos poliméricos, com a viabilidade de serem localmente disponíveis e de baixo custo. Com uma estrutura fibrilar complexa de celulose, FIGURA 4, hemicelulose e lignina dispostas em forma de feixes micro e nanofibrilares, extraídas por diferentes métodos termoquímicos e mecânicos. A incorporação de tais nanofibras em polímeros biodegradáveis resulta em boa compatibilidade e são confiáveis para a aplicação de alta tecnologia, como aplicações biomédicas, materiais de implantes, material de embalagem, membrana permeável, entre outras (GIRI et. al., 2022).



A melhora na resistência a tensão pode ser atribuída às interações amido-celulose, que diminuem a mobilidade da cadeia de amido. A adição de fibras entre 2,5-3,0% melhora a resistência mecânica dos filmes embora uma estrutura frágil também seja apresentada. Isso pode ser atribuído à estrutura não homogênea dos filmes, resultando em compósitos quebradiços (GARCÍA-GUZMÁN et al., 2022). Na FIGURA 5, a seguir, tem-se um esquema do processo de produção do biofilme compósito de amido com adição de celulose microfibrilada.



Li et al. (2018), ao adicionarem nanofibras de celulose ao filme de amido de milho, observaram melhora significativa na resistência à tração e módulo de elasticidade dos filmes. Eles também relataram que a incorporação dessas nanofibras dificultou a permeabilidade do vapor de água através do compósito: reduziram o valor para permeabilidade ao vapor de água de $1,30 \cdot 10^{-10}$ ($\text{g} \cdot \text{m}^{-1} \cdot \text{s}^{-1} \cdot \text{Pa}^{-1}$) para $9,20 \cdot 10^{-11}$ ($\text{g} \cdot \text{m}^{-1} \cdot \text{s}^{-1} \cdot \text{Pa}^{-1}$), adicionando 20% de nano celulose. Além disso, através do estudo do ângulo de contato da gota de água, indicaram maior hidrofobicidade dos filmes de amido com a presença das fibras de celulose em comparação com os filmes apenas de amido, relatando que as ligações de hidrogênio entre o amido e a nano fibras de celulose reduzem a interação entre a água e os filmes compósitos.

Rendón-Villalobos et al. (2022) utilizou resíduos de manga para obter amido e micro celulose para a produção de bioplástico. Os resultados encontrados pelos autores mostraram um efeito positivo no módulo de elasticidade e na resistência a tração dos bioplásticos. A análise de biodegradação mostrou maior grau de desintegração das amostras em condições laboratoriais. E com a adição de celulose, aumentou-se o tempo de degradação.

2.3.3 Solubilidade

A solubilidade em água também desempenha um papel importante em materiais de embalagens de alimentos à base de amido. A solubilidade em água do filme é reduzida pela adição de substância hidrofóbica à matriz de amido (CUI et al., 2021). A adição de extratos bioativos a filmes à base de amido pode diminuir a solubilidade, como visto por Wang et al. (2021) que, ao aumentarem o óleo essencial de *Zanthoxylum bungeanum* nos filmes, notaram uma diminuição significativa na solubilidade em água dos filmes de amido de milho.

A solubilidade dos filmes de amido está relacionada à sua aplicação para melhorar a integridade e degradabilidade de um produto (MEDINA-JARAMILLO et al., 2015). Além disso, é possível avaliar a estabilidade do material nas condições externas de armazenamento (umidade e temperatura), mas também sua resistência dependendo do produto embalado (PUSCASELU et al., 2021).

A natureza hidrofílica dos filmes de amido é aumentada quando se adiciona compostos fenólicos extraídos em água, pois há um aumento no espaço entre as cadeias do polímero de amido que permite a passagem das moléculas de água pelas amostras do filme. Em contrapartida, esses compostos fenólicos podem atuar como plastificantes (MEDINA-JARAMILLO et al., 2015).

2.3.4 Propriedades térmicas

De acordo com a ICTAC – *International Confederation For Thermal Analysis And Calorimetry*, a análise térmica é o estudo da relação entre uma propriedade da amostra e sua temperatura à medida que a amostra é aquecida ou resfriada de maneira controlada (<http://www.ictac.org/index.html>), pois através do aquecimento pode se induzir mudanças físicas ou químicas.

Esta técnica termoanalítica de caracterização de materiais dispõe, basicamente, de uma balança de precisão e um forno programado em que é possível controlar a taxa de aumento de temperatura. Esta taxa de aumento de temperatura pode ocorrer de três formas: Dinâmicas – aquecimento com taxa constante; Isotérmica – temperatura constante; Quase-estático – Junção das duas formas anteriores. Ao avaliar a perda de massa ou percentual de massa decomposto, geralmente transformado em gases, em função do tempo ou temperatura obtêm-se uma curva

termogravimétrica (TG) ou curva de decomposição térmica. Estes gráficos são capazes de indicar a estabilidade térmica de um material, a velocidade de secagem e a cinética de degradação de um composto, por exemplo (MATOS, 2015).

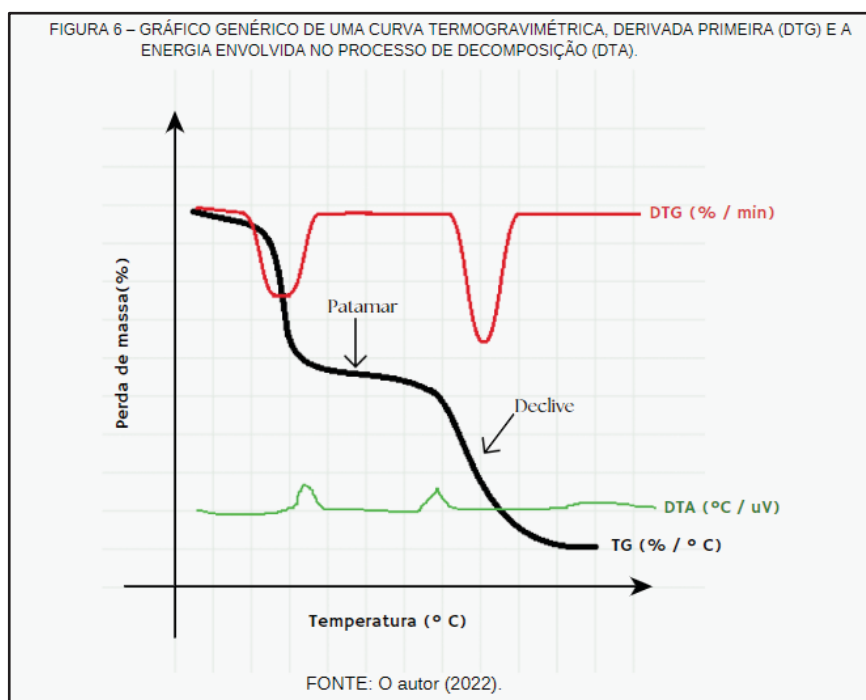
O gráfico de uma curva termogravimétrica é quantitativo para perda de massa e qualitativo para mudança de temperatura de transição em função dos fatores instrumentais e das características das amostras. Esta decomposição térmica pode envolver uma variedade de fenômenos como a decomposição, a desidratação e a sublimação de substâncias presentes na amostra. Esses e outros fenômenos podem provocar a alteração da massa da amostra e, por isso, permitir a avaliação por análise gravimétrica (MATOS, 2015).

Na representação gráfica de uma curva termogravimétrica (FIGURA 6), é possível ver patamares, regiões em que não ocorre perda de massa; quando essa variação ocorre, tem-se a presença de declives. Muitas vezes, mudanças de massa que ocorrem em temperaturas próximas tornam a visibilidade dos eventos imperceptível, portanto, emprega-se um recurso matemático: a derivada da curva termogravimétrica (DTG), relativo à 1ª derivada de qualquer curva em relação à temperatura ou ao tempo. Este recurso estipula a velocidade de mudança de peso com o tempo, dW/dT , contra a temperatura. Na curva de DTG, quando não há perda de peso, dW/dT é 0. O máximo da curva derivada corresponde ao coeficiente angular máximo na TG. Quando dW/dT for um mínimo (mas não zero), ocorre uma inflexão, isto é, uma mudança do coeficiente angular na curva de TG (VOGEL, 2002).

A energia envolvida no processo (DTA) pode ser medida simultaneamente com a análise termogravimétrica (TGA), a exemplo do gráfico FIGURA 6, sendo uma técnica útil para a caracterização do estado sólido de materiais farmacêuticos. A técnica DTA mede a diferença de temperatura da amostra em comparação a uma referência. Dessa forma, mapeia as temperaturas onde ocorrem os eventos térmicos e mostra se os processos de decomposição são endotérmicos ou exotérmicos. (PALERMO, 2001).

A queima do material libera como produto gases, para evitar o acúmulo desses produtos e garantir que o ambiente seja o mais constante possível durante o experimento, aplica-se um gás de arraste: Ar estático é o ar ambiente difundido pelo forno; Ar dinâmico é o ar comprimido de um cilindro que passa pelo forno em vazão conhecida; com Nitrogênio livre de oxigênio, é um meio inerte (VOGEL, 2002).

O peso, o tamanho de partícula e o modo de preparação são fatores de interferência da curva termogravimétrica. Recomenda-se melhor usar uma pequena quantidade de amostra com o menor tamanho de partículas possível. Pois, quanto maior o empacotamento das partículas da amostra, maior o tempo de difusão dos gases dentro dessas partículas e, conseqüentemente, maior a faixa de temperatura na qual a substância volátil sairá da amostra (MATOS, 2015; VOGUEL, 2002).



Para caracterização de materiais poliméricos, esta técnica auxilia no estudo da estabilidade térmica de polímeros e determinação da identidade do polímero. Como (DTG) indica a temperatura em que a mudança de peso é máxima, ela é útil na distinção de polímeros. Por isto, tanto a TG como a DTG permitem a identificação dos componentes de um material polimérico (VOGUEL, 2002).

Assim, Jaramillo et al. (2016) utilizaram-se da análise termogravimétrica para avaliar a estabilidade térmica dos filmes biodegradáveis e comestíveis à base de amido-glicerol de mandioca com diferentes concentrações de extrato de erva-mate que prepararam por *casting*. Além disso, para determinar as temperaturas de decomposição térmica de todos os filmes desenvolvidos, aplicaram a primeira função derivada das curvas TG. Abdillah e Charles (2021) também examinaram os perfis de estabilidade térmica por termogravimetria das amostras de filme comestíveis biodegradáveis a base de amido incorporado com carragenina.

Du et al. (2021) estudaram o padrão de decomposição e a estabilidade térmica de diferentes filmes por TG de biofilmes a partir de proteína miofibrilar de peixe e solução de quitosana incorporada com extrato de alecrim. Já Arrieta et al. (2018) por meio de TGA investigou o comportamento de degradação térmica do resíduo de erva-mate puro, bem como de nanopartículas do extrato de erva-mate. Da mesma forma, Aliabadi e colaboradores (2021), afim de avaliarem o comportamento térmico de seus filmes de celulose microfibrilada com adição de extrato de erva-mate, utilizaram-se desta técnica. Com isso, perceberam que o extrato de erva-mate diminuiu ligeiramente a temperatura máxima de decomposição, com uma resistência térmica levemente melhorada em torno de 20 – 250 °C.

2.3.5 Propriedades espectroscópicas – Espectroscopia no Infravermelho

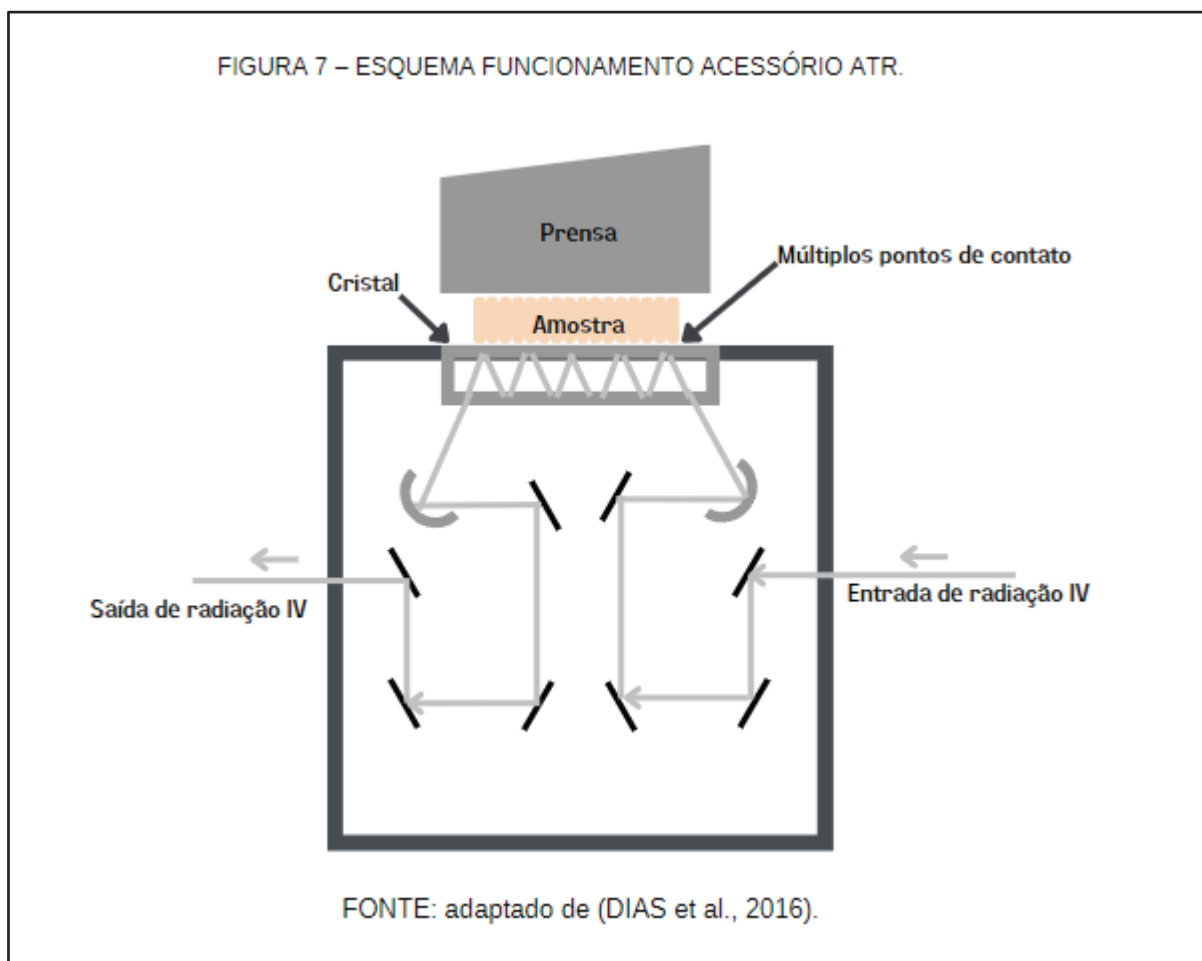
A espectroscopia de infravermelho (IV) é uma técnica analítica que auxilia na identificação de estruturas moleculares, de forma qualitativa e quantitativa, revelando informações de sua constituição, além de revelar quais são os grupos funcionais que participam da estrutura do analito. Cada grupo químico na amostra absorverá uma energia específica em relação a um comprimento de onda aplicado, como aldeídos, cetonas, ácidos carboxílicos, ésteres, haletos ácidos e amidas (DIAS et al., 2016). Isto porque, na região do infravermelho ocorrem as transições vibracionais, com subníveis rotacionais, associadas à energia das ligações químicas. Assim, obtém-se espectros com interpretação relacionado às ligações químicas (ARAÚJO E IRIRS, 2021).

No infravermelho, é muito comum expressar a Radiação Eletromagnética em número de onda [cm^{-1}] (ARAÚJO E IRIRS, 2021). Três regiões são utilizadas com diferentes níveis de energia: o infravermelho distante, com número de onda inferior a 400 cm^{-1} ; o infravermelho médio, geralmente é a faixa mais utilizada, com número de onda entre 4.000 e 400 cm^{-1} ; e o infravermelho próximo, com número de onda entre 13.000 cm^{-1} e 4.000 cm^{-1} (DIAS et al., 2016).

O espectrofotômetro de infravermelho com transformada de Fourier é um instrumento que possui a vantagem de realizar essa operação matemática, conhecida como transformada de Fourier (FT), que pode separar as frequências das absorções individuais contidas no interferograma. Esta vantagem é a produção deste gráfico em uma velocidade superior ao infravermelho convencional (menos de um segundo), dessa forma, coleta dezenas dessas leituras de uma mesma amostra. Quando se

realiza uma transformada de Fourier na soma dos interferogramas, obtêm-se um espectro com melhor razão sinal/ruído, maior velocidade e maior sensibilidade do que um instrumento sem essa operação (PAVIA, LAMPMAN, KRIZ, VYVYAN, 2016).

Para caracterizar amostras sólidas é recomendado o uso do acessório de Refletância Total Atenuada (ATR). Com este acessório não é necessária preparação de amostra; quando o feixe a penetra levemente, a frequência vibracional da amostra é em parte absorvida, “atenuando” assim o feixe, como exhibe o esquema na FIGURA 7. Mesmo observando algumas diferenças na intensidade relativa dos sinais, o espectro obtido é semelhante ao obtido com um IV operando no modo de transmitância. Além disso, não é exigido que o exemplar em análise seja límpido (PAVIA, LAMPMAN, KRIZ, VYVYAN, 2016).



Jaramillo et al. (2016), Panrong et al. (2020), Aliabadi e colaboradores (2021), usaram IVFT – ATR para caracterizar seus filmes com base em amido; Feng et al., 2018, Abdillah e Charles (2021) também utilizaram IVFT para avaliar seus filmes,

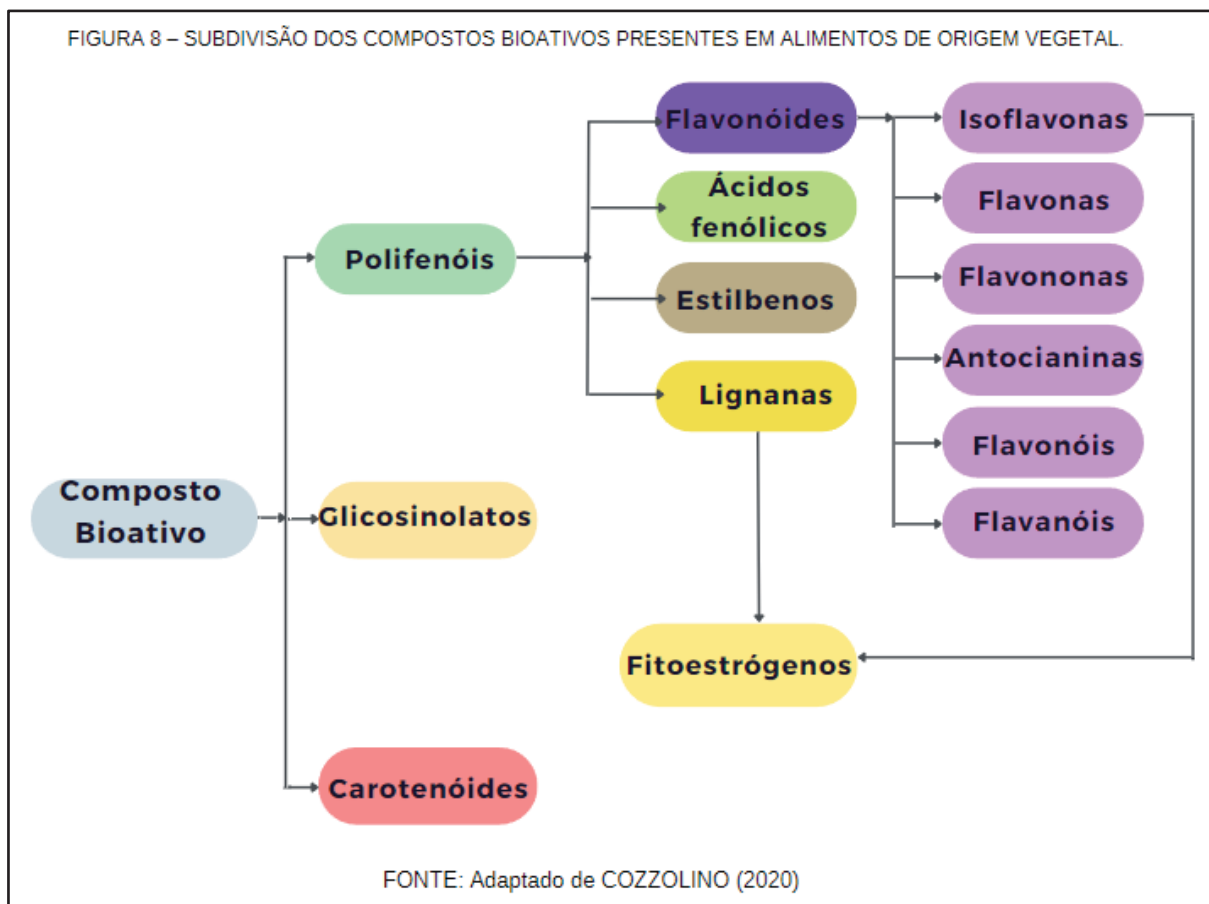
ambos os artigos utilizaram a faixa de trabalho no infravermelho médio. Pilatti-Riccio (2019) em seu trabalho sobre encapsulamento da erva-mate utilizou IVFT – ATR para comparar o extrato não encapsulado com os tratamentos aplicados pelos autores. Arrieta et al. (2018) empregou a análise de TGA e IVFT – ATR para revelar a perda de estruturas de hemicelulose que levam a nanopartículas de mate de base lignocelulósica (mateNP).

2.4 COMPOSTOS BIOATIVOS

O uso de extratos naturais de plantas é desejável para o desenvolvimento de novos produtos alimentícios e nutracêuticos, bem como novos sistemas de embalagem ativos. É esperado um maior uso de extratos naturais devido ao processo de regulação mais fácil e à preferência do consumidor quando comparado aos agentes antimicrobianos químicos (HAN, 2003).

Extratos naturais são fontes de compostos bioativos, como antioxidantes, polifenóis e flavonoides, cuja atividade é bastante conhecida nas indústrias farmacêutica, cosmética e alimentícia (KNAPP et al., 2019). Eles são, em sua maioria, metabólitos secundários, geralmente relacionados com os sistemas de defesa das plantas contra a radiação ultravioleta ou agressões de insetos ou patógenos. Como existem em grande número, eles podem ser subdivididos em classes de acordo com suas propriedades físico-químicas e efeito biológico (COZZOLINO, 2020).

A FIGURA 8 compreende as subdivisões dos compostos bioativos com enfoque para os polifenóis. Os compostos bioativos podem variar em estruturas químicas e em funções e estão distribuídos em três grandes grupos: polifenóis, glicosinolatos e carotenoides, e cada um desses grupos também apresenta subdivisões. Como existem em grande número, podem ser subdivididos em grupos com milhares de compostos distintos (COMINETTI e COZZOLINO, 2020).



Uma das características relacionadas aos compostos bioativos é a capacidade antioxidante, antibactericida e antiviral. E a atividade biológica dos CBA está relacionada à sua estrutura molecular. Ainda, um CBA pode apresentar certa atividade biológica *in vitro* e não ser biodisponível ou *in vivo*. Portanto, uma abordagem completa sobre a atividade biológica dessas substâncias deve envolver o estudo da sua estrutura associada à biodisponibilidade do composto (COMINETTI e COZZOLINO, 2020).

Friedman (2007) em seu artigo de revisão traz uma abordagem sobre as atividades antibactericidas, antitoxinas, antivirais, antifúngicas de chás, principalmente os componentes flavonoides. O autor retrata que compostos fenólicos exibem fortes atividades antibacterianas contra bactérias patogênicas de origem alimentar, bactérias deterioradoras de alimentos e bactérias patogênicas que causam doenças infecciosas em humanos. Com isso, fornece uma base para os estudos necessários sobre o potencial dos compostos de chá para inativar bactérias em alimentos líquidos e sólidos e proteger os seres humanos contra doenças infecciosas.

O autor resume o mecanismo da ação antiviral de compostos fenólicos como baseado na habilidade deles de agirem como antioxidantes para inibir enzimas, romper membranas celulares, prevenir ligações virais e penetração nas células e para ativar os mecanismos de autodefesa da célula hospedeira. O autor declara a importância de maiores estudos que determinem uma modelagem molecular da interação estrutura flavonoide-membrana celular que pode ser usada para prever atividades antibióticas de flavonoides estruturalmente diferentes.

2.4.1 Polifenóis

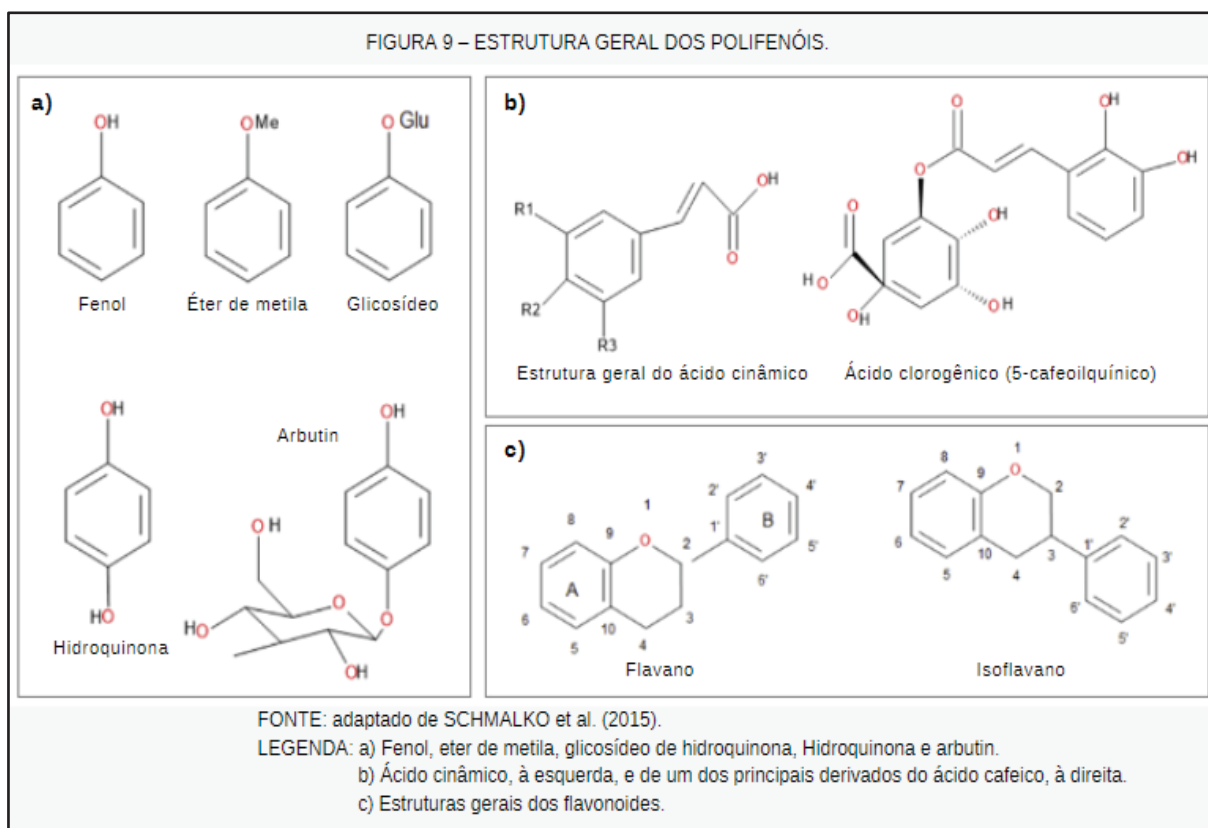
Os compostos fenólicos são um dos grandes grupos de antioxidantes e são substâncias naturalmente presentes na maioria dos vegetais. Este grupo de bioativos apresenta desde moléculas simples até outras com alto grau de polimerização. Nos vegetais podem estar na forma livre ou ligados a glicosídeos e proteínas (PIMENTEL, ELIAS e PHILIPPI, 2019). Recebem bastante atenção da comunidade científica pela sua capacidade de sequestro de oxigênio (COZZOLINO, 2020).

Existe uma ampla variedade de estruturas encontradas nessa classe de compostos, o qual é devida as reações como: hidroxilação, metilação, acilação, glicosilação, entre outras. E em alimentos processados e bebidas, como chás, vinhos, café e chocolate podem conter produtos provenientes dessas reações, ou seja, do metabolismo de polifenóis, os quais podem ser mais bem definidos como derivados polifenólicos (COMINETTI e COZZOLINO, 2020).

Os polifenóis apresentam estrutura química comum, derivada do benzeno, ligada a um grupo hidrofílico. Quimicamente podem ser definidos como substâncias que possuem um anel aromático com um ou mais grupamentos hidroxila ligados. Com base em sua estrutura e na maneira pela qual os anéis polifenólicos se ligam uns aos outros, são classificados em quatro famílias: flavonoides, ácidos fenólicos, lignanas e estilbenos (COMINETTI e COZZOLINO, 2020).

Na FIGURA 9 são mostradas as estruturas gerais de polifenóis, partindo de fenóis simples, com apenas os 6 carbonos do anel aromático, alguns exemplos seriam hidroquinona e arbutin - glicosídeo de hidroquinona. O grupo com estrutura de C6-C3, derivados do fenilpropano, compreende os ácidos cinâmicos. Em geral, eles são encontrados ligados a açúcares, seja como glicosídeos ou como ésteres. Apresentam-se também como ésteres de fenóis com um grupo carboxílico ou com substâncias

afins, como é o caso do ácido cafeico que, ligado ao ácido quínico através de uma função éster, forma o ácido clorogênico. E as substâncias que possuem unidades de fenilpropanos, esqueletos com 15 carbonos, com uma sequência de C6-C3-C6, são chamados flavonoides, derivados do flavano (SCHMALKO et al., 2015).



Em geral os flavonoides estão presentes nos alimentos na forma glicosilada, frequentemente são substâncias coloridas, mas também podem se apresentar incolor, como nas catequinas. Tipicamente os polifenóis glicosilados são mais hidrofílicos e geralmente muito polares. Do ponto de vista farmacêutico, as estruturas de bastante interesse são quercetina e canferol (COZZOLINO,2020; SCHMALKO et al., 2015).

Uma das fontes vegetais mais importante de polifenóis são os chás, conforme descrito por Cui e colaboradores (2021), polifenóis do chá (PC) são uma mistura de catequinas que não são tóxicas e são usadas amplamente como conservantes naturais. Estes pesquisadores ainda declaram que, devido aos benefícios para a saúde desses polifenóis, há um interesse crescente em adicioná-los a filmes à base de amido para que possam ser protegidos do meio ambiente. Portanto, incorporá-los a uma matriz polimérica possibilita uma boa atuação destes compostos bioativos.

A exemplo disso, Feng et al. (2018) prepararam filmes de amido com diferentes conteúdos de PC, os quais possuíam inibição evidente contra *S. aureus* e *E. coli*. Os pesquisadores notaram que a atividade antioxidante do filme a hidroxipropilamida com PC foi quase quatro vezes maior do que a do filme de amido sem PC com base em um teste de eliminação de radicais livres de DPPH. E concluíram que o mecanismo antioxidante se deve principalmente a capacidade dos polifenóis de capturar oxigênio ativo e quelar íons metálicos.

Filmes para embalagens bioativas à base de ácido polilático (PLA), acetil tributil citrato (ATBC) e polifenol do chá (PC) foram preparados por Ren et al. (2022), a partir da mistura de seus componentes em aquecimento. As atividades antioxidante e antibacteriana aumentaram significativamente com o aumento da PC: Com 1% desse bioativo foi equivalente à 300 mg/L de ácido L-ascórbico; e com 0,5% e 1% os filmes foram eficazes na inibição de *Staphylococcus aureus* e *Escherichia Coli* em quase 5 horas.

Menzel et al. (2020), extraiu compostos fenólicos da palha de arroz e os adicionaram a filmes de amido. Os autores salientaram que o filme contendo o extrato antioxidante apresentou atividade aumentada contra os radicais livres DPPH. Um fator destacado foi a respeito da concentração destes compostos, pois filmes de amido com antioxidante tornam-se mais quebradiços com o aumento da quantidade do extrato adicionado, o que atribuíram às interações dos compostos fenólicos com as cadeias de amido.

Knapp et al. (2019) corroboram com esse pressuposto ao declararem que os compostos fenólicos promovem mudanças nos padrões de gelatinização e retrogradação do amido. Os grupos hidroxila dos polifenóis solubilizados podem interagir com a água e os grupos hidroxila do amido por meio de ligações de hidrogênio, impedindo a interação hidrofóbica das cadeias de amido para retrogradação. Incluem, também, que a adição de ácidos fenólicos pode alterar o pH do sistema, sendo capaz de afetar a viscosidade do sistema e alterar a formação da pasta de amido.

Compostos fenólicos tem um crescente interesse farmacológico por suas propriedades antioxidantes, antibactericidas, antivirais, entre outras. A erva-mate é uma planta conhecida por seu alto conteúdo fenólico. Algumas dessas propriedades são atribuídas ao elevado conteúdo de derivados do ácido cafeico (ácidos

clorogênico), além de outros pertencentes a esta classe de bioativos (SCHMALKO et al., 2015; MEDINA-JARAMILLO et al., 2015).

2.4.2 Erva-mate

Ilex paraguariensis A.St.-Hil, conhecida como erva-mate (FIGURA 10) pertence à família botânica: Aquifoliácea. Esta árvore de pequeno porte, de até 15 metros de altura com caule curto e copa densa, apresenta folhas duras, alternadas, oblongas, verde-escuras, glabras, com compressão de até 8 cm por até 4 cm de comprimento. Inflorescência em “s” na axila das folhas. Com flores de dois tipos: estaminadas e pistiladas por redução, geralmente tetrâmeras, até 7 mm de diâmetro. Seu Fruto baga é esférico, com quatro sementes, de tons vermelho-preto, com diâmetro de 5 mm (SCHMALKO et al., 2015).



As folhas passam por um processo de secagem para torná-las estáveis, folhas frescas sofrem várias etapas de processamento: branqueamento, secagem e algumas vezes envelhecimento. Elas são utilizadas para preparação de bebidas alimentícias e estimulantes, como chá, chimarrão e “tererê”, bebidas típicas da região Sul do Brasil. (HECK et al., 2007; SIMÕES et al., 2017).

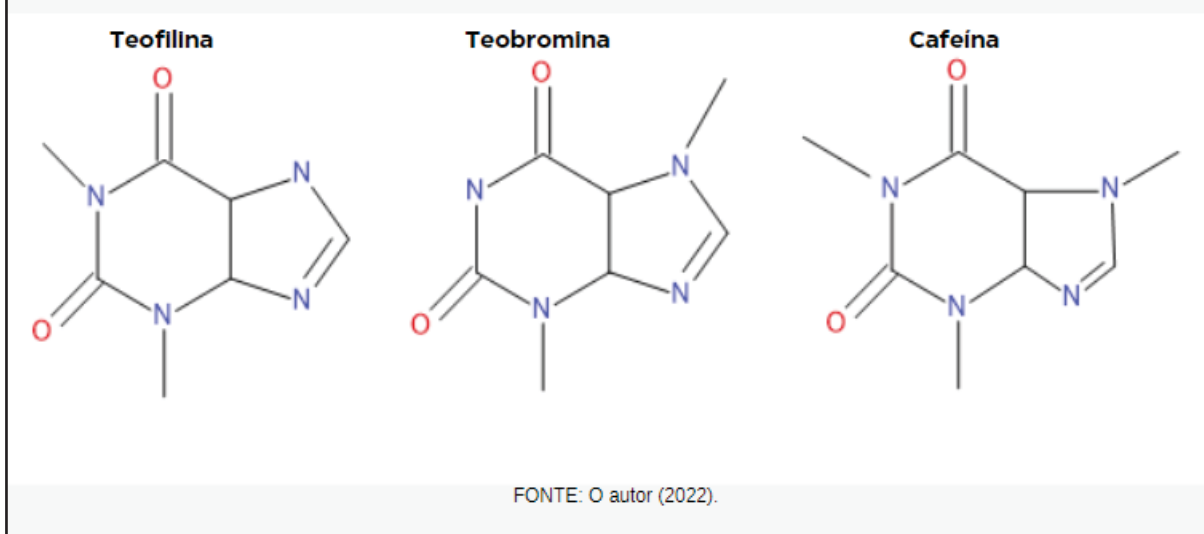
Em escala laboratorial pode ser usado secagem assistida por micro-ondas, como descrito por Passardi et al. (2006). Neste trabalho, amostras de *Ilex paraguariensis* foram secas por radiação em micro-ondas e os principais resultados mostram que o processo é viável e o produto é aceitável para uso. Além disso, há a vantagem em relação à secagem convencional, pois o branqueamento e a secagem – etapas realizadas no processo de produção de erva-mate - podem ser feitos em uma única, ao utilizar o micro-ondas. A evaporação da água livre para as condições experimentais é quase uniforme para folhas e galhos.

Seu uso medicinal e em cosmético vem crescendo, assim, como outras plantas, a erva-mate tem sido considerada um alimento funcional, devido à quantidade de compostos bioativos que contém. Muito conhecidos são os alcaloides, saponinas, mas principalmente polifenóis, que estão associados a significativa atividade antioxidante, hipoglicemiante, antiviral e hepatoprotetora (SCHMALKO et al., 2015).

Os primeiros trabalhos sobre composição química da erva-mate datam do início do século XX (SCHMALKO et al., 2015). A *Ilex paraguariensis* A.St.-Hil. foi descrita pelo botânico francês Auguste de Saint-Hilaire. O uso do mate foi registrado pelos naturalistas desde o Rio Grande do Sul até Minas Gerais. Atualmente, a infusão da planta é consumida na Argentina, no Paraguai, no Uruguai e no sul do Brasil, sendo um dos principais produtos de exportação desta região. *Ilex paraguariensis* é estimulante devido ao elevado teor de cafeína, e apresenta outras atividades biológicas (SIMÕES et al., 2017).

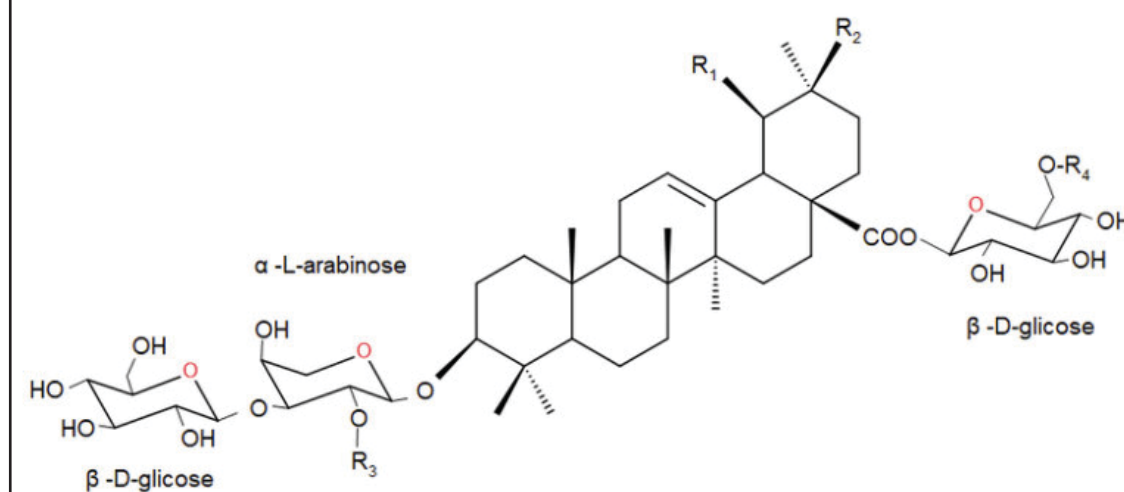
A composição química apresenta, em geral, metilxantinas (0,7 a 2,3% de cafeína, 0,3% de teobromina e traços de teofilina – estruturas correspondentes na FIGURA 11). Também estão presentes açúcares, vitaminas, aminoácidos, compostos fenólicos, principalmente ácido clorogênico (ácido 5-cafeoilquínico – FIGURA 9) e seus produtos de oxidação, flavonoides (quercetina, kaempferol e rutina).

FIGURA 11 – ESTRUTURAS DAS XANTINAS: TEOFILINA (1,3-DIMETILXANTINA), TEOBROMINA (3,7-DIMETILXANTINA) E CAFEÍNA (1,3,7-TRIMETILXANTINA).



Saponinas triterpênicas também integram esta espécie vegetal, sendo uma mistura complexa de moléculas monodesmosídicas e bidesmosídicas, compostas pelo ácido ursólico e glicosídeos de ácido oleanólico. Arabinose, glicose e ramnose compõem a fração de açúcar destes compostos (HECK et al., 2007; SIMÕES et al., 2017; COELHO, et al., 2010). A FIGURA 12 representa uma estrutura para os isômeros das metassaponinas encontradas na erva-mate com a descrição dos grupos substituintes R.

FIGURA 12 – EXEMPLOS DE METASSAPONINAS (ISOMEROS) PRESENTES NA ERVA-MATE.



LEGENDA: **Metassaponina 1:** com R1 = CH3, R2 = H, R3 = R4 = H ou R1 = H, R2 = CH3, R3 = R4 = H;
Metassaponina 2: com R1 = CH3, R2 = H, R3 = ramnose, R4 = H ou R1 = H, R2 = CH3, R3 = ramnose, R4 = H;
Metassaponina 3: com R1 = CH3, R2 = H, R3 = H, R4 = glicose ou R1 = H, R2 = CH3, R3 = H, R4 = glicose.

O alto teor de fitoquímicos encontrado se destaca nessa planta, cerca de 10% em peso seco, particularmente compostos fenólicos, tais como ácido 3-cafeoilquínico (3-CQA), ácido 4-cafeoilquínico (4-CQA), ácido 5-cafeoilquínico (5-CQA), ácido 3,4-dicafeoilquínico (3,4-DQA), ácido 3,5-dicafeoilquínico (3,5-DQA) e ácido 4,5-dicafeoilquínico (4,5-DQA) e ácido cafeico (PILLATI-RICCIO et al., 2019)

A *Ilex paraguariensis*, dentre as espécies *Ilex*, é a de maior capacidade antioxidante, o que se correlaciona com a alta concentração de derivados cafeoilquínicos. O extrato de erva-mate apresenta poder antioxidante intermediário independente do radical empregado. O principal responsável por essa atividade é o ácido clorogênico, também, derivados de cafeoil, metilxantinas (cafeína e teobromina), flavonoides (em menores concentrações), principalmente rutina. De modo geral, para avaliar o conteúdo de substâncias fenólicas totais, muito se utiliza do método de *Folin-Ciocalteu* (KNAPP et al., 2019; SCHMALKO et al., 2015; BOAVENTURA et al., 2013).

Constituído pelos ácidos fosfotúngstico e fosfomolibdico, o reagente *Folin-Ciocalteu* contém tungstênio e molibdênio em estado de oxidação 6+. Na presença dos agentes redutores, no caso os polifenóis, em meio alcalino, sua coloração passa de amarelo para azul. Em virtude desta mudança de coloração é possível aplicar método espectrofotométrico e analisar quantitativamente a presença destes agentes redutores (LAZZAROTTO et al., 2020).

O conteúdo de metabólitos, muitas vezes, difere de acordo com o material e processamento empregado. A composição das moléculas ativas também difere conforme o método extrativo e metodologia analítica aplicados. A idade do amadurecimento das folhas faz oscilar a concentração dos metabólitos, conforme o papel funcional fisiológico que desempenham na planta (SCHMALKO et al., 2015).

Contudo, Fayad et al. (2020) ressaltam que, com o avanço da resistência antimicrobiana aos compostos já estabelecidos, é importante identificar ativos ou extratos que inibam as bactérias ou diminuam sua virulência. Dessa forma, há a necessidade de pesquisas deste produto natural voltado para aplicações em inovação tecnológica.

Assim, estes pesquisadores realizaram testes em extratos aquosos da erva-mate quanto à atividade antibacteriana contra diferentes espécies bacterianas. Foram encontradas atividades promissoras contra *Staphylococcus aureus* (cepas padrão e clínicas), *Klebsiella pneumoniae* (cepas padrão) e *Acinetobacter baumannii* (cepas

padrão e clínicas) com Concentrações Mínimas Inibitórias (MICs) de 1,88 - 3,75 mg/mL, 1,88 mg/mL e 2,5 - 10 mg/mL, respectivamente.

A atividade antibacteriana da erva-mate sobre *K. pneumoniae* e *A. baumannii* que estes autores encontraram também indica que a atividade dos extratos aquosos não está limitada às bactérias Gram-positivas, mas também se estende a algumas espécies Gram-negativas. Além disso, eles sugerem que os compostos ativos na erva-mate responsáveis pela atividade contra *S. aureus* estão presentes tanto na água como nos extratos de metanol e etanol, visto que ambos apresentaram comparáveis atividades antibacterianas em *S. aureus*.

O Extrato de folha de erva-mate de *Ilex paraguariensis* A. St.-Hil possui alta quantidade de ácidos caeoilquínicos que podem ser benéficos para diversas aplicações em vez de seu uso convencional como bebida quente, conforme apontam Aliabadi et al. (2020). Logo, estes compostos bioativos presentes na erva-mate precisam ser preservados e estabilizados quanto a degradação por fatores como oxigênio, luz, pH e aquecimento (PILATTI-RICCIO et al., 2019).

Assim sendo, o extrato de erva-mate é em geral incorporado em filmes de amido, em que atua como antioxidante e plastificante. Além disso, o aumento da adição de extrato de erva-mate também tem sido relatado como responsável pela redução da temperatura de fusão (T_m) dos filmes, o que limita a recristalização do amido, melhorando a capacidade de processamento desses materiais (KNAPP et al., 2019; MEDINA-JARAMILLO et al., 2015; JARAMILLO et al., 2016).

2.4.3 Crioconcentração

Diversas tecnologias emergentes têm sido estudadas como alternativas ao processo de concentração convencional. Nesse sentido, a concentração por congelamento ou crioconcentração é uma tecnologia promissora a ser adotada na indústria alimentícia. O princípio dessa operação é o congelamento e descongelamento, tendo, por fim, a separação do soluto concentrado. De modo geral, no descongelamento a primeira fração obtida consiste em um conteúdo líquido concentrado, enquanto o restante pertencente a segunda fração com o mínimo de sólidos solúveis (SOUTO et al., 2022).

Quanto mais concentrada for uma solução, menor será a temperatura necessária para que ela congele, pois, os sólidos tendem a reduzir o ponto de

congelamento, dificultando a cristalização dos solventes. Quando controlado, o congelamento de alimentos líquidos produz cristais de gelo acima da temperatura eutética, aumentando a pureza da água cristalizada, preservando todas as propriedades da solução original. O tempo de congelamento também está relacionado à forma e ao material do recipiente da solução de concentração; quando em contato com as paredes do recipiente, a transferência de calor ocorrerá mais rapidamente nas camadas mais externas da solução, enquanto, nas camadas internas, o congelamento ocorre gradativamente até atingir seu centro (PRESTES et al., 2022).

Nesse contexto, Rezzadori et al. (2021) utilizou-se dessa técnica para concentrar compostos bioativos do extrato aquoso de folhas de goiaba como forma de aumentar e manter as propriedades antioxidantes. Os autores declaram que a crioconcentração é um método eficaz para preservar e aprimorar importantes atributos de qualidade, como a bioacessibilidade de compostos bioativos. Além disso, acrescentam que este processo consome menos energia do que a evaporação devido ao menor calor latente de solidificação da água em relação à vaporização.

Boaventura e colaboradores (2013), avaliaram os efeitos da concentração por congelamento do extrato aquoso de folhas de erva-mate sobre o teor de componentes bioativos e a atividade antioxidante do fluido concentrado e do gelo obtido. Os compostos fenólicos encontrados pelos pesquisadores foram o ácido clorogênico, ácido 3,5-dicafeoilquínico, ácido cafeico, ácido p-cumárico, ácido 3,4-dihidroxibenzóico e ácido gálico, os quais melhoraram substancialmente em todas as etapas de concentração de congelamento. Os teores de metilxantinas (cafeína e teobromina) também aumentaram com a aplicação desta metodologia. Além disso, os valores de ambos os ensaios antioxidantes se correlacionaram com o teor de compostos bioativos do extrato aquoso de erva-mate neste trabalho.

Demirbas et al. (2018) realizaram a crioconcentração em bloco e o descongelamento parcial da antocianina de *B. oleracea*. Relataram que o método aplicado aumentou a atividade de antocianinas e o teor de fenol total aproximadamente dez vezes em comparação com as técnicas de extração comuns. Destacaram a necessidade de produtos e tecnologias sustentáveis derivados de materiais agrícolas. Assim, a aplicabilidade dessa técnica verde, fácil e altamente eficiente é relevante para a produção de produtos de maior valor agregado.

2.5 LIBERAÇÃO DO ATIVO INCORPORADO AOS BIOFILMES

O amido é uma matriz polimérica capaz de armazenar/ encapsular o ativo e liberá-lo durante o contato direto com a superfície de interesse, no caso, contaminada. Essas interações resultam em uma liberação gradual dos compostos antimicrobianos e garantem sua ação por um período mais longo quando comparado com a aplicação direta, que aumenta as interferências sensoriais dos alimentos. A capacidade de liberar componentes antimicrobianos por contato direto é uma característica importante porque, normalmente, a maior contaminação microbiana ocorre na superfície (DO EVANGELHO et al., 2019).

Ao incorporar compostos bioativos visando a aplicação como agentes antimicrobianos, é necessário avaliar a liberação destes ativos para comprovar sua aplicação como embalagem ativa antimicrobiana. Quando um composto volátil é incorporado em uma embalagem, ele é liberado principalmente por permeação e difusão nas superfícies dos alimentos e a taxa de liberação desses agentes do material tem um efeito significativo em sua atividade e aplicações potenciais. Ainda, a temperatura influencia nessa taxa de liberação dos agentes antimicrobianos em filmes à base de amido; quando em temperaturas mais altas, é atribuído maior mobilidade das moléculas (KUORWEL et al., 2013; SUPPAKUL et al., 2011).

Panrong et al. (2020) ressaltam que o estudo da liberação de compostos ativos é necessário para apoiar o uso potencial do material assim produzido como embalagem ativa. Assim, avaliaram o comportamento de liberação do extrato de chá verde na mistura de filmes termoplástico à base de amido de mandioca modificado e polietileno linear de baixa densidade. A cinética de liberação de chá verde foi determinada em diferentes simuladores de alimentos: água destilada, ácido acético 3%, etanol 10% e etanol 95% e concluíram que o comportamento liberação do extrato de chá verde nos filmes é semelhante em meio aquoso e ácido. Além disso, o meio com alto teor de etanol (95% etanol) acelerou a taxa de liberação de chá verde devido à forte afinidade dos compostos fenólicos pelo meio e interação do etanol com matrizes poliméricas que aumentaram a difusão.

Filmes biodegradáveis ativos e inteligentes de fécula de mandioca e glicerol com 5% em peso de diferentes extratos naturais como chá verde e manjeriço foram obtidos por *casting* na pesquisa desenvolvida por Medina-Jaramillo et al. (2017). Os pesquisadores depositaram as amostras do filme em 5 mL de água em um agitador

por 24 horas e a migração dos polifenóis do chá verde e do manjeriço foi avaliada pelo método de *Folin-ciocalteu*. Após avaliarem a liberação do extrato em cada sistema ao longo de 30 minutos, observaram que o material com extrato de chá liberou aproximadamente 17%, enquanto o manjeriço, em torno de 7%. Portanto, ambos os filmes podem ser utilizados como produtos de liberação controlada para revestir alimentos.

Além do meio de liberação afetar esse mecanismo, a concentração de compostos fenólicos incorporada ao filme também refletirá nesse processo. Isto foi observado no trabalho de Knapp et al. (2019), em que desenvolveram filmes de amido com extrato de erva-mate elaborados com água: etanol (vol./vol.) a 50°C. Os compostos fenólicos e a atividade antioxidante foram maiores nos filmes controle (sem extrato), além de acompanharem o aumento à medida que a concentração do extrato de erva-mate incorporada ao filme foi elevada.

Lazzarotto et al. (2020) realizaram a incorporação do amido de milho com extratos liofilizados de erva-mate. O extrato liofilizado elevou a quantidade de compostos orgânicos incorporados e, através da análise das propriedades térmicas do produto, verificaram que o extrato de erva-mate alterou as propriedades térmicas do amido de milho. Este trabalho tem por intuito ampliar a aplicação deste material, incorporando o extrato de erva-mate crioconcentrada durante o processo de gelatinização do amido e formando biofilmes, assim obter um produto com potencial uso no ramo nutracêutico.

3 METODOLOGIA

3.1 ELABORAÇÃO DOS BIOFILMES

3.1.1 Extração da erva-mate:

Folhas de dois cultivares clonais para alta produtividade em sistema semi-hidropônico, denominados BRS 408 e BRS 409 (WENDLING, STURION, SANTIN; 2017) foram colhidas em 01 de fevereiro de 2021 na Embrapa Florestas (Colombo – Paraná, Brasil). Prontamente após a colheita, as folhas foram secas em micro-ondas e moídas com o auxílio de liquidificador, ambos equipamentos domésticos convencionais. Na sequência, realizou-se o fracionamento do conteúdo em peneira de 35 – 100 MESH, e as partículas retidas nesta peneira foram pesadas e levada ao aquecimento em água destilada à 75 °C, por 15 minutos, sob agitação. Após resfriamento e filtragem, obteve-se um volume líquido total de 1600 mL do extrato aquoso de erva-mate com concentração de 30,0 g/L, de cada cultivar em triplicata. Destas soluções, 1000 mL foram destinados para crioconcentração e o restante (600 mL), chamado de solução Extrato Inicial de erva-mate (EI), foi utilizado para composição dos filmes e análise de Polifenóis Totais.

3.1.2 Crioconcentração

Em um freezer, foi congelado 1000 mL do extrato de erva-mate e após 48 horas realizou-se o descongelamento; em um frasco foram coletados e armazenados os primeiros 500 mL e foi denominado solução de erva-mate Crioconcentrado (C). O restante foi deixado no recipiente original que se nomeou solução de erva-mate crio Diluída (D). Ambas as duas frações foram utilizadas para produção dos biofilmes.

3.1.3 Incorporação dos bioativos às matrizes

Foram utilizados como matriz: amido de milho comercial (M), amido de milho modificado – RIGESA (R). As modificações realizadas sobre o amido são para a indústria de papel e celulose. Como material de reforço, com o intuito de melhorar as

propriedades dos filmes, utilizou-se nanocelulose de pinus, do tipo microfibrilada (MFC), fornecida pela empresa Klabin S.A.

Para cada amido foi pesado em balança analítica 1 g, em um Erlenmeyer, seguida da adição de 0,25 g de glicerina e 20 g de água para os controles. Para a produção dos filmes incorporados, substitui-se a mesma quantidade de água pelas soluções de erva-mate extrato inicial (EI), crioconcentrada (C) e crio diluída (D). Nos filmes compósitos, que foi adicionado o reforço de MFC, inclui-se 0,5 g de MFC e a mesma quantidade de glicerina foi adicionada. As composições em massa percentual para a confecção das quatro variedades dos biofilmes: controle, incorporados com as soluções de erva-mate crio diluída (D), extrato inicial (EI) e crioconcentrada (C), estão apresentadas na TABELA 1

TABELA 1: RÓTULO, TEORES DA COMPOSIÇÃO DE CADA MATERIAL E SOLUÇÕES EMPREGADOS NA CONFECÇÃO DAS QUATRO VARIÁVEIS DE BIOFILMES.

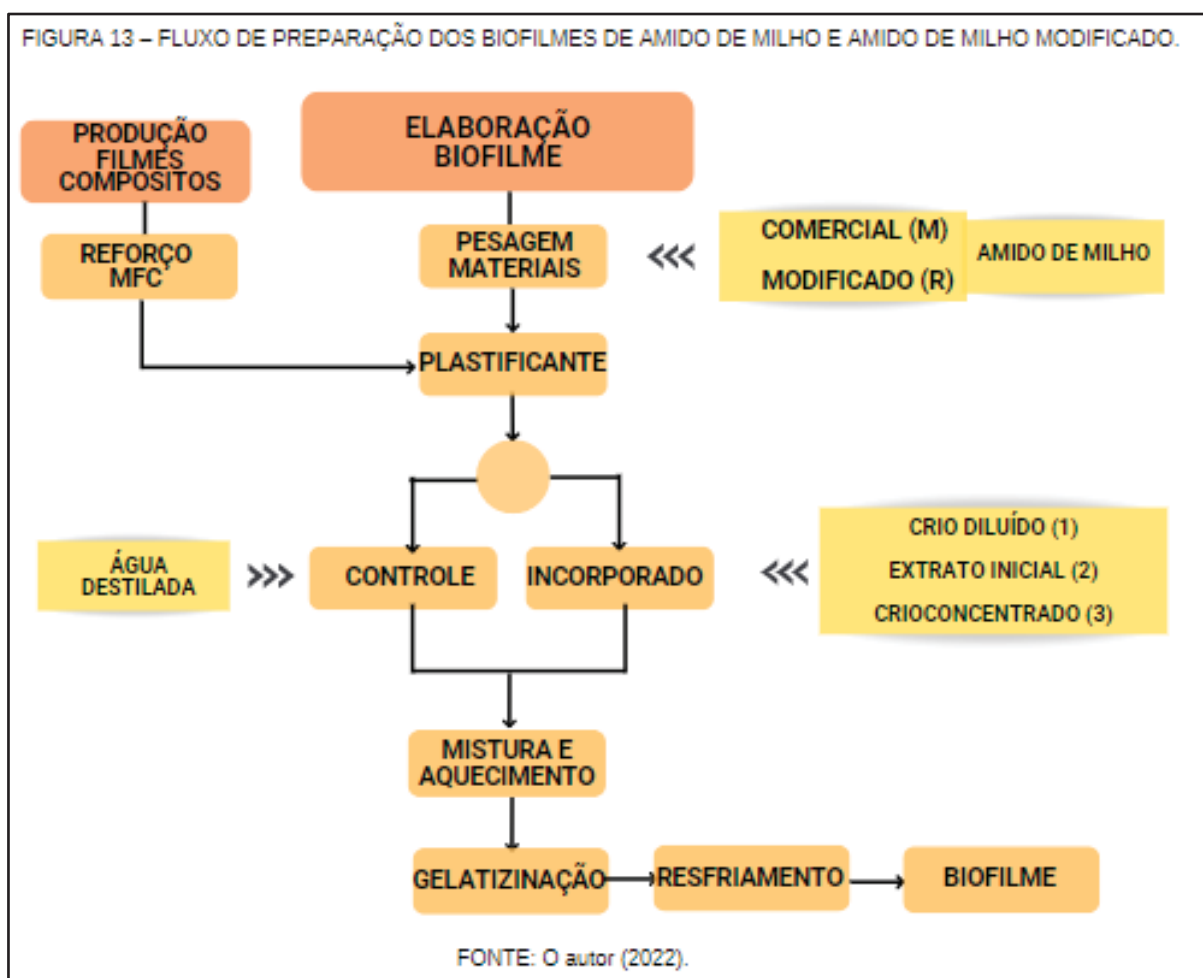
Código	Amido de Milho	Teor de glicerina	Solução de erva-mate incorporada	Reforço de MFC
M0	Comercial	1,20%	Água destilada	---
R0	Modificado	1,20%	Água destilada	---
Mc0	Comercial	2,30%	Água destilada	2,3% MFC
Rc0	Modificado	2,30%	Água destilada	2,3% MFC
M1	Comercial	1,20%	D	---
R1	Modificado	1,20%	D	---
Mc1	Comercial	2,30%	D	2,3% MFC
Rc1	Modificado	2,30%	D	2,3% MFC
M2	Comercial	1,20%	EI	---
R2	Modificado	1,20%	EI	---
Mc2	Comercial	2,30%	EI	2,3% MFC
Rc2	Modificado	2,30%	EI	2,3% MFC
M3	Comercial	1,20%	C	---
R3	Modificado	1,20%	C	---
Mc3	Comercial	2,30%	C	2,3% MFC
Rc3	Modificado	2,30%	C	2,3% MFC

Fonte: o autor (2022).

D Refere-Se À Solução De Erva-Mate Crio Diluída, Ei Extrato Inicial E C Solução Crioconcentrada.
MFC celulose microfibrilada;

Os recipientes contendo esses reagentes foram aquecidos até 60 °C em chapa de aquecimento (SP LABOR) para gelatinização do amido e incorporação das substâncias ativas; agitou-se por 3 minutos, aproximadamente. Após resfriamento,

com temperatura em torno de 40 °C, o conteúdo foi vertido em placa de petri de plástico, o qual foi levado à estufa e deixado na faixa de 40 °C a 50 °C por 24 horas (método *casting*). Por fim, retirou-se o conteúdo das placas, os filmes foram identificados e armazenados em plásticos. O esquema a seguir, FIGURA 13, mostra a sequência de etapas adotadas:



3.2 ATRIBUTOS DAS SOLUÇÕES DE ERVA-MATE

3.2.1 Densidade das soluções de EM

Foi medida a densidade relativa das soluções de erva-mate D, EI e C pelo método farmacopeico do Picnômetro (ANVISA, 2019). De posse deste utensílio previamente seco e limpo, com 50 mL de volume nominal, foi determinada a razão entre as massas das amostras líquidas e a massa de água, ambas a 19,5 °C.

Com o valor densidade relativa d_t^t aplicou-se a equação 1, a seguir:

$$\rho_t \left(\frac{\text{g}}{\text{mL}} \right) = d_{\text{água}} \times d_t^t + 0,0012 \quad (1)$$

3.2.2 Sólidos Totais

Uma alíquota de aproximadamente 5 mL das soluções D, EI e C foram transferidas para cadinho, previamente tarado, e aferida sua massa inicial M_i em balança analítica. Logo em seguida, o conjunto foi submetida a secagem, à 105 °C, em estufa (Odontobrás) por 24 horas. Pesou-se o conjunto após este ensaio e verificou-se a massa residual, obtendo-se o valor de massa final M_f e aplicou-se estes valores a equação 2, obtendo-se, assim, o teor de Sólidos Totais.

$$\text{ST}(\%) = \frac{M_f - M_i}{M_i} \times 100 \quad (2)$$

3.2.3 Teor de Compostos Fenólicos Totais (CFT)

Para avaliar o Teor de Compostos Fenólicos Totais (CFT), foi empregado o método espectrofotométrico UV-VIS (Spectrum sp 2000UV) com reagente *Folin-Ciocalteu* (LAZZAROTTO et al. 2020) para avaliar o Teor de Compostos Fenólicos Totais (CFT), nas soluções D, EI e C. A mesma metodologia foi usada nos testes de Liberação de Polifenóis dos biofilmes, item 4.3.3.

Primeiro preparou-se uma solução aquosa de carbonato de sódio pesando-se em balança analítica 20,0 g de Na_2CO_3 (Merck), com dissolução em água ultrapura previamente aquecida; esperou-se o equilíbrio térmico com o ambiente e então transferiu-se para balão volumétrico de 100 mL. Assim, em pH alcalino, o contato dos agentes redutores (polifenóis) com o reagente *Folin-Ciocalteu* promove a mudança de coloração para azul.

Para o ensaio, foi construída uma curva de calibração pesando-se 50 mg do padrão de ácido gálico (Sigma-Aldrich 97,5 - 102,5% de pureza) em balança analítica, transferindo-o para balão volumétrico de 10 mL. O padrão foi dissolvido em álcool etílico 99,5% (Merck, grau HPLC), avolumou-se com o mesmo solvente, obtendo-se assim a solução padrão de concentração de 5000 mg. L^{-1} . A partir desta solução padrão inicial, foram realizadas diluições sucessivas para gerar as soluções de uso na curva de calibração. Estas diluições podem ser acompanhadas na TABELA 2.

TABELA 2: DILUIÇÕES EMPREGADAS PARA A CURVA DE CALIBRAÇÃO, A PARTIR DO PADRÃO DE ÁCIDO GÁLICO.

Tubo	Concentração A* da solução estoque de ácido gálico 5000 (mg. L ⁻¹)	Volume da solução estoque (mL)	Volume de Água (mL)	Concentração B* da curva de calibração (mg. L ⁻¹)
1	5000	2,0	8,0	1000
2	1000	0,9	0,1	900
3	1000	0,8	0,2	800
4	1000	0,7	0,3	700
5	1000	0,6	0,4	600
6	1000	1,0	1,0	500
7	1000	0,4	0,6	400
8	1000	0,3	0,7	300
9	1000	0,2	0,8	200
10	1000	0,1	0,9	100
11	500	0,1	0,9	50
12	500	0,05	0,95	25

Fonte: adaptada de LAZZAROTTO et al. (2020).

*Concentração A foi usada para o preparo das soluções de Concentração B.

Para adequar as amostras mais concentradas à curva de calibração, sobretudo das soluções de erva-mate EI e C, foram diluídas em água ultrapura, conforme o teor esperado. As amostras analisadas do ensaio 4.3.3 não foram diluídas, com exceção das provenientes dos biofilmes incorporados com a solução de erva-mate C. Na sequência, transferiu-se 20 µL, tanto das soluções de uso da curva de calibração (Concentração B, da TABELA 2) quanto das amostras, para tubos de ensaio. A estes tubos foi adicionado: 1,58 mL de água, 100 µL do reagente *Folin-Ciocalteu* e 300 µL da solução de carbonato de sódio, respectivamente. Aguardou-se 30 minutos para realizar a leitura no espectrofotômetro.

As absorbâncias foram medidas no comprimento de onda de 765 nm, em cubeta de vidro, e usada a curva de calibração para determinar o CFT de cada amostra analisada. Os resultados das soluções foram expressos em mg equivalente ao ácido gálico (EAG) por grama de folha de erva-mate, já para o teste de liberação *in vitro* foi expresso em mg (EAG) /g de biofilme.

3.3 CARACTERIZAÇÃO DOS BIOFILMES

As soluções preparadas: D, EI e C, a partir dos extratos aquosos dos dois cultivares BRS 408 e BRS 409, foram incorporadas à matriz amilácea para a produção dos biofilmes, em triplicata, com e sem MFC. Os controles foram feitos em duplicata. Após a retirada da placa de petri, cada biofilme foi levado à balança analítica, anotada sua massa e armazenado em embalagens plásticas para posteriores análises.

3.3.1 Espessura

O ensaio da espessura dos filmes foi realizado usando um micrômetro digital com precisão de 0,01 mm (Mitutoyo, Kawasaki, Japão), com 5 leituras em diferentes áreas em toda a superfície dos filmes. Os filmes-amostra selecionados do cultivar BRS – 408 foram mantidos em dessecador com umidade relativa controlada em 40% e temperatura de 19,2 °C, durante 24 horas. A média das medidas e o desvio padrão foram calculados.

3.3.2 Teor de umidade e Solubilidade

Semelhante ao método aplicado por Puscaselu et al. (2021), frações do filme de aproximadamente 1 cm x 1 cm foram pesadas e mantidas em estufa de secagem (Odontobrás) a uma temperatura de 105 °C. Após isso, foram retiradas e acondicionadas em dessecador por cerca de 25 minutos, até serem novamente pesadas. Assim, ao realizar as determinações em triplicata, foi aplicada a Equação 3, para determinar-se a umidade:

$$U(\%) = \frac{M_1 - M_0}{M_0} \times 100 \quad (3)$$

Onde, **M₀** é a massa inicial da amostra (g) e **M₁** é a massa (g) após o material seco.

Consoante com o método aplicado por Puscaselu et al. (2021) e Du et al. (2021), corpos de prova (1 cm x 1 cm) dos biofilmes foram pesados e imersos em um tubo de 50 mL contendo 25 mL de água ultrapura e mantidos por 24 horas sob agitação em Incubadora (Incubator Shaker Series, New Brunswick Scientific) a 80 rpm

e 20 °C. Na sequência, os filmes foram separados da solução aquosa e levados a estufa a 105 °C, até peso constante. Utilizou-se os valores de massa inicial (M_i) e Massa Final (M_f) e os valores obtidos foram inseridos na fórmula, a seguir:

$$S(\%) = \frac{M_f - M_i}{M_i} \times 100 \quad (4)$$

3.3.3 Liberação *in vitro* do conteúdo fenólico dos Biofilmes

Frações de 1 cm por 1 cm dos biofilmes, tanto controle quanto os incorporados, foram pesados e transferidos para tubos tipo Falcon de 50 mL contendo 25 mL de água ultrapura. Foram aplicados cinco tempos diferentes para o experimento: 12, 24, 48, 72 e 216 horas, armazenados em temperatura controlada em geladeira (-4° C). Passado o tempo selecionado, foram coletados 2,0 mL da solução e acondicionados em microtubos para análise do CFT.

O tratamento estatístico foi realizado com auxílio do software IBM® SPSS® Statistics. Realizou-se assim o teste de normalidade Shapiro-Wilk e a ANOVA de um fator. Os testes posteriori escolhidos foram teste – t de Dunnet e o teste de Amplitude Ryan-Einot-Gabriel-Welschb (R-E-G-W).

3.3.4 Termogravimetria

Os ensaios termogravimétricos foram realizados em equipamento Shimadzu DTG-60. Amostras de 2 a 6 mg de cada filme foram adicionados ao cadinho de platina. Na sequência, este conjunto foi submetido ao aquecimento a uma taxa de 10 °C/min, a partir da temperatura ambiente até 650 °C, sob fluxo de Ar sintético a uma vazão de 100 mL/min. O software utilizado para calcular as perdas de massa foi TA-60 WS (Shimadzu, Japão).

3.3.5 Espectrofotômetro no Infravermelho por transformada de Fourier modo de Reflexão Total Atenuada (IVFT-ATR)

Os espectros de absorbância dos filmes à base de amido foram registrados por meio espectroscopia de infravermelho com transformada de Fourier com acessório de ATR (Refletância Total Atenuada) conduzidas por um espectrômetro

Varian® (modelo 640-IR) e ATR marca Pike® (modelo Miracle, com cristal de ZnSe). Os espectros foram obtidos na região de 4000–650 cm^{-1} , à temperatura ambiente, com 128 varreduras e resolução de 4 cm^{-1} .

4 RESULTADOS

4.1 CARACTERIZAÇÃO DAS SOLUÇÕES DE ERVA-MATE

Foram incorporadas aos amidos três soluções de erva-mate: crio diluída (D), extrato inicial (EI) e crioconcentrada (C), das cultivares BRS – 408 e BRS – 409. A TABELA 3 contém os resultados de Compostos Fenólicos Totais (CFT) de cada uma das soluções em miligrama equivalente ao ácido gálico por grama de folha de erva-mate (mg EAG/g), mostra também a densidade relativa (ρ) em g/mL e Sólidos Totais (ST) em porcentagem.

TABELA 3: ATRIBUTOS DAS SOLUÇÕES DE CADA CULTIVAR DE ERVA-MATE, MOSTRANDO O CFT E DENSIDADE RELATIVA COM SEUS RESPECTIVOS DESVIOS PADRÕES.

Solução erva-mate	Cultivar Embrapa Florestas	Teor (mg EAG/g)	Densidade relativa ρ (g/mL)	Sólidos Totais (%)
D	BRS 408	16,3 \pm 1,5	1,0009 \pm 0,0009	0,18 \pm 0,01
D	BRS 409	25,4 \pm 1,2	1,0005 \pm 0,0008	0,14 \pm 0,02
EI	BRS 408	62,1 \pm 7,1	1,0032 \pm 0,0004	0,80 \pm 0,01
EI	BRS 409	81,0 \pm 4,8	1,0034 \pm 0,0002	0,86 \pm 0,01
C	BRS 408	123 \pm 2. 10	1,0058 \pm 0,0005	1,45 \pm 0,11
C	BRS 409	145 \pm 4	1,0054 \pm 0,0003	1,56 \pm 0,04

Fonte: o autor (2022).

D refere-se a solução de erva-mate crio diluída, EI ao extrato inicial e C a solução crioconcentrada.

Para a solução D, foi observado um teor de CFT aproximadamente três vezes menor em comparação com a EI, como pode ser visto na TABELA 3. Por outro lado, o teor de CFT de C foi próximo do dobro da solução EI, para as duas cultivares de erva-mate analisadas. Pilatti-Riccio et al. (2019) utilizaram os solventes: água destilada (100%), etanol (100%) e água: etanol (1:1) na extração dos compostos de erva-mate e apresentaram resultados semelhantes aos observados para as soluções EI BRS 408, cerca de 60 mg EAG. g⁻¹.

A densidade relativa, TABELA 3, mostra um aumento com a concentração das soluções de erva-mate. Knapp et al. (2019) obtiveram para seu extrato de erva-mate produzido com água e etanol densidade semelhante à da água e baixa quantidade de sólidos totais para os CFT, 7,28 mg EAG/ g. Os autores declaram que sólidos totais tem pouca influência na densidade no extrato de erva-mate. Entretanto, a densidade

relativa, teor de CFT e sólidos totais, demonstram o mesmo comportamento, diretamente proporcional, em relação ao aumento da concentração.

O uso da técnica de crioconcentração por congelamento preservou e elevou os teores dos componentes fenólicos, como evidenciado por meio das concentrações obtidas pela análise de CFT. Assim, com a incorporação dos extratos concentrados aos biofilmes, é esperada uma melhoria na bioacessibilidade aos compostos bioativos.

4.2 CARACTERIZAÇÃO DOS BIOFILMES

4.2.1 Análises Físicas

As soluções de erva-mate caracterizadas no item 4.1 foram utilizadas para a produção dos biofilmes com matriz polimérica de amido de milho comercial (M) ou amido de milho modificado (R). A FIGURA 14 mostra um exemplar para cada matriz utilizada, juntamente com uma breve descrição da aparência e aspectos gerais de cada grupo de filme incorporado (codificação: 1 – solução crio diluída (D), 2 – extrato inicial (EI) e 3 – crioconcentrada (C)) e controle (codificação: 0).



Knapp et al. (2019) visualizou em seus filmes de fécula de mandioca com extrato de erva-mate homogeneidade, maleabilidade, uma superfície lisa e sem formação de bolhas e trincas. Características similares foram percebidas nos filmes de amido de milho comercial e milho modificado com e sem o reforço de MFC (celulose microfibrilada). Estes autores ainda acrescentam que a concentração do extrato de erva-mate influenciou todos os parâmetros de cor. Da mesma forma, pode ser vista a influência do aumento concentração incorporada de erva-mate gerar tonalidades mais escuras ao biofilme.

A massa média da triplicata de cada filme incorporado (codificação: 1, 2 e 3) e a duplicata para os controles (codificação: 0), com seu respectivo cultivar empregado, estão contidos na TABELA 4. Os biocompósitos, filmes produzidos com adição de MFC, apresentaram massa superior em relação aos biofilmes sem a adição desta fibra de reforço. Em contrapartida, entre os biofilmes incorporados não é possível ver um padrão na variação da massa, nem em relação ao cultivar selecionado (BRS – 408 ou BRS – 409)

TABELA 4: MASSA MÉDIA DOS FILMES EM RELAÇÃO A CADA CULTIVAR EMPREGADO.

(Continua)

Código	Cultivar Embrapa Florestas	Massa (g)
M0	---	1,0 ± 0,1
R0	---	1,1 ± 0,1
Mc0	---	1,6 ± 0,7
Rc0	---	1,6 ± 0,6
M1	BRS 408	0,9 ± 0,1
	BRS 409	1,0 ± 0,2
R1	BRS 408	1,03 ± 0,02
	BRS 409	1,14 ± 0,04
Mc1	BRS 408	1,45 ± 0,02
	BRS 409	1,3 ± 0,2
Rc1	BRS 408	1,2 ± 0,2
	BRS 409	1,5 ± 0,6
M2	BRS 408	1,1 ± 0,2
	BRS 409	1,1 ± 0,2
R2	BRS 408	1,0 ± 0,2
	BRS 409	1,2 ± 0,1
Mc2	BRS 408	1,3 ± 0,2
	BRS 409	1,6 ± 0,5
Rc2	BRS 408	1,6 ± 0,2
	BRS 409	1,6 ± 0,4

TABELA 4: MASSA MÉDIA DOS FILMES EM RELAÇÃO A CADA CULTIVAR EMPREGADO
(Conclusão)

Código	Cultivar Embrapa Florestas	Massa (g)
M3	BRS 408	1,2 ± 0,1
	BRS 409	1,3 ± 0,3
R3	BRS 408	1,22 ± 0,08
	BRS 409	1,2 ± 0,2
Mc3	BRS 408	1,8 ± 0,5
	BRS 409	1,7 ± 0,3
Rc3	BRS 408	1,7 ± 0,4
	BRS 409	1,7 ± 0,3

Fonte: o autor (2022).

NOTA: Os códigos das amostras relacionando as matrizes utilizadas e a composição dos materiais empregados encontram-se na TABELA 1. M refere-se a ao amido de milho, R amido de milho modificado; 0 pertence ao controle, 1 incorporado com solução de erva-mate crio diluída, 2 ao extrato inicial e 3 a crioconcentrada. Quando a letra “c” está presente no código entende-se que contém adição de MFC.

Hazrol et al. (2022) desenvolveram filmes biocompósitos usando amido de milho, sorbitol como plastificante e fibra de kenaf como carga de reforço. Os autores observaram que a alta massa molar da fibra kenaf pode provocar aumento da espessura e da massa dos filmes. Este fato pode estar relacionado também ao aumento da concentração do plastificante glicerol, desse modo, caso seja necessária a produção de filmes com espessura inferior pode se diminuir a quantidade de glicerol ou MFC adicionadas. Além disso, com uma maior espessura pode ocasionar maior tempo de secagem do filme e interferir em sua umidade.

Sanyang et al. (2016), perceberam esse aumento de massa em seus filmes de amido de palma (SPS) desenvolvidos com glicerol (G), sorbitol (S) ou sua combinação (GS) como plastificantes na proporção de 15%, 30% e 45% pela técnica de *casting*. De acordo com estes autores, a adição de plastificantes às soluções formadoras de filme SPS ajudou a superar a natureza quebradiça e frágil dos filmes SPS não plastificados. Contudo, o aumento da concentração de plastificante resultou em um aumento na espessura do filme, teor de umidade e solubilidade.

A TABELA 5 exhibe a espessura (mm), percentuais de umidade e solubilidade. A média da espessura dos filmes é de $0,21 \pm 0,06$ mm, com a menor espessura apresentada para o controle do biofilme da matriz de milho modificado (R0) de $0,12 \pm 0,01$ mm; já a maior espessura é referente à matriz de milho modificado com reforço de MFC e incorporado com a solução crioconcentrada (Rc3), $0,34 \pm 0,03$ mm. Os filmes produzidos com o acréscimo de MFC apresentam comportamento de aumento de espessura com o aumento da concentração de solução de erva-mate incorporada.

TABELA 5: CÓDIGO, UMIDADE, SOLUBILIDADE E ESPESSURA DOS BIOFILMES CONTROLE E INCORPORADOS COM AS SOLUÇÕES DE ERVA-MATE.

Código	Umidade* (%)	Solubilidade* (%)	Espessura* (mm)
M0	11,3 ± 2,9	15,9	0,20 ± 0,06
Mc0	30,5 ± 4,2	18,9	0,17 ± 0,06
R0	21,9 ± 1,3	18,7	0,12 ± 0,01
Rc0	52,1 ± 1,9	25,4	0,18 ± 0,03
M1	16,3 ± 1,5	19,9	0,14 ± 0,02
R1	22,3 ± 2,2	19,4	0,22 ± 0,03
Mc1	27,6 ± 1,7	21,1	0,20 ± 0,02
Rc1	33,5 ± 3,6	21,5	0,18 ± 0,04
M2	12,9 ± 1,9	28,4	0,30 ± 0,08
R2	16,3 ± 0,4	29,4	0,18 ± 0,02
Mc2	27,8 ± 1,2	29,5	0,22 ± 0,05
Rc2	22,8 ± 1,2	31,3	0,20 ± 0,01
M3	12,7 ± 1,7	34,5	0,18 ± 0,03
R3	13,8 ± 0,2	35,0	0,19 ± 0,04
Mc3	30,1 ± 1,3	38,1	0,31 ± 0,01
Rc3	22,5 ± 1,8	36,4	0,34 ± 0,03
Média geral	23,4 ± 10,4	26,5 ± 0,1	0,21 ± 0,06

Fonte: o autor (2022).

*Os filmes testados para estes três ensaios foram produzidos a partir do cultivar BRS – 408, com exceção da umidade do filme Mc3, proveniente do cultivar BRS – 409.

Os códigos das amostras relacionando as matrizes utilizadas e a composição dos materiais empregados encontram-se na TABELA 1. M refere-se a ao amido de milho, R amido de milho modificado; 0 pertence ao controle, 1 incorporado com solução de erva-mate crio diluída, 2 ao extrato inicial e 3 a crioconcentrada. Quando a letra “c” está presente no código entende-se que contém adição de MFC.

No entanto, para os biofilmes sem adição do reforço não se notou padrão de comportamento em relação a essa característica. Dessa mesma forma, a espessura dos filmes de amido de milho e trigo incorporados com óleo essencial de limão e surfactantes produzidos por Song et al. (2018) não encontraram diferença significativa para este atributo. Eles indicaram que as aglomerações de pequenas partículas de óleo essencial no filme tiveram pouco efeito na variação da espessura do filme preparado.

A espessura dos filmes de amido apresentados no trabalho de Medina-Jaramillo et al. (2015) mostrou que o aumento dessa característica foi proporcional à concentração de extrato de erva-mate, variando de $0,0943 \pm 0,013$ mm, valor pertencente ao controle, a $0,1073 \pm 0,010$ mm para o biofilme com maior concentração incorporada do bioativo. Os autores acrescentam que este fato pode estar relacionado à incorporação dos sólidos provenientes desse extrato.

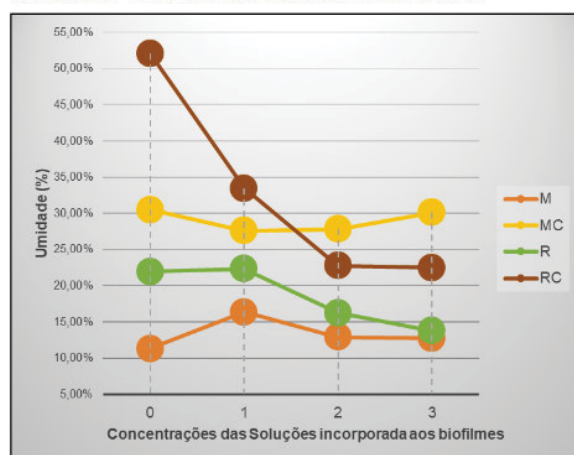
O papel das fibras na reconstrução e reestruturação das redes de cadeias intermoleculares resulta em maior espessura do filme, de acordo com Hazrol et al. (2022). A incorporação tanto da nanocelulose quanto das soluções de erva-mate, em suas três concentrações, interferiu nessa estruturação das ligações intermoleculares durante a formação do gel de amido.

A média de umidade para os biofilmes produzidos e testados para essa característica ficou em $23,4 \pm 10,4$ %, como mostrado na TABELA 5. Nos filmes de Rc foi notado que, com a incorporação da solução de erva-mate, a umidade foi decaindo; em R, os filmes acompanharam esta mesma tendência. M e Mc apresentaram pouca variação de umidade em relação a incorporação das soluções de erva-mate e os filmes da matriz M foram o que apresentaram as menores porcentagem de umidade, não sendo superior a 16%. Com adição de MFC, percebe-se (FIGURA 15) que a umidade nos filmes sempre se mostra mais elevada que os filmes sem a adição das nano fibrilas de celulose.

Observa-se que a solubilidade dos biofilmes é diretamente proporcional ao aumento da concentração da solução de erva-mate usado em sua elaboração; isso pode ser visualizado por meio da FIGURA 16. A exceção é o controle, pertencente a matriz de milho modificado com reforço de celulose microfibrilada, que apresentou solubilidade superior ao crio diluído desta mesma matriz. O menor valor de solubilidade foi em torno de 15,9% para o biofilme controle da base polimérica de amido de milho comercial, e a maior solubilidade foi mostrada pelo biocompósitos de amido de milho com MFC, de 38,1%.

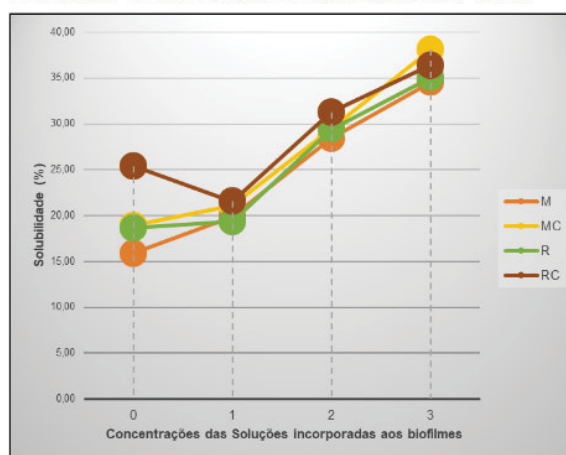
Medina-Jaramillo et al. (2017), ao incorporarem ao filme de amido chá verde e manjerição, o conteúdo de solubilidade (%) para os filmes foi de, respectivamente, $25,3 \pm 1,6$ e $28,6 \pm 1,2$. Estes resultados foram semelhantes aos tratamentos aplicados com EI. A solubilidade em água dos filmes de amido produzidos por Knapp et al. (2019) apresentou o mesmo comportamento em relação a concentração do extrato de erva-mate. Estes autores declararam que o soluto disperso no extrato de erva-mate é solúvel em água; portanto, durante o processo de solubilização, ocorre a difusão do soluto na água. Assim, os filmes de amido perdem sólidos e reduzem sua massa.

FIGURA 15 – GRÁFICO DA UMIDADE DOS FILMES



FONTE: O autor (2022).

FIGURA 16 – GRÁFICO DA SOLUBILIDADE DOS FILMES



FONTE: O autor (2022).

LEGENDA: M refere-se a ao amido de milho, R amido de milho modificado;

0 - filme controle,

1 - Incorporado com solução de erva-mate crio diluída (D);

2 - Incorporado com solução de erva-mate extrato inicial (EI);

3 - Incorporado com solução de erva-mate crioconcentrada (C);

Quando a letra "c" está presente no código entende-se que contém adição de MFC.

Em contrapartida, Medina-Jaramillo et al. (2015) encontraram uma propensão diferente para seus filmes: aqueles contendo o extrato de erva-mate apresentaram tendência decrescente de solubilidade em água com o aumento do antioxidante, filme sem incorporar o extrato de erva-mate, $37,9 \pm 0,3$, com 5% desse extrato, $30,8 \pm 1,6$, e com 20% de erva-mate, $27,8 \pm 1,2$, em porcentagem. Os autores apontam para a limitação na formação de ligações de hidrogênio entre amido e a água por conta da miscibilidade dos compostos fenólicos com a amilose. Por outro lado, isto pode também estar vinculado à constante dielétrica do meio que se altera com o aumento da concentração de erva-mate.

Para os filmes de amido de milho com incorporação de óleo essencial de laranja, realizado por Do Evangelho et al. (2019), apresentaram maior solubilidade em relação aos filmes sem o óleo essencial. De acordo com estes pesquisadores, o aumento do teor de umidade dos filmes com o óleo essencial pode estar relacionado à ruptura dos filmes e a formação de uma estrutura porosa que facilita a inserção de moléculas de água entre as cadeias poliméricas.

Este comportamento de porosidade e hidrofiliidade pode estar ocorrendo com o aumento da concentração das soluções de erva-mate. No entanto, essa elevada capacidade de absorção de água dos materiais com o aumento da concentração da solução de erva-mate pode ser benéfica, pois auxilia na biodegradabilidade dos

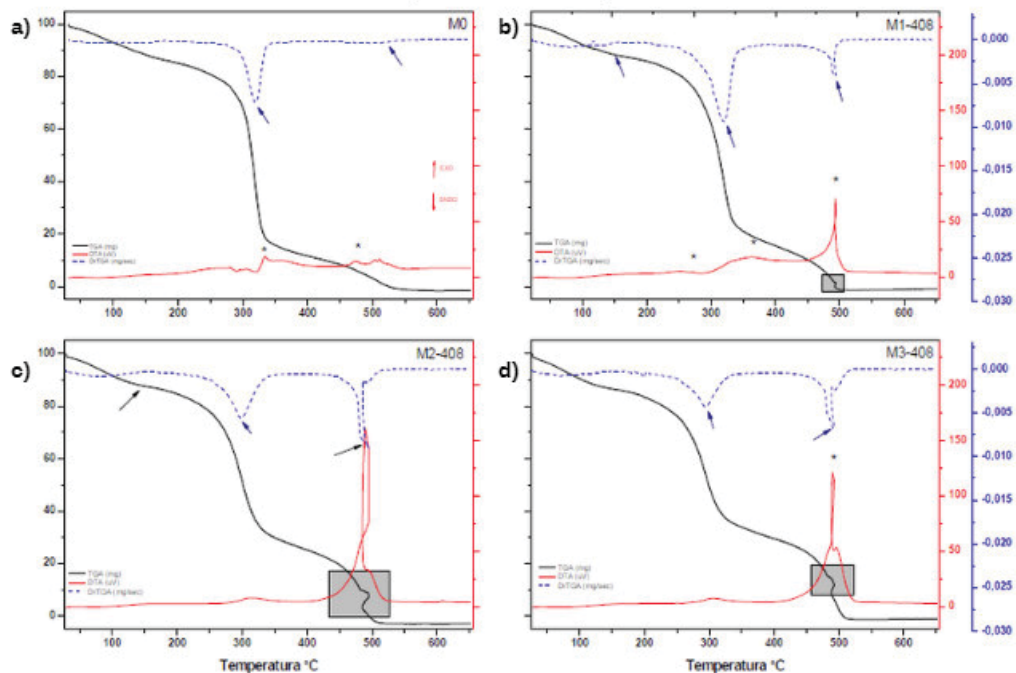
biofilmes a aplicação dos filmes em frutas e hortaliças, para posterior remoção dos mesmos (GIRI et. al., 2022; DO EVANGELHO et al., 2019).

4.2.2 Análise termogravimétrica

A análise termogravimétrica (TGA) foi realizada para analisar a estabilidade e comportamento térmicos dos diferentes sistemas. Além disso, para determinar as temperaturas de decomposição térmica de todos os filmes desenvolvidos, foi obtida também a primeira função derivada das curvas termogravimétricas (DTG) e a energia envolvida no processo de decomposição térmica (DTA). Os estágios de degradação pertencentes a todos os biofilmes avaliados neste trabalho, com variação de 20 a 500°C, estão em concordância com o encontrado por Abdillah e Charles (2021) para seus filmes comestíveis biodegradáveis a base de amido de araruta incorporados com carragenina.

As FIGURAS 17 e 18 contém oito gráficos dos biofilmes à base de amido de milho: controle (M0), incorporados com solução de erva-mate crio diluída (M1), extrato inicial (M2) e crioconcentrada (M3). Na FIGURA 17, trata-se da incorporação realizada com o cultivar BRS – 408; já na FIGURA 18, BRS – 409.

FIGURA 17 – GRÁFICOS TGA, DTG E DTA DOS BIOFILMES DA MATRIZ AMIDO DE MILHO: CONTROLE E INCORPORADOS COM SOLUÇÕES DE ERVA-MATE, A PARTIR DO CULTIVAR BRS 408.



FONTE: O autor (2022).

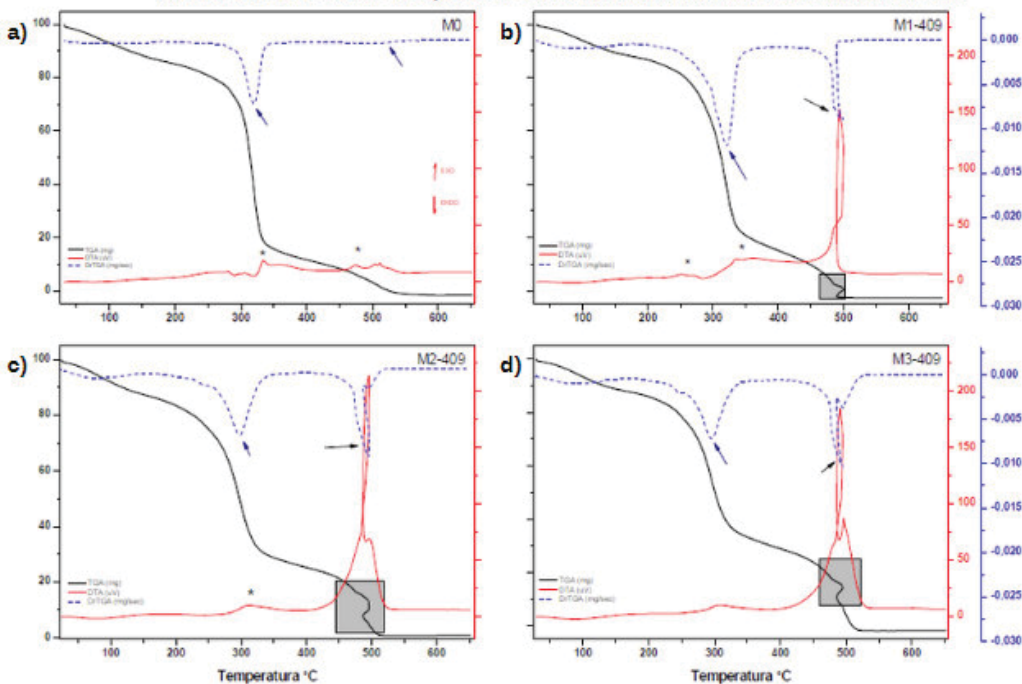
LEGENDA: a) M0 é referente a amostra controle;

b) M1 trata-se da incorporação com a solução de erva-mate crio diluída;

c) M2 trata-se da incorporação com a solução de erva-mate extrato inicial;

d) M3 trata-se da incorporação com a solução de erva-mate crioconcentrada.

FIGURA 18 – GRÁFICOS TGA, DTG E DTA DOS BIOFILMES DA MATRIZ AMIDO DE MILHO: CONTROLE E INCORPORADOS COM SOLUÇÕES DE ERVA-MATE, A PARTIR DO CULTIVAR BRS 409.



FONTE: O autor (2022).

LEGENDA: a) M0 é referente a amostra controle;

b) M1 trata-se da incorporação com a solução de erva-mate crio diluída;

c) M2 trata-se da incorporação com a solução de erva-mate extrato inicial;

d) M3 trata-se da incorporação com a solução de erva-mate crioconcentrada.

A TABELA 6 contém a estimativa das temperaturas dos eventos avaliados a partir da primeira derivada da curva termogravimétrica, o percentual de massa perdida (Mp) e o percentual de cinzas restante, caso houver, dos biofilmes produzidos a partir do amido de milho (M). É possível visualizar o comportamento da degradação entre o controle e os feitos com a inclusão dos bioativos das soluções de erva-mate à matriz.

TABELA 6: ESTIMATIVAS DAS TEMPERATURAS DOS EVENTOS PRINCIPAIS, PERCENTUAL DE MASSA PERDIDA (MP) E CINZAS, PARA AS AMOSTRAS DOS BIOFILMES DE AMIDO DE MILHO (M).

Filme	Evento 1 DTG	Mp (%)	Evento 2 DTG		Mp (%)	Evento 3 DTG	Mp (%)	Cinzas (%)
	Ti-Tf (° C)		Ti - Tf (° C)	T ₃₀₀ (°C)		Ti - Tf (° C)		
M0	31 - 183	14	280 - 340	318	69	434 - 519	17	*
M1-408	22 - 150	12	264 - 362	319	70	427 - 492	17	*
M2-408	29 - 147	11	216 - 363	297	60	421 - 493	25	*
M3-408	27 - 144	12	165 - 362	293	55	416 - 494	32	*
M1-409	31 - 170	12	250 - 347	320	70	424 - 490	16	*
M2-409	24 - 153	12	200 - 374	297	62	419 - 512	25	0,7
M3-409	29 - 165	11	200 - 367	295	57	409 - 509	31	*
Média	28 - 159	12	225 - 359	306	63	421 - 501	23	-
DP	3 - 14	1	41 - 12	13	6	8 - 12	7	-
CV (%)	13 - 9	9	18 - 3	4	10	2 - 2	29	-

Fonte: o autor (2022).

*Todo o material foi decomposto.

LEGENDA: Temperatura inicial (Ti) e final (Tf) dos principais eventos indicados pela curva DTG; T₃₀₀ – local importante de decomposição em torno de 300°C; DP – desvio padrão; CV – coeficiente de variação; M0 refere-se a amostra controle; M1-408, M2-408 e M3-408 incorporados com as soluções crio diluída (D), extrato inicial (EI) e crioconcentrada (C), respectivamente, obtidas a partir do cultivar BRS 408; M1-409, M2-409 e M3-409 incorporados com as soluções D, EI e C, respectivamente, produzidas com o cultivar BRS 409.

Jaramillo et al. (2016) também observaram três etapas principais para a degradação térmica dos filmes comestíveis biodegradáveis à base de amido de mandioca/glicerol com diferentes concentrações de extrato de erva-mate. São vistos estes mesmos estágios para os filmes de amido de milho apresentados nas FIGURAS 17 e 18, além dos eventos indicados na TABELA 6.

Na primeira derivada atribuída à perda de voláteis das curvas não foi encontrado o correspondente pico de decomposição para o primeiro evento que ocorre até 159 ± 14 °C, similar ao observado por Jaramillo et al. (2016). Eles atribuíram isso aos baixos valores de perda de massa encontrados nesta etapa. O percentual de massa perdida neste estágio, de 12 ± 1 %, foi próximo ao encontrado por Abdillah e Charles (2021), que o relacionaram à evaporação da água.

Observa-se que no evento 2 (TABELA 6) há maior perda de percentual em média de massa dos biofilmes: 63 ± 6 %. Isto pode estar vinculado à degradação dos componentes do amido, como apresentado por Jaramillo et al. (2016), ou, conforme apresentado por Du et al. (2021), a degradação térmica da fase rica em glicerol, em que o segundo estágio obtido por estes autores é de 150 – 300 °C.

Abdillah e Charles (2021), estenderam a faixa de 150 e 400 °C à degradação térmica do amido, enquanto que Jaramillo et al. (2016) distinguiram a segunda etapa como associada à decomposição da fase rica em glicerol que também contém amido e à degradação de alguns componentes de baixo peso molecular do extrato (180 - 260 °C); e a terceira etapa à degradação dos componentes do amido, que ocorre entre 250 °C e 350°C. Nos gráfico de decomposição térmica (FIGURAS 17 e 18) não é possível constatar distinção entre a fase rica em glicerol e os componentes do amido.

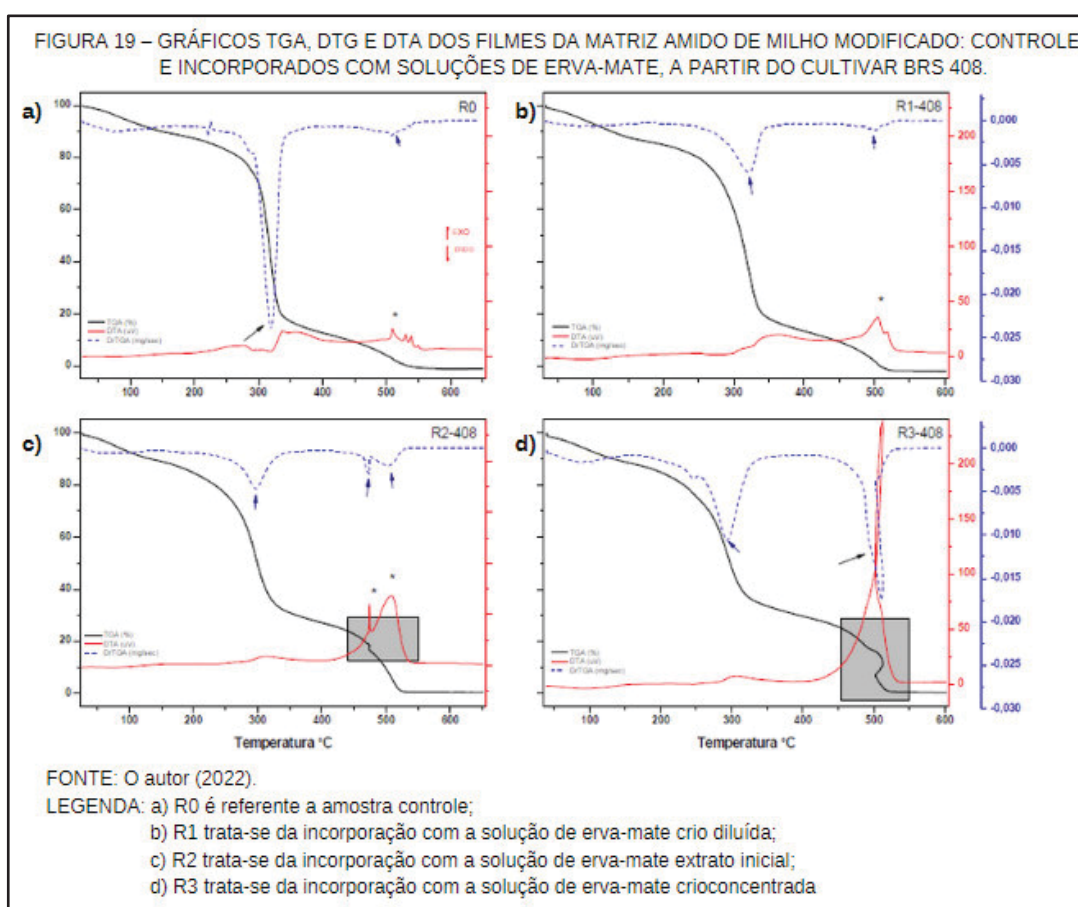
No entanto, a variação da temperatura *onset* deste evento é observada de 165 °C, menor temperatura, para o filme obtido pelas folhas secas de erva-mate do cultivar BRS-408 crioconcentrado, à 280°C para o biofilme controle (M0). Ao observarem o mesmo efeito em seus biofilmes, Jaramillo et al. (2016), sugerem que a incorporação do extrato de erva-mate (EM) permite diminuir as interações moleculares entre as cadeias amido-amido e fortalece as interações de ligação de hidrogênio entre os grupos hidroxila do amido e os compostos polares (polifenóis) do extrato de erva-mate. Com isto, a presença destes componentes diminui a temperatura de início de degradação do biofilme.

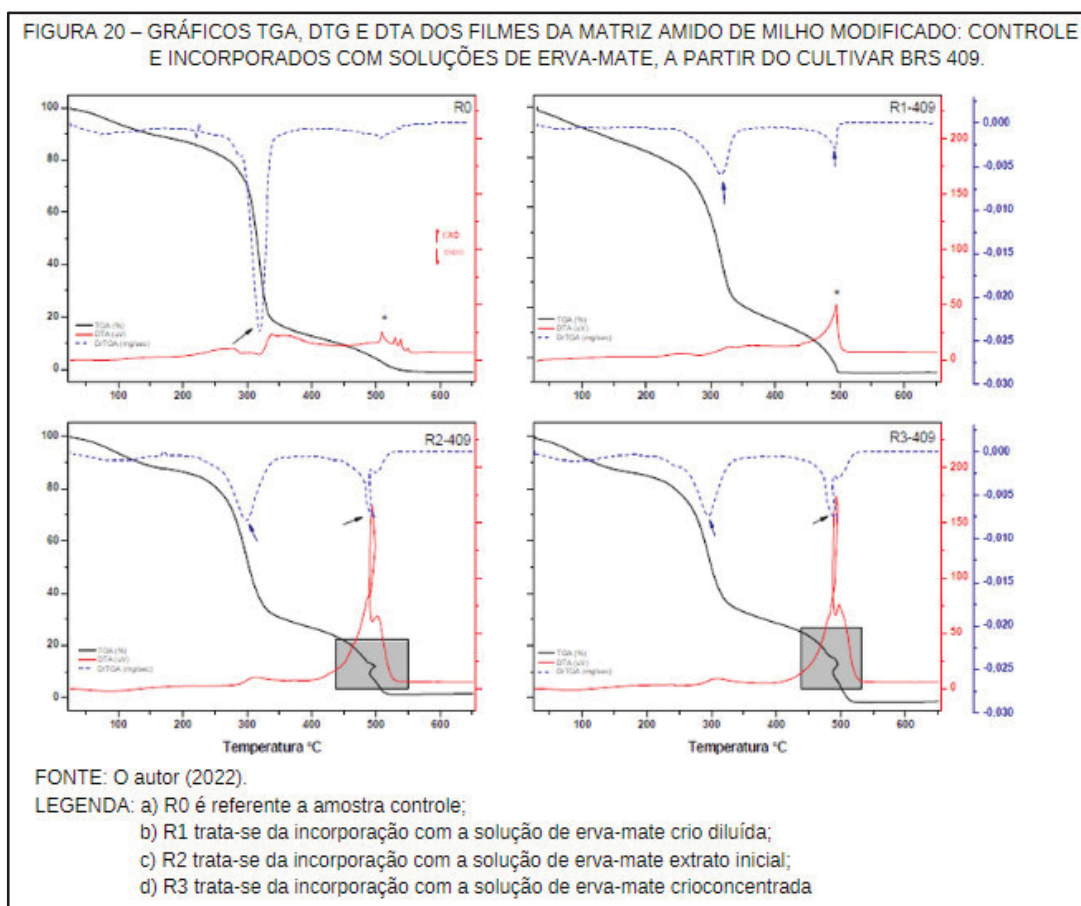
Verifica-se uma tendência a diminuição da temperatura a medida que se eleva a concentração da solução de EM incorporada, em T_{300} pertencente ao evento 2 (TABELA 6), região importante obtida da curva DTG onde a velocidade de degradação é máxima. Ainda, a perda de massa (%) no evento 2 também acompanha esse decréscimo com o aumento da concentração das soluções de erva-mate incorporadas, tanto para o cultivar BRS 408, quanto para o 409. O inverso ocorre para o evento 3, onde é verificado que com o aumento da concentração das soluções de erva-mate incorporadas há maior perda de massa. Desse modo, pode indicar que as ligações entre a matriz - componentes bioativos - glicerol tornam-se mais estáveis, levando à degradação completa do material ao evento em torno de 500 °C. Em contrapartida, Jaramillo et al. (2016) observaram que a perda de massa típica relacionada à decomposição da fase rica em glicerol verificada foi mais evidente nos

filmes contendo extrato de erva-mate. Ao longo desse processo, a perda de massa foi maior para os sistemas com extrato do que para a matriz.

No evento denominado 3, já próximo da degradação total do material, tem-se uma característica, destacada em cinza nas FIGURAS 17 e 18, somente para os materiais incorporados com os bioativos de EM, onde também está associado à maior energia liberada, a partir da análise DTA. Nesta região em destaque, tem-se que enquanto permanece o aumento da temperatura a massa torna-se praticamente constante, até um dado momento que esta diminui rigorosamente. Neste ponto, a temperatura varia pouco até diminuir mais vigorosamente e levar à decomposição do material.

As FIGURAS 19 e 20, a seguir, contém oito gráficos dos biofilmes base de amido de milho modificado (R): controle (R0) e incorporados com solução de erva-mate (EM) crio diluída (R1), extrato inicial (R2) e crioconcentrada (R3). Na FIGURA 19, trata-se da incorporação realizada com o cultivar BRS 408. Já, na FIGURA 20, BRS 409.





A TABELA 7 contém a estimativa das temperaturas dos eventos avaliados a partir da primeira derivada da curva termogravimétrica, o percentual de massa perdida (Mp) e o percentual de cinzas restante, caso houver, dos biofilmes produzidos a partir do amido de milho modificado (R). É possível visualizar o comportamento da degradação entre o controle e os feitos com a inclusão dos bioativos das soluções de erva-mate à matriz.

Assim como ocorre para os biofilmes de amido de milho, é possível perceber três eventos principais para os biofilmes de amido de milho modificado (FIGURAS 19 e 20). Com pouca variação de comportamento entre os cultivares BRS 408 e 409, as temperaturas de desidratação das amostras também se mantiveram em torno dos 150 °C, com um valor médio, tanto para o controle (R0) quanto para as matrizes incorporadas com as soluções EM, de 163 ± 15 °C. Entretanto, o percentual de massa perdida neste evento 1 é superior em R0 (controle), com um valor de 20%, em comparação com o material produzido a partir do amido de milho (M). Já os demais resultados de perda de massa para os biofilmes de amido de milho modificado (R) foram semelhantes ao observados para os biofilmes M, com exceção do filme de

amido de milho modificado incorporado com solução crio diluída BRS 409 (R3-409); este representou o maior resultado para este atributo.

TABELA 7: ESTIMATIVAS DAS TEMPERATURAS DOS EVENTOS PRINCIPAIS, PERCENTUAL DE MASSA PERDIDA (MP) E CINZAS, PARA AS AMOSTRAS DOS BIOFILMES DE AMIDO DE MILHO MODIFICADO (R).

Filme	Evento 1 DTG	Mp (%)	Evento 2 DTG		Mp (%)	Evento 3 DTG	Mp (%)	Cinzas (%)
	Ti-Tf (° C)		Ti-Tf (° C)	T ₃₀₀ (°C)		Ti - Tf (° C)		
R0	26 - 171	20	272 - 347	320	62	410 - 528	18	*
R1-408	34 - 168	12	259 - 359	318	70	409 - 505	16	*
R2-408	27 - 139	10	247 - 338	296	57	453 - 537	32	0,6
R3-408	40 - 145	11	170 - 350	292	56	427 - 540	33	0,7
R1-409	31 - 168	23	245 - 350	317	65	446 - 485	21	*
R2-409	25 - 175	12	229 - 342	297	56	412 - 527	30	1,5
R3-409	27 - 176	13	235 - 351	294	53	423 - 509	33	*
Média	30 - 163	14	237 - 348	305	60	426 - 519	26	-
DP	5 - 15	5	33 - 7	13	6	18 - 20	7	-
CV (%)	18 - 9	35	14 - 2	4	10	4 - 4	29	-

Fonte: o autor (2022).

*Todo o material foi decomposto.

LEGENDA: Temperatura inicial (Ti) e final (Tf) dos principais eventos indicados pela curva DTG; T₃₀₀ – local importante de decomposição em torno de 300°C; DP – desvio padrão; CV – coeficiente de variação; R0 refere-se a amostra controle; R1-408, R2-408 e R3-408 incorporados com as soluções crio diluída (D), extrato inicial (EI) e crioconcentrada (C), respectivamente, obtidas a partir do cultivar BRS 408; R1-409, R2-409 e R3-409 incorporados com as soluções D, EI e C, respectivamente, produzidas com o cultivar BRS 409.

O percentual de massa foi de 60 ± 6 para o segundo evento, valor próximo ao encontrado para os biofilmes M. Por outro lado, o material produzido com R não apresentou a mesma tendência de diminuição da temperatura e perda de massa visto em M para o evento 2. Outro fator de destaque são as cinzas, sendo estes os materiais que mais obtiveram amostras com presença de resíduos: R2 – 408, R2 – 409 e R3 – 408.

Além disso, foi observado que a energia liberada ao final do processo de degradação do material, em torno de 500 °C, também se apresentou mais acentuada com o aumento da concentração dos compostos incorporados. E o mesmo padrão de comportamento, destacado em cinza nas FIGURAS 17 e 18, para a matriz M também está presente nas FIGURAS 19 e 20, aos materiais incorporados com D e C. Isto pode sinalizar que a presença dos compostos bioativos da solução de erva-mate alteram o modo como o material está decompondo, indício de que alguns destes compostos podem estar formando óxidos.

As FIGURAS 21 e 22 contém oito gráficos dos filmes com base de amido de milho com adição das fibras de celulose (MFC): controle (Mc0), incorporados com

solução de erva-mate crio diluída (Mc1), extrato inicial (Mc2) e crioconcentrada (Mc3). Na FIGURA 21, trata-se da incorporação realizada com o cultivar BRS – 408; já na FIGURA 22, BRS – 409.

A TABELA 8 contém a estimativa das temperaturas dos eventos avaliados a partir da primeira derivada da curva termogravimétrica, o percentual de massa perdida (Mp) e o percentual de cinzas restante, caso houver, dos biofilmes produzidos a partir do amido de milho com adição de MFC (Mc). É possível visualizar o comportamento da degradação entre o controle e os feitos com a inclusão dos bioativos das soluções de erva-mate à matriz.

TABELA 8: ESTIMATIVAS DAS TEMPERATURAS DOS EVENTOS PRINCIPAIS, PERCENTUAL DE MASSA PERDIDA (MP) E CINZAS, PARA AS AMOSTRAS DOS BIOFILMES DE AMIDO DE MILHO COM ADIÇÃO DE MFC (Mc).

Filme	Evento 1 DTG	Evento 2 DTG	Mp (%)	Evento 3 DTG		Mp (%)	Evento 4 DTG	Mp (%)	Cinzas (%)
	Ti-Tf (° C)	Ti-Tf (° C)		Ti-Tf (° C)	T ₃₀₀ (° C)		Ti-Tf (° C)		
Mc0	36 - 94	107 - 238	45	274 - 352	317	46	440 - 487	7	*
Mc1-408	26 - 117	171 - 231	20	239 - 369	319	67	455 - 503	12	*
Mc2-408	29 - **	103 - 230	30	234 - 400	298	45	456 - 514	24	*
Mc3-408	27 - 121	121 - 227	40	260 - 343	293	35	460 - 538	23	2
Mc1-409	28 - 110	126 - 242	44	274 - 356	316	41	462 - 487	13	*
Mc2-409	32 - 118	126 - 217	33	250 - 354	297	49	430 - 503	18	*
Mc3-409	29 - 120	132 - 232	43	256 - 340	294	38	477 - 511	18	*
Média	30 - 113	127 - 231	36	255 - 359	305	46	454 - 506	16	-
DP	3 - 10	22 - 8	9	16 - 20	12	10	15 - 18	6	-
CV	10 - 9	18 - 3	26	6 - 6	4	23	3 - 3	36	-

Fonte: o autor (2022).

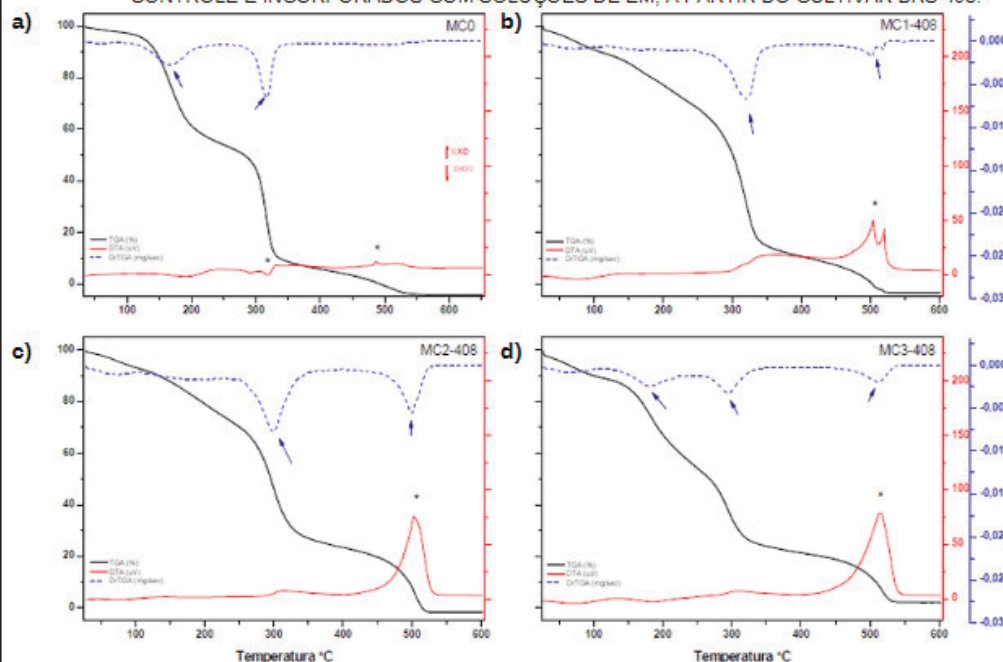
*Todo o material foi decomposto.

** Não houve evento destacado por DTG.

LEGENDA: Temperatura inicial (Ti) e final (Tf) dos principais eventos indicados pela curva DTG; T₃₀₀ – local importante de decomposição em torno de 300°C; DP – desvio padrão; CV – coeficiente de variação; Mc0 refere-se a amostra controle; Mc1-408, Mc2-408 e Mc3-408 incorporados com as soluções crio diluída (D), extrato inicial (EI) e crioconcentrada (C), respectivamente, obtidas a partir do cultivar BRS 408; Mc1-409, Mc2-409 e Mc3-409 incorporados com as soluções D, EI e C, respectivamente, produzidas com o cultivar BRS 409.

Com a adição da celulose de pinus à matriz de amido de milho, a curva de decomposição termogravimétrica ganha um estágio adicional. A temperatura de perda de voláteis, evento 1, ocorre por volta dos 113 °C. A temperatura *onset*, do segundo evento, tem uma variação elevada, ocorrendo de 127 ± 22 °C até 231 ± 8 °C, isto porque o evento 1 no material Mc2 – 408 não é observável com clareza. Além disso, o percentual de massa perdida em média das amostras ficou mais distribuído; para o primeiro e segundo evento, estimou-se em 36 ± 9 %, a maior perda de massa ocorreu no segundo evento com média em 46 ± 10 %.

FIGURA 21 – GRÁFICOS TGA, DTG E DTA DOS FILMES DA MATRIZ AMIDO DE MILHO COM ADIÇÃO DE MFC: CONTROLE E INCORPORADOS COM SOLUÇÕES DE EM, A PARTIR DO CULTIVAR BRS 408.



FONTE: O autor (2022).

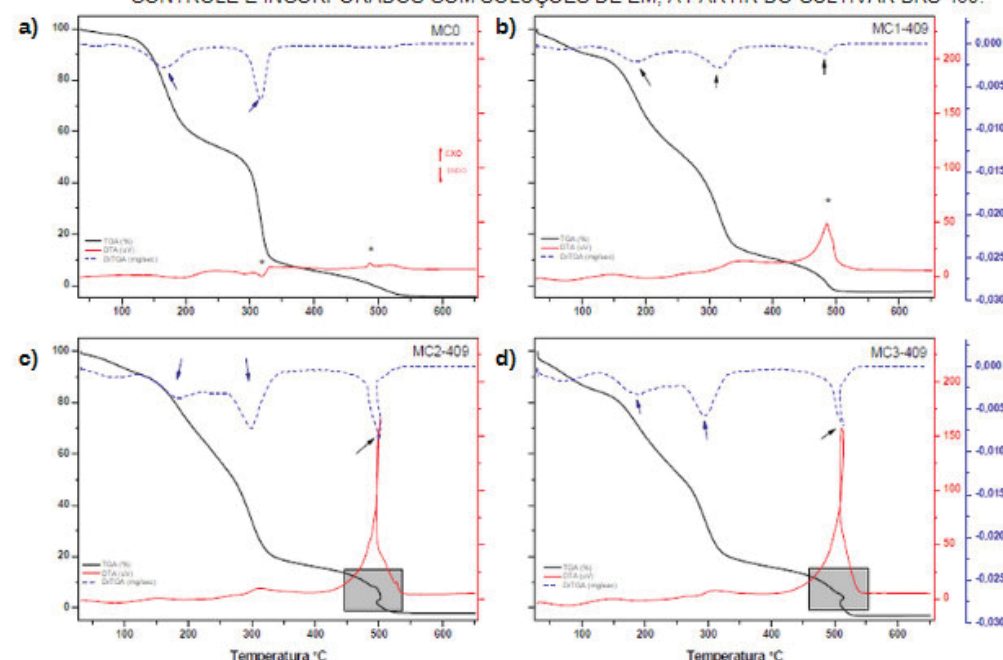
LEGENDA: a) Mc0 é referente a amostra controle;

b) Mc1 trata-se da incorporação com a solução de erva-mate crio diluída;

c) Mc2 trata-se da incorporação com a solução de erva-mate extrato inicial;

d) Mc3 trata-se da incorporação com a solução de erva-mate crioconcentrada.

FIGURA 22 – GRÁFICOS TGA, DTG E DTA DOS FILMES DA MATRIZ AMIDO DE MILHO COM ADIÇÃO DE MFC: CONTROLE E INCORPORADOS COM SOLUÇÕES DE EM, A PARTIR DO CULTIVAR BRS 409.



FONTE: O autor (2022).

LEGENDA: a) Mc0 é referente a amostra controle;

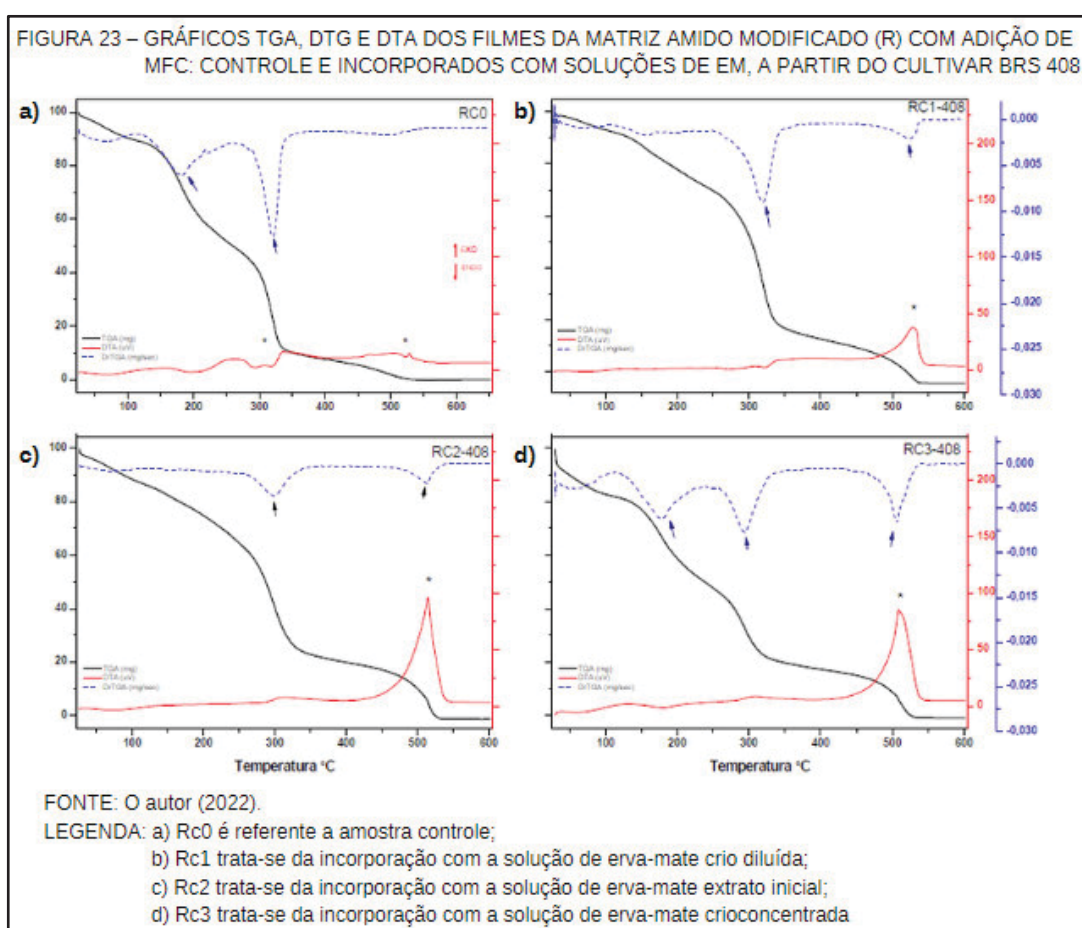
b) Mc1 trata-se da incorporação com a solução de erva-mate crio diluída;

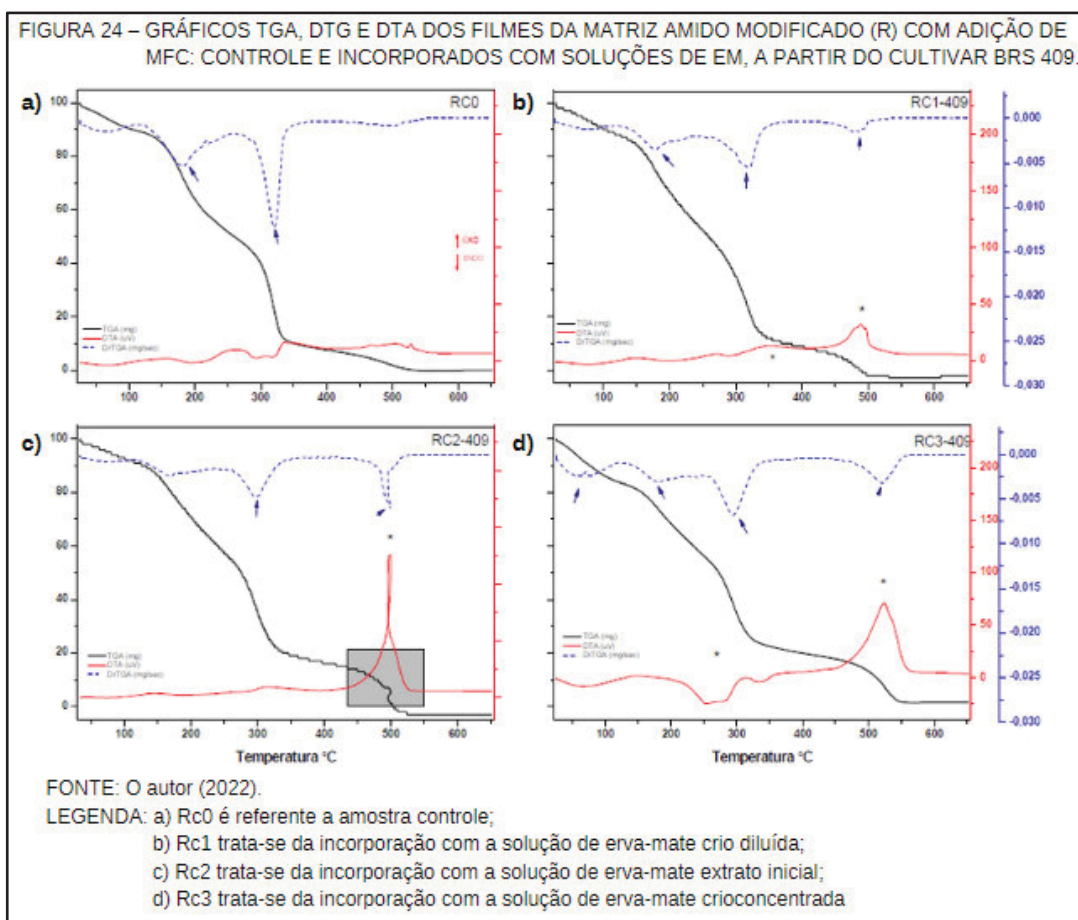
c) Mc2 trata-se da incorporação com a solução de erva-mate extrato inicial;

d) Mc3 trata-se da incorporação com a solução de erva-mate crioconcentrada

O último evento, com a maior liberação de energia, apresentou uma média de perda de massa em torno de 16%, com um coeficiente de variação elevado por conta do material R0, o qual obteve o menor valor de perda de massa, 7%. Ainda, os biofilmes de amido de milho modificado em que foram inseridas as soluções produzidas a partir do cultivar BRS 408, não apresentaram o comportamento característico presente nos demais filmes ao final da desintegração da amostra. Em contrapartida, foi presente nos filmes: Mc2-409 e Mc3-409.

As FIGURAS 23 e 24 contém oito gráficos dos biofilmes base de amido de milho modificado, com reforço de celulose microfibrilada de Pinus: controle (Rc0), incorporados com solução de erva-mate (EM) crio diluída (Rc1), extrato inicial (Rc2) e crioconcentrada (Rc3). Na FIGURA 23, trata-se da incorporação realizada com o cultivar BRS 408. Já, na FIGURA 24, BRS 409.





É possível verificar que a adição de MFC nas matrizes de amido de milho e amido de milho modificado conduziu a efeito semelhante nas curvas degradação termogravimétricas, primeira derivada (DTG) e de energia envolvida (DTA). Até mesmo no comportamento destes materiais incorporados com a solução EI do cultivar BRS 408 (Mc2 – 408 e Rc2 – 408) houve a falta perceptível do evento 1, através da curva DTG.

A TABELA 9 contém a estimativa das temperaturas dos eventos avaliados a partir da primeira derivada da curva termogravimétrica, o percentual de massa perdida e o percentual de cinzas restante, caso houver, dos biofilmes produzidos a partir do amido de milho modificado com adição de MFC (Rc). É possível visualizar o comportamento da degradação entre o controle e os feitos com a inclusão dos bioativos das soluções de erva-mate a esta matriz.

A perda de massa ocorreu em torno de $37 \pm 10 \%$ para os dois primeiros eventos, $44 \pm 8\%$ para o segundo evento, e $18 \pm 5 \%$ no último evento. O padrão destacado em cinza presente em praticamente todos os gráficos incorporados com as soluções de erva-mate vistos nas FIGURAS 17, 18, 19, 20 e 22, só foi perceptível para

o gráfico Rc2 – 409, FIGURA 24, além de ser o gráfico que envolveu a mais elevada energia para este processo.

TABELA 9: ESTIMATIVAS DAS TEMPERATURAS DOS EVENTOS PRINCIPAIS, PERCENTUAL DE MASSA PERDIDA (MP) E CINZAS, PARA AS AMOSTRAS DOS BIOFILMES DE AMIDO DE MILHO MODIFICADO E COM ADIÇÃO DE MFC (Rc).

Filme	Evento 1 DTG	Evento 2 DTG	Mp (%)	Evento 3 DTG		Mp (%)	Evento 4 DTG	Mp (%)	Cinzas (%)
	Ti-Tf (° C)	Ti-Tf (° C)		Ti-Tf (° C)	T ₃₀₀ (° C)		Ti-Tf (° C)		
Rc0	25 - 102	122 - 226	43	284 - 343	320	46	426 - 519	10	*
Rc1-408	28 - 100	120 - 169	28	235 - 346	318	54	477 - 518	17	*
Rc2-408	26 - 119	170 - 258	21	258 - 334	297	55	478 - 523	24	*
Rc3-408	30 - 109	123 - 226	47	262 - 324	293	31	453 - 523	22	*
Rc1-409	28 - 116	116 - 243	47	261 - 346	317	41	443 - 489	12	*
Rc2-409	34 - 106	106 - 233	37	259 - 346	294	42	471 - 502	19	*
Rc3-409	25 - 126	126 - 220	37	254 - 337	292	40	471 - 556	22	1
Média	28 - 111	126 - 225	37	259 - 339	304	44	460 - 519	18	*
DP	3 - 10	20 - 28	10	14 - 8	13	8	20 - 21	5	*
CV (%)	11 - 9	16 - 12	27	6 - 2	4	19	4 - 4	29	*

Fonte: o autor (2022).

*Todo o material foi decomposto.

LEGENDA: Temperatura inicial (Ti) e final (Tf) dos principais eventos indicados pela curva DTG; T₃₀₀ – local importante de decomposição em torno de 300°C; DP – desvio padrão; CV – coeficiente de variação; Rc0 refere-se a amostra controle; Rc1-408, Rc2-408 e Rc3-408 incorporados com as soluções crio diluída (D), extrato inicial (EI) e crioconcentrada (C), respectivamente, obtidas a partir do cultivar BRS 408; Rc1-409, Rc2-409 e Rc3-409 incorporados com as soluções D, EI e C, respectivamente, produzidas com o cultivar BRS 409.

Aliabadi et al. (2020) estudaram as características da celulose microfibrilada combinada ao extrato de erva-mate com amido e glicerina. Eles verificaram, através de análises termogravimétricas, que o extrato de erva-mate diminuiu ligeiramente a temperatura máxima de decomposição, com uma resistência térmica ligeiramente melhorada em torno de 20-250 °C. Os autores observaram que com adição do amido esta análise apresentou duas etapas principais de degradação que quase se sobrepõem; a primeira foi atribuída à decomposição do amido (em torno de 305 °C), e a segunda à celulose (340 °C); a decomposição do extrato de erva-mate pode ser observada no início da curva de degradação. Constataram também que a inclusão de glicerina diminuiu ainda mais a estabilidade do material.

Ao adicionar as soluções de EM aos amidos também houve uma modificação na estabilidade térmica dos biofilmes produzidos com matriz de amido de milho (M) e amido de milho modificado (R), uma maior energia é requerida para a desintegração final dos materiais ao ser incorporados os bioativos da EM. É possível perceber, também, que não há diferença, a partir dos gráficos apresentados nas FIGURAS 17 a

24, entre os cultivares BRS 408 e BRS 409. Com a adição da celulose microfibrilada, a curva termogravimétrica apresenta mais patamares com variação de massa mais distribuídos, e uma instabilidade térmica maior que os filmes sem a adição dessa fibra.

Estudos envolvendo o amido aliado à celulose microfibrilada sem glicerina seriam necessários utilizando somente o extrato de erva-mate como plastificante, isto conforme as constatações feitas por Aliabadi et al. (2020), compreendendo que a glicerina favoreceu uma instabilidade térmica ao material. Contudo, Jaramillo et al. (2016) realizaram análise termogravimétrica no extrato de erva-mate encontrando a perda de massa em aproximadamente 180 °C. Em vista disso, corrobora-se o benefício da proteção fornecida aos compostos bioativos ao incorporá-los na matriz de amido - glicerol.

4.2.3 Análise Espectroscópica no Infravermelho (IVFT – ATR)

A estrutura molecular dos biofilmes e os biofilmes compósitos pode ser apropriadamente explicada por espectros no infravermelho, que fornecem informações diretas sobre os grupos funcionais e os tipos de ligações presentes no sistema. Nas FIGURAS 25 a 28 temos os espectros de transmitância de 650 – 4000 cm^{-1} dos biofilmes de amido de milho comercial (M), modificado (R) e os compósitos, com a adição de celulose microfibrilada, Mc e Rc. Uma banda proeminente, visualizada em todos os espectros dos biofilmes, em $\sim 3000\text{--}3600 \text{ cm}^{-1}$, é atribuída ao alongamento --OH pertencente ao amido, glicerol e água. Já as bandas em 2800 a 2900 cm^{-1} , característica da vibração de estiramento C-H, significa a presença de ligação H e C-H, característicos de materiais de matriz polimérica (JARAMILLO et al. 2016; PILATTI-RICCIO et al., 2019; CEBALLOS et al., 2020; GIRI et al., 2022).

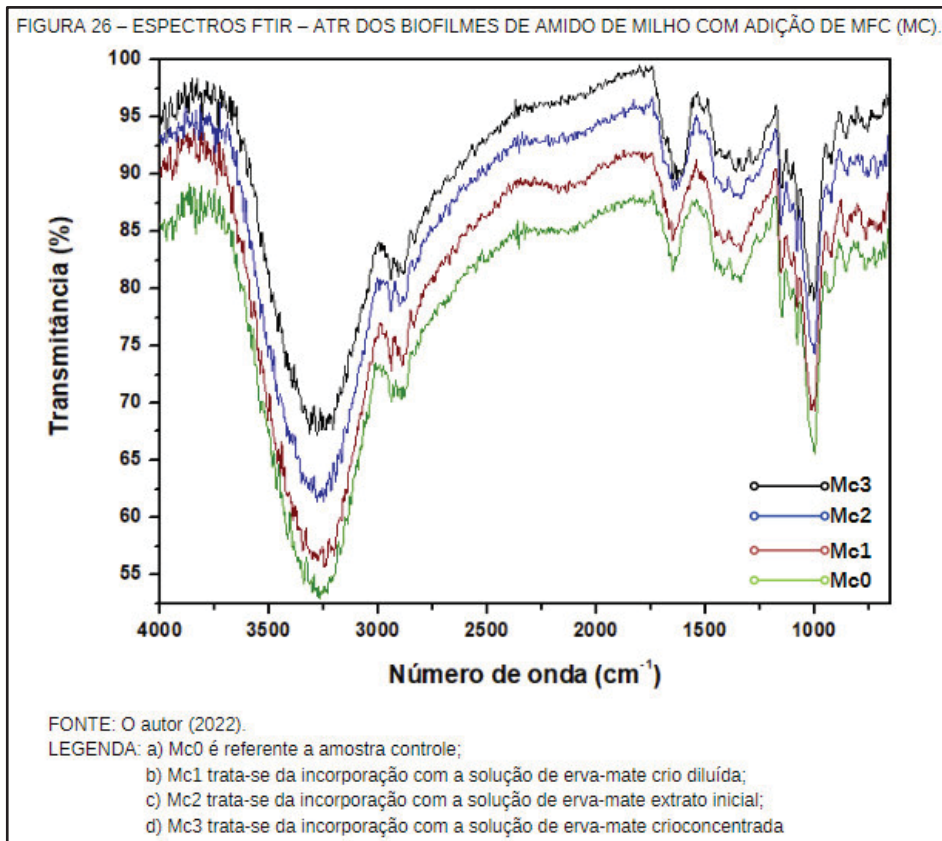
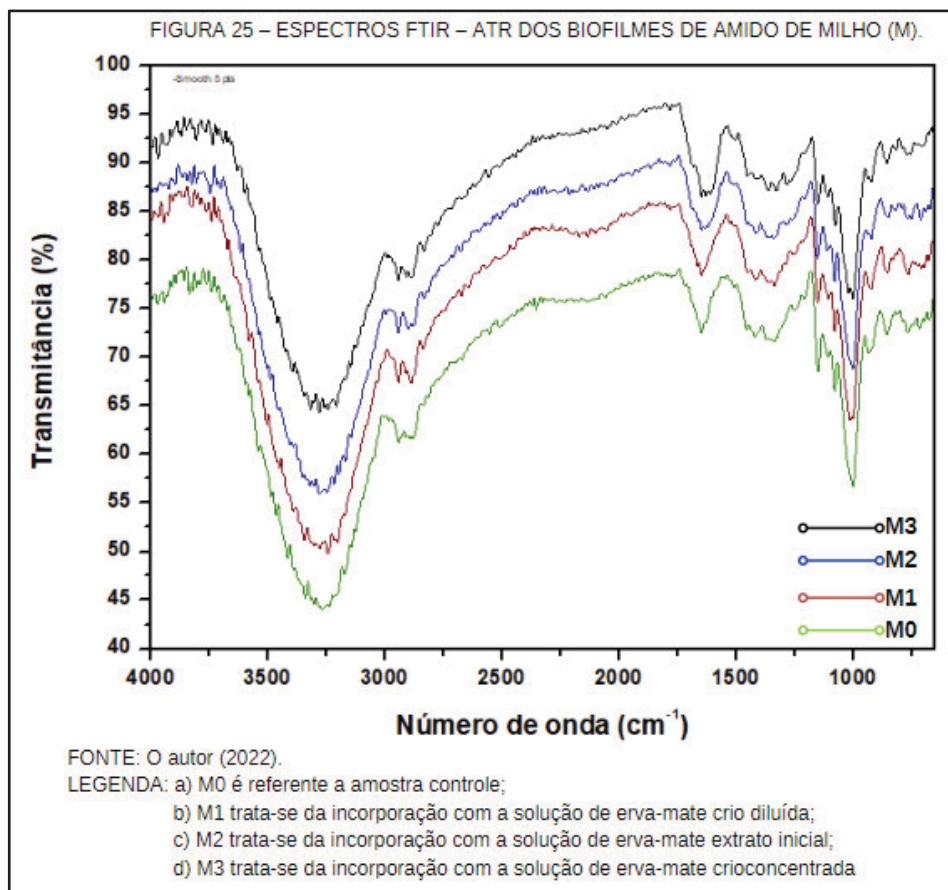
Na FIGURA 25, na região ~ 2800 a 3000 cm^{-1} , nota-se uma sutil diferença entre os materiais com a incorporação dos bioativos da erva-mate à matriz. Para os biofilmes M1, M2 e M3 é possível perceber uma divisão nesta banda, passando a ter dois máximos com maior resolução do que no controle (M0). Isto pode estar vinculado à presença dos grupos metil presentes da erva-mate, conforme creditam Jaramillo et al. (2016) a mudança no sinal em 2893 cm^{-1} em seu trabalho. Entretanto, para os materiais em que foram adicionados celulose ao amido de milho comercial, FIGURA

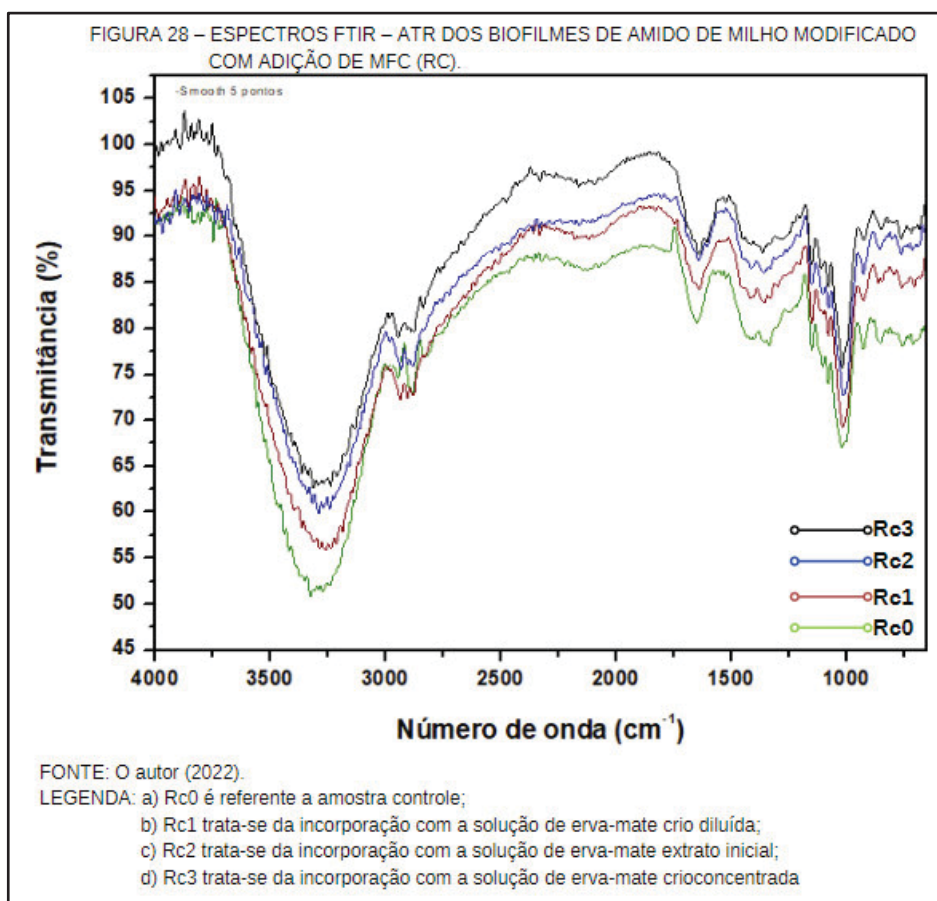
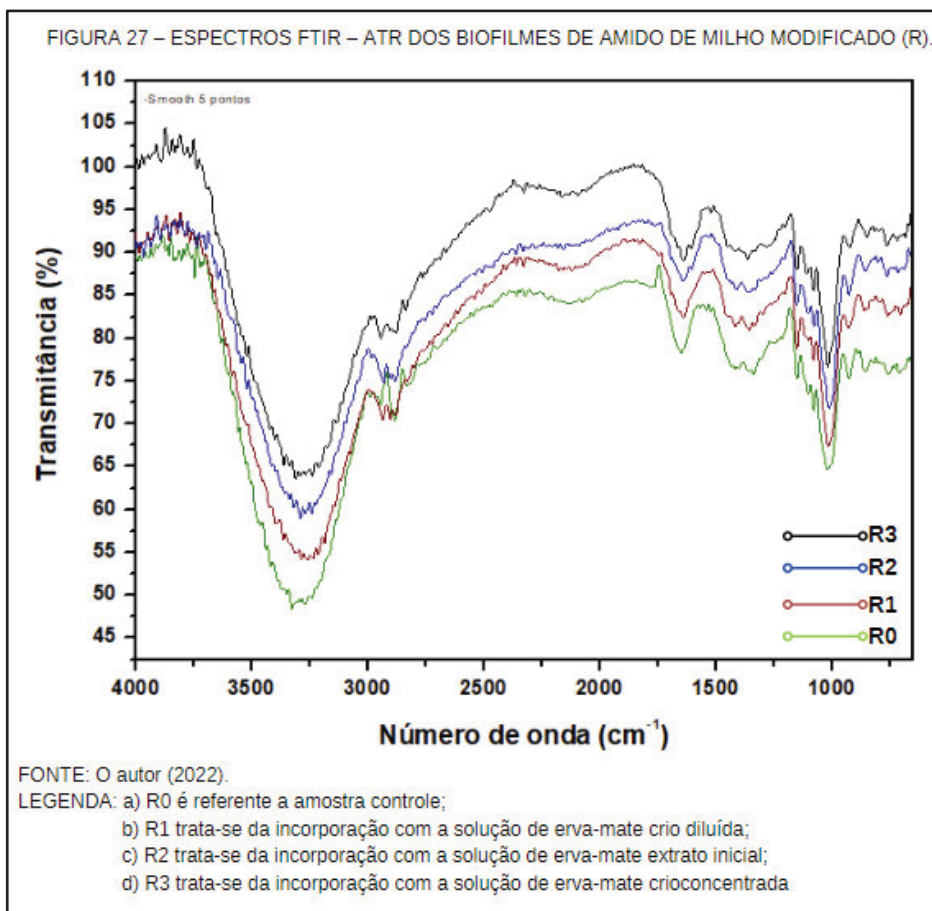
26, não se notou diferença entre estes sinais com e sem inclusão dos bioativos dessa planta.

O mesmo comportamento em relação a intensidade ocorre para o filme de amido de milho modificado (R), FIGURA 27, com uma percepção mais nítida da elevada intensidade em R3, o incorporado mais concentrado. O biofilme compósito Rc, FIGURA 28, no entanto, comporta-se de uma maneira diferente dos demais; as intensidades apresentadas somente diferem da amostra controle em relação as amostras incorporadas.

Na FIGURA 27, também se percebe que em R3, incorporados com a solução crioconcentrada de EM, tem-se uma banda mais intensa na região de ~ 2800 a ~ 3000 cm^{-1} . Isso é diferente do que se percebe em no filme R0, sem incorporação das soluções de EM, e nos filmes R1 e R2, com soluções de erva-mate mais diluídas. No entanto, ao analisar o biocompósitos, com MFC, FIGURA 28, têm-se um sinal nessa faixa em 2886 cm^{-1} mais estreito para Rc0, já nos incorporados Rc1, Rc2 e Rc3 ocorre a sobreposição das vibrações.

Nota-se em 1640 cm^{-1} , para todos os espectros dos biofilmes (FIGURAS 25 a 28), uma banda relacionada à vibração de alongamento e flexão dos grupos O-H das ligações de hidrogênio e água, semelhante ao relatado por Jaramillo et al. (2016) e Ceballos et al. (2020), mostraram alterações nesta região em relação aos materiais com incorporação das soluções de erva-mate. Nos filmes de amido de milho (M), FIGURA 25, um aumento na intensidade é visto iniciar em M2 e ganhar um maior destaque em M3. Jaramillo et al. (2016) relatam que essa banda é sensível a ligação H e a quantidade de interações hidroxilas. Esse é um indício de que concentrações mais elevadas da solução de erva-mate (EM) provocaram modificação nas vibrações dessa região e possivelmente maior magnitude das interações entre amido – solução EM. Quando se adiciona a este material MFC, FIGURA 26, o comportamento é praticamente similar, mas menos perceptível.





Na matriz Rc, com a adição de celulose microfibrilada, foi percebida uma diferença maior entre o controle, com menor intensidade para toda a curva de transmitância, e as amostras incorporadas, mais intensas em suas bandas e com pouca diferença entre as concentrações. Portanto, é visto que somente para este filme compósito não houve diferença na interação das hidroxilas entre as concentrações, nos demais o comportamento foi mais linear, aumentando a intensidade em relação a concentração aplicada.

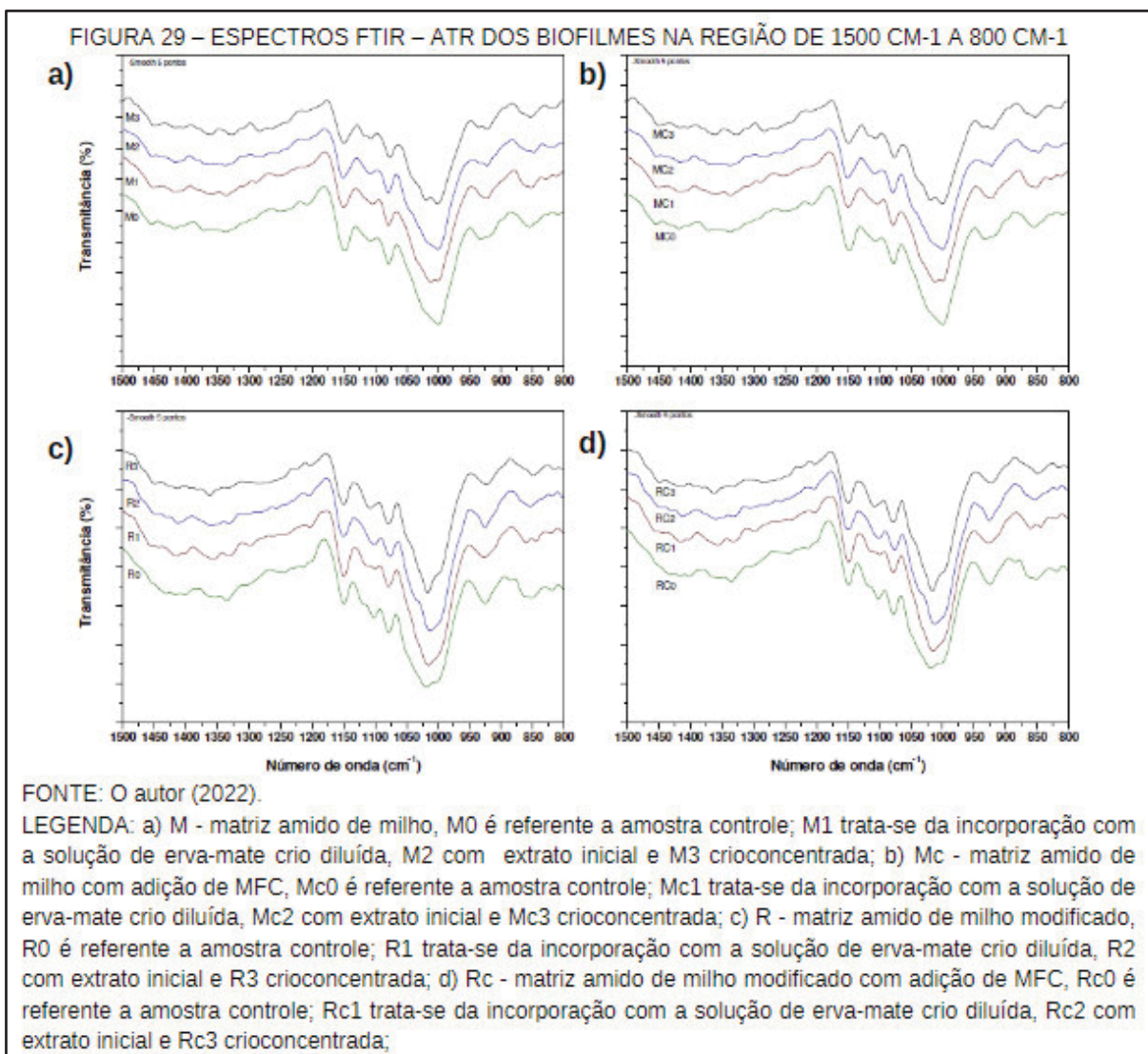
Entre os biofilmes produzidos com amido de milho (M) e amido de milho modificado (R), para a região de 1500 a 4000 cm^{-1} , as bandas ocorrem em regiões semelhantes com diferenças em suas intensidades. Todavia, ao observar a FIGURA 27, um mínimo aparece na Região de 1741 cm^{-1} em R0, R1 e R2, o qual não pode ser visualizado em R3 e nos biofilmes de amido de milho (M). Quando se adiciona MFC ao amido de milho modificado, este mínimo só é visto no material controle (RC0), FIGURA 28.

Na FIGURA 29 são apresentados os espectros de transmitância para a região de 800 a 1500 cm^{-1} dos biofilmes e biofilmes compósitos (M, R, Mc e Rc). O sinal em 1150 cm^{-1} , atribuído a ligação glicosídica (C-O-C), foi percebido em todos os sistemas, similar ao constatado por Jaramillo et al. (2016), e indício de que o comprimento da cadeia glicosídica não foi modificado pela adição de MFC e as soluções de erva-mate.

Um sinal duplo em 990 – 1100 cm^{-1} , visto por Ceballos et al. (2020), foi atribuído à flexão C-O-H, e as bandas em ~920 cm^{-1} , 850 cm^{-1} são atribuídas às vibrações do anel glicosídico. Aliabadi et al. (2020) perceberam um aumento na banda em 926 cm^{-1} que foi atribuído ao extrato de erva-mate. Na FIGURA 29, para os biofilmes M e Mc, é observada a formação de dois mínimos assimétricos para o material com maior concentração de solução de erva-mate M3 e Mc3 na região da 900 cm^{-1} a 950 cm^{-1} . Em contrapartida, o material produzido com amido de milho modificado (R) não desenvolveu este comportamento, mesmo com a adição de MFC.

A FIGURA 29 apresenta os espectros das mesmas amostras (FIGURA 25 A 28) com ênfase na região de 1500 a 800 cm^{-1} . Na banda em ~1000 cm^{-1} , referente ao grupo éter cíclico (vC-O-C) (PILATTI-RICCIO et al., 2019), para o material M3 e Mc3, temos que nesta concentração incorporada é perceptível a formação de um mínimo, que à medida que decresce a concentração de solução EM adicionada (M2, M1 e M0), este comportamento fica menos evidente. Nesta mesma faixa de número de onda, percebe-se para os materiais R e Rc bandas que não seguem o mesmo padrão que

os biofilmes M e Mc, em R3 e Rc3 percebe-se um afinamento em $\sim 1016 \text{ cm}^{-1}$, em relação aos demais filmes.



Ceballos et al. (2020) anunciam em seu trabalho que o efeito da incorporação do extrato de erva-mate foi observado na faixa de 1050 cm^{-1} a 1020 cm^{-1} , em que houve um aumento na intensidade do sinal em torno de 1022 cm^{-1} nos filmes contendo o extrato. Semelhantemente, um aumento de intensidade é percebido na região da FIGURA 29, para os espectros dos filmes Mc, R e Rc incorporados com EM; entre as concentrações aplicadas: D, EI e C, não foi visível variação considerável na intensidade. Para a matriz de amido de milho não é perceptível uma diferença entre os filmes incorporados (M1, M2 e M3) e o controle (M0).

A região de $1150 - 1100 \text{ cm}^{-1}$, para Ceballos et al. (2020), relacionam ao alongamento C-O, C-C e C-O-H. Nessa região, entre 1078 cm^{-1} a 1150 cm^{-1} , da

FIGURA 29, verifica-se para as amostras M0, M1 e M2 sinais assimétricos que vão se acentuando até formar dois mínimos em M3, mostrando que a banda que estava mais perto de 1150 cm^{-1} teve sua intensidade aumentada quando incorporou-se maior concentração dos ativos de erva-mate. O mesmo comportamento ocorre sem diferença perceptível quando se adiciona MFC. Pode indicar que não há interações químicas específicas observadas entre o amido e a celulose microfibrilada. Para o material com matriz modificada (R), nesta mesma região é observado comportamento semelhante à matriz de amido de milho comercial; entretanto, percebem-se detalhes diferentes no padrão da banda, como a assimetria mais destacada em R0 e Rc0.

O extrato seco de erva-mate possui bandas que não podem ser propriamente identificadas, pois é um conjunto de componentes e as bandas de vibração e alongamento podem ser de mais de um grupo funcional, conforme afirmam Pilatti-Riccio et al. (2019). Estes autores perceberam em seu trabalho que quase todas as bandas relacionadas ao grupo orgânico que aparecem no espectro do extrato de erva-mate não foram bloqueadas pelo tratamento de encapsulamento com sacarídeos.

Deste modo, a avaliação do comportamento das bandas avaliadas na região da FIGURA 29 aponta a presença de componentes da erva mate com a incorporação da solução de erva-mate crio concentrada, sugerindo a presença destes grupos sobrepostos à banda da matriz amilácea. Portanto, a adição de MFC não influenciou na região de 800 cm^{-1} a 1500 cm^{-1} ; no entanto, a inserção das soluções de erva-mate fez com que surgissem algumas nuances no comportamento das amostras dos biofilmes.

De modo geral, nos espectros FTIR – ATR (FIGURAS 25 a 29) semelhança estrutural entre a MFC e o amido proporciona a sobreposição de sinais característicos destes dois materiais, de acordo com Aliabadi et al. (2020). Além disso, um possível indicativo da incorporação dos ativos vegetais é a ausência de transmitância dos grupos específicos da erva-mate, os quais não se localizam nas superfícies dos biofilmes, semelhante ao exposto por Giri et. al. (2022) para seus materiais compósitos de nanocelulose.

4.2.4 Liberação *in vitro*

A TABELA 10 apresenta os resultados da liberação em meio aquoso de cada uma das amostras, do controle e com polifenóis incorporados, em mg (EAG) /g de biofilme.

TABELA 10: RESULTADOS DA LIBERAÇÃO DE POLIFENÓIS TOTAIS EM MEIO AQUOSO PARA OS BIOFILMES AMOSTRADOS.

Matriz	Tratamento	T1 mg (EAG)/g	T2 mg (EAG)/g	T3 mg (EAG)/g	T4 mg (EAG)/g	T5 mg (EAG)/g	Média por matriz mg (EAG)/g
M0XI	0	1,96	*	*	2,04	1,47	1,82 ± 0,3
R0XI	0	0,68	1,87	0,32	1,09	0,96	0,98 ± 0,6
MC0XI	0	1,30	6,17	1,84	2,04	0,90	2,45 ± 2,1
RC0XI	0	0,76	1,85	0,29	0,51	0,43	0,77 ± 0,6
M1YI	1	6,12	7,56	6,84	6,90	6,26	6,74 ± 0,6
R1YI	1	6,88	5,43	5,88	5,95	5,82	5,99 ± 0,5
MC1YI	1	7,92	3,59	3,60	7,64	7,03	5,96 ± 2,2
RC1YI	1	5,42	5,04	4,68	5,27	5,40	5,16 ± 0,3
M2YI	2	29,6	25,5	30,3	30,9	32,8	29,8 ± 2,7
R2YI	2	29,1	22,3	27,1	29,0	21,7	25,9 ± 3,6
MC2YI	2	25,4	28,9	25,6	26,1	28,0	26,8 ± 1,6
RC2YI	2	26,1	20,4	25,1	25,9	24,0	24,3 ± 2,3
M3YI	3	46,3	44,5	44,3	44,9	50,1	46,0 ± 2,4
R3YI	3	23,7	34,7	42,0	69,2	48,8	43,7 ± 17
MC3YI	3	49,8	50,4	43,4	41,8	50,4	47,2 ± 4,2
RC3YI	3	42,7	42,0	39,8	46,1	38,3	41,8 ± 3,0

Fonte: o autor (2022).

* Dados medidos não inseridos devido à baixa confiabilidade, por fatores externos.

LEGENDA: T1 refere-se ao tempo de liberação em 12 horas, T2 em 24 horas, T3 em 48 horas, T4 em 72 horas e T5 em 216 horas, em mg (EAG) /g de biofilme. O tratamento 0 refere-se ao biofilme controle, 1 ao incorporado com solução de erva-mate crio diluída, 2 ao extrato inicial e 3 à crio concentrada. Também, apresenta-se a média de cada uma das matrizes para todos os períodos de tempo e seu desvio padrão associado.

Através do software IBM® SPSS® statistics, realizou-se o teste de normalidade Shapiro-Wilk dos dados da TABELA 10. Com exceção do R2Y2, as concentrações tenderam a uma distribuição normal; isso permitiu aplicar a ANOVA de um fator. Os testes posteriori escolhidos foram: teste – t de Dunnet, que comparou o grupo controle (0) com os demais grupos (1, 2 e 3), e o teste de Amplitude Ryan-Einot-Gabriel-Welschb (R-E-G-W).

Através do teste de Dunnet, os resultados de liberação para as 12 horas (T1) não apresentaram diferença significativa ($p > 0,05$) entre o grupo controle e o crio diluído. Entretanto, as demais amostras de biofilme incorporadas com extrato inicial (2) e crio concentrado (3) foram diferentes do grupo controle. O mesmo ocorreu para os tempos 24 horas (T2), 72 horas (T4) e 216 horas (T5). Em relação ao tempo 48 horas (T3) todos os grupos diferiram do grupo controle ($P < 0,05$).

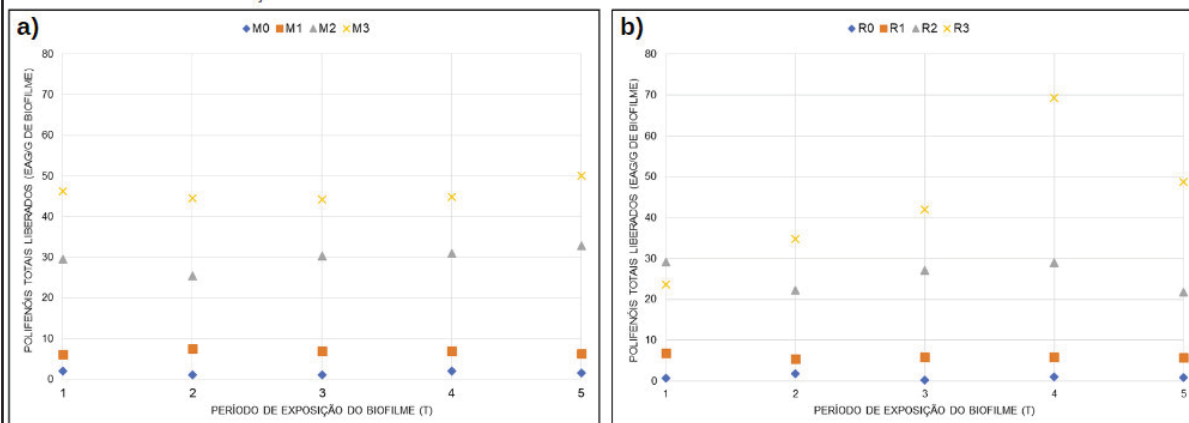
O parâmetro R-E-G-W divide os grupos em subconjuntos de similaridade, ou seja, os tratamentos que apresentaram médias semelhantes ocupam um mesmo subconjunto. Assim, para o tempo de 12 horas, os dados mostraram que o biofilme controle e crio diluído não apresentam diferença significativa ($p = 0,05$). Os biofilmes incorporados com extrato inicial e crio concentrado diferiram tanto entre si quanto do subconjunto composto pelo tratamento controle e crio diluído.

Para o período de liberação em 24 horas (T2), 72 horas (T4) e 216 horas (T5), verificou-se o mesmo comportamento visto em T1. No entanto, para T3 (48 horas) R-E-G-W mostrou que os biofilmes em todos os grupos diferem entre si ($p \neq 0,05$). Com isso, fica evidenciado que a liberação dos polifenóis está relacionada com a concentração incorporada, sendo que as Soluções Extrato Inicial e Crio concentrado mostraram-se melhores, já que foram diferentes estatisticamente do grupo controle, para todos os materiais testados independente do tempo adotado.

Isso fica melhor visualizado através das FIGURAS 30 e 31, onde se apresentam os dados de liberação dos polifenóis totais (EAG/g de biofilme) em relação ao período de exposição dos biofilmes ao meio aquoso. Os teores de polifenóis totais do grupo controle e incorporado com crio diluído exibem similaridade. Contudo, com a incorporação das soluções Extrato Inicial e Crio concentrado às matrizes poliméricas, os valores de liberação *in vitro* mostram-se mais elevados, principalmente com a última solução.

As matrizes amido de milho e amido de milho modificado, com e sem adição de MFC, com a inclusão durante a formação do gel, foram capazes de incorporar e posteriormente liberar em meio aquoso os compostos bioativos, polifenóis. Não houve diferença significativa entre os períodos de T1 a T5 (12, 24, 48, 72 e 216 horas), como visto no teste ANOVA. As soluções de erva-mate 2 e 3 apresentaram os maiores teores de polifenóis liberados *in vitro*, conforme o esperado, seguindo a proporção de quanto maior incorporado, maior foi o teor liberado, até o teor do tratamento Crioconcentração aplicado.

FIGURA 30 – GRÁFICO DE LIBERAÇÃO DOS POLIFENÓIS TOTAIS (EAG/G DE BIOFILME) EM RELAÇÃO AO PERÍODO DE EXPOSIÇÃO

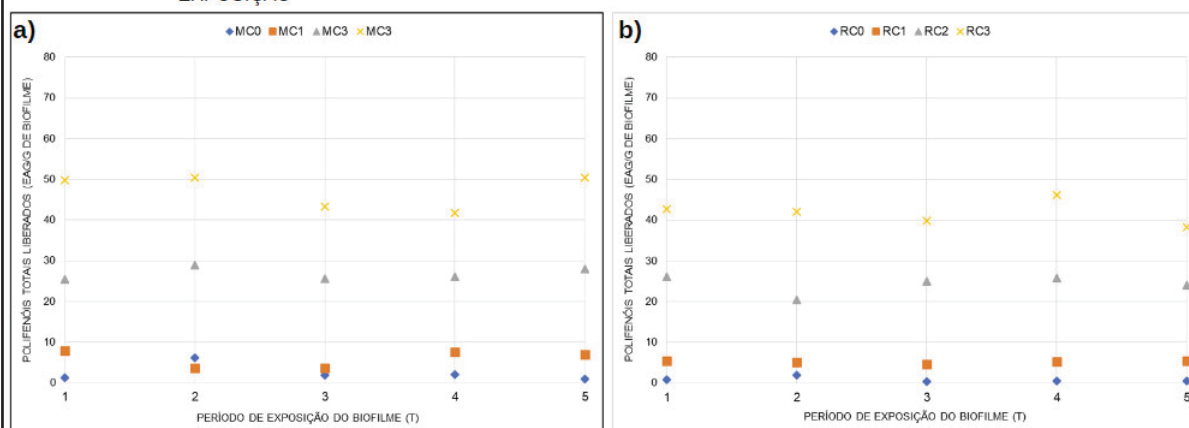


FONTE: O autor (2022).

Exposição referente aos tempos: T1 (12 horas), T2 (24 horas), T3 (48 horas), T4 (72 horas) e T5 (216 horas).

LEGENDA: a) M - matriz amido de milho, M0 é referente a amostra controle; M1 trata-se da incorporação com a solução de erva-mate crio diluída, M2 com extrato inicial e M3 crioconcentrada; b) R - matriz amido de milho modificada, R0 é referente a amostra controle; R1 trata-se da incorporação com a solução de erva-mate crio diluída, R2 com extrato inicial e R3 crioconcentrada;

FIGURA 31 – GRÁFICO DE LIBERAÇÃO DOS POLIFENÓIS TOTAIS (EAG/G DE BIOFILME) EM RELAÇÃO AO PERÍODO DE EXPOSIÇÃO



FONTE: O autor (2022).

Exposição referente aos tempos: T1 (12 horas), T2 (24 horas), T3 (48 horas), T4 (72 horas) e T5 (216 horas).

LEGENDA: a) Mc - matriz amido de milho com adição de MFC, Mc0 é referente a amostra controle; Mc1 trata-se da incorporação com a solução de erva-mate crio diluída, Mc2 com extrato inicial e Mc3 crioconcentrada; b) Rc - matriz amido de milho modificada com adição de MFC, Rc0 é referente a amostra controle; Rc1 trata-se da incorporação com a solução de erva-mate crio diluída, Rc2 com extrato inicial e Rc3 crioconcentrada;

5 CONCLUSÃO

Os filmes produzidos pelo método casting de amido de milho e amido de milho modificado apresentaram características visuais adequadas e o método de crioconcentração do extrato de erva-mate foi eficaz para elevar o teor de compostos fenólicos. O ensaio de liberação *in vitro* mostrou que os filmes foram capazes de proporcionar a exsudação dos compostos fenólicos em meio aquoso, principalmente as soluções de erva-mate mais concentradas, liberaram maiores teores. A solubilidade dos filmes foi apropriada para auxiliar na sua degradabilidade. Com a adição reforço de celulose de pinus microfibrilada, a solubilidade dos filmes foi diretamente proporcional ao aumento da concentração de solução de erva-mate incorporada.

Ao adicionar as soluções de erva-mate aos amidos houve uma modificação na estabilidade térmica desses biofilmes, observada nas análises termogravimétricas, e uma maior energia foi requerida para a pirólise final dos materiais. Os cultivares BRS – 408 e BRS – 409 não apresentaram diferença no comportamento térmico. Entretanto, para os biofilmes com a adição da celulose microfibrilada a curva termogravimétrica revelou mais etapas com variação de massa mais distribuídos. Por fim, é possível verificar o benefício da proteção fornecida aos compostos bioativos ao incorporá-los na matriz de amido – glicerol.

Em contrapartida, para a análise de infravermelho houve similaridade entre as estruturas das matrizes de amido e com adição de MFC, isto porque os sinais característicos de amido e celulose se sobrepõem. Ademais, para os filmes com matriz de amido de milho com MFC, amido de milho modificado e o mesmo incorporado com MFC, foi possível ver um aumento da intensidade de bandas com o aumento da concentração de solução de erva-mate incorporada.

Portanto, foi possível elaborar filmes com matriz polimérica de base biológica e incorporar bioativos de soluções preparadas em três concentrações diferentes, a partir do extrato de erva-mate. Dessa forma, aperfeiçoando estes materiais e adaptando-os à escala industrial pode ser uma alternativa às embalagens tradicionais para coberturas de produtos alimentícios frescos, como frutas e hortaliças, ou farmacêuticos.

REFERÊNCIAS

ABDILLAH, Annur Ahadi; CHARLES, Albert Linton. Characterization of a natural biodegradable edible film obtained from arrowroot starch and iota-carrageenan and application in food packaging. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 191, p. 618-626, 2021.

ANVISA – AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA. **Farmacopeia Brasileira**: volume 1 : 6ª edição. Brasília, 2019.

ALIABADI, Meysam; CHEE, Bor Shin; MATOS, Mailson; CORTESE, Yvonne J.; NUGENT, Michael J. D.; LIMA, Tielidy A. M. de; MAGALHÃES, Washington L. E.; LIMA, Gabriel Goetten de. Yerba mate extract in microfibrillated cellulose and corn starch films as a potential wound healing bandage. **Polymers**, v. 12, n. 12, p. 2807, 2020.

ARAÚJO, Hiram; IRIS, Ademário. E-book - **Análise Instrumental - Uma Abordagem Prática**. Rio de Janeiro: Grupo GEN, 2021. *E-Book*. Disponível em: <<https://integrada.minhabiblioteca.com.br/#/books/9788521637486/>>. Acesso em: 11 mar. 2022.

ARRIETA, M. P. et al. Recovery of yerba mate (*Ilex paraguariensis*) residue for the development of PLA-based bionanocomposite films. **Industrial Crops and Products**, v. 111, p. 317-328, 2018.

AGHAZADEH, Mona et al. Comparison of starch films and effect of different rice starch-based coating formulations on physical properties of walnut during storage time at accelerated temperature. **Journal of Food Process Engineering**, v. 41, n. 1, p. e12607, 2017.

BERTUZZI, Maria Alejandra; ARMADA, M.; GOTTIFREDI, J. C. Physicochemical characterization of starch based films. **Journal of food engineering**, 2007, 82.1: 17-25.

BOAVENTURA, Brunna Cristina Bremer et al. Enhancement of bioactive compounds content and antioxidant activity of aqueous extract of mate (*Ilex paraguariensis* A. St. Hil.) through freeze concentration technology. **Food Research International**, v. 53, n. 2, p. 686-692, 2013.

CAMPBELL-PLATT, G. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**: Editora Manole, 2015. 9788520448458. Disponível em: <https://integrada.minhabiblioteca.com.br/#/books/9788520448458/>. Acesso em: 05 maio de 2021. p. 64, 305.

CEBALLOS, Rocío L. et al. Effect of yerba mate extract on the performance of starch films obtained by extrusion and compression molding as active and smart packaging. **Carbohydrate polymers**, v. 244, p. 116495, 2020.

CHEN, Qifeng; LIU, Yayun; CHEN, Guangxue. A comparative study on the starch-based biocomposite films reinforced by nanocellulose prepared from different non-wood fibers. **Cellulose**, v. 26, n. 4, p. 2425-2435, 2019.

COELHO, Geraldo Ceni et al. Quantification of saponins in extractive solution of mate leaves (*Ilex paraguariensis* A. St. Hil.). **Journal of medicinal food**, v. 13, n. 2, p. 439-443, 2010.

COMINETTI, Cristiane; COZZOLINO, Silvia Maria F. **Bases bioquímicas e fisiológicas da nutrição: nas diferentes fases da vida, na saúde e na doença**. Editora Manole, 2020. *E-book*. Disponível em: <https://integrada.minhabiblioteca.com.br/#/books/9786555761764/>. Acesso em: 17 fev. 2022.

COZZOLINO, Silvia Maria F. **Biodisponibilidade de nutrientes**. 6a ed. São Paulo: Editora Manole, 2020. *E-book*. Disponível em: <https://integrada.minhabiblioteca.com.br/#/books/9786555761115/>. Acesso em: 11 fev. 2022.

CUI, Congli et al. Bioactive and intelligent starch-based films: A review. **Trends in Food Science & Technology**, v. 116, p. 854-869, 2021.

DAMODARAN, S.; PARKIN, K.L. **Química de Alimentos de Fennema**. Artmed: Grupo A, 2019. Disponível em: <https://integrada.minhabiblioteca.com.br/#/books/9788582715468/>. Acesso em: 07 fev. 2022.

DEMIRBAS, A. Y. Ş. E. et al. Cryoconcentration of flavonoid extract for enhanced biophotovoltaics and pH sensitive thin films. **Biotechnology Progress**, v. 34, n. 1, p. 206-217, 2018.

DENARDIN, Cristiane Casagrande; SILVA, Leila Picolli da. Estrutura dos grânulos de amido e sua relação com propriedades físico-químicas. **Ciência Rural**, v. 39, n. 3, p. 945-954, 2009.

DIAS, Silvio L P.; VAGHETTI, Júlio C P.; LIMA, Éder C.; et al. **Química Analítica**. Porto Alegre: Bookman, 2016. *E-Book*. Disponível em: <https://integrada.minhabiblioteca.com.br/#/books/9788582603918/>. Acesso em: 30 mar. 2022.

DO EVANGELHO, Jarine Amaral, et al. Antibacterial activity, optical, mechanical, and barrier properties of corn starch films containing orange essential oil. **Carbohydrate polymers**, 2019, 222: 114981.

DU, Hongying et al. Development and characterization of fish myofibrillar protein/chitosan/rosemary extract composite edible films and the improvement of lipid oxidation stability during the grass carp fillets storage. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 184, p. 463-475, 2021.

ESKANDARINIA, Asghar et al. Physicochemical, antimicrobial and cytotoxic characteristics of corn starch film containing propolis for wound dressing. **Journal of Polymers and the Environment**, v. 26, n. 8, p. 3345-3351, 2018.

FAYAD, Elie et al. Yerba Mate (*Ilex paraguariensis*) a potential food antibacterial agent and combination assays with different classes of antibiotics. **LWT**, v. 125, p. 109267, 2020.

FENG, Mingyue et al. Development and preparation of active starch films carrying tea polyphenol. **Carbohydrate Polymers**, v. 196, p. 162-167, 2018.

FRIEDMAN, M. Overview of antibacterial, antitoxin, antiviral, and antifungal activities of tea flavonoids and teas. **Molecular nutrition & food research**, v. 51, n. 1, p. 116-134, 2007.

GIRI, Jyoti et al. Influence of wheat stalk nanocellulose on structural, mechanical, thermal, surface and degradation properties of composites with poly (butylene adipate-co-terephthalate). **Polymer Bulletin**, p. 1-27, 2022.

GARCÍA-GUZMÁN, Lucia, et al. Progress in Starch-Based Materials for Food Packaging Applications. **Polysaccharides**, 3.1: 136-177, 2022.

HAN, J.H. Antimicrobial food packaging. In: AHVENAINEN, R. (Ed.) **Novel Food Packaging Techniques**. Cap. 4, p. 50 - 65, Washington: CRC Press, 2003.

HECK, Caleb I.; DE MEJIA, E. Gonzalez. Yerba Mate Tea (*Ilex paraguariensis*): a comprehensive review on chemistry, health implications, and technological considerations. **Journal of food science**, v. 72, n. 9, p. R138-R151, 2007.

ICTAC – INTERNATIONAL CONFEDERATION FOR THERMAL ANALYSIS AND CALORIMETRY. **TA Nomenclature has been endorsed finally by the IUPAC**. Disponível em: <<http://www.ictac.org/index.html>>. Acesso em 11 fev. 2022.

JARAMILLO, Carolina Medina et al. Biodegradability and plasticizing effect of yerba mate extract on cassava starch edible films. **Carbohydrate polymers**, v. 151, p. 150-159, 2016.

JI, Na et al. Effect of annealing on the structural and physicochemical properties of waxy rice starch nanoparticles: Effect of annealing on the properties of starch nanoparticles. **Food chemistry**, v. 286, p. 17-21, 2019.

KNAPP, Mateus Antônio et al. Yerba mate extract in active starch films: Mechanical and antioxidant properties. **Journal of Food Processing and Preservation**, v. 43, n. 3, p. e13897, 2019.

KUMAR, Manish; RATHOUR, Rashmi; SINGH, Rashmi; YUQING, Sun; PANDEY, Ashok; GNANSOUNOU, Edgard; LIN, Kun-Yi; TSANG, Daniel C. W.; THAKUR, Indu. Bacterial polyhydroxyalkanoates: Opportunities, challenges, and prospects. **Journal of Cleaner Production**. 2020.

KUORWEL, K. et al. Migration of antimicrobial agents from starch-based films into a food simulant. **LWT-Food Science and Technology**, v. 50, n. 2, p. 432-438, 2013.

LAZZAROTTO, Simone Rosa da Silveira, et al. Corn starch incorporated with freeze-concentrated *Ilex paraguariensis* extracts: A potential nutraceutical product. **Journal of Thermal Analysis and Calorimetry**, 146.1: 171-176, 2021.

LAZZAROTTO, Simone Rosa da Silveira; et al. Método de *Folin Ciocalteu* adaptado para quantificar polifenóis em extratos de erva-mate. In: **Embrapa Florestas-Artigo em periódico indexado (ALICE)**. In: Revista Movimenta, v. 13, n. 3, p. 419-426, 2020.

LI, Meng et al. Preparation and characterization of nanocomposite films containing starch and cellulose nanofibers. **Industrial crops and products**, v. 123, p. 654-660, 2018.

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

MADELLA, Dayana Ketrin Silva Francisco; DE MELO, Nathália Ramos. Material de base orgânica como alternativa para embalagem de produtos alimentícios. **Research, Society and Development**, v. 11, n. 10, p. e15111032244-e15111032244, 2022.

MARTINS, D.; MIGLIORINI, F. L.; TEODORO, K. B. R.; FACURE, M. H. M.; CORREA, D. S. Nanocompósitos Poliméricos. In: SANFELICE, R., PAVINATTO, A., CORREA, D., & CORREA, D. S. **Nanotecnologia aplicada a polímeros**. São Paulo: Blucher, 2022. p.133-170. Disponível em: <<http://www.alice.cnptia.embrapa.br/alice/handle/doc/1148354>> Acesso em: 09 dez. 2022.

MATOS, Simone Pires D. **Técnicas de análise química - métodos clássicos e instrumentais** - 1ª edição - 2015. [São Paulo]: Editora Saraiva, 2019. 9788536531359. Disponível em: <<https://integrada.minhabiblioteca.com.br/#/books/9788536531359/>>. Acesso em: 11 mar. 2022.

MEDINA-JARAMILLO, Carolina et al. Biofilms based on cassava starch containing extract of yerba mate as antioxidant and plasticizer. **Starch-Stärke**, v. 67, n. 9-10, p. 780-789, 2015.

MEDINA-JARAMILLO, Carolina et al. Active and smart biodegradable packaging based on starch and natural extracts. **Carbohydrate Polymers**, v. 176, p. 187-194, 2017.

MENZEL, Carolin et al. Incorporation of natural antioxidants from rice straw into renewable starch films. **International journal of biological macromolecules**, v. 146, p. 976-986, 2020.

MORAES, Jaqueline Oliveira de; RESZKA, Andressa; LAURINDO, João Borges. Espalhamento e secagem de filme de amido-glicerol-fibra preparado por "tape-casting". **Pesq. agropec. bras., Brasília**, v. 49, n. 2, p. 136-143, Fev. 2014. Disponível em http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0100-204X2014000200136&lng=en&nrm=iso.

MORSY, Hamdy Mohamed Elsayed. **Characteristics Of Corn Starch-Based Composites Reinforced With Flax And Date Palm Fibers**. 121 f. 2012. Tese (Mestrado de Ciências em Projeto Mecânico e Engenharia de Produção) - CAIRO University Giza. Disponível em: < https://www.researchgate.net/profile/Hamdy-Ibrahim-5/publication/311463736_CHARACTERISTICS_OF_CORN_STARCH-BASED_COMPOSITES_REINFORCED_WITH_FLAX_AND_DATE_PALM_FIBERS/inks/5848175608ae61f75de346bb/CHARACTERISTICS-OF-CORN-STARCH-BASED-COMPOSITES-REINFORCED-WITH-FLAX-AND-DATE-PALM-FIBERS.pdf > Acesso em: 05 dez. 2022

PANRONG, Theeraphorn; KARBOWIAK, Thomas; HARNKARNSUJARIT, Nathdanai. Effects of acetylated and octenyl-succinated starch on properties and release of green tea compounded starch/LLDPE blend films. **Journal of Food Engineering**, v. 284, p. 110057, 2020.

PAVIA, Donald L.; LAMPMAN, Gary M.; KRIZ, George S.; VYVYAN, James R. **Introdução à espectroscopia**. Cengage Learning Brasil, 2016. 9788522123391. Disponível em: <https://integrada.minhabiblioteca.com.br/#/books/9788522123391/>. Acesso em: 05 abr. 2022.

PILATTI-RICCIO, Daniella et al. Impact of the use of saccharides in the encapsulation of *Ilex paraguariensis* extract. **Food Research International**, v. 125, p. 108600, 2019.

PIMENTEL, Carolina Vieira de Mello B.; ELIAS, Maria F.; PHILIPPI, Sonia T. **Alimentos funcionais e compostos bioativos**. Editora Manole, 2019. 9786555761955. Disponível em: <https://integrada.minhabiblioteca.com.br/#/books/9786555761955/>. Acesso em: 17 fev. 2022.

PNUMA – Programa das Nações Unidas para o Meio Ambiente. **Drowning in Plastics – Marine Litter and Plastic Waste Vital Graphics**. 21 de outubro de 2021. Disponível em: <https://www.unep.org/resources/report/drowning-plastics-marine-litter-and-plastic-waste-vital-graphics> Acesso em 19 de abril de 2022.

PNUMA – Programa das Nações Unidas para o Meio Ambiente. **Relatório da ONU sobre poluição plástica alerta sobre falsas soluções e confirma necessidade de ação global urgente** .21 de outubro de 2021. Disponível em: <https://www.unep.org/pt-br/noticias-e-reportagens/comunicado-de-imprensa/relatorio-da-onu-sobre-poluicao-plastica-alerta-sobre> Acesso em 19 de abril de 2022.

PRESTES, Amanda Alves et al. Freeze concentration techniques as alternative methods to thermal processing in dairy manufacturing: A review. **Journal of Food Science**, 2022.

PRIMOŽIČ, Mateja; KNEZ, Željko; LEITGEB, Maja. (Bio) Nanotechnology in food Science - Food packaging. **Nanomaterials**, 2021, 11.2: 292.

PUSCASELU, Roxana Gheorghita et al. Strategies and Challenges for Successful Implementation of Green Economy Concept: Edible Materials for Meat Products Packaging. **Foods**, v. 10, n. 12, p. 3035, 2021.

RENDÓN-VILLALOBOS, Rodolfo et al. Bioplastic composed of starch and micro-cellulose from waste mango: mechanical properties and biodegradation. **Polímeros** [online]. v. 32, n. 3, 2022.

REN, Jizhou et al. Development of biomaterials based on plasticized polylactic acid and tea polyphenols for active-packaging application. **International Journal of Biological Macromolecules**, 2022.

REZZADORI, Katia et al. Bioavailability of bioactive compounds of guava leaves (*Psidium guajava*) aqueous extract concentrated by gravitational and microwave-assisted cryoconcentration. **Journal of Food Processing and Preservation**, p. e16241, 2021.

SCHMALKO, Miguel Eduardo; PRAT KRIKUM, Sergio Dante; KÄNZIG, Rodolfo Guillermo. **La Yerba Mate: tecnologia de la producción y propiedades**. Editoria Universitaria: 2015. ISBN 978-950-579-397-6

SHETTA, Amro et al. Different Approaches for the Inclusion of Bioactive Compounds in Packaging Systems. In: **Releasing Systems in Active Food Packaging**. Springer, Cham, 2022. p. 151-185.

SIMÕES, Cláudia Maria O.; SCHENKEL, Eloir P.; MELLO, João Carlos Palazzo D.; AL. **Farmacognosia**. Artmed: Grupo A, 2017. 9788582713655. Disponível em: <https://integrada.minhabiblioteca.com.br/#/books/9788582713655/>. Acesso em: 07 fev. 2022.

SONG, X., Zuo, G.; CHEN, F. Effect of essential oil and surfactant on the physical and antimicrobial properties of corn and wheat starch films. **International journal of biological macromolecules**, 107, 1302-1309, 2018.

SOUTO, V. D.; CAMPOS; F. M.; LAZZAROTTO, M. (2022). Técnica de crioconcentração e suas aplicações: uma revisão. In: ANAIS DO CONGRESSO BRASILEIRO INTERDISCIPLINAR EM CIÊNCIA E TECNOLOGIA, 3, 2022, Online. Anais... Recife: CoBICET, 29 agosto a 2 setembro, 2022. e519151.

SUPPAKUL, Panuwat et al. Loss of AM additives from antimicrobial films during storage. **Journal of Food Engineering**, v. 105, n. 2, p. 270-276, 2011.

TAKO, Masakuni et al. The principles of starch gelatinization and retrogradation. **Food and Nutrition Sciences**, 2014.

TEIXEIRA, A. S. et al. Corn starch systems as carriers for yerba mate (*Ilex paraguariensis*) antioxidants: Effect of mineral addition. **Food and Bioproducts Processing**, v. 94, p. 39-49, 2015.

TEMESGEN, Selamu, et al. Review on spinning of biopolymer fibers from starch. **Polymers**, no. 7: 1121, 2021.

VOGEL, Arthur I. **Análise Química Quantitativa**. [Rio de Janeiro]: Grupo GEN, 2002. 978-85-216-2580-3. Disponível em: <https://integrada.minhabiblioteca.com.br/#/books/978-85-216-2580-3/>. Acesso em: 11 mar. 2022.

WANG, Shujun et al. Starch retrogradation: A comprehensive review. **Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety**, v. 14, n. 5, p. 568-585, 2015.

WANG, Bin et al. Physicochemical properties and antibacterial activity of corn starch-based films incorporated with *Zanthoxylum bungeanum* essential oil. **Carbohydrate Polymers**, v. 254, p. 117314, 2021.

WENDLING, I.; STURION, J. A.; SANTIN, D. **BRS 408 e BRS 409: cultivares clonais de erva-mate para produção de massa foliar**. Embrapa Florestas-Comunicado Técnico, 410 (INFOTECA-E), 6 p., 2017.