



**UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
INSTITUTO DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE ALIMENTOS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE
ALIMENTOS**

**Filmes biodegradáveis com propriedades funcionais produzidos a partir de resíduos
industriais**

ALINE OLIVEIRA E SILVA IAHNKE

Porto Alegre, 2015.

ALINE OLIVEIRA E SILVA IAHNKE

Filmes biodegradáveis com propriedades funcionais produzidos a partir de resíduos
industriais

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, como um dos requisitos para a obtenção do grau de Mestre em Ciência e Tecnologia de Alimentos.

Orientadora: Prof^ª. Dra. Simone Hickmann Flôres
Co-orientador: Prof. Dr. Alessandro de Oliveira Rios

Porto Alegre, 2015.

CIP - Catalogação na Publicação

Iahnke, Aline Oliveira e Silva

Filmes biodegradáveis com propriedades funcionais produzidos a partir de resíduos industriais / Aline Oliveira e Silva Iahnke. -- 2015.

124 f.

Orientadora: Simone Hickmann Flôres.

Coorientador: Alessandro de Oliveira Rios.

Dissertação (Mestrado) -- Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Instituto de Ciência e Tecnologia de Alimentos, Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos, Porto Alegre, BR-RS, 2015.

1. Filmes biodegradáveis. 2. Gelatina. 3. Resíduos. 4. Biocompósitos. 5. Antioxidante. I. Flôres, Simone Hickmann, orient. II. Rios, Alessandro de Oliveira, coorient. III. Título.

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
INSTITUTO DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE ALIMENTOS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE ALIMENTOS

Autor: Aline Oliveira e Silva (Engenheira de Alimentos – UFRGS).

Título da dissertação: Filmes biodegradáveis com propriedades funcionais produzidos a partir
de resíduos industriais

Submetida como parte dos requisitos para a obtenção do grau de
MESTRE EM CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE ALIMENTOS.

Aprovada em:/...../.....

Homologada em:/...../.....

Pela banca examinadora:

Por:

Prof^ª. Dra. Simone Hickmann Flôres
Orientadora
Docente do Instituto de Ciência e Tecnologia
de Alimentos
PPGCTA/UFRGS

Prof^ª. Dra. Rosane Rech
Coordenadora do PPGCTA

Prof. Dr. Alessandro de Oliveira Rios
Co-orientador
Docente do Instituto de Ciência e Tecnologia
de Alimentos
PPGCTA/UFRGS

Prof. Dr. Vitor Manfroi
Diretor do ICTA

Banca: Prof^ª. Dra. Florencia Cladera Olivera
Doutora em Engenharia Química
PPGCTA/UFRGS

Banca: Prof^ª. Dra. Ligia D. F. Marczak
Doutora em Engenharia Mecânica - UFSC
DEQUI/UFRGS

Banca: Prof. Dr. Voltaire Sant'Anna
Doutor em Engenharia Química - UFRGS
Professor Adjunto UFRGS

AGRADECIMENTOS

O meu maior e mais sincero agradecimento aos meus queridos pais: Elúcio e Adriana. Obrigada por todos esses anos de cuidado e amor. Por serem exemplos de bons princípios, bondade e generosidade. Por apoiarem minhas decisões e darem suporte pra eu ir em busca dos meus sonhos. Eu sei que cada conquista minha é, no fundo, uma conquista de vocês também. Obrigada também mano, vó, tia... Vocês todos são meu alicerce, e sem vocês nada nessa vida teria sentido.

Ao meu namorado, companheiro, melhor amigo, e agora noivo Artur. Acho que melhor que ninguém você conhece meus sonhos e angústias. Obrigada por me compreender, me encorajar. Por ser a alegria dos dias cinzentos.

Às gurias da Engenharia de Alimentos. Fico feliz em reler os agradecimentos do TCC e perceber que seguimos sendo grandes amigas e que o fim da faculdade foi apenas o início de uma nova fase pra todas.

Aos meu querido e eclético grupo: Aelson, Carol e Liana. Vocês tornam os dias mais leves e divertidos. Obrigada pela amizade e por poder contar com vocês. Vocês são especiais. Vocês são pra vida.

A Deus, por guiar meus caminhos, ser aquela voz da consciência que indica as melhores escolhas para o meu crescimento e evolução pessoal e profissional. Por me dar forças e não me deixar desistir.

A minha orientadora Simone Hickmann Flôres. Obrigada por cumprir tão bem seu papel e me orientar nessa jornada. Por despertar meu interesse pela área que decidi seguir. Por me fazer querer ir além e seguir aprimorando e aprofundando meus conhecimentos. Que venha o doutorado!

Ao meu co-orientador Alessandro de Oliveira Rios, que sempre dispõe de “cinco minutinhos” preciosos para nos ajudar e está sempre disposto a sanar nossas dúvidas e inquietudes.

Ao Laboratório 211 do ICTA, que se tornou um segundo lar. Obrigada a todos os colegas e amigos, que de uma forma ou outra contribuíram para que eu alcançasse essa vitória.

À UFRGS e ao ICTA. Aos professores, que transferem diariamente seus conhecimentos e contribuíram para que eu chegasse até aqui.

À banca examinadora, pela disponibilidade e contribuição para esse trabalho.

*“Acredite na força dos seus sonhos.
Deus é justo e não colocaria em seu coração
um desejo impossível de ser realizado.”*

RESUMO

Filmes e coberturas comestíveis têm recebido cada vez mais atenção e interesse por parte de indústrias e pesquisadores pois eles representam uma alternativa para substituir plásticos comumente utilizados para embalagens em indústrias alimentícias. Nesse contexto, filmes biodegradáveis foram produzidos a partir de resíduos da fabricação de cápsulas nutracêuticas compostas por gelatina, glicerina e água e combinados com farinhas de resíduos da indústria de minimamente processados de cenoura e beterraba. Todos os filmes elaborados foram caracterizados quanto às propriedades físico-químicas, mecânicas, de barreira, ópticas e antioxidantes. Dentre os filmes desenvolvidos, os que apresentaram essas características aprimoradas e com maior funcionalidade, foram selecionados para serem estudados quanto a sua estrutura, estabilidade térmica e proteção contra oxidação primária em óleo de girassol embalado pelos filmes. Em geral, a adição de farinhas aos filmes gelatinosos ocasionou: redução de umidade, solubilidade em água, *swelling*, permeabilidade ao vapor de água e alongação; aumento de opacidade, porcentagem de inibição do radical DPPH; maior proteção aos efeitos da luz e da oxidação primária de óleo de girassol; e estrutura menos lisa e homogênea quando comparado aos filmes sem adição de farinhas. Além disso, os filmes estudados apresentaram estabilidade térmica até aproximadamente 200 °C. Com isso, foi possível desenvolver filmes biodegradáveis com propriedades funcionais a partir de resíduos industriais e colaborar com o desenvolvimento de tecnologias sustentáveis.

Palavras-chave: filmes biodegradáveis; gelatina; resíduos; biocompósitos; embalagens ativas; antioxidante.

ABSTRACT

Edible films and coatings have gained increasing attention and interest from the industry and researchers, as they represent an alternative to replace commonly used plastics for packaging in the food industry. In this context, biodegradable films were produced from the residues from the manufacture of nutraceutical capsules, mainly composed of gelatin, glycerin and water, and combined with different residue flour derived from the minimal processing of carrot and beet root. All the prepared films were characterized regarding their physicochemical, mechanical, barrier, optical and antioxidant properties. The films which presented improved characteristics and greater functionality were selected to be studied regarding their structure, thermal stability and protection against primary oxidation of sunflower oil packed in the films. In general, the addition of the flour into the gelatin-based films caused: reduction in the moisture content, water solubility, swelling, water vapor permeability and elongation at break; increase in the opacity and percentage inhibition of DPPH radical; greater protection against the effects of light and primary oxidation of sunflower oil; and less smooth and homogeneous structure when compared to films without addition of flours. Furthermore, the studied films showed thermal stability up to approximately 200 ° C. Thus, it was possible to develop biodegradable films with functional properties from industrial residues and contribute to the development of sustainable technologies.

Keywords: biodegradable films; gelatin; waste; biocomposites; active packaging; antioxidant.

LISTA DE FIGURAS

CAPÍTULO 2: MATERIAIS E MÉTODOS

Figura 1 - Aparas da produção de cápsulas gelatinosas nutracêuticas.....	41
Figura 2 - Resíduos do processamento mínimo de cenoura (a) e de beterraba (b).....	42
Figura 3 - Farinhas obtidas de resíduos do processamento mínimo de cenoura (a) e beterraba (b).....	43
Figura 4 - Análise de propriedades mecânicas de filme biodegradável realiza em texturômetro TA-XT2 (Stable Micro Systems, Reino Unido).	44
Figura 5 - Análise de espessura efetuada em micrômetro digital (modelo IP40, Digimess, Brasil).....	45
Figura 6 - Análise de solubilidade dos filmes em água.....	46
Figura 7 - Células de permeação armazenadas em cuba de vidro para análise de PVA.	47
Figura 8 - Calorímetro (modelo CR-300, Minolta Co. Ltd, Japão) utilizado para determinar a cor dos filmes biodegradáveis.	48
Figura 9 - Espectrofotômetro (modelo UV-1800, Shimadzu, Japão) utilizado na análise de transmissão de luz e opacidade dos filmes biodegradáveis.....	48
Figura 10 - Analisador termogravimétrico utilizado para análise de estabilidade térmica dos filmes biodegradáveis.	49
Figura 11 - Microscópio eletrônico de varredura (modelo JSM 6060, JEOL, Japão) utilizado para a análise morfológica dos filmes biodegradáveis (a) e exemplo de imagem obtida com aumento de 500x para amostra de farinha de resíduo de cenoura (b).....	50
Figura 12 - Tubos de ensaio contendo amostras de filme e solução de DPPH após oito horas de reação no escuro.....	51
Figura 13 - Óleo de girassol embalado em filmes biodegradáveis.	51
Figura 14 - Disposição dos filmes biodegradáveis e controles contendo óleo de girassol armazenado sob condições extremas.	52
Figura 15 - Análise de IP após 28 dias sob armazenamento, determinada para amostras de óleo de girassol embaladas em: (A) = garrafas de plástico fechadas; (B) = placas de Petri de vidro aberto; (C) = filme de resíduo de cápsulas gelatinosas sem adição de farinhas; (D) = filme de farinha de cenoura e resíduos de cápsulas gelatinosas.	52

Figura 16 - Recipiente plástico compartimentado adicionado de solo orgânico.....	53
Figura 17 - Amostra de filme biodegradável (2 cm x 3 cm) acondicionada sobre malha de alumínio.....	54
Figura 18 - Malhas de alumínio contendo amostras de filmes.....	54

CAPÍTULO 3: ARTIGOS CIENTÍFICOS

Residues of minimally processed carrot and gelatin capsules: Potential materials for packaging films

Fig. 1. Response surface for DPPH radical scavenging activity (I) as a function of C_G (g/100 g water) and C_F (g/100 g water).	66
Fig. 2. Response surface for Young's Modulus (YM) as a function of C_G (g/100 g water) and C_F (g/100 g water).....	67
Fig. 3. Response surface for percent elongation at break (EAB) as a function of C_G (g/100 g water) and C_F (g/100 g water).	68
Fig. 4. Response surface for water vapor permeability (WVP) as a function of C_G (g/100 g water) and C_F (g/100 g water).....	69
Fig. 5. Photomicrographs observed by SEM of lower (A) and upper (B) surface of the selected film formulations, Tests 3 and 10.....	72
Fig. 6. TGA curves for the selected film formulations, Tests 3 and 10.....	73

Antioxidant films based on gelatin capsules and minimally processed beet root (*Beta vulgaris* L. var. *Conditiva*) residues

Figure 1. Scanning electron micrographs of beet root powder: (A) 500x magnification and (B) 1000x magnification.	89
Figure 2. Visual appearance of the GCR-based films incorporated with 2 %, 4 %, 8 % and 12 % BRP.....	94
Figure 3. DPPH radical scavenging activity (I) of GCR-based films with BRP at different concentrations.....	96
Figure 4. TGA curves of GCR-based films incorporated with 12 % BRP. Control: without added BRP.....	97

Figure 5. SEM micrographs of the lower (A) and upper (B) surfaces of the GCR-based films incorporated with 12 % BRP. Control: without added BRP. 98

Figure 6. Visual aspect of control and BRP12 films prior and after 15 days of exposure to soil burial degradation. 99

LISTA DE TABELAS

CAPÍTULO 1: REVISÃO DA LITERATURA

Tabela 1- Parâmetros de avaliação de produtos revestidos por filmes e filmes em si... 31

CAPÍTULO 3: ARTIGOS CIENTÍFICOS

Residues of minimally processed carrot and gelatin capsules: Potential materials for packaging films

Table 1. Full-factorial design 2^2 central composite design for the independent variables (actual and coded levels). 60

Table 2. Full-factorial design 2^2 central composite design and responses for the following independent variables: DPPH radical scavenging capacity (I), film thickness (FT), tensile strength (TS), percent elongation at break (EAB), Young's Modulus (YM), moisture content (MC), water solubility (WS), water vapor permeability (WVP) and opacity (OP). 64

Table 3. Regression coefficients and analysis of variance (ANOVA) for DPPH radical scavenging capacity (I), film thickness (FT), tensile strength (TS), percent elongation at break (EAB), Young's Modulus (YM), moisture content (MC), water solubility (WS), water vapor permeability (WVP) and opacity (OP). 65

Table 4. Light transmission values for the full experimental design. 70

Table 5. Peroxide values (mEq/kg) of sunflower oil maintained in closed plastic bottles (PLA), in open glass Petri dishes (GLA) and in the selected film formulations Tests 3 and 10 at 40 °C, over 28 days under fluorescent light (900-1000 lux). 74

Antioxidant films based on gelatin capsules and minimally processed beet root (*Beta vulgaris* L. var. *Conditiva*) residues

Table 1. Chemical composition (g/100 g DB) of gelatin capsule residues (GCR). 89

Table 2. Film thickness (FT), tensile strength (TS), elongation at break (EAB) and Young's Modulus (YM) of films based on GCR incorporated of different concentrations of BRP. 90

Table 3. Moisture content (MC), water solubility (WS), swelling (SL) and water vapor permeability (WVP) of films based on GCR incorporated of different concentrations of BRP.	92
Table 4. Color of films based on GCR incorporated of different concentrations of BRP.	94
Table 5. Light transmission and opacity of films based on GCR incorporated of different concentrations of BRP.....	95
Table 6. Peroxide values (PV) of sunflower oil packed in BRP12, in closed plastic bottles (PLA) and placed in open glass Petri dishes (GLA). Control: film without BRP.....	101
Table 7. Color parameters of sunflower oil packed in control and BRP12 films after 35 days under extreme conditions.	101

CAPÍTULO 4: DISCUSSÃO GERAL, CONCLUSÕES E PERSPECTIVAS

Tabela 2 - Caracterização das propriedades dos filmes biodegradáveis selecionados.	107
---	-----

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO.....	18
2 OBJETIVOS	20
2.1 Objetivo geral.....	20
2.2 Objetivos específicos	20
CAPÍTULO 1: REVISÃO DA LITERATURA	21
3 REVISÃO	22
3.1 Embalagens alimentícias	22
3.1.1. Embalagens convencionais	22
3.1.2 Embalagens e filmes biodegradáveis	23
3.1.3 Filmes biodegradáveis de gelatina	25
3.2 Aproveitamento de resíduos da indústria nutracêutica	27
3.3 Aproveitamento de resíduos da agroindústria	28
3.4 Caracterização dos filmes biodegradáveis	30
3.4.1 Propriedades mecânicas.....	31
3.4.2 Propriedades físico-químicas.....	33
3.4.3 Propriedades de barreira	34
3.4.4 Propriedades ópticas.....	34
3.4.5 Estabilidade térmica	35
3.4.6 Propriedades estruturais.....	35
3.4.7 Propriedades antioxidantes	36
3.4.8 Biodegradabilidade dos filmes.....	38
CAPÍTULO 2: MATERIAIS E MÉTODOS.....	40
4 MATERIAIS E MÉTODOS	41
4.1 Materiais	41
4.2 Caracterização do resíduo de cápsula de gelatina	42
4.3 Preparo e caracterização da farinha de resíduo de cenoura ou beterraba.....	42
4.4 Preparo dos filmes	43
4.5 Caracterização dos filmes biodegradáveis	44
4.5.1 Propriedades mecânicas.....	44
4.5.2 Propriedades físico-químicas.....	44

4.5.2.1. Espessura.....	44
4.5.2.2. Umidade.....	45
4.5.2.3. Solubilidade.....	45
4.5.2.4 “Swelling”.....	46
4.5.3 Permeabilidade ao vapor de água.....	46
4.5.4 Propriedades ópticas.....	47
4.5.4.1 Cor.....	47
4.5.4.2. Opacidade.....	48
4.5.5 Estabilidade térmica.....	49
4.5.6 Propriedade estrutural.....	49
4.5.7 Propriedades antioxidantes.....	50
4.5.7.1 Atividade Antioxidante por radical DPPH.....	50
4.5.7.2. Atividade antioxidante pelo método de oxidação lipídica.....	51
4.5.8 Biodegradabilidade dos filmes.....	52
4.6 Análise dos resultados.....	54
CAPÍTULO 3: ARTIGOS CIENTÍFICOS.....	55
ARTIGO 1: Residues of minimally processed carrot and gelatin capsules: Potential materials for packaging films.....	56
Abstract.....	57
1. Introduction.....	57
2. Materials and methods.....	59
2.1. Materials.....	59
2.2. Film preparation.....	60
2.3. Experimental design.....	61
2.4. Antioxidant properties.....	61
2.4.1. DPPH radical scavenging activity.....	61
2.4.2. Effect of films on retardation of sunflower oil primary oxidation.....	61
2.5. Film thickness and mechanical properties.....	62
2.6. Water-related properties.....	62
2.7. Light transmission and opacity.....	63
2.8. Film surface characteristics.....	63
2.9. Thermogravimetric analysis (TGA).....	63

2.10. Statistical analyses	63
3. Results and discussion	65
3.1. Full experimental design	65
3.1.1. DPPH radical scavenging capacity	66
3.1.2. Film thickness and mechanical properties	67
3.1.3. Water-related properties.....	68
3.1.4. Light transmission and opacity.....	69
3.2. Election of film formulations and complementary characterization.....	70
3.2.1. Film surface characteristics.....	71
3.2.2. Thermal stability.....	72
3.2.3. Effect of films on oxidative stability of sunflower oil.....	73
4. Conclusions	74
Acknowledgments.....	75
References.....	75
ARTIGO 2: Antioxidant films based on gelatin capsules and minimally processed beet root (<i>Beta vulgaris</i> L. var. <i>Conditiva</i>) residues	81
ABSTRACT	82
1 INTRODUCTION	82
2 EXPERIMENTAL	83
2.1 Materials.....	83
2.2 Preparation and characterization of beet root residue powder.....	84
2.3 Characterization of gelatin capsule residue	84
2.4 Film Preparation.....	84
2.5 Film Characterization.....	85
2.5.1 Thickness and mechanical properties	85
2.5.2 Moisture content and water solubility	85
2.5.3 Swelling	86
2.5.4 Water vapor permeability.....	86
2.5.5 Color parameters	86
2.5.6 Light transmission and opacity.....	86
2.5.7 DPPH radical scavenging activity	87
2.5.8 Thermal stability.....	87

2.5.9 Film surface characteristics.....	87
2.5.10 Indoor soil burial degradation	87
2.5.11 Effect of the film on the retardation of sunflower oil oxidation	88
2.5.12 Statistical analysis.....	88
3 RESULTS AND DISCUSSION.....	88
3.1 Characterization of beet root residue powder	88
3.2 Characterization of gelatin capsule residue	89
3.3 Film Characterization	90
3.3.1 Thickness and mechanical properties	90
3.3.2 Moisture content and water solubility	91
3.3.3 Swelling test.....	92
3.3.4 Water vapor permeability.....	92
3.3.5 Color parameters	93
3.3.6 Light transmission and opacity.....	94
3.3.7 DPPH radical scavenging activity	95
3.4 Selection of a film formulation	96
3.4.1 Thermal stability.....	96
3.4.2 Film surface characteristics.....	98
3.4.3 Indoor soil burial degradation	99
3.4.4 Effect of the films on the retardation of sunflower oil oxidation	100
4 CONCLUSIONS.....	102
ACKNOWLEDGMENTS	102
REFERENCES	102
CAPÍTULO 4: DISCUSSÃO GERAL, CONCLUSÕES E PERSPECTIVAS	105
DISCUSSÃO GERAL.....	106
CONCLUSÕES	110
PERSPECTIVAS	111
REFERÊNCIAS.....	112

1 INTRODUÇÃO

Embalagens alimentícias desempenham um papel importante na proteção de alimentos contra impactos físicos, na prevenção de contaminação, no aumento de vida de prateleira do produto e também transmitem informações sobre o alimento que acondicionam. O plástico é o material mais utilizado na confecção de embalagens, mas devido ao grande impacto ambiental que causam, novas tecnologias têm sido investigadas a fim de substituir materiais sintéticos não biodegradáveis.

Atualmente há uma crescente preocupação dos pesquisadores quanto ao desenvolvimento de embalagens e utilização de novos materiais renováveis e/ou biodegradáveis. Para isto, é de suma importância considerar as questões não só de custo, prazo de validade, segurança e praticidade, mas também as questões relacionadas ao meio ambiente. Conseqüentemente, materiais biodegradáveis e obtidos de recursos renováveis, como filmes e coberturas comestíveis, têm sido amplamente pesquisados com o objetivo de aumentar a vida de prateleira, melhorar a qualidade de alimentos e também reduzir o impacto ambiental negativo causado por plásticos comuns.

Os biopolímeros mais utilizados para a elaboração de filmes e coberturas biodegradáveis são os polissacarídeos, proteínas e lipídeos, empregados separadamente ou combinados. Nesse sentido, a utilização de resíduos da indústria nutracêutica representa uma ótima oportunidade para o desenvolvimento de filmes biodegradáveis, pois esse material é constituído basicamente por água, gelatina e plastificante. Esses resíduos são gerados pela produção de cápsulas gelatinosas utilizadas para encapsular compostos nutracêuticos (promotores de saúde), cuja demanda por parte dos consumidores aumentou muito nos últimos anos. Com isso, o reaproveitamento desse material colabora com a redução de impactos causados pelo amplo uso de plásticos sintéticos e com a reutilização de um material que é descartado pela indústria.

As propriedades inerentes ao material que forma o filme, do agente plastificante e dos ingredientes adicionados têm enorme influência sobre a eficiência e propriedades funcionais do filme ou cobertura comestível. A incorporação de ingredientes aos filmes, em geral, representa uma vantagem, pois a embalagem torna-se ativa, ao interagir com o alimento. Isso pode ocorrer pela adição de agentes anti-escurecimento, antioxidantes, corantes, aromas, nutrientes, especiarias, compostos antimicrobianos, dentre outros, que contribuem com a

funcionalidade do filme, aumento da vida de prateleira do produto e também reduzem o risco de contaminação por micro-organismos na superfície dos alimentos.

Nesse âmbito, uma alternativa de ingrediente natural a ser adicionado aos filmes são os resíduos agroindustriais, pois os mesmos podem proporcionar valor agregado aos mesmos, já que apresentam elevado potencial antioxidante e conteúdo de fibras e nutrientes. A adição desses subprodutos também pode cooperar com a melhoria das características funcionais do filme. Além disso, o uso de resíduos para a fabricação de filmes coopera com a redução do impacto ambiental, social e econômico.

Deste modo fica claro que a incorporação de ingredientes como resíduos agroindustriais podem permitir o aprimoramento das propriedades funcionais de filmes biodegradáveis à base de resíduos da indústria nutracêutica.

Esta dissertação está organizada na forma de capítulos. O **Capítulo 1** compreende uma revisão bibliográfica a respeito de embalagens convencionais e biodegradáveis, filmes de gelatina, reaproveitamento de resíduos, além de aspectos relacionados à caracterização dos filmes biodegradáveis. No **Capítulo 2** os materiais e métodos empregados para a realização deste trabalho são explicados detalhadamente. Os dois artigos produzidos a partir dos resultados obtidos com esta pesquisa são apresentados no **Capítulo 3**, enquanto a discussão geral e conclusão desta dissertação são apresentadas no **Capítulo 4**.

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo geral

Desenvolver filmes biodegradáveis com propriedades funcionais formulados a partir de resíduos industriais.

2.2 Objetivos específicos

- Produzir filmes biodegradáveis a partir de resíduos do processamento de cápsulas nutracêuticas gelatinosas.
- Utilizar farinhas obtidas de resíduos do processamento mínimo de cenoura e beterraba como ingrediente ativo e avaliar o efeito de sua adição nas propriedades do filme.
- Caracterizar os filmes quanto às propriedades: mecânicas (resistência à tração, porcentagem de alongação na ruptura e Módulo de Young); físico-químicas (espessura, conteúdo de umidade, solubilidade em água e *swelling*); de barreira (permeabilidade ao vapor d'água e transmitância); ópticas (opacidade e cor); térmica; estrutural; antioxidantes (inibição do radical DPPH e efeito do filme na estabilidade de óleo de girassol); e de biodegradabilidade.

CAPÍTULO 1: REVISÃO DA LITERATURA

3 REVISÃO

3.1 Embalagens alimentícias

3.1.1. Embalagens convencionais

Atualmente, a maior parte dos produtos alimentícios disponíveis no mercado apresenta-se em uma ou mais das três principais categorias de embalagens encontradas: a primária, que fica em contato direto com o produto; a secundária, destinada ao condicionamento dos produtos armazenados em sua embalagem primária; e a terciária, utilizada para auxiliar no transporte de grandes quantidades de produtos agrupados em embalagens primárias ou secundárias (DAVIS & SONG, 2006).

As embalagens alimentícias desempenham um papel importante na preservação e proteção de alimentos e matérias-primas, com atuação principalmente contra deterioração oxidativa e microbiana (THARANATHAN, 2003). Além disso, a embalagem serve para fornecer informações sobre o produto, assegurar que a identidade do produto seja facilmente reconhecida, otimizar custos de distribuição e armazenamento, proporcionar comodidade, praticidade e segurança aos consumidores, e como ferramenta para estratégias de marketing e vendas. Para isso, diversos materiais são utilizados para a produção de embalagens, como metais, vidro, madeira, papel e plásticos, que são empregados separadamente ou ainda combinados para formar os compósitos (DAVIS & SONG, 2006).

Dentre os materiais disponíveis, o plástico é amplamente utilizado para satisfazer aos quesitos desejados, devido ao baixo custo, qualidades estéticas, conveniência e propriedades mecânicas (GÓMEZ & MICHEL JR., 2013). Estima-se que em 2012 a produção global de plásticos alcançou 288 milhões de toneladas. Na Europa, o setor de embalagens representa a maior demanda de plásticos (39,4%) (PLASTICS, 2013) e segue a tendência mundial em que 30,4% da produção total de plástico é destinada ao uso por indústrias de embalagens, sendo 47% desse total utilizado por indústrias alimentícias (FOMIN & GUZEEV, 2001). De acordo com a Associação Brasileira da Indústria do Plástico (2013), a produção de plástico no Brasil em 2012 foi de aproximadamente 6 milhões de toneladas, o que equivale a 2,0% do volume produzido mundialmente. O setor de alimentos e bebidas, assim como o da construção civil,

representa 16% do consumo de transformados plásticos e ambos os segmentos industriais lideram o uso do material no país.

Os plásticos mais utilizados na confecção de embalagens e que estão presentes diariamente no cotidiano são o polietileno (PE), polipropileno (PP), polietileno tereftalato (PET) e poliamida (PA) (PEELMAN et al., 2014). Esses materiais são derivados do petróleo e utilizados na forma de filmes, folhas, garrafas, copos, bandejas, potes, dentre outros (RHIM, PARK & HA, 2013). Entretanto, o uso de polímeros sintéticos para a fabricação de embalagens tornou-se uma fonte de preocupação mundial devido ao fato de serem não biodegradáveis e causarem impactos negativos ao meio ambiente. Além disso, o constante aumento do preço do petróleo contribuiu para o crescente interesse por parte das indústrias do setor no desenvolvimento de embalagens alternativas e mais sustentáveis (PEELMAN et al., 2014).

3.1.2 Embalagens e filmes biodegradáveis

Os dois principais propósitos do desenvolvimento de embalagens biodegradáveis são substituir o petróleo bruto por fontes renováveis e mais sustentáveis e facilitar abordagens integradas de gestão de resíduos, com o intuito de reduzir áreas de aterro. O processo de biodegradação depende de vários fatores, tais como atividade microbiana do ambiente, área da superfície do polímero, temperatura, pH, oxigênio, umidade, nutrientes, minerais e sais, peso molecular e cristalinidade do polímero. Solos com estruturas mais compactas, como os aterros, tendem a ser mais anaeróbicos e produzir menores taxas de degradação, o que torna a compostagem o processo mais adequado para o seu tratamento (DAVIS & SONG, 2006; NAYAK, 1999).

A aplicação de polímeros biodegradáveis de fontes renováveis em filmes e revestimentos comestíveis tem sido amplamente estudada, devido às vantagens ambientais e também pela capacidade de aprimorar a qualidade dos alimentos (WIHODO & MORARU, 2013). A biodegradação é um processo biológico em que substâncias orgânicas são fragmentadas por organismos vivos e convertidas em substâncias naturais como dióxido de carbono, metano, água e biomassa (GROSS & KALRA, 2002; SHAH et al., 2008). Desse modo, materiais biodegradáveis têm ganhado interesse e destaque a fim de servirem como

alternativa aos plásticos tradicionalmente empregados em indústrias alimentícias (PEELMAN *et al.*, 2013).

Os polímeros biodegradáveis são classificados de acordo com três principais categorias: poliésteres produzidos por micro-organismos, como os poli-hidroxicanoatos bacterianos (PHA's); polímeros sintéticos, principalmente poliésteres alifáticos, como poli (ϵ -caprolactona) (PCL), ácido polilático (PLA), polibutileno de succinato (PBS); e biopolímeros naturais (OKADA, 2002). Os biopolímeros naturais mais usados para o desenvolvimento de filmes biodegradáveis são proteínas, polissacarídeos e lipídios, que podem ser aplicados separadamente ou em conjunto (VARGAS *et al.*, 2008). De acordo com Tharanathan (2003), diferentes fontes de materiais já foram empregadas na produção de filmes, como colágeno/gelatina, zeína, soja, glúten, quitina/quitosana, celulose, fibras, amidos, pectina, gomas, cera de abelha, cera de carnaúba, ácidos graxos, dentre outros.

Os filmes biodegradáveis são estruturas membranosas finas pré-formadas e são utilizados após serem produzidos separadamente, enquanto para o caso de revestimentos e coberturas, este filme fino é formado diretamente sobre o alimento. Em geral, os filmes são produzidos pela técnica de *casting*, que consiste em despejar a solução filmogênica em um recipiente adequado e depois secá-la. Técnicas empregadas para produção de polímeros sintéticos, como extrusão e sopro, geralmente não são empregadas para o desenvolvimento de filmes biodegradáveis a partir de biopolímeros naturais, pois eles não têm pontos de fusão definidos e sofrem decomposição por aquecimento (THARANATHAN, 2003). Entretanto, alguns estudos recentes produziram com sucesso filmes biodegradáveis de gelatina por extrusão e/ou moldagem por compressão (KRISHNA, MINDO & MIN, 2012; NUR HANANI *et al.*, 2014).

Além das vantagens ambientais, esses materiais podem apresentar benefícios adicionais quanto às propriedades físicas e mecânicas, barreiras seletivas de umidade, solutos e gases quando comparados às embalagens comumente utilizadas em alimentos (GUILBERT, GONTARD & GORRIS, 1996). Esse efeito positivo também pode ser otimizado pela incorporação de agentes em matrizes biopoliméricas de filmes, que tem sido o foco do desenvolvimento de embalagens ativas, em que os materiais resultantes interagem com o alimento, corrigem deficiências das embalagens passivas e agem favoravelmente na preservação e na qualidade do alimento (LÓPEZ-DE-DICASTILLO *et al.*, 2010).

O conceito de embalagens ativas foi introduzido e definido ainda na década de noventa como o tipo de embalagem que interage com o alimento a fim de estender sua vida de prateleira, melhorar as propriedades de segurança e sensoriais e manter a qualidade do produto embalado (VERMEIREN et al., 1999). Esses ingredientes adicionados aos filmes são reconhecidamente seguros (Generally Recognized As Safe –GRAS) e aplicados para diferentes finalidades, tais como agentes antimicrobianos, antioxidantes, nutracêuticos, anti-escurecimento, dentre outros (LEE et al., 2003; ROJAS-GRAÜ, SOLIVA-FORTURY & MARTÍN-BELLOSO, 2009).

3.1.3 Filmes biodegradáveis de gelatina

O interesse no desenvolvimento de embalagens biodegradáveis tem aumentado nos últimos anos, principalmente devido a questões ambientais e pela possibilidade de substituírem polímeros sintéticos. Desde então, a utilização de biopolímeros de fontes renováveis tornou-se uma alternativa para a fabricação de embalagens, e as proteínas têm sido largamente estudadas como fonte de material para a formação de filmes biodegradáveis. Alguns exemplos de proteína utilizados com êxito para a produção de filmes biodegradáveis são: proteína isolada do soro de leite, proteína isolada de soja, glúten, zeína, albumina e gelatina (WIHODO & MORARU, 2013).

Dentre as proteínas, a gelatina tem sido amplamente utilizada no desenvolvimento de filmes biodegradáveis devido ao seu alto potencial para aplicação comercial como filmes para embalagens alimentícias (NUR HANANI, ROOS & KERRY, 2014); ela é obtida a partir da desnaturação do colágeno presente em ossos, pele e tendões animais. A estrutura de colágeno consiste de três cadeias distintas de polipeptídios estabilizadas na forma de uma tripla hélice principalmente por ligações de hidrogênio intra- e intermoleculares, interações de van der Waals, e ligações cruzadas covalentes. As ligações de hidrogênio podem ser tanto entre os grupos de CO e NH ou entre dois grupos de dois CO da cadeia polipeptídica. Cada uma das cadeias polipeptídicas consiste da repetição sequencial de três aminoácidos, Gly-Xaa-Yaa, onde Gly é glicina, e Xaa e Yaa podem ser qualquer resíduo de aminoácido, mas em geral são prolina e hidroxiprolina. A obtenção da gelatina mantém a estrutura primária da proteína, mas envolve o rompimento total ou parcial da estrutura de tripla hélice e da estrutura secundária,

provocados pelo rompimento das ligações de hidrogênio e dando origem a uma estrutura mais desordenada e amorfa (GHOSHAL et al., 2010).

Diferentes fatores podem influenciar as propriedades funcionais e térmicas, e a capacidade da gelatina de formar filme, dentre eles: origem da espécie (mamífero, peixe de água fria, peixe de água quente); parte do animal que forneceu o colágeno (ossos, pele, tendões); idade do animal (afetam as ligações cruzadas do colágeno); e severidade do processo de extração (pH, temperatura) (GÓMEZ-ESTACA et al., 2009a). Apesar das principais fontes de gelatina serem pele e ossos de suínos e bovinos, a gelatina de peixe tem demonstrado ser uma alternativa devido ao seu alto teor de colágeno (WU et al., 2013).

Agentes plastificantes como sorbitol e glicerol são geralmente adicionados a fim de aumentar a flexibilidade e reduzir a fragilidade do filme, e o efeito da adição de diferentes plastificantes foi investigado por Bergo e Sobral (2007) em filmes de gelatina de pele de porco, e por Cao, Fu e He (2007) em filmes de gelatina de osso bovino. Além disso, o potencial uso de hidrolisados de gelatina como agente plastificante foi constatado ao ser incorporado em filmes de proteína miofibrilar de peixe (NUANMANO, PRODPRAN & BENJAKUL, 2015).

A utilização de filmes de gelatina apresenta características vantajosas como biodegradabilidade, biocompatibilidade e plasticidade (GÓMEZ-ESTACA et al., 2009b). Além disso, a gelatina oferece proteção aos alimentos da ação da luz, oxigênio e umidade (GÓMEZ-GUILLÉN et al, 2009). Entretanto, devido ao caráter hidrofílico da gelatina, a propriedade de barreira ao vapor de água dos filmes compostos por essa proteína é desfavorável, uma vez que se deve considerar que para a maioria dos alimentos pouco úmidos é necessária que essa propriedade apresente valores baixos a fim de manter as características do produto. Com o objetivo de reverter essa situação e também para aprimorar suas diversas propriedades, diferentes estratégias têm sido desenvolvidas, dentre elas: *crosslinking*, filmes laminados, blendas, e compósitos com nanomateriais e fibras naturais (MARTUCCI & RUSECKAITE, 2010).

Weng e Zheng (2015) estudaram o efeito de transglutaminase e proteína isolada de soja nas propriedades de filmes de gelatina de escamas de tilápia e constataram melhoria nas propriedades de barreira ao vapor de água. Filmes de gelatina de peixe de água fria tiveram suas propriedades mecânicas melhoradas pela adição de nanopartículas de quitosana (HOSSEINI et al., 2015), enquanto outro estudo relatou melhoria nas propriedades físico-

químicas pela adição de quitosana de alto peso molecular e alto grau de desacetilação em filmes de gelatina de peixe (LIU et al., 2012). A adição de nanofibras e nanocristais de celulose melhoraram as propriedades térmicas e de barreira ao oxigênio de filmes de gelatina de pele de porco (MONDRAGON et al., 2015).

O desenvolvimento de biocompósitos pela incorporação de fibras naturais também pode cooperar com o aprimoramento das propriedades de filmes gelatinosos. As desvantagens das propriedades mecânicas de fibras naturais têm sido estudadas para maximizar o seu potencial como uma alternativa às fibras sintéticas (AZWA et al., 2013). As fibras naturais obtidas de plantas mais comercializadas e utilizadas em materiais compósitos poliméricos são de: bambu, juta, kenaf, linho, sisal, cânhamo, coco, rami, abacá, bagaço de cana e gramíneas. Em geral, são empregadas como agentes de preenchimento e reforçadores, e são classificadas em seis principais categorias: fibras de entrecasca (juta, linho, cânhamo, rami e kenaf), fibras de folhas (abacá, sisal e abacaxi), fibras de sementes (fibra de coco, algodão e sumaúma), fibras de núcleo (kenaf, cânhamo e juta), fibras de gramíneas (trigo, milho e arroz) e todos os outros tipos (madeira e raízes) (FARUK et al., 2012).

Outras estratégias também têm sido empregadas aos filmes biodegradáveis a fim de torná-los mais competitivos e com características otimizadas, como a adição de ingredientes ativos antioxidantes e antimicrobianos. A incorporação de porcentagens crescentes de gelatina hidrolisada em filmes de gelatina de pele de lula resultou em aumento da atividade antioxidante dos filmes, medido por análises de FRAP e ABTS (GIMÉNEZ et al., 2009). Li e colaboradores (2014) também avaliaram essa propriedade e obtiveram filmes antioxidantes de gelatina de pele carpa pela adição de extratos naturais de chá verde, semente de uva, gengibre e folha de ginkgo. Outro estudo investigou o efeito de óleos essenciais de gengibre, açafraão-da-terra e plai nas propriedades de filme de gelatina de pele de tilápia e obtiveram filmes com atividade antioxidante (TONGNUANCHAN, BENJAKUL & PRODPRAN, 2013).

3.2 Aproveitamento de resíduos da indústria nutracêutica

Segundo Singh e Gujar (2013), a indústria nutracêutica é dinâmica e está em pleno desenvolvimento, o que oferece a oportunidade de unir o interesse do consumidor em alimentos que melhoram a saúde com as possíveis descobertas científicas nesse setor. De fato, o crescimento explosivo do mercado nutracêutico pode ser acompanhado desde o início dos

anos 90, o que culminou com a origem de uma indústria multimilionária (CRANDELL, 2001).

De acordo com Zeisel (1999), nutracêuticos são “suplementos dietéticos que proporcionam uma forma concentrada de agentes bioativos obtidos de alimentos, apresentados em uma matriz não alimentícia, e usados para melhorar a saúde em quantidades que excedem aquelas que poderiam ser obtidas a partir de alimentos comuns”. A comercialização de compostos bioativos (lipídios, vitaminas, proteínas, glicosídeos, compostos fenólicos, etc.) ocorre na forma de comprimidos, cápsulas, soluções, géis, licores, pós, granulados, dentre outros (PALTHUR, M.; PALTHUR, S. & CHITTA, 1999).

Devido às características vantajosas que a gelatina apresenta, cápsulas gelatinosas são amplamente utilizadas como forma de dosagem oral de compostos nutraceuticos (PODCZECK & NEWTON, 1999; ZHANG et al., 2013). Entretanto, o método de encapsulamento ocasiona a geração de aparas (rebarbas) durante o processamento, que resulta em grande quantidade de resíduos. Esse resíduo não é reaproveitado pela indústria nutracêutica, e além dos impactos ambientais, ocasiona gastos com a gestão do tratamento e depósito do material. Por outro lado, a sua composição é de grande interesse para a formação de filmes e revestimentos biodegradáveis, pois é formado principalmente por água, plastificante e gelatina.

Desse modo, o aproveitamento de resíduos provenientes da indústria nutracêutica representa uma redução no impacto ambiental, econômico e social que os mesmos poderiam causar. Além disso, dados da literatura indicam que a gelatina, proteína constituinte do resíduo, apresenta capacidade de formar filmes e de aplicação em revestimentos para proteger alimentos (BIGI, 2000; GÓMEZ-GUILLÉN *et al.*, 2011).

3.3 Aproveitamento de resíduos da agroindústria

Estima-se que 1,3 bilhão de toneladas (um terço da produção total) da produção de alimentos destinada ao consumo humano são desperdiçadas anualmente, (GUSTAVSSON *et al.*, 2011), o que causa impacto econômico, social e ambiental (VANDERMEERSCH *et al.*, 2014). A fim de reverter essa situação, a busca pela reutilização de resíduos alimentícios dentro da cadeia produtiva aumentou e o termo “subproduto alimentício” passou a substituir o termo “resíduo alimentar” quando o mesmo oferece recuperação de compostos funcionais e

possibilidade de desenvolvimento de novos produtos com valor agregado (GALANAKIS, 2012).

Os resíduos gerados pelo processamento de frutas e vegetais são os mais investigados quanto à obtenção de compostos antioxidantes e fibras dietéticas (GALANAKIS, 2012). Diversos estudos têm relatado a extração de compostos bioativos a partir de subprodutos como: de polpa de frutas tropicais brasileiras (abacaxi, acerola, cajá, caju, goiaba, graviola, mamão, manga, maracujá, pitanga, sapoti e tamarindo) (SILVA *et al.*, 2014), tâmara (MARTÍN-SÁNCHEZ *et al.*, 2014), frutas cítricas (CHINAPONGTITIWAT *et al.*, 2013), tomate (NAVARRO-GONZÁLEZ *et al.*, 2011), etc. A obtenção de fibras dietéticas a partir de resíduos como: de cereja (BASANTA *et al.*, 2014), maçã, uva, limão, manga, laranja pêra, cenoura, couve-flor, cebola, batata, tomate (O'SHEA, ARENDT & GALLAGHER, 2012), processamento de suco de laranja (CRIZEL *et al.*, 2013), dentre outros, também tem sido pesquisada.

Diferentes alternativas para a aplicação de resíduos agroindustriais têm sido investigadas, dentre elas a elaboração de filmes biodegradáveis, que pode contribuir para o desenvolvimento sustentável dessa tecnologia (AREVALO *et al.*, 2009). Alguns estudos relatam a obtenção de filmes biodegradáveis a partir de resíduos agroindustriais, como casca de batata (KANG & MIN, 2010) e casca de maçã (SABLANI *et al.*, 2009); ou a partir da combinação desses resíduos com biopolímeros, como amido e casca de maracujá (NASCIMENTO, CALADO & CARVALHO *et al.*, 2012) e álcool polivinílico com resíduos da indústria láctea (SEDLAŘÍK *et al.*, 2007).

Além das tradicionais fibras naturais já empregadas como agentes reforçadores, alguns estudos relataram a obtenção de materiais fibrosos a partir de resíduos vegetais e sua combinação com materiais biopoliméricos. Filmes de amido de milho e pectina de casca de laranja foram produzidos e demonstraram boas propriedades de barreira quando comparados a filmes de polietileno (ÇOKAYGIL, BANAR & SEYHAN, 2014). Versino, López e García (2015) elaboraram biocompósitos de amido termoplástico reforçados com fibras de casca e bagaço de mandioca, enquanto Schettini e colaboradores (2013) utilizaram fibras de casca e semente de tomate e de cânhamo como reforçadoras de matriz polimérica de alginato de sódio.

O potencial efeito reforçador das fibras naturais em materiais sintéticos também tem sido investigado. A combinação de bagaço de cana-de-açúcar e álcool polivinílico (PVA) foi

investigada em filmes, devido ao conteúdo de celulose, hemicelulose e lignina presente neste subproduto da indústria açucareira (SHEN, GHASEMLOU & KAMDEM, 2014). A utilização de fibra de casca de abacaxi foi empregada como agente reforçador em compósitos de polipropileno, a fim de proporcionar uma taxa, ainda que pequena, de biodegradabilidade ao material (CHATTOPADHYAY et al., 2011). A fim de substituir fibra de madeira, pesquisadores estudaram o potencial de utilizar fibras obtidas de resíduos agroindustriais de trigo e milho como agentes reforçadores em compósitos de polietileno de alta densidade e demonstraram que a fibra de palha de trigo resultou em polímeros com propriedades mecânicas similares aos gerado pela adição de fibra de madeira (PANTHAPULAKKAL & SAIN, 2007).

3.4 Caracterização dos filmes biodegradáveis

A utilização de filmes biodegradáveis destina-se principalmente à proteção do alimento e prolongamento de sua vida de prateleira. Porém, outros requisitos são imprescindíveis como: propriedades sensoriais aceitáveis, estabilidade bioquímica, físico-química e microbiológica adequada, ausência de substâncias tóxicas e segurança do filme (DEBEAUFORT, QUEZADA-GALLO & VOILLEY, 1998).

As características desejáveis para compor filmes proteicos para aplicação em embalagens alimentícias são força, elasticidade e permeabilidade a gases e a água baixas. Diversos métodos têm sido estudadas com o objetivo de melhorar as características de filmes proteicos, dentre elas a utilização de agentes plastificantes, alteração de pH, adição de lipídios, formação de biocompósitos e técnicas de ligação-cruzada induzida por calor, químicos, enzimas e irradiação (WIHODO & MORARU, 2013).

As propriedades físicas e químicas do biopolímero têm grande influência sobre a funcionalidade do filme (SOTHORNVIT & KROCHTA, 2000). Conforme apresentado na Tabela 1, a avaliação da eficácia do filme pode ser realizada através da medição de parâmetros no produto revestido ou do próprio filme. Os principais parâmetros para a caracterização de filmes serão descritos e discutidos.

Tabela 1- Parâmetros de avaliação de produtos revestidos por filmes e filmes em si.

	- perda de água;
	- taxa de respiração;
	- textura;
Parâmetros de avaliação do produto revestido.	- cor;
	- avaliação microbiológica;
	- pH;
	- acidez total;
	- conteúdo de sólidos solúveis
	- propriedades mecânicas;
	- propriedades de barreira;
Parâmetros de avaliação do filme em si.	- umidade, solubilidade e espessura;
	- aderência do filme;
	- morfologia;
	- opacidade;
	- propriedades térmicas, etc.

Fonte: Adaptado de Lin & Zhao (2007).

3.4.1 Propriedades mecânicas

Com o intuito de manter a integridade do produto durante manuseio e armazenamento, os materiais utilizados na fabricação de filmes devem apresentar adequadas propriedades mecânicas, tais como deformabilidade, resistência à tração, porcentagem de alongação e Módulo de Young (WIHODO & MORARU, 2013). As propriedades mecânicas de filmes biodegradáveis dependem tanto da sua composição quanto das condições ambientais em que se encontram.

Em geral, filmes de gelatina são frágeis e susceptíveis a rachar devido a uma forte densidade de energia de coesão do polímero (ARVANITTOYANNIS, NAKAYAMA & AIBA, 1998). A resistência à tração e a porcentagem de alongação são muito importantes e estudadas, pois a primeira expressa a máxima tração desenvolvida pelo filme no teste, enquanto a segunda expressa a habilidade do filme em se estender (GONTARD *et al.*, 1994).

A fim de melhorar as características mecânicas de filmes, a adição de agentes plastificantes pode cooperar com o aumento da porcentagem de alongação e diminuição da resistência à tração (SOTHORNVIT & KROCHTA, 2001). Usualmente, quanto maior o teor de polímero na solução filmogênica, maior é a resistência. Enquanto a deformação está diretamente relacionada com o conteúdo de plastificante (GIMÉNEZ *et al.*, 2013).

Independentemente do tipo de biopolímeros utilizado na produção do filme, variações nas propriedades mecânicas dos filmes também podem ser controladas pela composição e diversidade dos compostos químicos nos extratos de plantas utilizados (WANG *et al.*, 2012). Giménez e colaboradores (2013) avaliaram o efeito da adição de extrato de chá verde nas características mecânicas de filmes de ágar e ágar-gelatina e observaram que houve redução da porcentagem de alongação e resistência à tração quando comparados a filmes sem o extrato. Hong, Lim e Song (2009) também analisaram a influência de extrato de chá verde e extrato de semente de uva, porém relataram que houve aumento de resistência à tração dos filmes de gelatina incorporados com os compostos fenólicos.

Em um estudo realizado por Noronha e colaboradores (2014) a adição de suspensão de nanopartículas de α -tocoferol a filmes de metilcelulose causou diminuição da resistência à tração, mas aumentou a porcentagem de alongamento na ruptura. A incorporação de nanopartículas ao filme afetou significativamente a resistência mecânica e extensibilidade dos filmes, sugerindo que a adição de substâncias hidrofóbicas modificou as suas interações com os agentes de formação da solução filmogênica

A adição de enzimas, como a lisozima, geralmente enfraquecem a estrutura e integridade do filme. A resistência à tração e porcentual de alongação diminuíram com o aumento da concentração de lisozima em filmes de quitosana (PARK, DAESCHEL & ZHAO, 2004). Entretanto, a incorporação de 1 % de lisozima a filmes de caseinato de sódio não demonstrou um efeito significativo sobre as propriedades mecânicas (SOUZA *et al.*, 2010).

Outra estratégia para reforçar propriedades mecânicas de filmes biodegradáveis é o desenvolvimento de biocompósitos através da utilização de fibras naturais na composição da matriz polimérica. Fibras obtidas de cânhamo, kenaf, juta, sisal e bambu são alguns exemplos que tem sido estudados devido as suas propriedades mecânicas e potenciais contribuições para materiais compósitos (AZWA *et al.*, 2013).

3.4.2 Propriedades físico-químicas

Dentre as propriedades físico-químicas de filmes biodegradáveis, a espessura, umidade, solubilidade em água e *swelling* são de extrema importância para determinação da funcionalidade e aplicação dos filmes como embalagem alimentícia. A espessura do filme pode afetar outras propriedades, como permeabilidade ao vapor de água e gás, propriedades mecânicas e opacidade. Cuq et al. (1996) estudaram o efeito da espessura em filmes elaborados a partir de proteína miofibrilar e constataram uma relação diretamente proporcional entre a espessura e a tração de ruptura dos filmes, enquanto as propriedades ópticas e solubilidade em água não foram alteradas. Eles atribuíram esses resultados às variações no número de potenciais interações intermoleculares dos filmes. A espessura de filmes elaborados pela técnica de *casting* a partir de uma mesma formulação depende da concentração (g/cm^2) de solução filmogênica depositada no recipiente e podem ser afetados pelo tempo e temperatura de secagem utilizados.

O conteúdo de umidade é um parâmetro relacionado com o volume vazio total ocupado por moléculas de água na rede microestrutural do filme enquanto a solubilidade é relacionada com a hidroflicidade do material (JIANG *et al.*, 2010). A solubilidade do filme em água é uma propriedade importante, pois a possível aplicação do filme pode requerer insolubilidade em água a fim de aumentar a integridade do produto e a resistência à água. Porém em outros casos, a solubilidade é desejável e benéfica ao produto revestido, como por exemplo, em produtos prontos para o consumo (PÉREZ-GAGO, NADAUD & KROCHTA, 1999). Devido ao caráter hidrofílico da gelatina, filmes compostos por essa proteína geralmente apresentam alto nível de solubilidade em água (MUÑOZ *et al.*, 2012).

Outra característica físico-química de interesse é o “inchamento”, (do inglês *swelling*), relacionada à quantidade de água que um filme seco absorve após um determinado período de tempo. Geralmente, a ocorrência acentuada desta propriedade proporciona redução na qualidade de propriedades mecânicas (MU *et al.*, 2012). Devido ao caráter hidrofílico de filmes gelatinosos, eles tendem a apresentar altas taxas de absorção de água em condições muito úmidas, o que pode ser desvantajoso ao considerar sua aplicação como embalagem alimentícia (NAGARAJAN *et al.*, 2014).

3.4.3 Propriedades de barreira

O desenvolvimento de filmes e coberturas são planejados a fim de otimizar as propriedades de barreira e, assim, contribuir para proteção contra impactos físicos /mecânicos, reações químicas e invasão de micro-organismos. Essas propriedades dependem da composição química e da estrutura dos polímeros da matriz, das características do produto em que o filme é aplicado e das condições de armazenamento (LACROIX, 2009). As propriedades de barreira a gases como oxigênio, dióxido de carbono, etileno e voláteis são necessárias a fim de reduzir a taxa de respiração de produtos frescos e prevenir a perda de aromas e compostos flavorizantes para o ambiente (LIN & ZHAO, 2007).

A propriedade de barreira ao vapor de água é um importante fator para a seleção de filme para recobrimento de alimentos (JEON, KAMIL & SHAHIDI, 2002). Segundo relatado por Ahmad et al. (2015), essa propriedade depende de diversos fatores, como espessura, integridade da matriz polimérica, hidrofobicidade e interação entre os grupos funcionais dos polímeros, sendo que a presença de muitos grupos hidroxila (-OH) propiciam a transmissão de vapor de água. Em geral, filmes de gelatina apresentam uma fraca barreira ao vapor de água devido ao seu caráter hidrofílico e por isso, o uso de tratamentos químicos ou físicos é comumente utilizado com o intuito de modificar a rede polimérica através de ligações cruzadas para melhorar a funcionalidade do filme (CAO, YANG & FU, 2009).

3.4.4 Propriedades ópticas

A aparência do filme pode ser determinada através de suas propriedades ópticas através da avaliação da cor de sua superfície, em geral medida por um colorímetro, e da determinação da opacidade por método espectrofotométrico (GARCÍA et al., 2009). Comumente, a definição de cor por colorímetros envolve a determinação de parâmetros de cor CIE $L^*a^*b^*$, onde L^* é a luminosidade, com variação de 0 (preto) a 100 (branco); a^* , do verde (-) ao vermelho (+); e b^* , do azul (-) ao amarelo (+). A diferença de cor em comparação a um padrão, como uma placa branca, também pode ser efetuada.

A transparência ou opacidade de filmes é medida através da sua transmitância interna. Quanto maior o valor de transmitância, mais transparente é o filme e maior a ação da luz sobre a oxidação e degradação de compostos nutricionais do alimento revestido.

Conseqüentemente, a transmitância empregada no cálculo da opacidade também está relacionada com propriedades de barreira à luz em comprimentos de onda ultravioleta e visível. Com isso, filmes opacos ou que contenham ingredientes que absorvam luz no espectro UV-Vis, como compostos antioxidantes, são uma alternativa a fim de prevenir essas reações (SILVA-WEISS *et al.*, 2013). A opacidade da matriz polimérica é inversamente proporcional à sua transparência e depende de sua homogeneidade. A presença de heterogeneidades estruturais nos filmes com diferentes índices de refração promove espelhamento de luz e conseqüente maior opacidade (PASTOR *et al.*, 2013).

3.4.5 Estabilidade térmica

Uma das técnicas mais empregadas para avaliar a estabilidade térmica de filmes biodegradáveis é a análise termogravimétrica (TGA), que indica a perda de massa de um pequeno pedaço do material com o aumento da temperatura; é comum realizar essa análise a partir da temperatura ambiente até alcançar em torno de 600-650 °C, e os dados são apresentados em forma de gráfico para relacionar perda de massa (%) × temperatura (°C). A correspondente derivada do gráfico obtido auxilia na identificação das temperaturas de degradação (Td) e perda de massa (Δw) referente a cada estágio de perda de massa observado.

Para filmes de gelatina, é comum observar a ocorrência de três estágios de perda de massa, como relatado para filmes de gelatina de pele de lula (NAGARAJAN *et al.*, 2013) e de gelatina de pele de tilápia (TONGNUANCHAN *et al.*, 2015). O primeiro estágio é relacionado com a perda de água livre (até aproximadamente 150 °C); o segundo é associado com a perda de glicerol ou outro agente plastificante, proteína de menor peso molecular e água ligada (em torno de 180-240°C); enquanto no terceiro estágio ocorre a perda de proteína de maior peso molecular (acima de 300 °C).

3.4.6 Propriedades estruturais

As propriedades estruturais estão relacionadas às propriedades mecânicas e de barreira que o filme apresenta, e são influenciadas pela composição e processamento do filme (HERNANDEZ-IZQUIERDO & KROCHTA, 2008). Elas também dependem de fatores como: proporção entre zonas cristalinas e amorfas, mobilidade da cadeia polimérica, e

interações específicas entre os grupos funcionais dos polímeros e a substância permeante dentro das zonas amorfas. Técnicas comuns usadas para elucidar a estrutura de filmes incluem microscopia eletrônica de varredura (MEV/SEM), difração de raios X, calorimetria diferencial de varredura (DSC), análise termomecânica (TMA), análise dinâmico-mecânica (DMA) e espectroscopia de infravermelho por Transformada de Fourier (FTIR) (GARCÍA et al., 2009).

O estudo da microestrutura e da interação dos componentes do filme é importante pois fornece informações a respeito das possíveis relações entre as diferentes propriedades físicas. A presença de grandes poros dentro da estrutura de filmes resulta em elevada barreira ao vapor de água (WAN, KIM & LEE, 2005) enquanto defeitos como buracos pontuais e rachaduras podem destruir a capacidade barreira do filme (DEBEAUFORT, QUEZADA-GALLO & VOILLEY, 1998).

A técnica de MEV é amplamente utilizada para analisar a morfologia de filmes biodegradáveis, através da geração de imagens que possibilitam a observação microscópica da superfície e da seção transversal dos filmes. Através desse ensaio, Li e colaboradores (2014) observaram que a superfície dos filmes controle de gelatina era homogênea, sem áreas quebradiças ou bolhas, enquanto o filme incorporado de antioxidantes naturais apresentou superfície heterogênea e porosa. O mesmo método foi utilizado por Wu et al. (2014) para investigar as propriedades estruturais de filmes de gelatina-quitosana incorporados de óleo essencial de orégano (OEO). O estudo constatou que o filme de gelatina-quitosana sem OEO apresentou superfície lisa e homogênea e seção transversal uniforme e compacta. A adição de OEO tornou a superfície relativamente lisa, com inchaços sobre a superfície, enquanto a seção transversal do filme tornou-se mais áspera e apresentou muitas gotículas de OEO, o que indicou a incompatibilidade do OEO com as moléculas de gelatina e quitosana que deram origem a uma estrutura descontínua.

3.4.7 Propriedades antioxidantes

O oxigênio tem efeito deteriorante na qualidade de grande variedade de produtos alimentícios. Alimentos ricos em ácidos graxos poli-insaturados, como os óleos vegetais, tendem a sofrer o processo de oxidação. A aplicação nesses produtos de filmes e coberturas incorporados de agentes antioxidantes em sua formulação representa uma oportunidade para

resolver esse problema. Além disso, filmes com caráter hidrofílico, como no caso dos gelatinosos, tendem a apresentar boa barreira à permeabilidade de oxigênio, o que também contribui para reduzir os efeitos oxidativos ao produto embalado (BERTON-CARABIN et al., 2013; BONILLA et al., 2012).

A incorporação de agentes bioativos na matriz polimérica de filmes é um dos principais focos do desenvolvimento de embalagens ativas e visa a melhorar a qualidade, segurança e vida de prateleira do alimento embalado (LÓPEZ-DE-DICASTILLO, et al., 2010). A eficiência antioxidante dos filmes biodegradáveis tem sido testada através de diferentes métodos, como de: radical 2,2-difenil-1-picril-hidrazila (DPPH), radical N-dietil-p-fenilenodiamina (DPD), poder redutor de íons ferro (FRAP), radical 2,2'-azinobis (3-etil-benzotiazolino-6-ácido sulfônico) (ABTS) e compostos fenólicos totais. Métodos de captura de radical são comumente empregados, como DPPH, DPD, FRAP e ABTS, e determinam a capacidade de um agente antioxidante presente na matriz polimérica do filme em interceptar radicais livres. Outros métodos envolvem a quantificação de compostos específicos com atividade antioxidante reconhecida, como no caso da determinação dos compostos fenólicos totais (BONILLA et al., 2012).

Diversos estudos tem investigado o efeito da adição de agentes antioxidantes em filmes biodegradáveis. Ramos et al. (2014) investigaram o efeito da adição de timol em filmes de ácido polilático modificados com argila por DPPH e constataram que os biocompósitos desenvolvidos tem potencial de aplicação como filmes antioxidantes. Filmes de gelatina de pele de peixe adicionados de óleos essenciais cítricos foram investigados por DPPH, ABTS e FRAP em um estudo realizado por Tongnuanchan, Benjakul e Prodran (2012), que concluíram que a adição de óleo essencial de limão originou o filme com maior efeito antioxidante. A adição de extratos naturais, como de bagaço de uva, em filmes de quitosana resultou em filmes com atividade antioxidante constatada por diferentes métodos, como ABTS, DPPH e FRAP (Ferreira et al. 2014).

Os métodos acima descritos avaliam a atividade antioxidante dos filmes em si. Entretanto, outras metodologias podem ser empregadas em conjunto a fim de aprofundar o entendimento da ação dos filmes ativos em proteger o alimento de interesse, em que o filme é aplicado e fica em contato com alimentos que tendem a sofrer o processo de oxidação. Nesse caso, a ação antioxidante dos filmes é averiguada através de testes executados no próprio alimento, a fim de avaliar sua qualidade e vida de prateleira e se a embalagem teve efeito em

proteger o alimento da oxidação. A determinação do índice de peróxidos é um dos métodos mais empregados na avaliação da qualidade de óleos vegetais, e sua medida indica o estágio de oxidação primária do óleo, que pode facilmente levar para outros estágios de rancificação (PIZARRO et al., 2013; YANG et al., 2014).

Testes em condições aceleradas são muitas vezes empregados a fim de reduzir o tempo gasto com o experimento e poder avaliar a estabilidade de óleos e gorduras de forma mais rápida, já que processos como a auto-oxidação ocorrem vagarosamente em condições normais de armazenamento. A aceleração das condições pode ser feita com o uso de temperaturas mais altas, catalisadores metálicos, aumento da pressão parcial de oxigênio ou balanço contínuo para aumentar o contato entre reagentes. Além do índice de peróxidos, outros testes podem ser empregados para avaliar a estabilidade oxidativa do produto, como dienos e trienos conjugados, e determinação de compostos como o hexanal (FARHOOSH, 2007).

Alguns estudos têm investigado a estabilidade oxidativa de óleos vegetais embalados em filmes biodegradáveis ativos. Reis et al. (2015) desenvolveram filmes de amido com extrato de erva-mate e polpa de manga que agiram contra a oxidação de óleo de palma, efeito atribuído ao conteúdo de compostos fenólicos ou flavonoides na formulação do filme. A incorporação de extrato de crisântemo rico em astaxantina foi estudada em filmes de ácido polilático (SAMSUDIN et al., 2014) e polietileno (COLÍN-CHÁVEZ et al., 2013), e ambos retardaram a oxidação de óleo de soja.

3.4.8 Biodegradabilidade dos filmes

Polímeros sintéticos são utilizados em diversas áreas: de transportes, construção, embalagens, equipamentos eletrônicos, aparelhos médicos, entre outros. A alta durabilidade dos materiais poliméricos sintéticos em comparação aos materiais poliméricos de ocorrência natural tornou-se um motivo de preocupação, pois causam séria poluição ambiental devido à disposição e caráter não biodegradável dos mesmos. Consequentemente, o uso de polímeros biodegradáveis que são degradados por micro-organismos sem a necessidade de consumo térmico tornou-se indispensável (OKADA et al., 2002).

Os plásticos derivados do petróleo podem levar até 100 anos para degradar se expostos à atmosfera, e ainda mais tempo se dispensados em aterros. É importante ressaltar que a degradação é um processo que ocorre em todos os materiais e resulta na desintegração

mecânica do material em pedaços muito pequenos, podendo fazer com que o polímero não seja mais visível, o que não significa que o mesmo foi biologicamente degradado. Já a biodegradação, é o processo em que micro-organismos, como bactérias, fungos e algas, consomem a substância como fonte alimentar, fazendo com que a sua forma original desapareça completamente e seja convertida em água, gás carbônico e biomassa (ROBERTSON, 2013).

O procedimento para ter uma embalagem certificada como “compostável” é laborioso. Além de ter que passar por métodos padrão, como D5338 ou ISO 14855, deve satisfazer outros requerimentos como testes de desintegração, ter metais pesados abaixo de limites especificados e passar no teste de ecotoxicidade (ROBERTSON, 2013). Entretanto, outras técnicas podem ser empregadas para estimar a biodegradabilidade de filmes, como o enterramento do filme no solo, em que o filme é exposto à microflora mista naturalmente presente no solo. Em geral, os experimentos são conduzidos em recipientes adicionados do solo, de forma a simular o processo de biodegradação em ambientes naturais (MARAN et al., 2014).

Filmes de amido de mandioca tiveram sua biodegradabilidade estudada por Maran et al. (2014) e foi demonstrado que os filmes são claramente biodegradáveis e que o amido foi utilizado como fonte de energia para os micro-organismos naturalmente presentes no solo. Martucci e Ruseckaite (2009) investigaram o processo de biodegradação de filmes elaborados a partir de gelatina, que é uma proteína suscetível à ação de enzimas presentes em uma variedade de micro-organismos. Os filmes foram classificados como materiais que biodegradam rapidamente nas condições estudadas e que serão possivelmente degradados em ambientes naturais e aterros.

CAPÍTULO 2: MATERIAIS E MÉTODOS

4 MATERIAIS E MÉTODOS

Os experimentos foram realizados no Laboratório de Compostos Bioativos, do Instituto de Ciência e Tecnologia de Alimentos (ICTA) da Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS). A análise de microscopia eletrônica de varredura foi efetuada no Centro de Microscopia Eletrônica (CME) – UFRGS e a análise térmica no Laboratório de Altas Pressões e Materiais Avançados (LAPMA) –UFRGS.

4.1 Materiais

Os resíduos provenientes da fabricação de cápsulas gelatinosas de óleo de linhaça (Figura 1) foram cedidos pelo Laboratório Químico Farmacêutico Tiaraju, situado na cidade de Santo Ângelo–RS-Brasil, que atua na produção de nutracêuticos. Resíduos provenientes do processamento mínimo de cenoura (Figura 2a) e de beterraba (Figura 2b), como cascas, aparas e talos, foram cedidos por Degasperri Atacadista (Estrela-RS-Brasil). O radical 2,2-diphenyl-1-picrilidrazil (DPPH) foi adquirido da Sigma -Aldrich (São Paulo, Brasil). Óleo de girassol (Cargill Agrícola SA, Brasil) e solo orgânico (Vida Desenvolvimento Ecológico Ltda) foram adquiridos de mercado local. Os outros reagentes químicos utilizados foram de grau analítico.

Figura 1 - Aparas da produção de cápsulas gelatinosas nutracêuticas.



Figura 2 - Resíduos do processamento mínimo de cenoura (a) e de beterraba (b).



4.2 Caracterização do resíduo de cápsula de gelatina

A composição do resíduo de cápsula de gelatina foi analisada seguindo os métodos da AOAC (2005). O teor de umidade foi analisado pelo método gravimétrico, através de pesagem da amostra antes e após secagem em estufa (modelo TE-394/2, Tecnal, Brasil) a 105 °C por 24 h. O teor de proteínas foi determinado pelo método de Kjeldahl ($N \times 5,7\%$). Um extrator Soxhlet (modelo 2055, Foss Soxtec, Denmark) foi utilizado para analisar o teor de lipídeos e o teor de cinzas foi determinado em mufla (modelo 312.6SO ML1729, Elektro Therm Linn, Alemanha) a 550 °C. Devido à ausência de carboidratos, o método por diferença foi empregado para estimar o teor de glicerol na composição do filme. Os resultados foram expressos em gramas por 100 g em base seca (BS). Este material foi mantido sob refrigeração (5 °C) antes de ser utilizado para a elaboração dos filmes.

4.3 Preparo e caracterização da farinha de resíduo de cenoura ou beterraba

Os resíduos gerados pelo processamento mínimo de beterraba e cenoura foram primeiramente higienizados em solução de hipoclorito de sódio (200 ppm; 15 min) e centrifugados a fim de retirar o excesso de água. Após, foram triturados em um processador de alimentos (modelo RI7762/91, Philips Walita, Brasil) e submetidos à secagem em estufa com circulação forçada de ar (modelo B5AFD, DeLeo, Brasil) a 60 °C por 12 h. O material foi moído em moinho de facas (modelo SL-31, Solab, São Paulo, Brasil) e depois peneirado

(115 mesh) (modelo Tamis, Bertel, Brasil) a fim de obter farinha com diâmetro de partículas menores do que 125 milímetros (Figura 3). O teor de fibra dietética total (TDF), fibra dietética insolúvel (FDI) e fibra dietética solúvel (SDF) das farinhas foram determinados de acordo com a AOAC (2005), com kit enzimático para análise de fibras (Sigma Aldrich, Brasil). Os resultados foram expressos em gramas por 100 g em base seca (BS). As farinhas obtidas do resíduo de cenoura ou beterraba foram embaladas a vácuo e armazenadas a 25 °C no escuro até ao dia da utilização.

Figura 3 - Farinhas obtidas de resíduos do processamento mínimo de cenoura (a) e beterraba (b).



4.4 Preparo dos filmes

Previamente foram testadas quantidades máximas e mínimas de resíduo de gelatina e de farinha de cenoura ou beterraba que poderiam ser misturadas e adicionadas de água (g de resíduo/100 g água) e que resultariam em solução filmogênica homogênea. Desse modo, a quantidade desejada do resíduo de cápsula gelatinosa foi colocada em um becker em banho-maria com temperatura aproximada de 60 °C, mantida por um agitador magnético com placa aquecedora (modelo 752A, Fisatom, Brasil). Após parcial derretimento da rede de gelatina, foi adicionada água e a solução permaneceu em banho-maria por cerca de 20 minutos, até a completa homogeneização da mistura.

Em seguida, a solução foi resfriada até que a mesma atingisse a temperatura de 40 °C, momento em que foi adicionada a quantidade desejada de farinha de cenoura ou beterraba. A solução foi homogeneizada com auxílio de agitador mecânico (modelo 713-D, Fisatom, Brasil) e depois colocada em um sonicador ultrassônico (modelo USC-1400, Unique, Brasil) para auxiliar na retirada de bolhas de ar. Então, uma quantidade de 0,113 g/cm² de solução

filmogênica foi colocada em Placas de Petri de poliestireno e desidratada em estufa com circulação de ar (modelo B5AFD, DeLeo, Brasil) a 35 °C por 14 horas. Os filmes obtidos foram acondicionados em dessecadores (60% UR, 23 °C) contendo solução saturada de nitrato de magnésio, por dois dias, antes de serem caracterizados e utilizados.

4.5 Caracterização dos filmes biodegradáveis

4.5.1 Propriedades mecânicas

A resistência à tração, a porcentagem de alongação na ruptura e o Módulo de Young foram determinadas em texturômetro (Figura 4) TA-XT2 (Stable Micro Systems, Reino Unido), com operação de acordo com o método padrão ASTM D882-09 (2009), a 25 °C, com separação inicial das garras de 50 mm e velocidade do probe de 0.8 mm/s. Os filmes foram recortados em retângulos com o auxílio de estilete (100 mm × 25 mm) e dez tiras de cada amostra foram analisadas.

Figura 4 - Análise de propriedades mecânicas de filme biodegradável realizada em texturômetro TA-XT2 (Stable Micro Systems, Reino Unido).



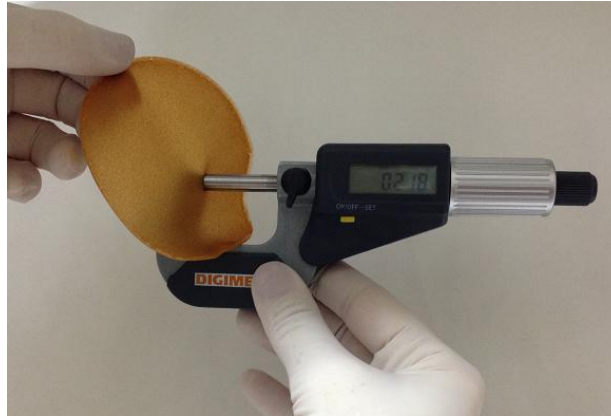
4.5.2 Propriedades físico-químicas

4.5.2.1. Espessura

A espessura dos filmes foi determinada com um micrometro digital (modelo IP40, Digimess, Brasil) com escala de 0-25 mm e precisão de 0,001mm (Figura 5). Os valores

representam a média de cinco medidas feitas aleatoriamente ao longo de cada amostra avaliada.

Figura 5 - Análise de espessura efetuada em micrômetro digital (modelo IP40, Digimess, Brasil).



4.5.2.2. Umidade

O conteúdo de umidade foi determinado de acordo com a AOAC (2005), através de método gravimétrico. Foi utilizada estufa com circulação e renovação de ar (modelo TE-394/2, Tecnal, Brasil) a 105 °C até peso constante (base seca), por 24 horas.

4.5.2.3. Solubilidade

A solubilidade em água dos filmes foi determinada em triplicata, de acordo com metodologia descrita por Colla, Sobral e Menegalli (2006), com algumas modificações. Essa análise foi efetuada sequencialmente após a avaliação da umidade, visto que para sua determinação a amostra deve estar seca. Após a primeira pesagem dos discos de filmes de 2 cm de diâmetro previamente secos, as amostras contidas nos recipientes metálicos foram adicionadas de 30 mL de água destilada (Figura 6) e agitadas lenta e periodicamente por 24 horas e a 25 °C (modelo NT145, Novatecnica, Brasil). Após este período, a água do recipiente foi retirada e filtrada, a fim de averiguar a presença de fragmentos de filme solúveis em água. O filtro utilizado foi pesado antes e depois de secagem (105 °C por 24 horas), e a diferença de peso foi utilizada no cálculo da solubilidade. Os recipientes contendo as amostras sem água

foram novamente submetidos à secagem a 105 °C por 24 h, sendo pesados antes e após a desidratação do filme para determinar a massa da matéria seca que não se dissolveu em água.

Figura 6 – Avaliação da solubilidade dos filmes biodegradáveis após 24h de contato com a água.



4.5.2.4 “Swelling”

A capacidade dos filmes secos em absorver água foi analisada de acordo com metodologia descrita por Cao, Fu e He (2007). Para isso, os filmes foram recortados em quadrados de 2.5 cm × 2.5 cm e armazenados por 24 h em dessecador contendo sílica, a fim de retirar a umidade das amostras. Após esse período, os filmes foram pesados (w_1) e em seguida submersos em água destilada a temperatura ambiente, permanecendo nessa condição por 2 min. Após, as amostras foram retiradas da água com o auxílio de uma pinça, colocadas em cima de pedaços papel filtro com o intuito retirar o excesso de água e pesadas (w_2). A quantidade de água absorvida pelos filmes após submersão em água pelo período de 2 min foi calculada pela seguinte fórmula:

$$\text{Swelling (\%)} = [(w_2 - w_1)/w_1] \times 100$$

onde w_1 and w_2 representam o peso das amostras seca e úmida, respectivamente.

4.5.3 Permeabilidade ao vapor de água

A avaliação da permeabilidade ao vapor de água (PVA) dos filmes foi baseada num método padrão (ASTM E96, 2005) e em um procedimento descrito por Talja et al. (2008), com algumas modificações. Os filmes foram fixados em células de permeação de alumínio (diâmetro interno: 63 milímetros; altura: 25 mm) contendo CaCl_2 anidro granular e mantidos

em cuba de vidro (Figura 7). A temperatura foi mantida a 25 °C, a fim de alcançar um gradiente de umidade relativa de 0/75 %, mantido por uma solução saturada de cloreto de sódio. O progresso de ganho de massa foi seguido por gravimetria a intervalos de 1 h, 2 h, 12 h, e 24 h, onde cada célula foi pesada em balança analítica (modelo AY, Shimadzu, Japão). Para a determinação da PVA, a seguinte equação foi utilizada:

$$PVA = (w \times FT) / (A \times t \times \Delta p)$$

onde w é a massa de água permeada através do filme (g), FT é a espessura do filme (MM), A é a área de permeação, t é o tempo de permeação (h), e Δp é a diferença de pressão de vapor entre os dois lados do filme (Pa).

Figura 7 - Células de permeação armazenadas em cuba de vidro para análise de PVA.



4.5.4 Propriedades ópticas

4.5.4.1 Cor

A cor dos filmes foi determinada através de colorímetro (modelo CR-300, Minolta Co. Ltd, Japão) (Figura 8), operando à luz do dia com D65. Os parâmetros de cor CIE $L^*a^*b^*$ foram utilizados, onde L^* é a luminosidade, com variação de 0 (preto) a 100 (branco); a^* , do verde (-) ao vermelho (+); e b^* , do azul (-) ao amarelo (+). A diferença de cor em comparação ao padrão foi dada pela Equação (GENNADIOS et al., 1996):

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

onde ΔL^* , Δa^* , Δb^* representam as diferenças entre os parâmetros de cor do filme e um disco branco padrão ($L_0^* = 97.83$, $a_0^* = 0.13$ and $b_0^* = 1.66$).

Figura 8 - Calorímetro (modelo CR-300, Minolta Co. Ltd, Japão) utilizado para determinar a cor dos filmes biodegradáveis.



4.5.4.2. Opacidade

Primeiramente, foi realizada uma “varredura” medida através de espectrofotômetro (modelo UV-1800, Shimadzu, Japão) (Figura 9), em comprimentos de onda entre 200 nm e 800 nm a fim de avaliar a transmitância de luz (%) na região ultravioleta e visível (Fang et al., 2002). Esses dados permitiram avaliar a proporção de luz na região UV-VIS que atravessa o filme. Para isso, pedaços retangulares (4 cm × 1 cm) de filme foram recortados, a fim de serem posicionados dentro de uma cubeta de quartzo. A transmitância a 600 nm, ou seja, a fração da luz incidente nesse comprimento de onda específico foi utilizada para o cálculo da opacidade, de acordo com a seguinte fórmula (HAN & FLOROS, 1997):

$$\text{Opacidade (A/mm)} = (-\log T_{600}) / x$$

onde T_{600} é a transmitância fracional a 600 nm, e x é a espessura do filme (mm).

Figura 9 - Espectrofotômetro (modelo UV-1800, Shimadzu, Japão) utilizado na análise de transmissão de luz e opacidade dos filmes biodegradáveis.



4.5.5 Estabilidade térmica

Amostras de filme foram submetidas a um analisador termogravimétrico (modelo TGA-50, Shimadzu, Japão) (Figura 10) a fim de avaliar sua estabilidade térmica. Para isso, pequenas quantidades da amostra foram colocadas no dispositivo apropriado dentro do equipamento e pesadas periodicamente durante o intervalo da análise a fim de avaliar a taxa de perda de peso que acompanhou o avanço da temperatura. O equipamento operou a uma taxa de 10 °C/min, desde temperatura ambiente até atingir 600 °C. Nitrogênio foi usado como gás de purga.

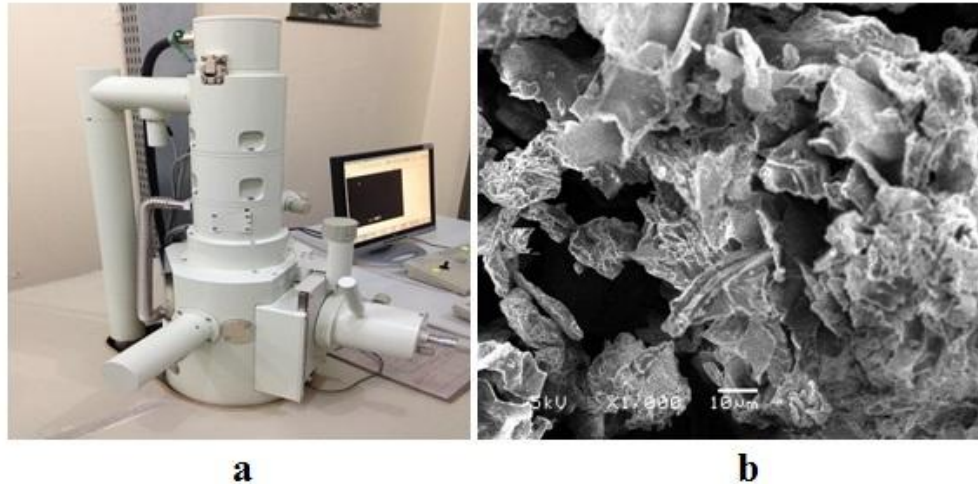
Figura 10 - Analisador termogravimétrico utilizado para análise de estabilidade térmica dos filmes biodegradáveis.



4.5.6 Propriedade estrutural

Para caracterização das propriedades estruturais do filme, foi efetuada microscopia eletrônica de varredura (MEV) (modelo JSM 6060, JEOL, Japão) (Figura 11a). Para isso, uma pequena quantidade da amostra desejada foi fixada em stubs de alumínio com o auxílio de fita dupla-face e o conjunto foi recoberto por uma fina camada de ouro. As amostras foram analisadas em voltagem de 5 kV e aumento de 500x a 1000x (Figura 11b).

Figura 11 - Microscópio eletrônico de varredura (modelo JSM 6060, JEOL, Japão) utilizado para a análise morfológica dos filmes biodegradáveis (a) e exemplo de imagem obtida com aumento de 500x para amostra de farinha de resíduo de cenoura (b).



4.5.7 Propriedades antioxidantes

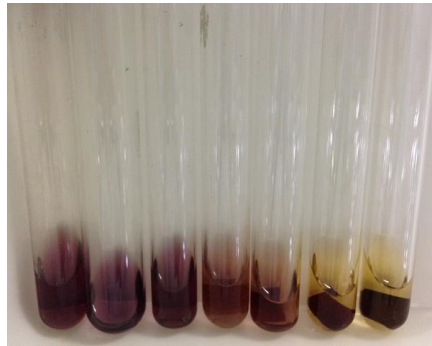
4.5.7.1 Atividade Antioxidante por radical DPPH

A atividade antioxidante dos filmes (I) foi determinada através de uma adaptação do método de captura do radical DPPH descrito por Huang, Ou, and Prior (2005). Para isso, 1 cm² de cada filme foi adicionado a 3.9 mL de solução metanólica de DPPH (0.06 mmol/L) (Figura 12). A mistura foi mantida no escuro, sob agitação orbital de 80 rpm (modelo NT145, Novatecnica, São Paulo, Brasil). Após 8 h, a absorvância da mistura foi medida a 517 nm em um espectrofotômetro (model PC, Shimadzu, Kyoto, Japão). Solução metanólica de DPPH sem filme foi utilizada como branco, e a propriedade foi calculada da seguinte forma:

$$I(\%) = [(A_b - A_f) \div A_b] \times 100$$

onde I é a porcentagem de inibição do radical DPPH, A_b é a absorvância do branco e A_f é a absorvância do filme.

Figura 12 - Tubos de ensaio contendo amostras de filme e solução de DPPH após oito horas de reação no escuro.



4.5.7.2. Atividade antioxidante pelo método de oxidação lipídica

Para avaliar o efeito dos filmes em retardar a oxidação primária de óleo de girassol, a metodologia foi adaptada de Colín-Chávez et al. (2013). Para isso, os filmes foram cortados em retângulos de 110 mm × 60 mm, dobrados e selados (Modelo F 200 Flash, Fastvac, São Paulo, Brasil), em ambas as extremidades. A parte superior foi mantida aberta até que 8 ml de óleo de girassol sem antioxidantes artificiais foram adicionados (Figura 13). Óleo de girassol embalado em garrafas de plástico fechadas (PLA), colocado em placas de Petri de vidro aberto (VID) e embalados em filme sem adição de farinhas foram utilizados como controle. As amostras e os controles foram mantidos de 28 a 35 dias à temperatura de 35-40 °C, 54% UR e expostos à luz fluorescente com uma intensidade de 900-1000 lux (Luxometer, modelo MS6610, V & R Instrument, Sahngai, China) (Figura 14). Amostras de óleo foram coletadas após 3, 7, 14, 21, 28 e 35 dias de experimento para determinar o índice de peróxidos (IP) de acordo com a AOCS (1993) (Figura 15).

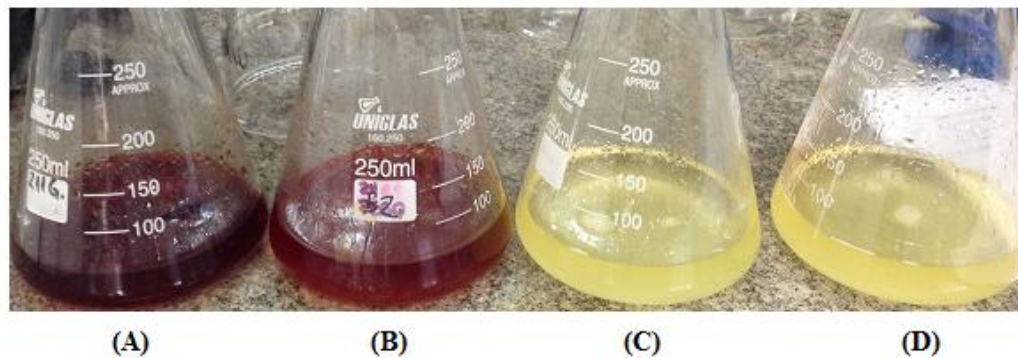
Figura 13 - Óleo de girassol embalado em filmes biodegradáveis.



Figura 14 - Disposição dos filmes biodegradáveis e controles contendo óleo de girassol armazenado sob condições extremas.



Figura 15 - Análise de IP após 28 dias sob armazenamento, determinada para amostras de óleo de girassol embaladas em: (A) = garrafas de plástico fechadas; (B) = placas de Petri de vidro aberto; (C) = filme de resíduo de cápsulas gelatinosas sem adição de farinhas; (D) = filme de farinha de cenoura e resíduos de cápsulas gelatinosas.

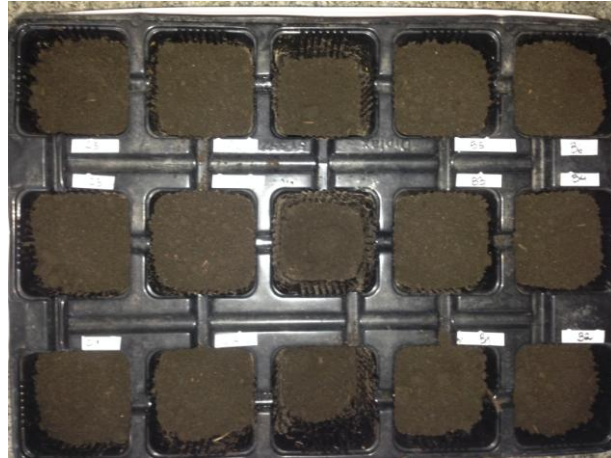


4.5.8 Biodegradabilidade dos filmes

A avaliação da biodegradabilidade dos filmes foi realizada de acordo com metodologia descrita por Martucci e Ruseckaite (2009) com algumas adaptações. Esse método é baseado na avaliação da biodegradação dos filmes quando os mesmos são enterrados e expostos à microflora natural encontrada no solo. Para isso, caixas de plástico

compartimentadas (6 cm × 6 cm × 6,5 cm) foram adicionadas de solo orgânico natural (pH~7,2) empregado como meio para degradação dos filmes (Figura 16).

Figura 16 - Recipiente plástico compartimentado adicionado de solo orgânico.



Os filme foram cortados em retângulos de 2 cm x 3 cm e desidratadas a 60 °C em estufa (modelo TLK48, DeLeo, Brasil) até peso constante (m_0). Em seguida, eles foram acondicionados em pedaços de malha de alumínio (previamente secas e pesadas) a fim de garantir o contato entre o filme e o solo e facilitar a sua retirada após o período de estudo (Figura 17). As malhas contendo as amostras foram dobradas, colocadas a uma profundidade de 4 cm a partir da superfície do recipiente e cobertas pelo solo para mantê-las enterradas (Figura 18). Água foi adicionada ao solo a cada dois dias para manter a unidade a cerca de 40%.

O experimento foi conduzido em duplicata e os filmes foram avaliados em intervalos específicos (t): antes de serem enterrados e após 5, 10 e 15 dias nas condições previamente descritas. Após cada período de tempo estabelecido, o conjunto malha+filme foi desenterrado e retirado do contato com o solo com o auxílio de uma pinça. Os conjuntos foram cuidadosamente lavados com água destilada para retirar resquícios de terra e superficialmente secos com a ajuda de papel filtro. Em seguida, foram submetidos à secagem a 60 °C (modelo TLK48, DeLeo, Brasil) até peso constante (m_t). O grau de biodegradação das películas foi determinado como a perda de peso (WL;%), pela equação:

$$WL (\%) = [(m_t - m_0) / m_0] \times 100$$

onde m_0 é a massa inicial da amostra seca de filme e m_t é a massa seca remanescente no tempo t .

Figura 17 - Amostra de filme biodegradável (2 cm x 3 cm) acondicionada sobre malha de alumínio.

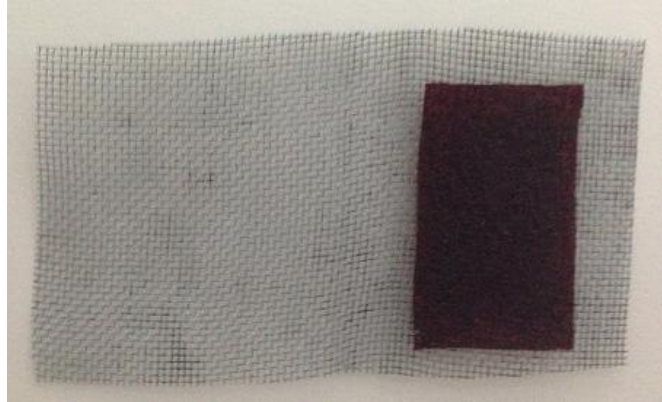
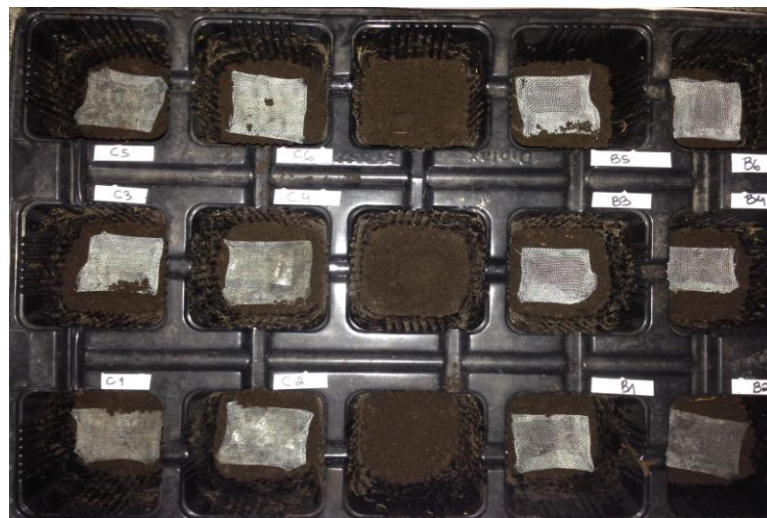


Figura 18 - Malhas de alumínio contendo amostras de filmes.



4.6 Análise dos resultados

Todas as análises foram realizadas em triplicata e os resultados foram submetidos à análise estatística utilizando ANOVA e teste de comparação de médias de Tukey ao nível de 5% de significância, através do programa Statistica 12.0.(Statsoft, São Paulo, Brasil).

CAPÍTULO 3: ARTIGOS CIENTÍFICOS

ARTIGO 1: Residues of minimally processed carrot and gelatin capsules: Potential materials for packaging films

Publicado em: Industrial Crops and Products, volume 76, p. 1071–1078

doi:10.1016/j.indcrop.2015.08.025

Aline Oliveira e Silva Iahnke ^a, Tania Maria Haas Costa ^{a, b}, Alessandro de Oliveira Rios ^a,
Simone Hickmann Flôres ^{a, *}

^a Institute of Food Science and Technology, Federal University of Rio Grande do Sul (UFRGS), Av. Bento Gonçalves, 9500, Agronomia, 91501-970, Porto Alegre, Rio Grande do Sul, Brazil.

^b Institute of Chemistry, Federal University of Rio Grande do Sul (UFRGS), Av. Bento Gonçalves, 9500, Agronomia, 91501-970, Porto Alegre, Rio Grande do Sul, Brazil.

*Corresponding author. Tel.: +5551 3308-9789; fax: +5551 3308-7048. E-mail address: simone.flores@ufrgs.br

Residues of minimally processed carrot and gelatin capsules: Potential materials for packaging films

Abstract

The development of biocomposite materials from renewable resources is an attractive alternative to substitute synthetic and non-biodegradable plastics. This study aimed to develop biodegradable films from industrial residues and investigate the effects of different concentrations of residues of gelatin capsules (C_G : 20, 26, 40, 56, or 60 g gelatin/100 g water) and minimally processed carrot (C_F : 0, 1.5, 5, 8.5, or 10 g fiber/100 g water) with a high content of total dietary fiber on the antioxidant, physicochemical, barrier, mechanical and optical properties of biodegradable films using a response-surface methodology. Two film formulations considered to present adequate and optimized properties ($C_G:C_F = 26:8.5$ and $10:0$ g/100 g water) were selected to have their microstructure, thermal properties and protection against oil primary oxidation process evaluated in order to verify their functionality. The results demonstrated that the DPPH radical scavenging activity, moisture content, water solubility and water vapor permeability were improved with the increasing addition of C_F , whereas the films containing only C_G in their matrix exhibited the highest tensile strength. The increasing C_F has also contributed to the greater values of opacity and Young's Modulus, and lower light transmission and elongation at break. SEM photomicrographs indicated that the C_G - C_F -based film had a less smooth surface when compared to the C_G -based film, which was attributed to the presence of insoluble fiber particles in the biocomposite. Thermogravimetric analysis suggested that both of the films were thermally stable until near 200 °C. Additionally, the films retarded the primary oxidation of packed sunflower oil under accelerated oxidation conditions. Based on the results, this research demonstrated that the use of residues to form biodegradable films represents a promising alternative for the production of sustainable and active packaging and for the development of eco-friendly technologies.

Keywords: Biodegradable; Active packaging; Gelatin; Renewable resources; Biocomposite.

1. Introduction

Biodegradable packaging from renewable resources has been widely studied as an alternative to synthetic plastics, which are known to cause negative environmental impacts.

Polysaccharides, proteins and lipids, employed separately or in combination, are the main materials used to produce edible films and coatings (Davis and Song, 2006). Gelatin, a protein typically obtained by denaturation and hydrolysis of collagen present in bones, skin and tissues of animals and fish, presents innumerable advantages such as biodegradability, biocompatibility and plasticity, which contribute to its film-forming ability (Gómez-Estaca et al., 2009b; Martucci et al., 2015). A notable source of this biopolymer is the residue generated by the nutraceutical field, where gelatin is mainly used as an encapsulating material to deliver bioactive food compounds with active principles. Since this residue is not reused by industries, it must be treated and disposed, which implies economic and environmental issues. This material is mainly composed of gelatin, glycerin and water, thus it may be a potential source for the development of biodegradable films.

Gelatin films have been reported to protect foods against drying, light and oxygen (Gómez-Guillén et al, 2009). Some drawbacks are their poor mechanical and water barrier properties, which makes them difficult to use in food packaging (Jeya Shakila et al., 2012). Many strategies have been proposed to overcome these limitations, including crosslinking, blending and composites with nanoparticles or fibers (Martucci Ruseckaite, 2010). Generally, natural fibers present poor mechanical properties compared with synthetic fibers. However, natural fibers have other advantages such as their biodegradability, low cost and renewability (Versino et al., 2015). Schettini et al. (2013) used natural fibers from tomato peels and hemp strands to reinforce the mechanical properties of biodegradable pots and demonstrated that it is possible to convert waste and by-products into valuable eco-friendly products. Banana fiber has been employed with the same purpose in composite materials from tamarind seed (Kiruthika et al., 2012), and Oliveira et al. (2015) reinforced protein based films with cellulose fiber.

Another area of interest is the improvement of functional and food-protective properties of bio-based films, typically accomplished by incorporating antimicrobial and antioxidant active agents (Nur Hanani et al., 2014). The incorporation of natural antioxidants, such as tocopherol, plant extracts and essential oils from herbs, into films is a promising method to prevent or reduce the deterioration of food quality caused by oxidation, thus contributing to preserving and extending food shelf life (López-de-Dicastillo et al., 2012). Furthermore, the processing of fruits and vegetables creates a large amount of residues and, consequently, a serious environmental concern. However, this agro-industrial matter is a

potential source of natural antioxidants and may result in dietary fiber products, presenting nutritional and technological advantages (Schieber et al., 2001). Carrot residues are normally used as animal feed, and they contain a large amount of β -carotene and other carotenoids, which act as antioxidants (Hiranvarachat and Devahastin, 2014). Chantaro et al. (2008) studied the production of antioxidant rich dietary fiber powder from carrot peels as affected by blanching and hot air drying and were able to produce residue fiber with up to 73% total dietary fiber (g/100 g dry weight). This material comprises both fiber and antioxidant properties, and represents an excellent option for incorporation into biodegradable films. Besides, its use contributes to reduce the negative impacts caused by the large amount of food waste produced globally.

Therefore, the aim of this study was to investigate the effect of different concentrations of residues of minimally processed carrot and gelatin capsules on the antioxidant, physicochemical, barrier, mechanical, optical, structural and thermal properties of biodegradable films.

2. Materials and methods

2.1. Materials

Residues derived from minimally processed carrots (*Daucus carota*) were provided by Degasperi Wholesaler Company (Rio Grande do Sul, Brazil), which passed through: sanitation with sodium hypochlorite (200 ppm) for 15 min; grinding (Philips Walita, RI7762/91, Brazil); drying at 60 °C for 12 h (DeLeo, B5AFD, Brazil); milling (Solab, SL-31, Brazil); and sieving (mesh 115) (Bertel, Tamis, Brazil). The obtained powder was called carrot residue fiber due to its content of 75 g/100 g of total dietary fiber on dry basis, of which 65 g/100 g were related to insoluble dietary fiber (IDF).

Bovine gelatin residue, obtained from the manufacture of linseed oil nutraceutical capsules, was provided by the Chemical Pharmaceutical Tiaraju Laboratory (Rio Grande do Sul, Brazil). Its approximate composition was gelatin (48.2%), water (30.0%) and glycerin (21.8%). Radical 2,2-diphenyl-1-picrilidrazil (DPPH) was purchased from Sigma-Aldrich (São Paulo, Brazil). Sunflower oil (Liza, Cargill Agricola SA, Brazil) was acquired at a local market. All other reagents used were of analytical grade.

2.2. Film preparation

A casting technique was used to produce the biodegradable films. The minimum and the maximum concentration of residues to be used in the film formulations were adopted according to preliminary tests, which were performed to evaluate the preparation, homogeneity and handling of the films. The gelatin capsule residue (C_G : 20, 26, 40, 56, or 60 g gelatin/100 g water) was mixed with distilled water in a water bath at 60 °C, heated by a hot plate magnetic stirrer (Fisatom, 752A, Brazil), to obtain the filmogenic solution (FS). After cooling the FS (40 °C), the carrot residue fiber was added (C_F : 0, 1.5, 5, 8.5, or 10 g fiber/100 g water) and the solution was homogenized (Fisatom, 713-D, Brazil) for 5 minutes. Air bubbles were removed by using an ultrasonic treatment for 10 min (Unique, USC-1400, Brazil). The obtained film solution was placed in polystyrene Petri dishes (0.113 g/cm²) and dried in an air circulating oven (DeLeo, B5AFD, Brazil) at 35 °C for 14 h. The films were stored prior to the analyses for a minimum of 48 h, in desiccators with controlled relative humidity, containing a saturated sodium bromide solution (58% RH, 25 °C).

Table 1. Full-factorial design 2² central composite design for the independent variables (actual and coded levels).

Test	Independent variables			
	Actual level		Coded level	
	C_G	C_F	C_G	C_F
1	26	1.5	-1	-1
2	56	1.5	1	-1
3	26	8.5	-1	1
4	54	8.5	1	1
5	40	5	0	0
6	40	5	0	0
7	40	5	0	0
8	20	5	-1.414	0
9	60	5	1.414	0
10	40	0	0	-1.414
11	40	10	0	1.414

C_G : Gelatin capsule residue (g/100 g water); C_F : Carrot residue fiber (g/100 g water).

2.3. Experimental design

A surface-response methodology was employed to evaluate the effect of different C_G and C_F on the selected dependent variables: DPPH radical scavenging activity, film thickness, tensile strength, percent elongation at break, Young's Modulus, moisture content, water solubility, water vapor permeability and opacity. Eleven experiments were conducted using a 2^2 full-factorial central composite design with three central and four axial points (Montgomery, 2000), and resulted in eleven film formulations tested as shown in Table 1. The behavior of the system was fit to a second order equation:

$$Y_i = \beta_0 + \beta_1 C_G + \beta_2 C_F + \beta_{12} C_G C_F + \beta_{11} C_G^2 + \beta_{22} C_F^2$$

where Y_i represents the dependable variables; β_n are the constant regression coefficients; and C_G and C_F are the coded levels of independent variables.

2.4. Antioxidant properties

2.4.1. DPPH radical scavenging activity

An adaptation of the method described by Huang et al. (2005) was used to measure the scavenging capacity of film antioxidant components against DPPH free radicals. One cm^2 of each film was placed in 3.9 ml of methanolic DPPH solution (0.06 mmol /L) and left to react under orbital agitation at 80 rpm in the dark (Novatecnica, NT145, Brazil). The absorbance of the solution was measured at 517 nm after 8 h, using a spectrophotometer (Shimadzu, UV-1800, Japan). A DPPH free solution was used as a blank. The antioxidant property of the films was expressed as the percentage inhibition of DPPH radical (I) [%], calculated as follows:

$$I (\%) = [(A_b - A_f) \div A_b] \times 100$$

where A_b is the blank absorbance and A_f is the film absorbance.

2.4.2. Effect of films on retardation of sunflower oil primary oxidation

The antioxidant protection of films against primary oxidation process in sunflower oil was conducted based on the experiment related by Colín-Chávez et al. (2013), with some modifications. Among the eleven film formulations, two films were selected from the surface-response methodology (subsection 3.2) and had this property evaluated. For that, film rectangles (110 mm \times 60 mm) were sealed in the side edges to form bags, and before the top was sealed (Fastvac, F 200 Flash, Brazil), 8 mL of sunflower oil was added to the bags. Two

controls were used, which consisted of 20 mL of sunflower oil stored in closed plastic bottles (PLA) and in open glass Petri dishes (GLA). The experiment was conducted for 28 days under the following conditions: 40 °C, exposure to fluorescent lights with an intensity of 900-1000 lux (Luxometer VA Instrument, MS6610, China) and an approximate relative humidity of 54%. All the samples were conditioned inside a chamber (Tecnal, TE-402, Brazil). The peroxide value (PV) of oil samples was determined according to the AOCS Official Methods (1993), on days 0, 3, 7, 14, 21 and 28.

2.5. Film thickness and mechanical properties

A digital micrometer (Digimess, IP40, Brazil) with 0.001 accuracy and 0 to 25 mm resolution was used to determine the average thickness of the films, with measurements made at five different positions for each sample. Mechanical analyses were performed following the ASTM standard method D882-09 (2009), using a texture analyzer (Stable Micro Systems, TA.XT2i, United Kingdom) with a load cell of 5 kg. The initial separation of the grids (Stable Micro Systems, A/TG, United Kingdom) was set at 50 mm and the crosshead speed at 0.8 mm.s⁻¹. Ten strips of each film (110 mm × 25 mm) were evaluated for tensile strength (TS) [MPa], percent elongation at break (EAB) [%], and Young's Modulus (YM) [MPa], and the average values were calculated.

2.6. Water-related properties

Three samples of each film were cut into discs with a diameter of 2 cm. They were dried in an oven at 105 °C for 24 h (DeLeo, TLK48, Brazil) and the moisture content (MC) was determined by weight loss. The water solubility (WS) analysis was performed according to a methodology described by Colla et al. (2006), with some modifications. The dry films were immersed in 30 ml of distilled water, held under soft stirring at 25 °C for 24 h (Novatecnica, NT145, Brazil) and the WS was calculated as the percentage of dry matter that the film solubilized after the time of immersion.

The water vapor permeability (WVP) was evaluated according to the method described by Talja et al. (2008) and based on the ASTM E96-05 method (2005), with some modifications. Permeation cells were used (inner diameter: 63 mm; height: 25 mm) with a relative humidity gradient of 0/75% at 25 °C. The mass gain was measured at intervals of 1 h, 2 h, 12 h, and 24 h.

2.7. Light transmission and opacity

Light transmission was measured using a UV-vis spectrophotometer (Shimadzu, UV-1800, Japan) at wavelengths from 200 nm to 800 nm, according to a methodology described by Fang et al. (2002), and the film opacity was calculated according to the equation (Han Floros, 1997):

$$\text{Opacity value} = (-\log T_{600}) / x$$

where T_{600} is the fractional transmittance at 600 nm and x is the corresponding film thickness (mm). The lower opacity value represents the higher transparency of films.

2.8. Film surface characteristics

The surface morphology of both the upper (drying surface) and lower (in contact with Petri dish) sides of films was observed according to Pagno et al. (2015), with some modifications. A scanning electron microscope (SEM) (JEOL, JSM 6060, Japan) was used. Samples were fixed on aluminum stubs, coated with gold and scanned with an accelerating voltage of 5.0 kV and a magnification of 1000x.

2.9. Thermogravimetric analysis (TGA)

The thermogravimetric analysis (TGA) of film samples was performed on a thermogravimetric analyzer (Shimadzu, TGA-50, Japan), operating from room temperature to 650 °C at a rate of 10 °C min⁻¹, using nitrogen as the purge gas.

2.10. Statistical analyses

The experimental design was analyzed using a surface response methodology. An analysis of variance (ANOVA) and Tukey's test of multiple comparisons were used at a significance level of 5% to compare the differences between the means of data from the analysis of peroxide values, using Statistica 12.0 software (Statsoft Inc., Tulsa, USA).

Table 2. Full-factorial design 2^2 central composite design and responses for the following independent variables: DPPH radical scavenging capacity (I), film thickness (FT), tensile strength (TS), percent elongation at break (EAB), Young's Modulus (YM), moisture content (MC), water solubility (WS), water vapor permeability (WVP) and opacity (OP).

Test	I (%)	FT (mm)	TS (MPa)	EAB (%)	YM (MPa)	MC (%)	WS (%)	WVP*	OP
1	22.1 ± 1.0	0.111 ± 0.008	1.45 ± 0.13	135.36 ± 7.26	630.53 ± 17.77	24.92 ± 0.38	37.77 ± 0.73	0.477 ± 0.020	2.87 ± 0.11
2	19.2 ± 1.4	0.259 ± 0.023	1.24 ± 0.11	213.89 ± 15.82	232.84 ± 14.96	21.95 ± 0.27	43.39 ± 0.19	0.640 ± 0.043	1.02 ± 0.04
3	52.3 ± 0.7	0.218 ± 0.009	2.25 ± 0.16	62.99 ± 3.50	1831.64 ± 126.42	20.67 ± 2.03	32.34 ± 0.50	0.420 ± 0.020	4.63 ± 0.06
4	39.9 ± 1.1	0.298 ± 0.012	2.03 ± 0.11	106.11 ± 5.90	1066.94 ± 48.60	19.46 ± 0.10	34.35 ± 0.11	0.594 ± 0.003	2.86 ± 0.05
5	31.2 ± 2.1	0.189 ± 0.009	1.53 ± 0.05	111.11 ± 0.45	775.17 ± 45.85	19.84 ± 0.07	35.06 ± 0.02	0.507 ± 0.033	3.54 ± 0.33
6	32.0 ± 2.1	0.188 ± 0.015	1.55 ± 0.05	110.03 ± 4.05	771.21 ± 60.10	20.25 ± 0.46	35.44 ± 1.37	0.504 ± 0.017	3.48 ± 0.15
7	30.8 ± 1.9	0.189 ± 0.007	1.54 ± 0.09	110.35 ± 4.92	776.09 ± 76.03	20.13 ± 0.60	35.64 ± 0.42	0.526 ± 0.030	3.59 ± 0.18
8	52.3 ± 0.6	0.159 ± 0.013	1.75 ± 0.18	39.66 ± 2.72	1693.38 ± 67.77	21.43 ± 1.17	33.05 ± 1.25	0.452 ± 0.001	5.79 ± 0.26
9	33.2 ± 1.7	0.250 ± 0.013	1.21 ± 0.04	176.79 ± 8.76	401.25 ± 22.27	20.80 ± 1.12	35.56 ± 0.54	0.567 ± 0.039	2.14 ± 0.07
10	6.3 ± 0.0	0.133 ± 0.011	2.57 ± 0.14	282.75 ± 16.39	202.21 ± 17.34	24.64 ± 0.74	44.54 ± 2.91	0.566 ± 0.047	0.90 ± 0.08
11	50.7 ± 0.5	0.274 ± 0.018	2.11 ± 0.06	61.58 ± 1.65	1756.07 ± 90.88	20.51 ± 0.07	31.64 ± 0.96	0.460 ± 0.005	3.77 ± 0.01

Mean ± SD (n = 3).

*WVP: g mm/ h m² kPa.

Table 3. Regression coefficients and analysis of variance (ANOVA) for DPPH radical scavenging capacity (I), film thickness (FT), tensile strength (TS), percent elongation at break (EAB), Young's Modulus (YM), moisture content (MC), water solubility (WS), water vapor permeability (WVP) and opacity (OP).

		β_0	β_1	β_{11}	β_2	β_{22}	β_{12}	F_c	F_t	R^2
I	Cf	31.36	-5.32	5.16	14.23	-2.02	-2.37	44.83	5.05	0.98
	pv	< 0.05	< 0.05	0.01	< 0.05	0.18	0.18			
FT	Cf	0.19	0.04	0.01	0.04	0.01	-0.02	15.39	5.05	0.94
	pv	< 0.05	< 0.05	0.21	< 0.05	0.23	0.16			
TS	Cf	1.54	-0.15	-0.08	0.12	0.36	< 0.05	1.72	5.05	0.63
	pv	< 0.05	0.32	0.65	0.41	0.07	0.99			
EAB	Cf	110.54	39.49	-3.88	-61.68	28.28	-8.85	15.55	5.05	0.94
	pv	< 0.05	0.01	0.73	< 0.05	0.04	0.51			
YM	Cf	774.45	-374.15	118.60	529.85	84.30	-91.75	49.40	5.05	0.98
	pv	< 0.05	< 0.05	0.06	< 0.05	0.15	0.18			
MC	Cf	20.07	-0.63	0.50	-1.57	1.23	0.44	20.69	5.05	0.95
	pv	< 0.05	0.02	0.09	< 0.05	< 0.05	0.18			
WS	Cf	35.38	1.40	-0.35	-4.09	1.55	-0.90	32.60	5.05	0.97
	pv	< 0.05	0.01	0.46	< 0.05	0.02	0.14			
WVP	Cf	0.51	0.06	< 0.05	-0.03	0.01	< 0.05	7.42	5.05	0.88
	pv	< 0.05	< 0.05	0.78	0.04	0.70	0.87			
OP	Cf	3.54	-1.10	0.14	0.96	-0.68	0.02	39.55	5.05	0.98
	pv	< 0.05	< 0.05	0.35	< 0.05	< 0.05	0.90			

Cf: regression coefficient; pv: p value; β_0 : constant; β_1 : gelatin capsule residue (linear); β_{11} : gelatin capsule residue (quadratic); β_2 : carrot residue fiber (linear); β_{22} : carrot residue fiber (quadratic); β_{12} : interaction between residues of gelatin capsule and carrot fiber; F_c : F calculated; F_t : F tabulated; R^2 : coefficient of determination.

3. Results and discussion

3.1. Full experimental design

Table 2 shows the results for the following dependent variables: DPPH radical scavenging capacity (I), film thickness (FT), tensile strength (TS), percent elongation at break

(EAB), Young's Modulus (YM), moisture content (MC), water solubility (WS), water vapor permeability (WVP) and opacity (OP).

The regression coefficients from the second order equations for each dependent variable can be observed in Table 3, along with their corresponding p , F (calculated and tabulated) and R^2 values. The analysis of variance (ANOVA) at the 95% confidence level implied that tensile strength (TS) presented calculated F values lower than the tabulated values, as well as a low R^2 value, meaning that, for the studied range, the model was not able to explain the quadratic data behavior. All other parameters were statistically significant, with high coefficient of determination ($F_c > F_t$; $R^2 \geq 0.88$; $p < 0.05$).

3.1.1. DPPH radical scavenging capacity

The antioxidant capacity of biodegradable films with different concentrations of C_G and C_F was determined using the DPPH method and expressed as DPPH radical scavenging capacity (I) (Table 2). The effects of C_G and C_F are illustrated in the response graph (Fig. 1). This assay is based on the reduction of DPPH, a stable organic nitrogen radical that reacts with the antioxidant sample and causes a discoloration of the solution. Although DPPD has no similarity to the biological radicals involved in lipid peroxidation (Huang et al., 2005), the method may serve as a guide to indicate the potential antioxidant capacity of the sample of interest.

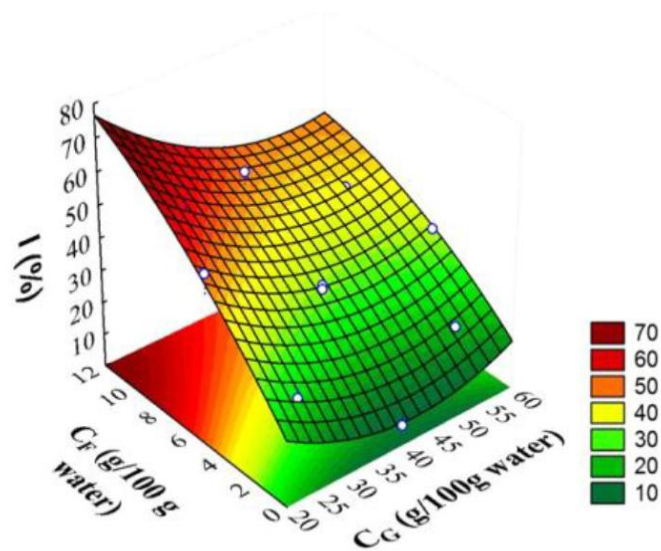


Fig. 1. Response surface for DPPH radical scavenging activity (I) as a function of C_G (g/100 g water) and C_F (g/100 g water).

The results showed that the antioxidant capacity of films ranged from 6.3% to 52.3%. The lowest percentage was attributed to Test 10. Unlike C_G , the results from Table 3 suggest that C_F linearly contributed to an increase in I, most likely due to the accompanied increase in the content of carotenoids that act as antioxidants. The incorporation of different natural antioxidants, such as plant extracts and essential oils, have been reported to cause the same beneficial effect in the antioxidant capacity of gelatin films evaluated by DPPH analysis (Li et al., 2014; Tongnuanchan et al., 2013; Wu et al., 2013).

3.1.2. Film thickness and mechanical properties

Responses for the dependable parameters FT, TS, EAB and YM are shown in Table 2, and the effect that C_F and C_G caused in these properties can be observed in Table 3. Film thickness (FT) increased linearly with increasing C_G and C_F concentrations, with values ranging from 0.111 mm to 0.298 mm. Results for Young's Modulus (YM), which is related to the stiffness of the film, indicated the same positive and linear effect caused by C_F , while C_G had the opposite effect (Fig. 2). Elongation at break was increased with increasing the C_G , as illustrated in Fig. 3, where the greatest value of EAB (282.75%) corresponds to Test 10, with no C_F added. Alves et al. (2015) also reported that the addition of bovine gelatin into corn starch films lead to higher FT and EAB values. In contrast, the incorporation of C_F into the film linearly decreased the EAB.

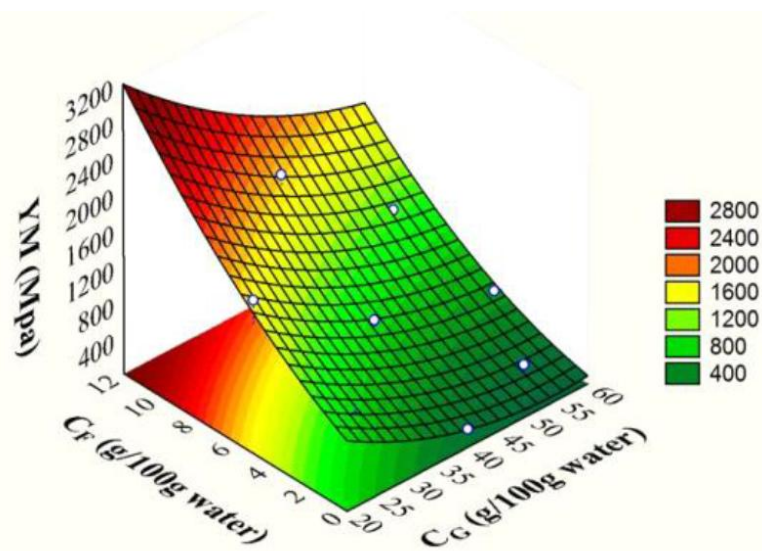


Fig. 2. Response surface for Young's Modulus (YM) as a function of C_G (g/100 g water) and C_F (g/100 g water).

According to Mu et al. (2012), lower EAB values are related to less extensible films and are usually accompanied by greater TS values, which result in stronger films. However, this fact was not observed in this study. The greater TS was followed by the higher EAB value, as demonstrated by Test 10, and, consequently, the model was not statically significant for TS. This anomalous behavior is also supported by the microscopic surface images (subsection 3.2.1), where Test 10, which was not added of fiber, demonstrated uniform surfaces with smooth appearance. In contrast, Test 3, which contains C_G and C_F , presented a rough and irregular top surface accompanied by smooth lower surface. This lack of uniformity regarding its morphology is most likely responsible for the unexpected TS results because the addition of a natural fiber was not able to reinforce this mechanical property, and the strongest film (2.57 MPa) had only C_G in its composition.

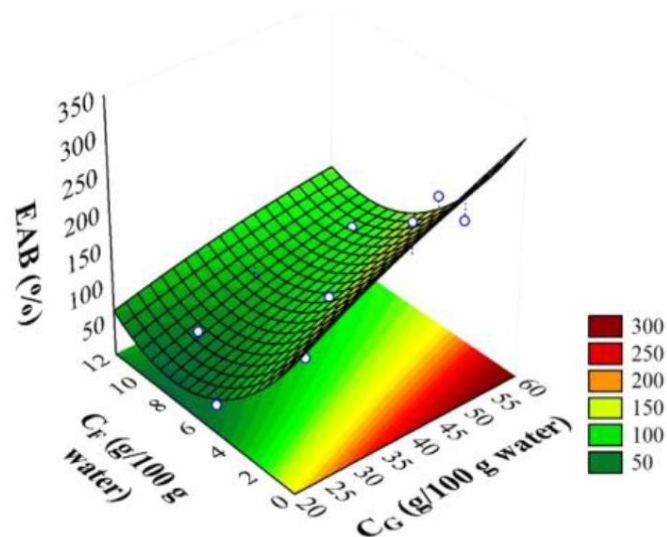


Fig. 3. Response surface for percent elongation at break (EAB) as a function of C_G (g/100 g water) and C_F (g/100 g water).

3.1.3. Water-related properties

One of the main functions of food packaging is to reduce or prevent moisture transfer between the product and its surroundings. Potential applications of films may also require water resistance. As a consequence, WS and WVP are desirable to be as low as possible in packaging materials (de Moura et al., 2011; Elsabee Abdou, 2013).

The results for MC, WS and WVP are presented in Table 2, and the effect of C_G and C_F on WVP can be observed in Fig. 4. Film formulated only with C_G had MC (24.64%) and

WS (44.54%) similar to that of fish gelatin films studied by Núñez-Flores et al. (2013) (WS: 44.29%) and Wu et al. (2015) (MC: 24.59%; WS: 46.55%), whereas WVP (0.566 g mm/ h m² kPa) had lower values than those found in the literature for fish gelatin film (1.421 g mm/ h m² kPa) (Hosseini et al., 2015). Nevertheless, the addition of C_F in the composition was able to linearly decrease results for MC, WS and WVP (Table 3), indicating its potential in improving these attributes in gelatin-based films. According to Sánchez-González et al. (2011), increases in hydrophobic compounds, such as carotenoids present in the carrot residue fiber, are related to the improvement of these properties.

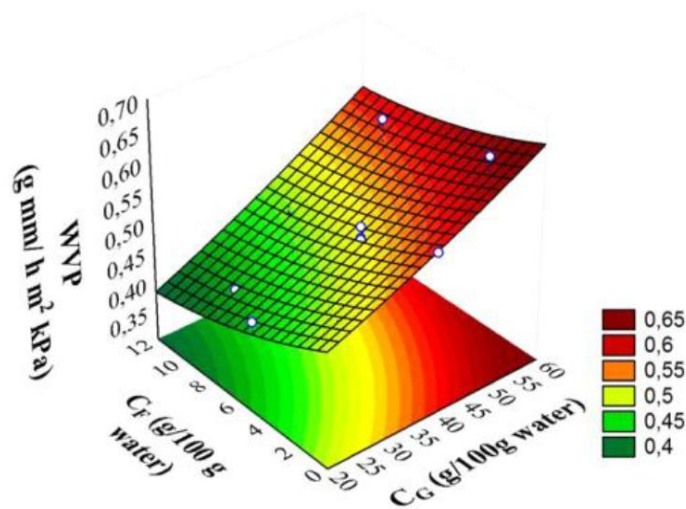


Fig. 4. Response surface for water vapor permeability (WVP) as a function of C_G (g/100 g water) and C_F (g/100 g water).

3.1.4. Light transmission and opacity

Light transmission through films at a wavelength range of 200-800 nm is shown in Table 4. All the films, independent of the concentration of C_G and C_F, presented very low light transmission in the UV region (200-280 nm), most likely due to the high content of aromatic amino acids present in the gelatin waste structure that act as UV barriers (Hamaguchi et al., 2007). In the visible range (350-850 nm), films with C_F added had a much lower transmission of light than the films with no fiber incorporated, which reach 83.00% of light transmittance at 800 nm, while Tests 3, 8 and 11 did not exceed 15% in this same wavelength. This is attributed to the high proportion of C_F fibers present in these films that

caused light scattering. Additionally the presence of carotenoids caused a specific absorption in the blue region of the spectrum.

The film prepared using only C_G was found to be the most transparent, with an opacity value lower than 1 at 600 nm (Table 2), similar to that of bovine-hide (0.46) and tuna-skin (0.38) gelatin films (Gómez-Estaca et al., 2009b;). Opacity was linearly decreased by the presence of C_G , while C_F contributed to an increase in this property (Table 3). Consequently, the incorporation of carrot residue fiber was considered beneficial because these films presented a protective barrier against light and UV radiation, which is an advantageous quality for food packaging.

Table 4. Light transmission values for the full experimental design.

Test	Light transmission (%) at different wavelengths (nm)*								
	200	280	300	350	400	500	600	700	800
1	0.03	0.51	17.12	28.06	38.88	44.92	48.04	49.29	50.11
2	0.03	0.00	2.76	12.64	33.01	46.91	54.38	57.23	58.91
3	0.03	0.03	0.03	0.02	1.32	4.02	9.75	11.69	12.63
4	0.03	0.03	0.03	0.03	1.89	5.99	14.00	17.02	18.67
5	0.02	0.01	0.45	2.55	9.26	16.20	23.34	25.45	26.48
6	0.04	0.01	0.48	2.46	9.51	15.32	22.19	24.26	25.31
7	0.04	0.03	0.52	2.84	9.59	15.84	21.08	22.57	23.35
8	0.04	0.01	0.49	0.99	4.01	7.59	12.02	13.33	13.93
9	0.04	0.03	0.30	2.37	11.37	20.83	29.10	31.67	32.97
10	0.02	0.88	36.50	60.52	73.10	79.77	82.64	82.52	83.00
11	0.03	0.03	0.04	0.04	0.60	2.72	9.31	9.69	10.75

* Each value represents the mean value of three determinations.

3.2. Election of film formulations and complementary characterization

Responses to DPPH radical scavenging capacity, film thickness, mechanical, water-related and optical properties were individually analyzed to determine the film formulations with the best combination of improved properties. Based on this and on the response surfaces (Figs. 1, 2, 3, 4), Test 3 was selected to be further studied regarding the synergic effect of C_G and C_F , while Test 10 was chosen because of its similar characteristics with other gelatin

films. The choice of Test 3 was mainly justified by its comparable result for TS with the one found for Test 10, whereas other properties studied presented improved characteristics by the addition of fiber, specifically I and WVP, which are of great importance in food packaging. Therefore, these two films were thoroughly assayed by the following analyses: scanning electron microscopy, thermal stability and retardation of sunflower oil primary oxidation.

3.2.1. Film surface characteristics

Scanning electron microscopy (SEM) was performed for the selected films, Test 3 and Test 10, for both lower (in contact with Petri dish) (Fig. 5A) and upper (drying surface) (Fig. 5B) surfaces. In general, the photomicrographs of the film surfaces in contact with the Petri dish had a homogeneous and compact structure for both formulations. Similar results were found for films from tilapia skin gelatin, which showed a smooth and homogenous surface (Nagarajan et al., 2014). Although the fibers were dispersed and well incorporated into the film matrix, Test 3 containing 26% C_G and 8.5% C_F revealed a less homogenous upper surface.

This phenomenon may be related to the high content of insoluble fiber present in C_F , which induced the movement of fiber particles towards the upper surface of the film during drying and caused the formation of a less smooth surface. A similar behavior was observed when lignin was incorporated into fish gelatin film and caused a disruption of the smooth and homogeneous structure of the gelatin-based film, which was explained by the certain degree of immiscibility between the two components (Núñez-Flores et al., 2013). Ahmad et al. (2015) reported the same effect on fish-gelatin-based films added of rice flour and emphasized that the discontinuity and roughness of film microstructure depends on the interaction of the components and may be enhanced by the arrangement of polymer chains in the films matrix, which may take place in different ways during film formation. As well as in their study, this work demonstrated that the components of the biopolymer matrix were compatible and systematically mixed.

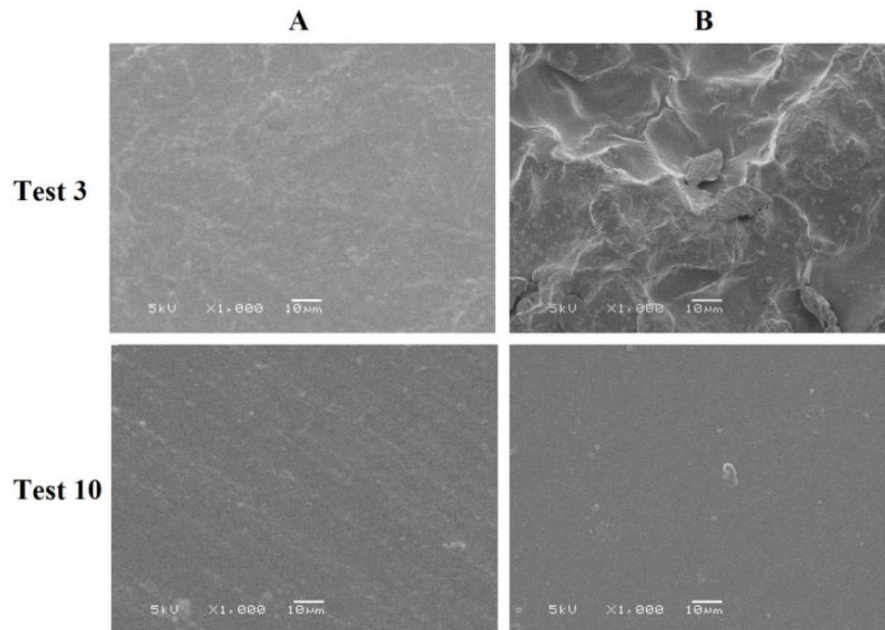


Fig. 5. Photomicrographs observed by SEM of lower (A) and upper (B) surface of the selected film formulations, Tests 3 and 10.

3.2.2. Thermal stability

The thermal stability of selected films is shown in Fig. 6. Weight loss was associated with three main stages for both films, which presented similar behaviors. The experiment was undertaken from room temperature (~ 30 °C) to 600 °C. The first stage was up to 150 °C, mostly related to the continuous loss of free water, 13.10% for the sample Test 3 and 10.00% for the Test 10. The second stage (150–200 °C) was mainly characterized by the loss of glycerol, structurally bound water and protein fractions of smaller size, as also reported by Nagarajan et al. (2013) in films made with gelatin from splendid squid skin. The Test 3 showed 7.43 % of weight loss in this range of temperature and Test 10 sample showed 5.05%, which represents that Test 10 was slightly more thermally stable. The greater weight loss of Test 3 can be ascribed to the presence of low molecular fraction of other compounds, such as the bioactive compounds contained in the carrot residue fiber. Protein fractions of larger size or those highly associated were lost in the third stage, in temperatures ranging from 200 °C to 450 °C. From 250 °C, the variation of weight loss of Test 10 was slightly greater than Test 3 and this behavior was extended to the end of the experiment, where at 600 °C, Test 3 showed

~17% residual mass, while Test 10 had ~14%. This result may be due to the presence of the fibers and their interactions with the components of the biopolymer matrix via covalent and non-covalent bonding, which caused an increasing in the carbon residue content, considering that the analysis was made under inert atmosphere and the combustion was not complete (Oliveira et al., 2015). Therefore, it was possible to observe that the addition of C_F slightly affected the thermal stability of the resulting C_G-C_F composite film, but the TGA curves indicate that the two studied films had similar thermograms and were thermally stable until near 200°C.

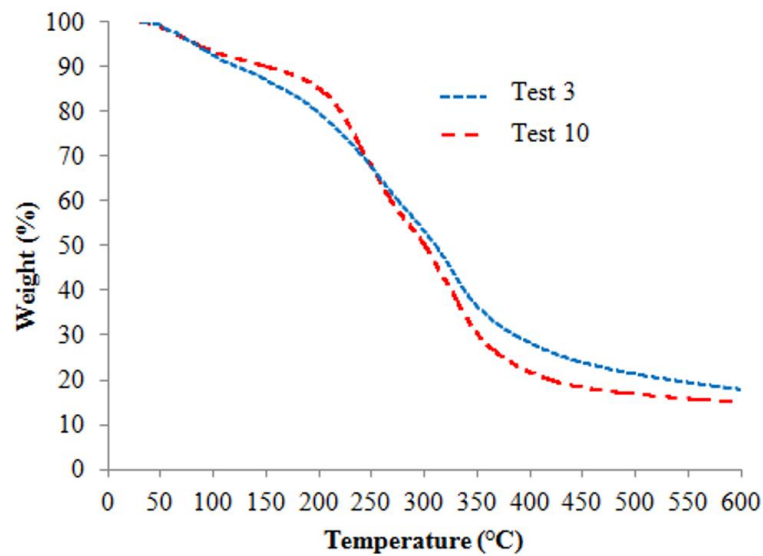


Fig. 6. TGA curves for the selected film formulations, Tests 3 and 10.

3.2.3. Effect of films on oxidative stability of sunflower oil

Oxidation of polyunsaturated fatty acids drastically affects food quality (Berton-Carabin et al., 2013). Active packaging incorporated with natural antioxidants represents a promising preservation technique to extend food shelf life and prevent this problem. The determination of peroxide value (PV) is one of the most important methods to evaluate the quality of vegetable oils, and its measurement indicates the primary oxidation status of the oil, which can easily lead to further rancidity stages (Pizarro et al., 2013; Yang et al., 2014).

The initial PV value of commercial sunflower oil was near 2.2 mEq/kg. The results of PV are shown in Table 5. Oil kept in closed plastic bottles and in open glass Petri dishes underwent a similar extreme oxidation process during the time of the experiment and reached PV values over 270 mEq/kg on day 28. It is important to note that during the time of the

experiment, PV values for oil packed in films Test 3 and Test 10 did not exceed 10 mEq/kg, which is the recommended limit for refined oils to be considered fresh (Codex Alimentarius, 1999).

Table 5. Peroxide values (mEq/kg) of sunflower oil maintained in closed plastic bottles (PLA), in open glass Petri dishes (GLA) and in the selected film formulations Tests 3 and 10 at 40 °C, over 28 days under fluorescent light (900-1000 lux).

	Day 3	Day 7	Day 14	Day 21	Day 28
PLA	38.54 ± 1.66 ^{dB}	63.04 ± 4.97 ^{dB}	117.00 ± 9.54 ^{CB}	238.75 ± 25.80 ^{bA}	274.91 ± 22.19 ^{aA}
GLA	62.18 ± 0.11 ^{eA}	81.12 ± 10.86 ^{dA}	153.32 ± 16.99 ^{eA}	210.05 ± 4.73 ^{bA}	272.00 ± 5.11 ^{aA}
Tets 3	5.13 ± 0.03 ^{aD}	5.23 ± 0.32 ^{aD}	5.37 ± 0.28 ^{aD}	5.29 ± 0.47 ^{aC}	5.32 ± 0.22 ^{aC}
Test 10	6.80 ± 0.61 ^{bC}	8.29 ± 1.63 ^{aC}	9.64 ± 0.05 ^{aC}	9.55 ± 0.06 ^{aB}	9.96 ± 0.62 ^{aB}

Mean ± SD (n = 3).

Different superscript lower case letters in the same line indicate statistically significant differences ($p < 0.05$).

Different superscript capital letters in the same column indicate statistically significant differences ($p < 0.05$).

Although Test 3 achieved better results than Test 10 ($p < 0.05$), it can be concluded that both films acted as antioxidant packaging, protecting the sunflower oil from primary oxidation. Colín-Chávez et al. (2013) demonstrated that polyethylene-based films with the addition of marigold extract, a source of astaxanthin, had a beneficial effect on packed soybean oil stability. This protective action was attributed to the presence of carotenoids from marigold extract, which have the capacity to act as antioxidant agents. In the present study, carotenoids from carrot residue fiber seem to have caused the same advantageous result.

Moreover, gelatin is reported to present antioxidant activity due to its amino acid content (Mendis et al., 2005). Thus, films based on this protein possess this capacity to some extent, as demonstrated by different in vitro methods or when directly applied to food products to retard peroxide formation (Gómez-Estaca et al., 2009a; Jongjareonraka et al., 2008; Tongnuanchan et al., 2013).

4. Conclusions

In this study, fully biodegradable films were successfully produced from food and nutraceutical residues. Based on the experimental results, C_F had a beneficial effect on the DPPH radical scavenging activity, moisture content, water solubility and water vapor

permeability, whereas the C_G-based film demonstrated the greatest tensile strength. The selected film formulations (Test 3 and Test 10) showed great optical and thermal properties, as well as potential capacity for protecting sunflower oil from primary rancidity reactions. SEM photomicrographs showed that C_F was well dispersed on the biocomposite film, while C_G-based film presented a more homogeneous surface. Test 3 and Test 10 were thermally stable until near 200 °C. Therefore, the results suggest that residues of gelatin capsules and minimally processed carrot are promising sources of material to produce active packaging films with improved properties. Furthermore, they can contribute to the extension of food shelf life and to the progress of environmentally friendly strategies.

Acknowledgments

This work was financially supported by FAPERGS and CNPq. The authors thankfully acknowledge the Chemical Pharmaceutical Tiaraju Laboratory and Degasperi Wholesaler Company, both from Rio Grande do Sul, Brazil, for supplying the raw material.

References

- Ahmad, M., Hani, N.M., Nirmal, N.P., Fazial, F.F., Mohtar, N.F., Romli, S.R., 2015. Optical and thermo-mechanical properties of composite films based on fish gelatin/rice flour fabricated by casting technique. *Prog. Org. Coat.* 84, 115-127.
- Alves, J. S., dos Reis, K. C., Menezes, E. G. T., Pereira, F. V., Pereira, J., 2015. Effect of cellulose nanocrystals and gelatin in corn starch plasticized films. *Carbohydr. Polym.* 115, 215-222.
- AOCS, 1993. Peroxide value acetic acid-chloroform method- AOCS Official Method Cd 8-53. In: *Official methods and recommended practices of the American Oil Chemists' Society*, 4th ed. American Oil Chemists' Society (AOAC), Champaign, IL.
- ASTM, 2005. Standard test method for water vapor transmission of materials (E 96-05). In: *Annual Book of ASTM Standards*. American Society for Testing Materials, Philadelphia, PA.
- ASTM, 2009. Standard test method for tensile properties of thin plastic sheeting (D882-09). In: *Annual Book of ASTM Standards*. American Society for Testing and Materials, Philadelphia, PA.

- Berton-Carabin, C., Genot, C., Gaillard, C., Guibert, D., Ropers, M. H., 2013. Design of interfacial films to control lipid oxidation in oil-in-water emulsions. *Food Hydrocolloids* 33, 99-105.
- Chantaro, P., Devahastin, S., Chiewchan, N., 2008. Production of antioxidant high dietary fiber powder from carrot peels. *LWT Food Sci. Technol.* 41, 1987-1994.
- Codex-Alimentarius (FAO/WHO), 1999. Codex standard for named vegetable oils. In: *Codex-Stan 210*, Rome.
- Colín-Chávez, C., Soto-Valdez, H., Peralta, E., Lizardi-Mendoza, J., Balandrán-Quintana, R.R., 2013. Fabrication and properties of antioxidant polyethylene-based films containing marigold (*Tagetes erecta*) extract and application on soybean oil stability. *Packag. Technol. Sci.* 26, 267-280.
- Colín-Chávez, C., Vicente-Ramírez, E. B., Soto-Valdez, H., Peralta, E., Auras, R., 2014. The release of carotenoids from a light-protected antioxidant active packaging designed to improve the stability of soybean oil. *Food Bioprocess Tech.* 7, 3504–3515.
- Colla, E., Sobral, P. J. A., Menegalli, F. C., 2006. *Amaranthus cruentus* flour edible films: influence of stearic acid addition, plasticizer concentration, and emulsion stirring speed on water vapor permeability and mechanical properties. *J. Agric. Food Chem.* 54, 6645-6653.
- Davis, G., Song, J. H., 2006. Biodegradable packaging based on raw materials from crops and their impact on waste management. *Ind. Crops Prod.* 23, 147-161.
- de Moura, M. R., Lorevice, M. V., Mattoso, L. H. C., Zucolotto, V., 2011. Highly stable, edible cellulose films incorporating chitosan nanoparticles. *J. Food Sci.* 76, N25-N29.
- Elsabee, M. Z., Abdou, E. S., 2013. Chitosan based edible films and coatings: a review. *Mater. Sci. Eng. C* 33, 1819-1841.
- Fang, Y., Tung, M. A., Britt, I. J., Yada, S., Dalgleish, D. G., 2002. Tensile and Barrier Properties of Edible Films Made from Whey Proteins. *J. Food Sci.* 67, 188-193.
- Gómez-Estaca, J., Giménez, B., Montero, P., Gómez-Guillén, M. C., 2009a. Incorporation of antioxidant borage extract into edible films based on sole skin gelatin or a commercial fish gelatin. *J. Food Eng.* 92, 78-85.

- Gómez-Estaca, J., Montero, P., Fernández-Martín, F., Alemán, A., Gómez-Guillén, M. C., 2009b. Physical and chemical properties of tuna-skin and bovine-hide gelatin films with added aqueous oregano and rosemary extracts. *Food Hydrocolloids* 23, 1334-1341.
- Gómez-Guillén, M. C., Pérez-Mateos, M., Gómez-Estaca, J., López-Caballero, E., Giménez, B., Montero, P., 2009. Fish gelatin: a renewable material for developing active biodegradable films. *Trends Food Sci. Technol.* 20, 3-16.
- Hamaguchi, P. Y., WuYin, W., Tanaka, M., 2007. Effect of pH on the formation of edible films made from the muscle proteins of Blue marlin (*Makaira mazara*). *Food Chem.* 100, 914-920.
- Han, J. H., Floros, J. D., 1997. Casting antimicrobial packaging films and measuring their physical properties and antimicrobial activity. *J. Plast. Film Sheeting*, 13, 287-298.
- Hiranvarachat, B., Devahastin, S., 2014. Enhancement of microwave-assisted extraction via intermittent radiation: Extraction of carotenoids from carrot peels. *J. Food Eng.* 126, 17-26.
- Hosseini, S. F., Rezaei, M., Zandi, M., Farahmandghavi, F., 2015. Fabrication of biocomposite films based on fish gelatin reinforced with chitosan nanoparticles. *Food Hydrocolloids* 44, 172-182.
- Huang, D., Ou, B., Prior, R. L., 2005. The chemistry behind antioxidant capacity assays. *J. Agric. Food Chem.* 53, 1841-1856.
- Jeya Shakila, R., Jeevithan, E., Varatharajakumar, A., Jeyasekaran, G., Sukumar, D., 2012. Comparison of the properties of multi-composite fish gelatin films with that of mammalian gelatin films. *Food Chem.* 135, 2260-2267.
- Jongjareonrak, A., Benjakul, S., Visessanguan, W., Tanaka, M., 2008. Antioxidative activity and properties of fish skin gelatin films incorporated with BHT and α -tocopherol. *Food Hydrocolloids* 22, 449-458.
- Kiruthika, A., Priyadarzini, T. K., Veluraja, K., 2012. Preparation, properties and application of tamarind seed gum reinforced banana fibre composite materials. *Fibers Polym.* 13, 51-56.
- Li, J.-H., Miao, J., Wu, J.-L., Chen, S.-F., Zhang, Q.-Q., 2014. Preparation and characterization of active gelatin-based films incorporated with natural antioxidants. *Food Hydrocolloids* 37, 166-173.

- López-de-Dicastillo, C., Gómez-Estaca, J., Catalá, R., Gavara, R., Hernández-Muñoz, P., 2012. Active antioxidant packaging films: development and effect on lipid stability of brined sardines. *Food Chem.* 131, 1376-1384.
- Martucci, J. F., Gende, L. B., Neira, L. M., Ruseckaite, R. A., 2015. Oregano and lavender essential oils as antioxidant and antimicrobial additives of biogenic gelatin films. *Ind. Crops Prod.* 71, 205-213.
- Martucci, J. F., Ruseckaite, R. A., 2010. Biodegradable three-layer film derived from bovine gelatin. *J. Food Eng.* 99, 377-383.
- Mendis, E., Rajapakse, N., Kim, S.-K., 2005. Antioxidant properties of a radical-scavenging peptide purified from enzymatically prepared fish skin gelatin hydrolysate. *J. Agric. Food Chem.* 53, 581-587.
- Montgomery, D.C., 2000. *Design and Analysis of Experiments*, fifth ed. John Wiley Sons, Inc., New York.
- Mu, C., Guo, J., Li, X., Lin, W., Li, D., 2012. Preparation and properties of dialdehyde carboxymethyl cellulose crosslinked gelatin edible films. *Food Hydrocolloids* 27, 22-29.
- Nagarajan, M., Benjakul, S., Prodpran, T., Songtipya, P., Nuthong, P., 2013. Film forming ability of gelatins from splendid squid (*Loligo formosana*) skin bleached with hydrogen peroxide. *Food Chem.* 138, 1101-1108.
- Nagarajan, M., Benjakul, S., Prodpran, T., Songtipya, P., 2014. Characteristics of bio-nanocomposite films from tilapia skin gelatin incorporated with hydrophilic and hydrophobic nanoclays. *J. Food Eng.* 143, 195-204.
- Núñez-Flores, R., Giménez, B., Fernández-Martín, F., López-Caballero, M. E., Montero, M. P., Gómez-Guillén, M. C., 2013. Physical and functional characterization of active fish gelatin films incorporated with lignin. *Food Hydrocolloids* 30, 163-172.
- Nur Hanani, Z. A., Roos, Y. H., Kerry, J. P., 2014. Use and application of gelatin as potential biodegradable packaging materials for food products. *Int. J. Biol. Macromol.* 71, 94-102.
- Oliveira, T. G., Makishi, G. L. A., Chambi, H. N. M., Bittante, A. M. Q. B., Lourenço, R. V., Sobral, P. J. A., 2015. Cellulose fiber reinforced biodegradable films based on proteins extracted from castor bean (*Ricinus communis L.*) cake. *Ind. Crops Prod.* 67, 355-363.

- Pagno, C.H., Costa, T.M.H., de Menezes, E.W., Benvenuti, E.V., Hertz, P.F., Matte, C.R., Tosati, J.V., Monteiro, A.R., Rios, A.O., Flôres, S.H., 2015. Development of active biofilms of quinoa (*Chenopodium quinoa* W.) starch containing gold nanoparticles and evaluation of antimicrobial activity. *Food Chem.* 173, 755-762.
- Pizarro, C., Esteban-Díez, I., Rodríguez-Tecedor, S., González-Sáiz, J.M., 2013. Determination of the peroxide value in extra virgin olive oils through the application of the stepwise orthogonalisation of predictors to mid-infrared spectra. *Food Control* 34, 158–167.
- Sánchez-González, L., Chiralt, A., González-Martínez, C., Cháfer, M., 2011. Effect of essential oils on properties of film forming emulsions and films based on hydroxypropylmethylcellulose and chitosan. *J. Food Eng.* 105, 246-253.
- Schettini, E., Santagata, G., Malinconi/co, M., Immirzi, B., Scarascia Mugnozza, G., Vox, G., 2013. Recycled wastes of tomato and hemp fibres for biodegradable pots: physico-chemical characterization and field performance. *Resour. Conserv. Recycl.* 70, 9-19.
- Schieber, A., Stintzing, F. C., Carle, R., 2001. By-products of plant food processing as a source of functional compounds — recent developments. *Trends Food Sci. Technol.* 12, 401-413.
- Talja, R. A., Helén, H., Roos, Y. H., Jouppila, K., 2008. Effect of type and content of binary polyol mixtures on physical and mechanical properties of starch-based edible films. *Carbohydr. Polym.* 71, 269-276.
- Tongnuanchan, P., Benjakul, S., Prodpran, T., 2013. Physico-chemical properties, morphology and antioxidant activity of film from fish skin gelatin incorporated with root essential oils. *J. Food Eng.* 117, 350-360.
- Tongnuanchan, P., Benjakul, S., Prodpran, T., Niluwan, K., 2015. Emulsion film based on fish skin gelatin and palm oil: physical, structural and thermal properties. *Food Hydrocolloids* 48, 248-259.
- Versino, F., López, O. V., García, M. A., 2015. Sustainable use of cassava (*Manihot esculenta*) roots as raw material for biocomposites development. *Ind. Crops Prod.* 65, 79-89.
- Wu, J., Chen, S., Ge, S., Miao, J., Li, J., Zhang, Q., 2013. Preparation, properties and antioxidant activity of an active film from silver carp (*Hypophthalmichthys molitrix*) skin gelatin incorporated with green tea extract. *Food Hydrocolloids* 32, 42-51.

- Wu, J., Liu, H., Ge, S., Wang, S., Qin, Z., Chen, L., Zheng, Q., Liu, Q., Zhang, Q., 2015. The preparation, characterization, antimicrobial stability and in vitro release evaluation of fish gelatin films incorporated with cinnamon essential oil nanoliposomes. *Food Hydrocolloids* 43, 427-435.
- Yang, Y., Li, Q., Yu, X., Chen, X., Wang, Y., 2014. A novel method for determining peroxide value of edible oils using electrical conductivity. *Food Control*, 39, 198-203.

ARTIGO 2: Antioxidant films based on gelatin capsules and minimally processed beet root (*Beta vulgaris* L. var. *Conditiva*) residues

Revisado para publicação em: Journal of Applied Polymer Science

Aline Oliveira e Silva Iahnke ^a, Tania Maria Haas Costa ^{a,b}, Alessandro de Oliveira Rios ^a,
Simone Hickmann Flôres ^{a,*}

^a Institute of Food Science and Technology, Federal University of Rio Grande do Sul (UFRGS), Av. Bento Gonçalves, 9500, Agronomia, 91501-970, Porto Alegre, Rio Grande do Sul, Brazil.

^b Institute of Chemistry, Federal University of Rio Grande do Sul (UFRGS), Av. Bento Gonçalves, 9500, Agronomia, 91501-970, Porto Alegre, Rio Grande do Sul, Brazil.

*Corresponding author. Tel.: +5551 3308-9789; fax: +5551 3308-7048. E-mail address: simone.flores@ufrgs.br

Antioxidant films based on gelatin capsules and minimally processed beet root (*Beta vulgaris* L. var. *Conditiva*) residues

ABSTRACT

Biocomposite films were prepared by incorporating different concentrations of beet root residue powder (BRP) (2, 4, 8, and 12 g BRP/100 g water) into films based on residues of gelatin capsules (GCR) (40 g GCR/ 100 g water). Control films had no BRP added. A complete mechanical, physicochemical, barrier, optical and antioxidant characterization of all films was performed. Among all the films considered, BRP12 was found to present the most adequate properties and was further investigated. SEM micrographs showed that BRP12 presented a less homogeneous surface in comparison with the control film, but they showed similar thermal stability. After 15 days of soil degradation, the films lost over 75% of weight. The films were effective on protecting sunflower oil from primary oxidation process and BRP12 showed higher protection than control film. Therefore, this study suggests that the formulated films could act as promising antioxidant materials and contribute to environmentally friendly technologies.

KEYWORDS: biodegradable; biopolymers and renewable polymers; films; packaging.

1 INTRODUCTION

The waste disposal of petroleum-based plastics, which do not naturally decompose, has become an increasing environmental concern. One alternative to replace these synthetic materials is the use of biopolymers such as proteins, carbohydrates and lipids, to develop biodegradable products. In this sense, packaging films made of renewable resources have received attention because of their advantageous and eco-friendly characteristics including complete degradation by microorganisms, biocompatibility and potential food applications.¹ In addition, biodegradable films can be produced from industrial residues and thus, further cooperate with the development of sustainable technologies. Packaging films have been successfully manufactured from industrial wastes, which are consequently turned into added value products. Sedlařík et al.² have developed biocomposites based on dairy industry waste

and a synthetic biodegradable polymer, and Çokaygil et al.³ incorporated pectin jelly extracted from orange peels into starch films.

Residues generated by the processing of fruits and vegetables are the most well studied sources of antioxidants and dietary fibers.⁴ Taking this into account, residues from the minimal processing of beet root (*Beta vulgaris* L. var. Conditiva) could be a source of active and reinforcing agents for biopolymers because they contain both natural antioxidants and fiber. This antioxidant potential is due to the significant content of phenolic compounds and betalains,⁵ and the natural fiber content is essentially cellulose fibrils incorporated into a lignin matrix, as for all plant fibers.⁶ Although this material presents advantageous nutritional and functional characteristics, it is usually discharged and inevitably collaborates with the large amount of global food waste.

Another interesting industrial residue is that generated by the processing of nutraceutical gelatin capsules. This material is primarily composed of gelatin, glycerol and water, but it is not reused by industries and implies waste treatment and disposal. In fact, proteins from diverse sources are used as biopolymers to develop biodegradable materials because of characteristics such as film-formation and relative abundance.⁷ Nonetheless, to the best of our knowledge, this study is the first to explore the use of gelatin capsules residue as a bio-based matrix in conjunction with residues from minimally processed beet root to develop active biodegradable films.

Therefore, based on the potential use of industrial residues and application of biodegradable films, the aim of the present study was to investigate the effect of beet root residues on the mechanical, physicochemical, barrier, optical and antioxidant properties of gelatin-based biodegradable films. The thermal, morphological and degradation properties of a selected film were also evaluated, along with its protective effect against sunflower oil primary oxidation.

2 EXPERIMENTAL

2.1 Materials

Peels, stalks and shavings obtained from the minimal processing of beet root (*Beta vulgaris* L. var. Conditiva) were donated by Degasperi Wholesaler (Rio Grande do Sul, Brazil). Gelatin capsule residue, derived from the production of linseed oil nutraceutical capsules, was supplied by the Chemical Pharmaceutical Tiaraju Laboratory (Rio Grande do

Sul, Brazil). The gelatin used to produce the capsules was of bovine source and molecular weight about 110 kDa. Radical 2,2-diphenyl-1-picrilidrazil (DPPH) was purchased from Sigma-Aldrich (São Paulo, Brazil). Sunflower oil (Cargill Agrícola SA, Brazil) and soil (Vida Ecological Development Ltda) were purchased at a local market. All other chemicals used in this study were of analytical grade.

2.2 Preparation and characterization of beet root residue powder

The residues obtained from the minimal processing of beet root were first sanitized with sodium hypochlorite (200 ppm; 15 min), centrifuged and sliced in a food processor (model Philips RI7762/91, Walita, Brazil) until they reached a homogeneous size to be dried in an oven with forced air circulation (60 °C; 12 h) (model B5AFD, DeLeo, Brazil). The material was ground in a knife mill (model SL-31, Solab, Brazil) and then sieved (115 mesh) (model Tamis, Bertel, Brazil). A powder (BRP) with particle diameters smaller than 125 μ m was obtained from the beet root residues. Previous analyses had been performed according to AOAC methods⁸ to determine the contents of total dietary fiber (TDF), insoluble dietary fiber (IDF) and soluble dietary fiber (SDF). The results were expressed as gram per 100 g on a dry basis (DB). Additionally, the microstructure of BRP was evaluated by a scanning electron microscopy (SEM) (model JSM 6060, JEOL, Japan). The BRP was packed in a vacuum sealer (model F 200 Flash, Fastvac, Brazil) and stored at 25 °C in the dark until the day of use.

2.3 Characterization of gelatin capsule residue

The composition of the gelatin capsule residue (GCR) was analyzed following the AOAC methods⁸ for protein, lipid, ash and moisture contents. The results were expressed as gram per 100 g on a dry basis (DB). This material was stored under refrigeration (5 °C) before further use.

2.4 Film Preparation

The filmogenic solution (FS) was prepared by melting and dissolving 40 g GCR/ 100 g distilled water at 60 °C for 20 min in a water bath. Preliminary experiments were performed to establish the ideal concentration of GCR and the maximum concentration of BRP to be added without interfering preparation, handling or homogeneity of the films. After the FS was

cooled to 40 °C, BRP was added at concentrations of 2, 4, 8, and 12 g BRP/100 g water and the solution was gently stirred (model 713-D, Fisatom, Brazil). After approximately 3 min, the powder was well dispersed in the FS and no phase separation between the components was detected, regardless the BRP concentration. Film without the incorporation of BRP was used as control. A vacuum pump was used to remove air bubbles. The solution was then cast onto polystyrene Petri dishes (0.113 g/cm²) and dried in a ventilated oven (model B5AFD, DeLeo, Brazil) at 35 °C for 14 h. The films were stored for at least 48 h under a controlled relative humidity of 58% at 25 °C (maintained by a saturated NaBr solution) prior to characterization.

2.5 Film Characterization

2.5.1 Thickness and mechanical properties

Film thickness was determined with a digital micrometer (model IP40, Digimess, Brazil) with 0 to 25 mm resolution and 0.001 accuracy. Measurements were performed at five random positions for each sample, and the average value was calculated. The tensile strength (TS; MPa), percent elongation at break (EAB; %), and Young's Modulus (YM; MPa) were evaluated for ten strips of each film (100 mm × 25 mm). A texture analyzer (TA.XT2i e Stable Micro Systems, United Kingdom) was used to perform the mechanical analysis, according to the ASTM D882-09⁹: initial grid separation of 50 mm and crosshead speed of 0.8 mm.s⁻¹.

2.5.2 Moisture content and water solubility

The moisture content (MC) was gravimetrically determined by oven-drying (model TLK48, DeLeo, Brazil) three samples of each film (2 cm in diameter) at 105 °C for 24 h. It was calculated as the percentage of weight loss during drying relative to the initial weight. The water solubility (WS) was measured according to Colla et al.¹⁰ with slight modifications. The previously dried films were immersed in 30 ml of distilled water and the mixture was maintained under soft stirring for 24 h at 25 °C using a shaker (model NT145, Novatecnica, Brazil). This property was expressed as the percentage of solubilized matter from dry films after immersion.

2.5.3 Swelling

The films were analyzed according to Cao et al.¹¹ Samples (2.5 cm × 2.5 cm) were previously weighed (w_1) in air-dried conditions and then immersed in deionized water (25 °C ± 2 °C). After 2 min, the films were taken from the water, the excess of water was removed with the help of filter paper and the samples were weighed (w_2). The adsorbed water was calculated by the following equation:

$$\text{Swelling (\%)} = [(w_2 - w_1)/w_1] \times 100$$

where w_1 and w_2 are the weights of the air-dried and wet samples.

2.5.4 Water vapor permeability

Evaluation of the water vapor permeability (WVP) of films was based on ASTM standard E96¹² and on the procedure described by Talja et al.¹³ with slight modifications. The films were fixed onto aluminum permeation cells (inner diameter: 63 mm; height: 25 mm) containing granular anhydrous CaCl₂. The temperature was maintained at 25 °C to achieve a relative humidity gradient of 0/75%. The progress of mass gain was followed gravimetrically at intervals of 1 h, 2 h, 12 h, and 24 h.

2.5.5 Color parameters

The CIELab color parameters, L* (lightness/brightness), a* (redness/greenness) and b* (yellowness/blueness), were determined for the surface of the films using a colorimeter (model CR-300, Minolta Co. Ltd., Japan). The films were placed on a white plate ($L_0^* = 97.83$, $a_0^* = 0.13$ and $b_0^* = 1.66$) as a standard background. The total difference in color (ΔE^*) was calculated as follows¹⁴:

$$\Delta E^* = \sqrt{(L^* - L_0^*)^2 + (a^* - a_0^*)^2 + (b^* - b_0^*)^2}$$

2.5.6 Light transmission and opacity

Light transmission measurements were taken at wavelengths from 200 nm to 800 nm.¹⁵ A UV-vis spectrophotometer (model UV-1800, Shimadzu, Japan) was used to evaluate the light barrier properties of the films. The opacity value was calculated by the following equation¹⁶:

$$\text{Opacity value (A/mm)} = (-\log T_{600}) / x$$

where T_{600} is the fractional transmittance at 600 nm, and x is the film thickness (mm).

2.5.7 DPPH radical scavenging activity

Analysis of the capacity of the antioxidant components present in the films to scavenge the stable radical DPPH was adapted from the method described by Huang et al.¹⁷ Typically, 0.1 mL of sample solution is used, but in this case, 1 cm² of each film sample was added to 3.9 mL of a methanolic DPPH solution (0.06 mmol/L). The mixture was kept in the dark under orbital agitation at 80 rpm (model NT145, Novatecnica, Brazil). After 8 h, a spectrophotometer (model PC, Shimadzu, Japan) was used to measure the absorbance of the mixture, at a wavelength of 517 nm. A methanolic DPPH solution without a film sample served as the blank. This property was calculated as follows:

$$I(\%) = [(A_b - A_f) \div A_b] \times 100$$

where I is the percentage inhibition of the DPPH radical, A_b is the blank absorbance and A_f is the film absorbance.

2.5.8 Thermal stability

The selected and control films was evaluated on a thermogravimetric analyzer (TGA) (model TGA-50, Shimadzu, Japan) operated at a rate of 10 °C min⁻¹ from room temperature to 600 °C. Nitrogen was used as the purge gas.

2.5.9 Film surface characteristics

A scanning electron microscope (SEM) (model JSM 6060, JEOL, Japan) was used at an accelerating voltage of 5.0 kV to visualize the morphology of the upper (drying surface) and lower (in contact with the Petri dish) surfaces of the selected and control films. All samples were stuck onto cylindrical bronze stubs with double-sided adhesive and then thinly sputtered with gold. Micrographs were observed at a magnification of 1000x.

2.5.10 Indoor soil burial degradation

The soil burial degradation test was performed for the selected and control films according to the methodology described by Martucci and Ruseckaite¹⁸ with some modifications. Plastic boxes (6 cm × 6 cm × 6.5 cm) were added of natural organic soil and used as the degradation medium for films. The film samples were cut into rectangles (2 cm × 3 cm) and dried at 60 °C (model TLK48, DeLeo, Brazil) until constant weight (m₀). Then, they were placed into an aluminum mesh and buried at the depth of 4 cm from the surface of

the soil. Every two days, water was added to the soil to maintain the humidity at approximately 40%. The degree of degradation of the films was determined after 5, 10 and 15 days as the weight loss (WL; %), by the equation:

$$\text{WL (\%)} = [(m_t - m_0) / m_0] \times 100$$

where m_0 is the initial mass and m_t is the remaining dried mass at time t .

2.5.11 Effect of the film on the retardation of sunflower oil oxidation

The selected and control films were cut into rectangles of 110 mm × 60 mm, bent and sealed (model F 200 Flash, Fastvac, Brazil) on both edges. The top remained open until 8 mL of sunflower oil containing no artificial antioxidants was added. The controls also consisted of sunflower oil packed in closed plastic bottles (PLA) and in open-glass Petri dishes (GLA). The bags and controls were stored for 35 days at 35°C and 54% RH and exposed to fluorescent lights with an intensity of 900-1000 lux (Luxometer, model MS6610, V&A Instrument, China). Samples of oil were collected after 3, 7, 14, 21, 28 and 35 days to determine the peroxide value (PV). The CIELab color parameters, L^* , a^* and b^* were determined for the oil packed in the films to investigate the transference of pigments from the material into the food product.

2.5.12 Statistical analysis

All analyses were performed in triplicate. One-way analysis of variance (ANOVA) was performed on the data. Tukey's test of multiple comparisons was applied to analyze differences between the means of the properties of the films. The level of significance was established at $p < 0.05$. The software Statistica 12.0 (Statsoft Inc., Tulsa, USA) was used for data analysis.

3 RESULTS AND DISCUSSION

3.1 Characterization of beet root residue powder

The content of total dietary fiber (TDF) in BRP was 65.97 g/100 g (DB), which was comprised of 46.01 g of insoluble dietary fiber (IDF) and 19.96 g of soluble dietary fiber (SDF). The content of TDF in BRP was very similar to that of other fibrous agro-industrial residues, such as malt bagasse, oat hulls, rice hulls and fibrous residues from banana pseudo-stems,¹⁹ whereas the content of SDF was approximately 10 times more abundant.

The SEM micrographs of BRP are shown in Figure 1. Irregular clumps and both smooth and rough surfaces were observed. Fibers without chemical or physical treatment tend to present smooth surfaces because of the presence of hemicellulose, pectin and/or lignin that form a smooth and thick outer layer. However, these materials can be removed from the fiber bundles during grinding and expose the fiber microstructure, which results in rough and flaky fiber structures.²⁰

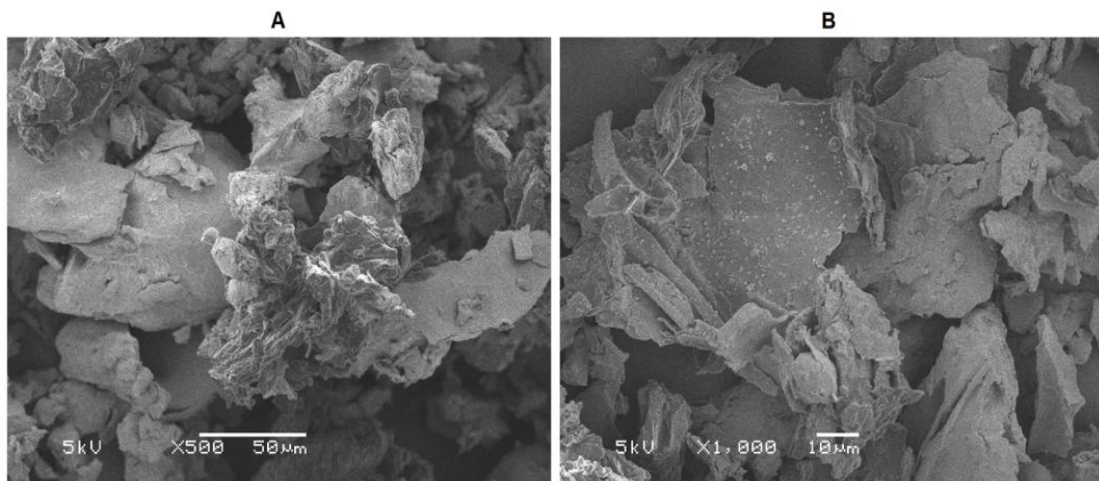


Figure 1. Scanning electron micrographs of beet root powder: (A) 500x magnification and (B) 1000x magnification.

3.2 Characterization of gelatin capsule residue

As demonstrated in Table 1, the major components of GCR were protein, glycerol and water. The content of protein is related to the presence of gelatin in the residue, whereas glycerol is the plasticizer agent.

Table 1. Chemical composition (g/100 g DB) of gelatin capsule residues (GCR).

GCR	
Moisture (%)	28.98 ± 0.25
Protein	65.95 ± 1.89
Lipid	0.77 ± 0.06
Ash	0.27 ± 0.00
Glycerol	33.01

Mean values ± standard deviation (n = 3).

3.3 Film Characterization

3.3.1 Thickness and mechanical properties

Results for film thickness (FT), tensile strength (TS), elongation at break (EAB) and Young's Modulus (YM) are shown in Table 2. Results for FT ranged from 0.133 mm to 0,267 mm. The increasing concentration of BRP resulted in greater film thickness, which may be attributed to the distribution of BRP in the gelatin matrix and the increasing solid content of the film composition. In general, values of EAB increase as the level of plasticizer increases.²¹ The higher proportion of gelatin and, consequently, of glycerol in the control film formulation produced the most flexible films and achieved the highest EAB value (282.75%), while the increasing concentration of BRP caused a decrease in EAB values. The same effect was observed for YM, which indicates that the control film was less stiff and films BRP8 (674.72 MPa) and BRP12 (731.58 MPa) were the most rigid. In the present study, the TS property was not significantly influenced by the addition of BRP, and values averaged 2.48 MPa.

Table 2. Film thickness (FT), tensile strength (TS), elongation at break (EAB) and Young's Modulus (YM) of films based on GCR incorporated of different concentrations of BRP.

Sample	FT (mm)	TS (MPa)	EAB (%)	YM (MPa)
Control	0.133 ± 0.011 ^e	2.57 ± 0.14 ^a	282.75 ± 16.39 ^a	202.21 ± 17.34 ^d
BRP2	0.168 ± 0.013 ^d	2.48 ± 0.31 ^a	229.08 ± 7.52 ^b	365.49 ± 53.53 ^c
BRP4	0.198 ± 0.012 ^c	2.45 ± 0.21 ^a	181.67 ± 13.55 ^c	532.98 ± 60.16 ^b
BRP8	0.216 ± 0.014 ^b	2.43 ± 0.07 ^a	137.63 ± 9.18 ^d	674.72 ± 79.14 ^a
BRP12	0.267 ± 0.016 ^a	2.45 ± 0.13 ^a	117.96 ± 7.36 ^e	731.58 ± 79.38 ^a

Mean values ± standard deviation (n = 3).

Different superscript letters in the same column indicate statistically significant differences (p < 0.05).

Similar results were observed by Iahnke et al. (2015) who developed biocomposites based on gelatin and carrot residue fiber. The addition of the fiber in the films increased YM and decreased EAB. Despite the addition of the fiber improved many of other film properties, it was not able to act as a reinforcement agent regarding the tensile properties. In another study, the addition of 10% and 20% of sugar cane fiber in starch films increased the YM, and

decreased EAB and TS. Increasing fiber loading usually provides greater TS values. However, the opposite effect may take place when the interactions between the fiber and the matrix are weak and hinder the stress transference from the fiber to the matrix.²² This fact is one possible explanation for the present results, since the interactions between the constituents of the biocomposite are mainly done via hydrogen bonding.

The mechanical strength of biopolymers is influenced by the cohesion of the constituents of the polymer matrix. The formation of strong and/or numerous bonds between polymeric chains results in strong cohesion, which hinders their separation.²³ The BRP, which is insoluble in the gelatinous solution, decreases the cohesion of the film-forming materials and consequently prevents the action of the fiber as a reinforcement agent. This behavior can be also explained by the large stiffness contrast between the fiber, which is very stiff, and the gelatin-based matrix, which is soft, that promotes large stress concentrations at the interface of the fiber/matrix.²⁴ Therefore, the utilization of fiber treatments such as bleaching, alkalisation and addition of coupling agents are an alternative to promote improved fibre/matrix interface and enhance strength of the biocomposite.⁶

3.3.2 Moisture content and water solubility

The control film exhibited the highest MC (24.64%) and WS (44.54%) values, as shown in Table 3, which results are very similar to that found for fish skin gelatin film (MC: 24.59% and WS: 46.55%).²⁵ The addition of 4%, 8% and 12% BRP caused a significant decrease ($p < 0.05$) in the values of these properties (Table 3). Ahmad et al.²⁶ prepared films from fish gelatin that presented high solubility, which was decreased by the incorporation of rice flour. The ease of solubilization of the gelatin-based film was attributed to its high content of hydrophilic amino acids, whereas the composite films had improved water resistance due to their intermolecular interactions.

The BRP is mainly composed of insoluble fibers, but is also consisted of smaller portions of carbohydrates, proteins, lipids and ash. The interaction between its hydrophilic groups via hydrogen bonds with gelatin reduces the availability of polar groups that would easily interact with water molecules and facilitate the film solubility in water. Besides, the presence of hydrophobic groups in the BRP contributes to increase the film hydrophobicity and thus, decrease the WS.²⁷

Table 3. Moisture content (MC), water solubility (WS), swelling (SL) and water vapor permeability (WVP) of films based on GCR incorporated of different concentrations of BRP.

Sample	MC (%)	WS (%)	SL (%)	WVP (g mm/ h m ² kPa)
Control	24.64 ± 0.74 ^a	44.54 ± 2.91 ^a	190.15 ± 2.80 ^a	0.566 ± 0.047 ^a
BRP2	14.61 ± 0.52 ^b	44.88 ± 1.74 ^a	189.77 ± 5.02 ^a	0.464 ± 0.003 ^b
BRP4	14.12 ± 0.29 ^{bc}	39.07 ± 0.48 ^b	172.86 ± 3.84 ^b	0.453 ± 0.015 ^b
BRP8	14.14 ± 0.08 ^{bc}	39.45 ± 0.48 ^b	170.76 ± 4.72 ^b	0.444 ± 0.019 ^b
BRP12	13.57 ± 0.15 ^c	39.58 ± 0.69 ^b	166.58 ± 9.74 ^b	0.437 ± 0.005 ^b

Mean values ± standard deviation (n = 3).

Different superscript letters in the same column indicate statistically significant differences (p < 0.05).

3.3.3 Swelling test

One of the main drawbacks of applying gelatin films as food packaging is their tendency to swell or dissolve when in contact with the surface of highly moist foodstuffs, and therefore the combination of gelatin with other agents is a possibility to improve this property.²⁸ The data presented in Table 3 suggested that the SL degree of control film (190.15%) was decreased when BRP was incorporated to the film matrix in concentrations of 4% (172.86%), 8% (170.76%) and 12% (166.58%), which is in agreement with results obtained by water solubility test. Gelatin-based films tend to swell because of their hydrophilic character, which facilitates the transport of water molecules into the polymer matrix. The addition of agents that increase the hydrophobicity of the system, and the interactions made between the fiber and matrix via hydrogen bonding contribute to reduce the availability of hydrophilic amine functions that interact with water, and thus, to reduce the water entrance into the film.²⁹

3.3.4 Water vapor permeability

Table 3 shows the effect of BRP presence on WVP of the GCR-based film. The obtained value for control film (0.566 g mm/ h m² kPa) was lower than that reported for cold water fish skin gelatin (0.826 g mm/ h m² kPa) studied by Hosseini et al.³⁰, but higher than those found for films made of gelatin from tuna-skins (0.165 g mm/ h m² kPa) and bovine-hides (0.220 g mm/ h m² kPa) studied by Gómez-Estaca et al.³¹ In general, WVP should be as

low as possible to reduce the moisture transfer between the food and its surroundings. The use of strategies to improve this property is a valuable approach, since protein-based films, such as gelatin films, are limited in their application as a food packaging materials due to their high WVP.^{32,33}

Many factors may influence the WVP of films, such as their solubility coefficient, integrity of film matrix, ratio between crystalline and amorphous zones, thickness, polymeric chain mobility, and interactions between the functional groups of polymers. The hydrophilicity of protein molecules and plasticizers commonly added to the films matrix contribute to the poor WVP property of gelatin-based films since the transmission of water through a film commonly occurs through its hydrophilic part.^{34,35}

The addition of BRP into the GCR-based film contributed to decrease the values of WVP ($\sim 0.450 \text{ g mm/ h m}^2 \text{ kPa}$) and improved this barrier property, but there were no significant differences among the WVP of films with different fiber concentrations BRP2, BRP4, BRP8 and BRP12. The results are in agreement with those found for moisture content, water solubility and swelling, and suggest that the substitution of gelatin-water interactions by the interactions between the fiber and hydrophilic groups of the gelatin chain took place at the same extent for all the BRP film formulations.

3.3.5 Color parameters

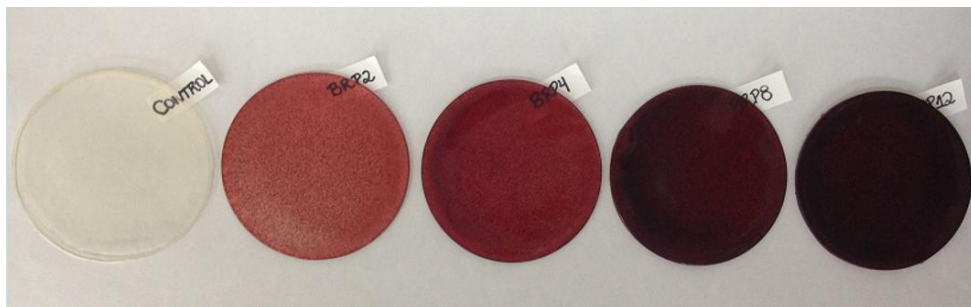
The color properties of the films are indicated in Table 4. The L^* , a^* and b^* parameters of the control film were 91.34, 0.66 and -0.66, respectively. As shown in Figure 2, its appearance was visually the most transparent and colorless and had similar values to those of a tilapia scale gelatin film ($L^* = 90.29$, $a^* = -1.22$ and $b^* = 2.26$).³⁶ The addition of different concentrations of BRP (Figure 2) caused a linear decrease in the lightness parameter, which agreed with the opacity results. In films with BRP, lower concentrations of BRP resulted in lower a^* and b^* values, which suggests that color pigments such as betalains present in BRP influenced these color parameters. ΔE^* varied depending on the concentration of BRP incorporated into the films. A greater amount of BRP increased the color difference, which reached 98.47 for BRP12.

Table 4. Color of films based on GCR incorporated of different concentrations of BRP.

Sample	L*	a*	b*	ΔE^*
Control	91.34 ± 0.48 ^a	0.66 ± 0.05 ^e	- 0.64 ± 0.04 ^e	6.63 ± 0.05 ^e
BRP2	53.59 ± 1.13 ^b	32.06 ± 0.61 ^a	24.59 ± 0.55 ^a	57.96 ± 0.31 ^d
BRP4	36.53 ± 0.57 ^c	30.26 ± 0.99 ^b	18.25 ± 0.68 ^b	70.79 ± 0.49 ^c
BRP8	26.97 ± 0.13 ^d	14.78 ± 0.33 ^c	5.02 ± 0.14 ^c	72.12 ± 0.43 ^b
BRP12	24.91 ± 0.39 ^e	6.45 ± 0.63 ^d	1.93 ± 0.14 ^d	98.47 ± 1.13 ^a

Mean values ± standard deviation (n = 3).

Different superscript letters in the same column indicate statistically significant differences ($p < 0.05$).

**Figure 2.** Visual appearance of the GCR-based films incorporated with 2 %, 4 %, 8 % and 12 % BRP.

3.3.6 Light transmission and opacity

Light transmission at different wavelengths from 200 nm to 800 nm and opacity at 600 nm of the studied films are shown in Table 5. All of the film formulations exhibited very low light transmission at 200 nm and 280 nm, which indicates that they acted as barriers against UV light. These results agree with previous studies on protein-based films, which attributed this characteristic to the content of aromatic amino acids that absorb UV light.^{37,38} In the visible range, transmittance for the control film was greater than 80% at 600 nm, whereas all of the biocomposite films demonstrated decreased light transmission with increasing concentrations of BRP. As a consequence, films with BRP exhibited higher opacity, and the pure gelatin-based film (0.90 A/mm) was similar to a fish gelatin film (0.97 A/mm) with a more transparent appearance.³⁹

Table 5. Light transmission and opacity of films based on GCR incorporated of different concentrations of BRP.

Sample	Light transmission (%) at different wavelengths (nm)*									Opacity**
	200	280	300	350	400	500	600	700	800	
Control	0.02	0.88	36.50	60.52	73.10	79.77	82.64	82.52	83.00	0.90 ± 0.08 ^c
BRP2	0.04	0.03	0.84	5.17	15.91	21.01	43.10	54.48	58.16	2.18 ± 0.11 ^d
BRP4	0.02	0.03	0.04	0.44	3.21	4.73	19.71	31.80	135.78	3.58 ± 0.22 ^c
BRP8	0.02	0.01	0.02	0.04	0.13	0.29	4.58	11.31	184.79	6.19 ± 0.15 ^b
BRP12	0.02	0.01	0.02	0.03	0.00	0.02	0.75	6.08	9.66	7.99 ± 0.46 ^a

* Each value represents the mean value of three determinations.

** Mean values ± standard deviation (n = 3).

Different superscript letters in the same column indicate statistically significant differences (p < 0.05).

3.3.7 DPPH radical scavenging activity

Figure 3 shows the antioxidant activity of all studied films determined by DPPH and expressed as the percentage inhibition of the DPPH radical (I). The incorporation of BRP into the film formulation positively affected the antioxidant property assayed by this method when compared to the control film (6.3%). The highest I was observed for BRP12 (42%), and a greater concentration of BRP improved this property. These inhibition values can be attributed to the contents of betalain and phenolic compounds that remained in the beet root residue powder after processing. DPPH is a non-biological molecule, and this analysis may indicate the presence of bioactive compounds that are present in the biopolymer matrix and can act as antioxidants.

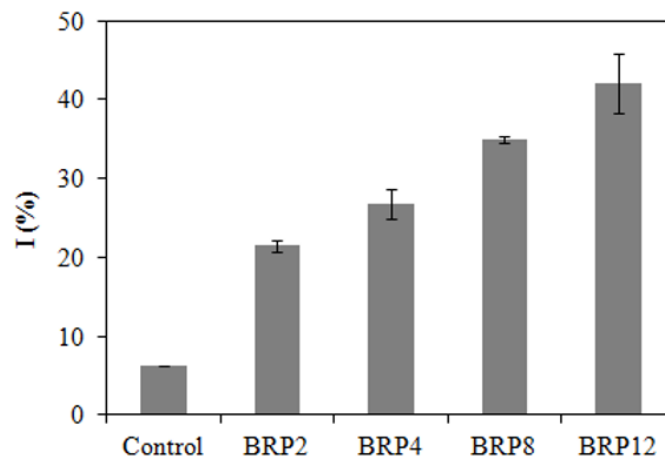


Figure 3. DPPH radical scavenging activity (I) of GCR-based films with BRP at different concentrations.

Control: film without BRP. The bars represent mean values \pm standard deviation. Different letters indicate statistically significant differences ($p < 0.05$).

3.4 Selection of a film formulation

Results for film thickness, tensile strength, percent elongation at break, Young's Modulus, moisture content, water solubility, swelling, water vapor permeability, color, light transmission, transparency and DPPH radical scavenging capacity were carefully analyzed, and a single film formulation with incorporated BRP was selected for further evaluation of its thermal stability, film surface characteristics, degree of degradation of the film, and effect on the retardation of sunflower oil oxidation. In general, films BRP8 and BRP12 had very similar properties, such as TS, YM, MC, WS and WVP, which important in determining the applications of the films. These properties were improved or maintained at the same level in films with 8% and 12% BRP added when compared to the control film. However, BRP12 demonstrated better DPPH radical scavenging activity and higher opacity, which may have contributed to the protective and antioxidant properties of that film; it was therefore the selected formulation.

3.4.1 Thermal stability

The TGA thermogram in Figure 4 illustrates the thermal degradation behavior of the selected film BRP12 and the control film. Three main stages of weight loss (Δw) were observed for both of the films, and their behavior was similar. The occurrence of three stages of weight loss for gelatin-based films is reported in the literature.²⁶ The first stage ranged

from approximately 30 °C to 150 °C, and the weight loss was most likely due to the loss of free water. Similar results were observed for fish skin gelatin films.⁷ At this point, BRP12 showed 13.48% of weight loss, while control film lost 10.00%, indicating that for this temperature range the addition of BRP caused a greater weight loss in the films. This behavior was extended to 260 °C, and from this temperature until the end of the experiment, the weight loss of BRP was lower than control films, which suggests that the interactions of the components of the biocomposite film led to a stiffer and more compact structure and to an increase in the carbon residue content.³⁸ The second stage was observed at a temperature range of approximately 190-205 °C, and the weight loss was mostly associated with the degradation of the glycerol and protein fractions of smaller molecular weights. The degradation of the protein fractions with a larger size was primarily associated with the third stage of weight loss (from 350 °C). At 600 °C, BRP12 had a higher residual mass (20.25%) compared to the control film (14.85%). Therefore, the TGA curves show that the addition of BRP into the film affected the thermal stability of the films.

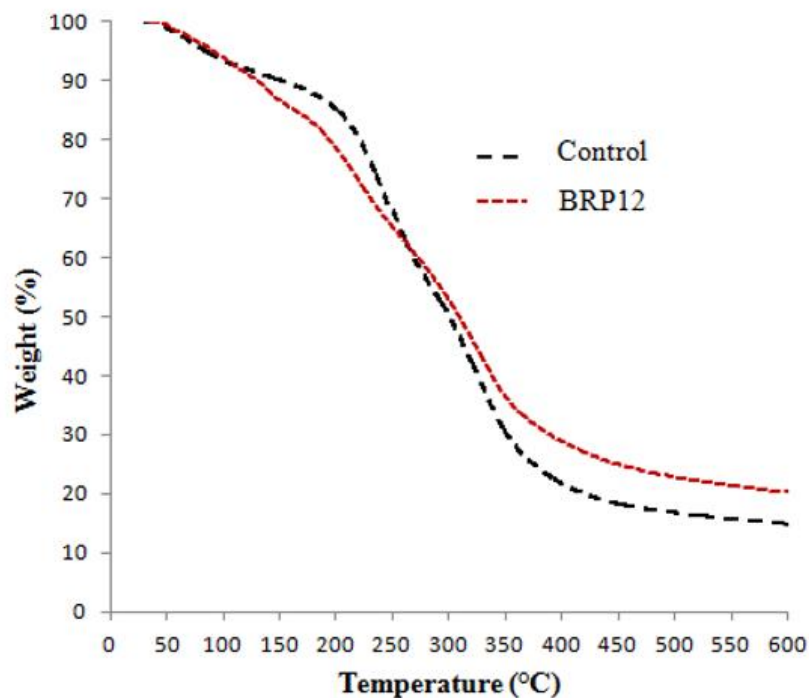


Figure 4. TGA curves of GCR-based films incorporated with 12 % BRP. Control: without added BRP.

3.4.2 Film surface characteristics

The micrographs of the upper and lower surfaces of the BRP12 and control films are illustrated in Figure 5. The control film had a homogeneous and smooth surface, regardless of whether the surface was in contact with the plate or air. The structure of the GCR-based film was similar to that of cold water fish skin³⁹ and tilapia skin⁴⁰ gelatin films. Concerning BR12, the surface that was in contact with the plate during drying was more homogeneous and similar to the control film, whereas the upper section (in contact with air) had a visible rougher structure. Heterogeneities in the structure of gelatin films may be explained by the renaturation of collagen during the formation of the film and by the spatially heterogeneous distribution of solutes in the gelatin solution during the evaporation process, which lead to maximum concentration of solutes at the evaporation surface.⁴¹

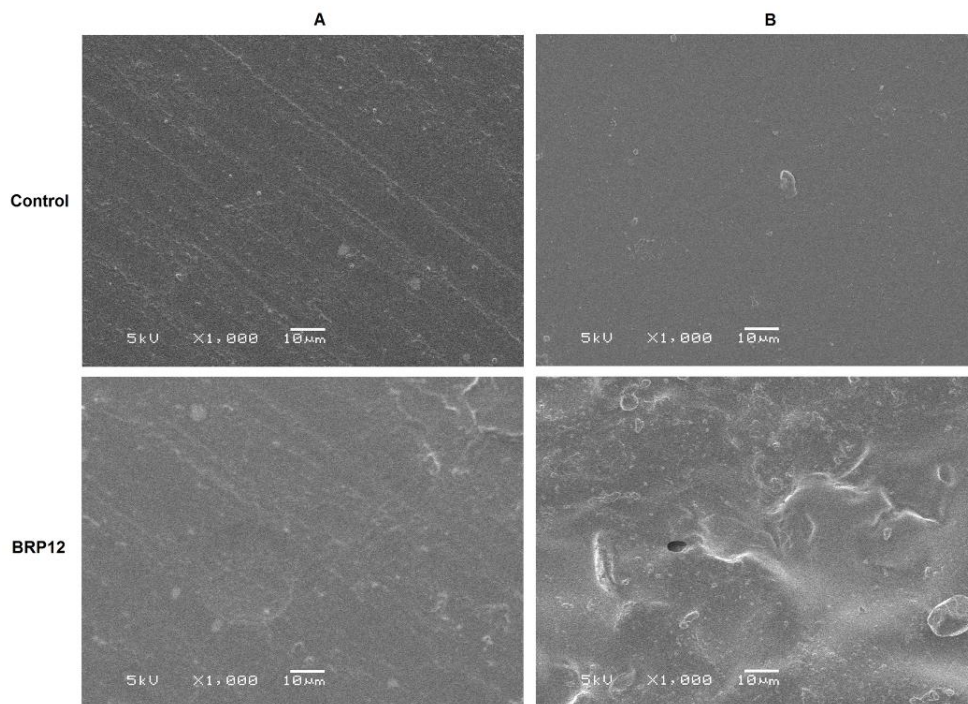


Figure 5. SEM micrographs of the lower (A) and upper (B) surfaces of the GCR-based films incorporated with 12 % BRP. Control: without added BRP.

The distribution of the insoluble fiber in the film matrix during drying process likely contributed to this phenomenon, which induced the occurrence of higher concentration of fiber particles at the upper surface of the film and created a less homogeneous top surface. Another studies reached similar results. Blended films made of sugar beet pulp and polyvinyl alcohol (75/25) had visible insoluble particles in SEM images, indicating that they could not

dissolve each other.⁴² Bio-nanocomposites based on chitosan nanoparticles and fish skin gelatin showed rough surfaces when added of high filler content due to the aggregation of the nanoparticles at the top surface of the film.³⁹ The same happened to warm-water fish gelatin film added of lignin, which presented disruption of the smooth and homogeneous structure in comparison to the gelatin-based film caused by the incorporation of the fiber.⁴³

3.4.3 Indoor soil burial degradation

The films were buried in organic soil with the intention of reproducing a realistic approach to the biodegradation conditions found in natural environments. The mixed microflora present in the soil includes bacteria, actinomycetes, fungi and protozoa. These microorganisms may act synergistically in the process of biodegradation, along with the action of their protein enzymes.¹⁸ The experiment was conducted up to 15 days, but from this point the macroscopic deterioration of the samples hindered their recovery and evaluation. The appearance of the films prior and after 15 days left on the ground is shown in Figure 6. Macroscopic examination during soil burring revealed that the films absorbed water and lost their initial aspect. Besides, the periodically addition of water probably contributed to the loss of soluble compounds. At the end of the experiment, the films lost their structural integrity and their degradation was clearly pronounced.

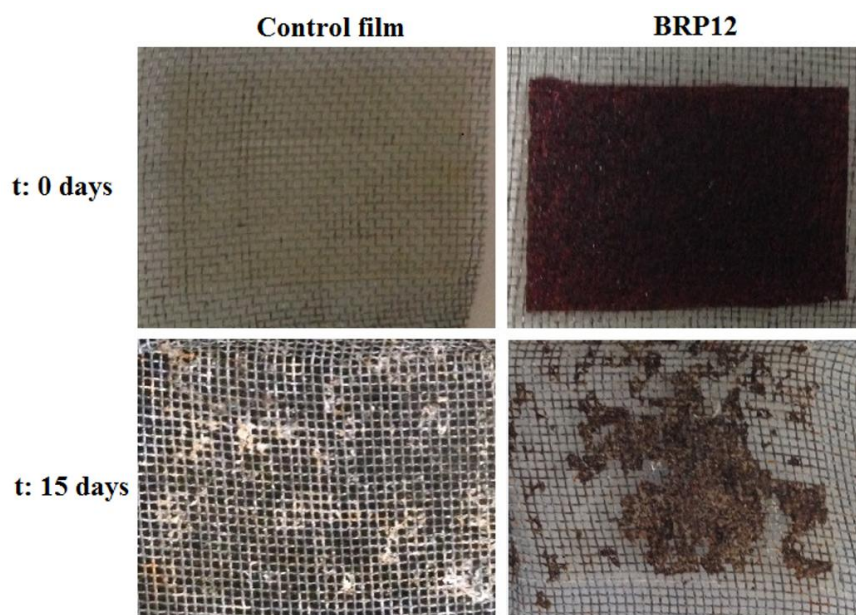


Figure 6. Visual aspect of control and BRP12 films prior and after 15 days of exposure to soil burial degradation.

Weight loss of the films was taken as an indicator of the degradation of the control and BRP12 films. After 15 days under the degradation conditions, the BRP12 lost around 76% of its initial weight, while control film lost 88%. Another study reported that bovine gelatin films presented 40% weight loss after 10 days under similar conditions. Composites based on natural fibers are susceptible to biodegradation, but this process depends on the degradation of its individual components and the loss of interfacial strength between the fiber and the polymeric matrix.⁶ Based on the results, the developed films were rapidly disintegrated and can be considered biodegradable materials.

3.4.4 Effect of the films on the retardation of sunflower oil oxidation

The oxidation of lipids is one of the main causes of food spoilage and can negatively affect the nutritional and sensory characteristics of food products, especially those with high contents of polyunsaturated fatty acids.⁴⁴ In the present study, the peroxide value (PV) of sunflower oil samples was periodically measured (Table 6) to evaluate the protective action of the films against lipid oxidation. The initial PV value of the sunflower oil was 1.92 mEq/kg. The oxidation of oil packed in PLA and GLA increased throughout the storage period, and the PV values were over 170 mEq/kg after 35 days. After day 21, oil oxidation appeared to stabilize, which may indicate the formation of other products derived from secondary lipid oxidation.

The control and BRP12 films had a positive effect on the stability of sunflower oil during the entire storage period, and at the end of the experiment, the packed oil presented PV values under 10 mEq/kg, which is the recommended limit by Codex Alimentarius⁴⁵ for refined oils to be considered fresh. Cassava starch films incorporated with yerba mate extracts were effective in protecting palm oil from oxidation likely because of the content of phenolic compounds and flavonoids in the extract.⁴⁶ The remaining contents of phenolic compounds and betalains in the beet root residues likely had the same influence on the antioxidant properties of the film, as was observed in the DPPH analysis.

Concerning the control film, the antioxidant properties of gelatin films from different sources have also been reported. Squid skin gelatin films exhibited antioxidant activity when assayed by FRAP and ABTS likely due to the contents of amino acids or peptides that may act as electron donors.⁴⁷ Gómez-Guillén et al.²⁸ summarized some antioxidant peptide

sequences isolated from fish skin gelatin and other collagenous sources that may explain the antioxidant properties of the GCR-based film.

Table 6. Peroxide values (PV) of sunflower oil packed in BRP12, in closed plastic bottles (PLA) and placed in open glass Petri dishes (GLA). Control: film without BRP.

	Day 3	Day 7	Day 14	Day 21	Day 28	Day 35
Control	3.45 ± 0.22 ^{bC}	4.39 ± 0.63 ^{aC}	4.37 ± 0.14 ^{aC}	4.69 ± 0.30 ^{aC}	4.58 ± 0.55 ^{aC}	4.67 ± 0.46 ^{aC}
BRP12	2.40 ± 0.25 ^{bD}	2.34 ± 0.21 ^{bD}	2.42 ± 0.12 ^{bD}	3.20 ± 0.42 ^{aD}	3.84 ± 0.25 ^{aC}	3.72 ± 0.15 ^{aD}
PLA	77.37 ± 7.76 ^{dA}	88.33 ± 0.68 ^{cA}	155.23 ± 14.61 ^{bA}	214.66 ± 20.80 ^{aA}	219.27 ± 25.12 ^{aA}	226.37 ± 17.14 ^{aA}
GLA	37.97 ± 1.68 ^{eB}	79.46 ± 5.47 ^{dB}	124.08 ± 1.06 ^{cB}	140.59 ± 4.79 ^{Bb}	166.86 ± 6.82 ^{aB}	170.76 ± 5.25 ^{aB}

Mean ± SD (n = 3). Different superscript lower case letters in the same line indicate statistically significant differences (p < 0.05). Different superscript capital letters in the same column indicate statistically significant differences (p < 0.05).

Additionally, the color parameters L*, a* and b* of sunflower oil packed in the control and BRP films were determined in order to investigate the migration of color compounds from the biopolymer into the oil. As shown in Table 7, after 35 days of experiment the oil packed in the films showed slight changes in its color, possibly caused by the extreme conditions of storage that occasioned its color degradation. Besides, the color parameters of oil packed in both films presented no statistically significant differences. Thus, the results suggest that there was not migration of pigment compounds from the studied films into the oil.

Table 7. Color parameters of sunflower oil packed in control and BRP12 films after 35 days under extreme conditions.

Parameter	Day 0	Day 35	
		Control	BRP12
L*	90,33 ± 0.09 ^a	89,08 ± 0.05 ^b	89,02 ± 0.08 ^b
a*	-2,10 ± 0,00 ^a	-2,68 ± 0.03 ^b	-2,71 ± 0.05 ^b
b*	1,28 ± 0,01 ^a	1,28 ± 0.04 ^a	1,24 ± 0.08 ^a

Mean ± SD (n = 3). Different superscript lower case letters in the same line indicate statistically significant differences (p < 0.05).

4 CONCLUSIONS

This study demonstrated the preparation of biodegradable films based on residues of beet root and gelatin capsules. The incorporation of BRP into the film matrix positively influenced the moisture content, water solubility, swelling, water vapor permeability and DPPH radical scavenging activity, but occasioned a less smooth and homogeneous surface. The studied films presented good thermal and mechanical properties. The degradation test clearly evidenced that the films are biodegradable and candidates to replace non-biodegradable materials and can serve as a source of organic matter for composting. The results also showed that the films retarded the primary oxidation of sunflower oil, suggesting that they could be an excellent alternative in antioxidant food packaging. Furthermore, the development of biodegradable materials based on renewable resources, in addition to the use of industrial residues, is important in the advancement of eco-friendly technologies.

ACKNOWLEDGMENTS

This study was financially supported by FAPERGS and CNPq. The authors are grateful to the Chemical Pharmaceutical Tiaraju Laboratory and the Degasperi Wholesaler Company for donating the raw materials and to the Center of Electron Microscopy-UFRGS for technical support.

REFERENCES

1. Rogovina, S. Z.; Alexanyan, C. V.; Prut, E. V. *J. Appl. Polym. Sci.* **2011**, 121, 1850.
2. Sedlařík, V.; Saha, N.; Kuřitka, I.; Sáha, P. *J. Appl. Polym. Sci.* **2007**, 106, 1869.
3. Çokaygil, Z.; Banar, M.; Seyhan, A. T. *J. Appl. Polym. Sci.* **2014**, 131, 40654.
4. Galanakis, C. M. *Trends Food Sci. Technol.* **2012**, 26, 68.
5. Vulić, J.; Čanadanović-Brunet, J.; Četković, G.; Tumbas, V.; Djilas, S.; Četojević-Simin, D.; Čanadanović, V. *J. Funct. Foods* **2012**, 4, 670.
6. Azwa, Z. N.; Yousif, B. F.; Manalo, A. C.; Karunasena, W. *Mater. Des.* **2013**, 47, 424.
7. Arfat, Y. A.; Benjakul, S.; Prodpran, T.; Osako, K. *Food Hydrocoll.* **2014**, 39, 58.
8. Association of Official Analytical Chemists. Official methods of analysis of the AOAC: Washington DC: Association of Official Analytical Chemists, **2005**.

9. American Society for Testing and Materials. In Annual Book of ASTM Standards; Designation D882-09: Standard Test Method for Tensile Properties of Thin Plastic Sheeting; Philadelphia: American Society for Testing and Materials: **2009**.
10. Colla, E.; Sobral, P. J. A.; Menegalli, F. C. *J. Agric. Food Chem.* **2006**, 54, 6645.
11. Cao, N.; Fu, Y.; He, J. *Food Hydrocoll.* **2007**, 21, 1153.
12. American Society for Testing and Materials. In Annual Book of ASTM standards; Designation E96: Standard Test Method for Water Vapor Transmission of Materials; American Society for Testing and Materials: Philadelphia, **1996**.
13. Talja, R. A.; Helén, H.; Roos, Y. H.; Jouppila, K. *Carbohydr. Polym.* **2008**, 71, 269.
14. Gennadios, A.; Weller, C. L.; Hanna, M. A.; Froning, G. W. *J. Food Sci.* **1996**, 61, 585.
15. Fang, Y.; Tung, M. A.; Britt, I. J.; Yada, S.; Dalgleish, D. G. *J. Food Sci.* **2002**, 67, 188.
16. Han, J. H.; Floros, J. D. *J. Plast. Film Sheet.* **1997**, 13, 287.
17. Huang, D.; Ou, B.; Prior, R. L. *J. Agric. Food Chem.* **2005**, 53, 1841.
18. Martucci, J. F.; Ruseckaite, R. A., *Polym. Degrad. Stabil.* **2009**, 94, 1307.
19. Jacometti, G. A.; Mello, L. R. P. F.; Nascimento, P. H. A.; Sueiro, A. C.; Yamashita, F.; Mali, S. *LWT - Food Sci. Technol.* **2015**, 62, 138.
20. Fung, W. Y.; Yuen, K. H.; Liong, M. T. *J. Agric. Food Chem.* **2010**, 58, 8077.
21. Nuanmano, S.; Prodpran, T.; Benjakul, S. *Food Hydrocoll.* **2015**, 47, 61.
22. Gilfillan, W. N.; Nguyen, D. M. T.; Sopade, P. A.; Doherty, W. O. S. *Ind. Crops Prod.* **2012**, 40, 45.
23. Guilbert, S.; Gontard, N.; Gorris, L. G. M. *LWT - Food Sci. Technol.* **1996**, 29, 10.
24. Sethi, R.; Ray, B. C. *Adv. Colloid Interface Sci.* **2015**, 217, 43.
25. Wu, J.; Liu, H.; Ge, S.; Wang, S.; Qin, Z.; Chen, L.; Zheng, Q.; Liu, Q.; Zhang, Q. *Food Hydrocoll.* **2015**, 43, 427.
26. Ahmad, M.; Hani, N. M.; Nirmal, N. P.; Fazial, F. F.; Mohtar, N. F.; Romli, S. R. *Prog. Org. Coat.* **2015**, 84, 115.
27. Chronakis, I. S.; Fredholm, A.; Triantafyllou, A. O.; Öste, R. *Colloid Surface B* **2004**, 35, 175.
28. Gómez-Guillén, M. C.; Giménez, B.; López-Caballero, M. E.; Montero, M. P. *Food Hydrocoll.* **2011**, 25, 181.

29. Biscarat, J.; Galea, B.; Sanchez, J.; Pochat-Bohatier, C. *Int. J. Biol. Macromol.* **2015**, 74, 5.
30. Hosseini, S. F.; Rezaei, M.; Zandi, M.; Ghavi, F. F. *Food Chem.* **2013**, 136, 1490.
31. Gómez-Estaca, J.; Montero, P.; Fernández-Martín, F.; Alemán, A.; Gómez-Guillén, M. C. *Food Hydrocoll.* **2009** 23, 1334.
32. Gontard, N.; Guilbert, S.; Cuq, J.-L. *J. Food Sci.* **1992**, 57, 190.
33. Wihodo, M.; Moraru, C. I. *J. Food Eng.* **2013**, 114, 292.
34. McHugh, T. H.; Krochta, J. M. In *Edible coatings and films to improve food quality*; Krochta, J. M.; Baldwin, E. A.; Nisperos-Carriedo, M., Eds.; Technomic: Lancaster, 1994, Chapter 7, pp 139-188.
35. Souza, B.W.S.; Cerqueira, M.A.; Teixeira, J.A.; Vicente, A.A. *Food Eng. Rev.* **2010**, 2, 244.
36. Weng, W.; Zheng, H. *Food Chem.* **2015**, 169, 255.
37. Hamaguchi, P. Y.; WuYin, W.; Tanaka, M. *Food Chem.* **2007**, 100, 914.
38. Mu, C.; Guo, J.; Li, X.; Lin, W.; Li, D. *Food Hydrocoll.* **2012**, 27, 22.
39. Hosseini, S. F.; Rezaei, M.; Zandi, M.; Farahmandghavi, F. *Food Hydrocoll.* **2015**, 44, 172.
40. Nagarajan, M.; Benjakul, S.; Prodpran, T.; Songtipya, P. *J. Food Eng.* **2014**, 143, 195.
41. Ghoshal, S.; Mattea, C.; Denner, P.; Stapf, S. *J. Phys. Chem. B* **2010**, 114, 16356.
42. Shen, Z.; Ghasemlou, M.; Kamdem, D. P. *J. Appl. Polym. Sci.* **2015**, 132, 41354.
43. Núñez-Flores, R.; Giménez, B.; Fernández-Martín, F.; López-Caballero, M. E.; Montero, M. P.; Gómez-Guillén, M. C. *Food Hydrocoll.* **2013**, 30, 163.
44. Gómez-Estaca, J.; López-de-Dicastillo, C.; Hernández-Muñoz, P.; Catalá, R.; Gavara, R. *Trends Food Sci. Technol.* **2014**, 35, 42.
45. Codex-Alimentarius. Codex-Stan, 210,: 1999, p 1.
46. Reis, L. C. B.; de Souza, C. O.; da Silva, J. B. A.; Martins, A. C.; Nunes, I. L.; Druzian, J. I. *Food Bioprod. Process.* **2015**, 94, 382.
47. Giménez, B.; Gómez-Estaca, J.; Alemán, A.; Gómez-Guillén, M. C.; Montero, M. P. *Food Hydrocoll.* **2009**, 23, 1322.

CAPÍTULO 4: DISCUSSÃO GERAL, CONCLUSÕES E PERSPECTIVAS

DISCUSSÃO GERAL

Plásticos sintéticos não biodegradáveis são amplamente empregados em diversas áreas e cooperaram com o desenvolvimento da sociedade. Entretanto, seu uso tornou-se motivo de preocupação ambiental e a busca por materiais mais sustentáveis tem ganhado crescente interesse. O setor de embalagens é o que representa a maior demanda de plásticos, e com isso o desenvolvimento de embalagens e filmes biodegradáveis a partir de fontes renováveis tornou-se uma promissora alternativa ao uso de materiais sintéticos oriundos do petróleo. Com base nisso, o presente trabalho desenvolveu filmes biodegradáveis a partir de resíduos gelatinosos provenientes do processamento de cápsulas nutracêuticas (GEL) em combinação com farinhas fibrosas de resíduos do processamento mínimo de cenoura (CEN) e beterraba (BET).

A partir das pesquisas efetuadas, dois artigos foram produzidos: “Residues of minimally processed carrot and gelatin capsules: Potential materials for packaging films” e “Antioxidant films based on gelatin capsules and minimally processed beet root (*Beta vulgaris* L. var. *Conditiva*) residues”. O efeito da adição de CEN e BET nas propriedades dos filmes gelatinosos foi investigado quanto a suas propriedades: mecânicas, físico-químicas, de barreira, ópticas, antioxidantes, térmicas, estruturais, antioxidantes e de biodegradabilidade. Para uma melhor compreensão desses efeitos, a Tabela 2 ilustra os resultados obtidos da caracterização das três formulações de filmes, que foram selecionadas por apresentarem as propriedades mais adequadas para aplicação como embalagem alimentícia. Um dos filmes foi produzido apenas a partir de resíduos gelatinosos e representou o controle (GEL: 40%), enquanto os outros dois foram adicionados de farinha de cenoura (GEL: 26%; CEN: 8,5%) e de beterraba (GEL: 40%; BET: 12%).

De acordo com os resultados, foi possível observar que a adição de CEN e BET à matriz proteica contribuiu para a melhoria da propriedade antioxidante dos filmes avaliada pelo método de captura de radical DPPH. A porcentagem de inibição de DPPH dos filmes com farinha foi positivamente influenciada pelo conteúdo de compostos bioativos tais como carotenoides e betalaínas presentes em CEN e BET, respectivamente. Além disso, a ação antioxidante dos filmes foi comprovada através de sua aplicação como embalagem para óleo de girassol, rico em gorduras poli-insaturadas e por isso tende a sofrer o processo de oxidação. O efeito dos filmes em proteger o óleo da oxidação primária foi investigado em condições

extremas de armazenamento através do índice de peróxidos. Enquanto o óleo armazenado em embalagem plástica comum ultrapassou em até 27 vezes o limite estabelecido pelo Codex Alimentarius (1999), o óleo embalado pelos filmes ficou abaixo deste índice (10 mEq/kg). Porém os filmes com farinha BET e CEN apresentaram melhor proteção em relação à oxidação do óleo de girassol. Logo, a aplicação dos filmes em alimentos que tendem a sofrer esse tipo de deterioração pode ser promissora.

Tabela 2 - Caracterização das propriedades dos filmes biodegradáveis selecionados.

Propriedade do filme	GEL	GEL + CEN	GEL + BET
Inibição de DPPH (%)	6,30 ^c	52,30 ^a	42,01 ^b
Proteção contra oxidação de óleo de girassol	SIM	SIM (> GEL)	SIM (> GEL)
Umidade (%)	24,64 ^a	20,67 ^b	13,57 ^c
Solubilidade (%)	44,54 ^a	32,34 ^c	39,58 ^b
Swelling (%)	190,15 ^a	N.A.	166,58 ^b
Permeabilidade ao vapor de água*	0,566 ^a	0,420 ^b	0,437 ^b
Espessura (mm)	0,133 ^c	0,218 ^b	0,267 ^a
Tração na ruptura (MPa)	2,57 ^a	2,25 ^b	2,45 ^{ab}
Elongação na ruptura (%)	282,75 ^a	62,99 ^c	117,96 ^b
Módulo de Young (MPa)	202,21 ^c	1831,64 ^a	731,58 ^b
Diferença de cor	6,63 ^c	67,11 ^b	98,47 ^a
Transmitância 280 nm (%)	0,88 ^a	0,03 ^b	0,01 ^b
Opacidade (A/mm)	0,90 ^c	4,63 ^a	7,99 ^a
Estabilidade térmica	SIM	SIM	SIM
Estrutura	Homogênea	Heterogênea	Heterogênea
Biodegradabilidade (% perda de peso)	88 ^a	N.A.	76 ^b

N.A. = não aplicável. *PVA: g mm/ h m² kPa.

Diferentes letras sobrescritas na mesma linha indicam diferença estatisticamente significativa (p < 0.05).

Quanto às propriedades físico-químicas e de barreira, foi constatado que a adição das farinhas fibrosas de resíduos (CEN e BET) contribuiu para melhorar características como a

umidade, solubilidade em água, *swelling* e permeabilidade ao vapor de água dos filmes gelatinosos. Em geral, deseja-se que os valores para essas propriedades sejam baixos a fim de garantir a manutenção da qualidade do alimento. Porém, o caráter hidrofílico da gelatina e do glicerol faz com que os filmes baseados nessa proteína apresentem altos índices de propriedades relacionadas à água, pois essa característica facilita o transporte e interação de moléculas de água com a matriz polimérica. O efeito positivo ocasionado pela adição das farinhas sugere que houve substituição de interações de gelatina-água por interações entre os grupos hidrofílicos das fibras com a cadeia de gelatina, o que reduz a disponibilidade de grupos polares que interagem com a água.

A cor dos filmes foi afetada pela incorporação de CEN e BET, o que resultou em filmes com alto índice de opacidade e baixa transferência de luz. Com isso, a transmitância de luz na faixa ultravioleta e visível foi significativamente menor em relação ao filme controle. Essa característica é vantajosa, visto que promove maior proteção ao alimento embalado contra a ação da luz nesses comprimentos de onda.

As propriedades mecânicas dos filmes dependem da sua composição e das condições ambientais. Os valores desejados para resistência à tração (RT), Módulo de Young (MY) e alongação na ruptura (ER) dependem do propósito de aplicação da embalagem. Em geral, deseja-se a obtenção de filmes com alta RT e MY, e moderada ER. A rigidez das fibras contribui para aumentar significativamente o MY, enquanto a ER foi reduzida. Essa redução em ER foi devido à menor proporção de gelatina e plastificante presentes na formulação dos filmes com adição de fibras. Os valores de RT foram similares para as três formulações apresentadas e variaram entre 2,25 MPa e 2,57 MPa. Fibras naturais são adicionadas em matrizes poliméricas com o intuito de atuarem como agentes reforçadores para aumentarem sua RT e MY. O alto contraste entre a rigidez da fibra com a suavidade da matriz gelatinosa pode ter promovido uma concentração de estresse na interface fibra/matriz, o que conduz à perda de coesão e impede a fibra de agir como reforçadora. Além disso, as interações entre os constituintes foram feitas principalmente através de pontes de hidrogênio e o caráter fraco dessas ligações desfavorece a ação reforçadora das fibras naturais.

A análise por microscopia eletrônica de varredura permitiu visualizar a ausência de rachaduras e bolhas em todas as formulações estudadas. O filme com apenas gelatina em sua composição apresentou estrutura lisa e homogênea dos dois lados analisados, enquanto a adição de CEN e BET dos filmes tornou a parte do filme que fica em contato com o ar durante

a secagem mais rugosa. Esse efeito pode ser explicado pelo conteúdo de fibras insolúveis em CEN e BET e pelo fato de que durante o processo de evaporação de água da solução filmogênica, há a formação de maior concentração de solutos na parte da interface filme/ar. Esse aspecto heterogêneo entre as duas faces dos filmes com farinha também pode ter influência sobre as propriedades mecânicas, visto que essa característica é desvantajosa para propriedades como a RT. Quanto à propriedade térmica, todos os filmes apresentaram boa estabilidade e três estágios de perda de peso. Ao final do experimento até 600 °C, os valores de massa residual variaram entre 14% (GEL) e 20% (GEL+BET). A diferença no valor de massa residual dos filmes pode ser atribuída as diferentes formulações, componentes e interações entre as farinhas com a matriz, que proporcionou maior conteúdo de carbono residual ao final do experimento.

Além disso, a biodegradabilidade dos filmes GEL e GEL+BET foi investigada em um experimento que simulou as condições ambientais naturais, através da avaliação de sua perda de peso. Durante 15 dias os filmes foram expostos à ação de micro-organismos presentes naturalmente em solo orgânico. Após, esse período, os filmes perderam mais que 75% do seu peso inicial, o que os classifica como rapidamente biodegradados e comprova que os componentes dos filmes serviram como fonte de energia (ou ação de enzimas) para os micro-organismos naturalmente presentes no solo. Além disso, devido à composição dos filmes adicionados de fibras, os mesmos podem ser utilizados como fontes de matéria-prima para compostagem.

Os filmes produzidos neste trabalho também podem ser utilizados como coberturas comestíveis, o que atribuiria valor agregado aos alimentos em que fossem utilizadas devido ao alto teor de fibras e compostos bioativos presentes nas formulações. As fibras utilizadas neste trabalho, devido à composição diferenciada, proporcionaram a produção de filmes com características diferentes que, por sua vez, podem ser aplicados no armazenamento de diferentes tipos de alimentos.

CONCLUSÕES

O presente trabalho demonstrou ser possível produzir filmes biodegradáveis com propriedades funcionais a partir de resíduos de cápsulas gelatinosas e da indústria de minimamente processados, e assim cooperar com o desenvolvimento de tecnologias sustentáveis que reduzem os danos ambientais e custos gerados pelo seu descarte. De modo geral, a adição de fibras de resíduos de cenoura e beterraba aos filmes promoveu benefícios para a maioria das características destes, como umidade, solubilidade em água, *swelling*, permeabilidade ao vapor de água, proteção contra luz ultravioleta e visível, e atividade antioxidante avaliada por DPPH. Todos os filmes produzidos a partir dos resíduos industriais foram efetivos ao proteger óleo de girassol contra o processo de oxidação primária em condições aceleradas de experimento, e apresentaram adequadas propriedades térmicas e mecânicas para aplicação em alimentos.

Com base nos resultados obtidos, o presente estudo evidencia o potencial da produção de filmes biodegradáveis a partir de resíduos industriais, com valor agregado e características de biodegradabilidade e sustentabilidade. Os filmes biodegradáveis desenvolvidos são uma alternativa promissora para atuar como embalagem ativa e antioxidante, e assim contribuir para a qualidade e extensão da vida de prateleira de produtos alimentícios.

PERSPECTIVAS

Novos estudos, com o objetivo de caracterizar as fibras vegetais naturais obtidas de resíduos quanto ao teor de celulose, hemicelulose e lignina poderão cooperar com a melhor compreensão e otimização das propriedades dos filmes biodegradáveis. Além disso, tratamentos físicos ou químicos da superfície das fibras poderão possibilitar melhor adesão entre a interface fibra/matriz, e, assim, contribuir ainda mais para a melhoria das propriedades dos biocompósitos, assim como ampliar as alternativas de sua aplicação como embalagem alimentícia.

REFERÊNCIAS

ABIPLAST. **Perfil 2013 da Indústria Brasileira de Transformação de Material Plástico**. Associação Brasileira da Indústria do Plástico. 2014.

AHMAD, M. et al. Optical and thermo-mechanical properties of composite films based on fish gelatin/rice flour fabricated by casting technique. **Progress in Organic Coatings**, v. 84, p. 115-127, 7// 2015. ISSN 0300-9440. Disponível em: < <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0300944015000648> >.

AOAC. **Official methods of analysis**. Washington DC: Association of Official Analytical Chemists 2005.

AOCS. **Peroxide value acetic acid-chloroform method- AOCS Official Method Cd 8-53**. Official methods and recommended practices of the American Oil Chemists' Society, 4th ed. Champaign, IL: Oil Chemists' Society (AOAC) 1993.

AREVALO, K. et al. Properties and biodegradability of cast films based on agroindustrial residues, pectin and polivinilic alcohol (PVA). **New Biotechnology**, v. 25, p. S287-S288, 9// 2009. ISSN 1871-6784. Disponível em: < <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1871678409008164> >.

ARVANITTOYANNIS, I.; NAKAYAMA, A.; AIBA, S.-I. Edible films made from hydroxypropyl starch and gelatin and plasticized by polyols and water. **Carbohydrate Polymers**, v. 36, n. 2-3, p. 105-119, 7// 1998. ISSN 0144-8617. Disponível em: < <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0144861798000174> >.

ASTM. Standard methods of test for water vapor transmission of materials in sheet form, method ASTM E 96-00. **Annual book of ASTM standards**. Philadelphia: American Society for Testing and Material. 2001.

ASTM. Designation D882-09: Standard test method for tensile properties of thin plastic sheeting. **Annual book of ASTM standards**. Philadelphia: American Society for Testing and Materials. 2009.

AZWA, Z. N. et al. A review on the degradability of polymeric composites based on natural fibres. **Materials & Design**, v. 47, p. 424-442, 5// 2013. ISSN 0261-3069. Disponível em: < <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0261306912007832> >.

BASANTA, M. F. et al. Cherry fibers isolated from harvest residues as valuable dietary fiber and functional food ingredients. **Journal of Food Engineering**, v. 126, p. 149-155, 4// 2014. ISSN 0260-8774. Disponível em: < <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0260877413005864> >.

BERGO, P.; SOBRAL, P. J. A. Effects of plasticizer on physical properties of pigskin gelatin films. **Food Hydrocolloids**, v. 21, n. 8, p. 1285-1289, 2007. Disponível em: < <http://www.scopus.com/inward/record.url?eid=2-s2.0-34248146541&partnerID=40&md5=d751954fa34063164eeba06884176774> >.

BERTON-CARABIN, C. et al. Design of interfacial films to control lipid oxidation in oil-in-water emulsions. **Food Hydrocolloids**, v. 33, n. 1, p. 99-105, 8// 2013. ISSN 0268-005X. Disponível em: < <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0268005X13000702> >.

BIGI, A. et al. Structural and Mechanical Properties of Crosslinked Drawn Gelatin Films. **Journal of Thermal Analysis and Calorimetry**, v. 61, n. 2, p. 451-459, 2000/08/01 2000. ISSN 1388-6150. Disponível em: < <http://dx.doi.org/10.1023/A%3A1010117401098> >.

BONILLA, J. et al. Edible films and coatings to prevent the detrimental effect of oxygen on food quality: Possibilities and limitations. **Journal of Food Engineering**, v. 110, n. 2, p. 208-213, 5// 2012. ISSN 0260-8774. Disponível em: < <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0260877411002901> >.

CAO, N.; FU, Y.; HE, J. Preparation and physical properties of soy protein isolate and gelatin composite films. **Food Hydrocolloids**, v. 21, n. 7, p. 1153-1162, 10// 2007. ISSN 0268-005X. Disponível em: < <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0268005X06002037> >.

CAO, N.; YANG, X.; FU, Y. Effects of various plasticizers on mechanical and water vapor barrier properties of gelatin films. **Food Hydrocolloids**, v. 23, n. 3, p. 729-735, 5// 2009. ISSN 0268-005X. Disponível em: < <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0268005X08001811> >.

CHATTOPADHYAY, S. K. et al. Biodegradability studies on natural fibers reinforced polypropylene composites. **Journal of Applied Polymer Science**, v. 121, n. 4, p. 2226-2232, 2011. ISSN 1097-4628. Disponível em: < <http://dx.doi.org/10.1002/app.33828> >.

CHINAPONGTITIWAT, V. et al. Important flavonoids and limonin in selected Thai citrus residues. **Journal of Functional Foods**, v. 5, n. 3, p. 1151-1158, 7// 2013. ISSN 1756-4646. Disponível em: < <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1756464613000819> >.

CODEX-ALIMENTARIUS. **Codex standard for named vegetable oils.**: Codex-Stan, 210,: 1-13. p. 1999.

COLLA, E.; SOBRAL, P. J. A.; MENEGALLI, F. C. Amaranthus cruentus Flour Edible Films: Influence of Stearic Acid Addition, Plasticizer Concentration, and Emulsion Stirring Speed on Water Vapor Permeability and Mechanical Properties. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 54, n. 18, p. 6645-6653, 2006/09/01 2006. ISSN 0021-8561. Disponível em: < <http://dx.doi.org/10.1021/jf0611217> >.

COLÍN-CHÁVEZ, C. et al. Fabrication and Properties of Antioxidant Polyethylene-based Films Containing Marigold (*Tagetes erecta*) Extract and Application on Soybean Oil Stability. **Packaging Technology and Science**, v. 26, n. 5, p. 267-280, 2013. ISSN 1099-1522. Disponível em: < <http://dx.doi.org/10.1002/pts.1982> >.

CRANDELL, K. Defining and dealing with nutraceuticals in the US. **Feed Mix**, v. 9, n. 6, p. 30-31, 2001.

CRIZEL, T. D. M. et al. Dietary fiber from orange byproducts as a potential fat replacer. **LWT - Food Science and Technology**, v. 53, n. 1, p. 9-14, 9// 2013. ISSN 0023-6438. Disponível em: < <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0023643813000479> >.

CUQ, B. et al. Functional Properties of Myofibrillar Protein-based Biopackaging as Affected by Film Thickness. **Journal of Food Science**, v. 61, n. 3, p. 580-584, 1996. ISSN 1750-3841. Disponível em: < <http://dx.doi.org/10.1111/j.1365-2621.1996.tb13163.x> >.

DAVIS, G.; SONG, J. H. Biodegradable packaging based on raw materials from crops and their impact on waste management. **Industrial Crops and Products**, v. 23, n. 2, p. 147-161, 3// 2006. ISSN 0926-6690. Disponível em: < <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0926669005000658> >.

DEBEAUFORT, F.; QUEZADA-GALLO, J. A.; VOILLEY, A. Edible films and coatings: tomorrow's packagings: a review. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v. 38, n. 4, p. 299-313, May 1998. ISSN 1040-8398 (Print) 1040-8398.

FANG, Y. et al. Tensile and Barrier Properties of Edible Films Made from Whey Proteins. **Journal of Food Science**, v. 67, n. 1, p. 188-193, 2002. ISSN 1750-3841. Disponível em: < <http://dx.doi.org/10.1111/j.1365-2621.2002.tb11381.x> >.

FARHOOSH, R. Shelf-life prediction of edible fats and oils using Rancimat. **Lipid Technology**, v. 19, n. 10, p. 232-234, 2007. ISSN 1863-5377. Disponível em: < <http://dx.doi.org/10.1002/lite.200700073> >.

FARUK, O. et al. Biocomposites reinforced with natural fibers: 2000–2010. **Progress in Polymer Science**, v. 37, n. 11, p. 1552-1596, 11// 2012. ISSN 0079-6700. Disponível em: < <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0079670012000391> >.

FERREIRA, A. S. et al. Influence of grape pomace extract incorporation on chitosan films properties. **Carbohydrate Polymers**, v. 113, p. 490-499, 11/26/ 2014. ISSN 0144-8617. Disponível em: < <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0144861714007097> >.

FOMIN, V. A.; GUZEEV, V. V. Biodegradable polymers, their present state and future prospects. **Progress in Rubber and Plastics Technology**, v. 17, n. 3, p. 186-204, 2001. Disponível em: < <http://www.scopus.com/inward/record.url?eid=2-s2.0-0035783982&partnerID=40&md5=631ab0bd350e88c0a72ffb9b0e2981b5> >.

GALANAKIS, C. M. Recovery of high added-value components from food wastes: Conventional, emerging technologies and commercialized applications. **Trends in Food Science & Technology**, v. 26, n. 2, p. 68-87, 8// 2012. ISSN 0924-2244. Disponível em: < <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0924224412000532> >.

GARCÍA, M. A. et al. Characterization of Starch and Composite Edible Films and Coatings In: EMBUSCADO, M. E. e HUBER, K. C. (Ed.). **Edible Films and Coatings for Food Applications**: Springer, 2009. cap. 6, p.169-209.

GENNADIOS, A. et al. Mechanical and Barrier Properties of Egg Albumen Films. **Journal of Food Science**, v. 61, n. 3, p. 585-589, 1996. ISSN 1750-3841. Disponível em: < <http://dx.doi.org/10.1111/j.1365-2621.1996.tb13164.x> >.

GHOSHAL, S. et al. Heterogeneities in gelatin film formation using single-sided NMR. **The Journal of Physical Chemistry B**, v. 114, n. 49, p. 16356-63, Dec 16 2010. ISSN 520-5207.

GIMÉNEZ, B. et al. Improvement of the antioxidant properties of squid skin gelatin films by the addition of hydrolysates from squid gelatin. **Food Hydrocolloids**, v. 23, n. 5, p. 1322-1327, 7// 2009. ISSN 0268-005X. Disponível em: < <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0268005X08002208> >.

GIMÉNEZ, B. et al. Release of active compounds from agar and agar–gelatin films with green tea extract. **Food Hydrocolloids**, v. 30, n. 1, p. 264-271, 1// 2013. ISSN 0268-005X. Disponível em: < <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0268005X12001142> >.

GONTARD, N. et al. Edible composite films of wheat gluten and lipids: water vapour permeability and other physical properties. **International Journal of Food Science & Technology**, v. 29, n. 1, p. 39-50, 1994. ISSN 1365-2621. Disponível em: < <http://dx.doi.org/10.1111/j.1365-2621.1994.tb02045.x> >.

GROSS, R. A.; KALRA, B. Biodegradable polymers for the environment. **Science**, v. 297, n. 5582, p. 803-807, 2002. Disponível em: < <http://www.scopus.com/inward/record.url?eid=2-s2.0-0037008507&partnerID=40&md5=387249292abdb66294e4b23856f819f7> >.

GUILBERT, S.; GONTARD, N.; GORRIS, L. G. M. Prolongation of the Shelf-life of Perishable Food Products using Biodegradable Films and Coatings. **LWT - Food Science and Technology**, v. 29, n. 1–2, p. 10-17, // 1996. ISSN 0023-6438. Disponível em: < <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S002364389690002X> >.

GUSTAVSSON, C. et al. **Global food losses and food wastes: extent, cause and prevention**. . **Interpack2011**. Dusseldorf, Germany 2011.

GÓMEZ, E. F.; MICHEL JR, F. C. Biodegradability of conventional and bio-based plastics and natural fiber composites during composting, anaerobic digestion and long-term soil incubation. **Polymer Degradation and Stability**, v. 98, n. 12, p. 2583-2591, 12// 2013. ISSN 0141-3910. Disponível em: < <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0141391013003066> >.

GÓMEZ-ESTACA, J. et al. Incorporation of antioxidant borage extract into edible films based on sole skin gelatin or a commercial fish gelatin. **Journal of Food Engineering**, v. 92, n. 1, p. 78-85, 5// 2009a. ISSN 0260-8774. Disponível em: < <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0260877408005190> >.

GÓMEZ-ESTACA, J. et al. Physical and chemical properties of tuna-skin and bovine-hide gelatin films with added aqueous oregano and rosemary extracts. **Food Hydrocolloids**, v. 23, n. 5, p. 1334-1341, 7// 2009b. ISSN 0268-005X. Disponível em: < <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0268005X08002403> >.

GÓMEZ-GUILLÉN, M. C. et al. Functional and bioactive properties of collagen and gelatin from alternative sources: A review. **Food Hydrocolloids**, v. 25, n. 8, p. 1813-1827, 12// 2011. ISSN 0268-005X. Disponível em: < <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0268005X11000427> >.

GÓMEZ-GUILLÉN, M. C. et al. Fish gelatin: a renewable material for developing active biodegradable films. **Trends in Food Science & Technology**, v. 20, n. 1, p. 3-16, 1// 2009. ISSN 0924-2244. Disponível em: < <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0924224408002471> >.

HAN, J. H.; FLOROS, J. D. Casting Antimicrobial Packaging Films and Measuring Their Physical Properties and Antimicrobial Activity. **Journal of Plastic Film and Sheeting**, v. 13, n. 4, p. 287-298, 1997. Disponível em: < <http://jpf.sagepub.com/content/13/4/287.abstract> >.

HERNANDEZ-IZQUIERDO, V. M.; KROCHTA, J. M. Thermoplastic processing of proteins for film formation--a review. **Journal of Food Science**, v. 73, n. 2, p. R30-9, Mar 2008. ISSN 0022-1147.

HONG, Y. H.; LIM, G. O.; SONG, K. B. Physical properties of Gelidium corneum-gelatin blend films containing grapefruit seed extract or green tea extract and its application in the packaging of pork loins. **Journal of Food Science**, v. 74, n. 1, p. C6-c10, Jan-Feb 2009. ISSN 0022-1147.

HOSSEINI, S. F. et al. Fabrication of bio-nanocomposite films based on fish gelatin reinforced with chitosan nanoparticles. **Food Hydrocolloids**, v. 44, p. 172-182, 2// 2015. ISSN 0268-005X. Disponível em: < <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0268005X14003026> >.

HUANG, D.; OU, B.; PRIOR, R. L. The Chemistry behind Antioxidant Capacity Assays. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 53, n. 6, p. 1841-1856, 2005/03/01 2005. ISSN 0021-8561. Disponível em: < <http://dx.doi.org/10.1021/jf030723c> >.

JEON, Y.-J.; KAMIL, J. Y. V. A.; SHAHIDI, F. Chitosan as an Edible Invisible Film for Quality Preservation of Herring and Atlantic Cod. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 50, n. 18, p. 5167-5178, 2002/08/01 2002. ISSN 0021-8561. Disponível em: < <http://dx.doi.org/10.1021/jf011693l> >. Acesso em: 2014/04/22.

JIANG, Y. et al. Study of the physical properties of whey protein isolate and gelatin composite films. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 58, n. 8, p. 5100-8, Apr 28 2010. ISSN 0021-8561.

KANG, H. J.; MIN, S. C. Potato peel-based biopolymer film development using high-pressure homogenization, irradiation, and ultrasound. **LWT - Food Science and Technology**, v. 43, n. 6, p. 903-909, 7// 2010. ISSN 0023-6438. Disponível em: < <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0023643810000447> >.

KRISHNA, M.; NINDO, C. I.; MIN, S. C. Development of fish gelatin edible films using extrusion and compression molding. **Journal of Food Engineering**, v. 108, n. 2, p. 337-344, 1// 2012. ISSN 0260-8774. Disponível em: < <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0260877411004286> >.

LACROIX, M. **Mechanical and Permeability Properties of Edible Films and Coatings for Food and Pharmaceutical Applications**. Edible Films and Coatings for Food Applications. EMBUSCADO, M. E. e HUBER, K. C. New York: Springer: 347-366 p. 2009.

LEE, J. Y. et al. Extending shelf-life of minimally processed apples with edible coatings and antibrowning agents. **LWT - Food Science and Technology**, v. 36, n. 3, p. 323-329, 5// 2003. ISSN 0023-6438. Disponível em: < <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0023643803000148> >.

LI, J.-H. et al. Preparation and characterization of active gelatin-based films incorporated with natural antioxidants. **Food Hydrocolloids**, v. 37, p. 166-173, 6// 2014. ISSN 0268-005X. Disponível em: < <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0268005X13003329> >.

LIN, D.; ZHAO, Y. Innovations in the Development and Application of Edible Coatings for Fresh and Minimally Processed Fruits and Vegetables. **Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety**, v. 6, n. 3, p. 60-75, 2007. ISSN 1541-4337. Disponível em: < <http://dx.doi.org/10.1111/j.1541-4337.2007.00018.x> >.

LIU, Z. et al. Effects of chitosan molecular weight and degree of deacetylation on the properties of gelatin-based films. **Food Hydrocolloids**, v. 26, n. 1, p. 311-317, 1// 2012. ISSN 0268-005X. Disponível em: < <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0268005X11001822> >.

LÓPEZ-DE-DICASTILLO, C. et al. Immobilization of β -cyclodextrin in ethylene-vinyl alcohol copolymer for active food packaging applications. **Journal of Membrane Science**, v. 353, n. 1-2, p. 184-191, 5/1/ 2010. ISSN 0376-7388. Disponível em: < <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0376738810001572> >.

MARAN, J. P. et al. Degradation behavior of biocomposites based on cassava starch buried under indoor soil conditions. **Carbohydrate Polymers**, v. 101, p. 20-28, 1/30/ 2014. ISSN 0144-8617. Disponível em: < <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0144861713008643> >.

MARTUCCI, J. F.; RUSECKAITE, R. A. Biodegradation of three-layer laminate films based on gelatin under indoor soil conditions. **Polymer Degradation and Stability**, v. 94, n. 8, p. 1307-1313, 8// 2009. ISSN 0141-3910. Disponível em: < <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0141391009000755> >.

MARTUCCI, J. F.; RUSECKAITE, R. A. Biodegradable three-layer film derived from bovine gelatin. **Journal of Food Engineering**, v. 99, n. 3, p. 377-383, 8// 2010. ISSN 0260-8774. Disponível em: < <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0260877410001044> >.

MARTÍN-SÁNCHEZ, A. M. et al. Phytochemicals in date co-products and their antioxidant activity. **Food Chemistry**, v. 158, p. 513-520, 9/1/ 2014. ISSN 0308-8146. Disponível em: < <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0308814614003756> >.

MONDRAGON, G. et al. Bionanocomposites based on gelatin matrix and nanocellulose. **European Polymer Journal**, v. 62, p. 1-9, 1// 2015. ISSN 0014-3057. Disponível em: < <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0014305714003784> >.

MU, C. et al. Preparation and properties of dialdehyde carboxymethyl cellulose crosslinked gelatin edible films. **Food Hydrocolloids**, v. 27, n. 1, p. 22-29, 5// 2012. ISSN 0268-005X. Disponível em: < <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0268005X1100261X> >.

MUÑOZ, L. A. et al. Characterization and microstructure of films made from mucilage of *Salvia hispanica* and whey protein concentrate. **Journal of Food Engineering**, v. 111, n. 3, p. 511-518, 8// 2012. ISSN 0260-8774. Disponível em: < <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0260877412001112> >.

NAGARAJAN, M. et al. Characteristics of bio-nanocomposite films from tilapia skin gelatin incorporated with hydrophilic and hydrophobic nanoclays. **Journal of Food Engineering**, v. 143, p. 195-204, 12// 2014. ISSN 0260-8774. Disponível em: < <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0260877414002878> >.

NAGARAJAN, M. et al. Film forming ability of gelatins from splendid squid (*Loligo formosana*) skin bleached with hydrogen peroxide. **Food Chemistry**, v. 138, n. 2-3, p. 1101-1108, 6/1/ 2013. ISSN 0308-8146. Disponível em: < <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0308814612018018> >.

NASCIMENTO, T. A.; CALADO, V.; CARVALHO, C. W. P. Development and characterization of flexible film based on starch and passion fruit mesocarp flour with nanoparticles. **Food Research International**, v. 49, n. 1, p. 588-595, 11// 2012. ISSN 0963-9969. Disponível em: < <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0963996912002955> >.

NAVARRO-GONZÁLEZ, I. et al. Chemical profile, functional and antioxidant properties of tomato peel fiber. **Food Research International**, v. 44, n. 5, p. 1528-1535, 6// 2011. ISSN 0963-9969. Disponível em: < <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0963996911002225> >.

NAYAK, P. L. Biodegradable polymers: opportunities and challenges. **Journal of Macromolecular Science, Part C: Polymer Reviews**, v. 39, n. 3, p. 481-505, 1999.

NORONHA, C. M. et al. Characterization of antioxidant methylcellulose film incorporated with α -tocopherol nanocapsules. **Food Chemistry**, v. 159, p. 529-535, 9/15/ 2014. ISSN 0308-8146. Disponível em: < <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0308814614003628> >.

NUANMANO, S.; PRODPRAN, T.; BENJAKUL, S. Potential use of gelatin hydrolysate as plasticizer in fish myofibrillar protein film. **Food Hydrocolloids**, v. 47, p. 61-68, 5// 2015. ISSN 0268-005X. Disponível em: < <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0268005X15000181> >.

NUR HANANI, Z. A. et al. Extrusion of gelatin-based composite films: Effects of processing temperature and pH of film forming solution on mechanical and barrier properties of manufactured films. **Food Packaging and Shelf Life**, v. 2, n. 2, p. 91-101, 12// 2014. ISSN 2214-2894. Disponível em: < <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S2214289414000593> >.

NUR HANANI, Z. A.; ROOS, Y. H.; KERRY, J. P. Use and application of gelatin as potential biodegradable packaging materials for food products. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 71, p. 94-102, 11// 2014. ISSN 0141-8130. Disponível em: < <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0141813014002542> >.

O'SHEA, N.; ARENDT, E. K.; GALLAGHER, E. Dietary fibre and phytochemical characteristics of fruit and vegetable by-products and their recent applications as novel ingredients in food products. **Innovative Food Science & Emerging Technologies**, v. 16, p. 1-10, 10// 2012. ISSN 1466-8564. Disponível em: < <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1466856412000884> >.

OKADA, M. Chemical syntheses of biodegradable polymers. **Progress in Polymer Science**, v. 27, n. 1, p. 87-133, 2// 2002. ISSN 0079-6700. Disponível em: < <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0079670001000399> >.

PALTHUR, M. P.; PALTHUR, S. S. S.; CHITTA, S. K. Nutraceuticals: A conceptual definition. **International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences**, v. 2, n. 3, p. 19-27, 2010. ISSN 0975-1491. Disponível em: < <http://www.ijppsjournal.com/Vol2Issue3/599.pdf> >.

PANTHAPULAKKAL, S.; SAIN, M. Agro-residue reinforced high-density polyethylene composites: Fiber characterization and analysis of composite properties. **Composites Part A: Applied Science and Manufacturing**, v. 38, n. 6, p. 1445-1454, 6// 2007. ISSN 1359-835X. Disponível em: < <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1359835X07000243> >.

PARK, S. I.; DAESCHEL, M. A.; ZHAO, Y. Functional Properties of Antimicrobial Lysozyme-Chitosan Composite Films. **Journal of Food Science**, v. 69, n. 8, p. M215-M221, 2004. ISSN 1750-3841. Disponível em: < <http://dx.doi.org/10.1111/j.1365-2621.2004.tb09890.x> >.

- PASTOR, C. et al. Physical and antioxidant properties of chitosan and methylcellulose based films containing resveratrol. **Food Hydrocolloids**, v. 30, n. 1, p. 272-280, 1// 2013. ISSN 0268-005X. Disponível em: < <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0268005X12001361> >.
- PEELMAN, N. et al. Application of bioplastics for food packaging. **Trends in Food Science & Technology**, v. 32, n. 2, p. 128-141, 8// 2013. ISSN 0924-2244. Disponível em: < <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0924224413001167> >.
- PEELMAN, N. et al. Use of biobased materials for modified atmosphere packaging of short and medium shelf-life food products. **Innovative Food Science & Emerging Technologies**, v. 26, p. 319-329, 12// 2014. ISSN 1466-8564. Disponível em: < <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1466856414001027> >.
- PIZARRO, C. et al. Determination of the peroxide value in extra virgin olive oils through the application of the stepwise orthogonalisation of predictors to mid-infrared spectra. **Food Control**, v. 34, n. 1, p. 158-167, 11// 2013. ISSN 0956-7135. Disponível em: < <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0956713513001473> >.
- PLASTICS. **Plastics – The Facts 2013**. An analysis of European latest plastics production, demand and waste data. 2013.
- PODCZECK, F.; NEWTON, J. M. Powder filling into hard gelatine capsules on a tamp filling machine. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 185, n. 2, p. 237-254, 8/20/ 1999. ISSN 0378-5173. Disponível em: < <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0378517399001696> >.
- PÉREZ-GAGO, M. B.; NADAUD, P.; KROCHTA, J. M. Water Vapor Permeability, Solubility, and Tensile Properties of Heat-denatured versus Native Whey Protein Films. **Journal of Food Science**, v. 64, n. 6, p. 1034-1037, 1999. ISSN 1750-3841. Disponível em: < <http://dx.doi.org/10.1111/j.1365-2621.1999.tb12276.x> >.
- RAMOS, M. et al. Development of novel nano-biocomposite antioxidant films based on poly (lactic acid) and thymol for active packaging. **Food Chemistry**, v. 162, p. 149-155, 11/1/ 2014. ISSN 0308-8146. Disponível em: < <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0308814614005718> >.
- REIS, L. C. B. et al. Active biocomposites of cassava starch: The effect of yerba mate extract and mango pulp as antioxidant additives on the properties and the stability of a packaged product. **Food and Bioproducts Processing**, v. 94, p. 382-391, 4// 2015. ISSN 0960-3085. Disponível em: < <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0960308514000558> >.
- RHIM, J.-W.; PARK, H.-M.; HA, C.-S. Bio-nanocomposites for food packaging applications. **Progress in Polymer Science**, v. 38, n. 10–11, p. 1629-1652, 10// 2013. ISSN 0079-6700. Disponível em: < <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S007967001300049X> >. Acesso em: 2013/11//.

ROBERTSON, G. L. **Food Packaging: Principles and Practices**. Boca Raton, FL: CRC Press, 2013.

ROJAS-GRAÜ, M. A.; SOLIVA-FORTUNY, R.; MARTÍN-BELLOSO, O. Edible coatings to incorporate active ingredients to fresh-cut fruits: a review. **Trends in Food Science & Technology**, v. 20, n. 10, p. 438-447, 10// 2009. ISSN 0924-2244. Disponível em: < <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0924224409001769> >.

SABLANI, S. S. et al. Apple peel-based edible film development using a high-pressure homogenization. **Journal of Food Science**, v. 74, n. 7, p. E372-81, Sep 2009. ISSN 0022-1147.

SAMSUDIN, H.; SOTO-VALDEZ, H.; AURAS, R. Poly(lactic acid) film incorporated with marigold flower extract (*Tagetes erecta*) intended for fatty-food application. **Food Control**, v. 46, p. 55-66, 12// 2014. ISSN 0956-7135. Disponível em: < <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0956713514002424> >.

SCHETTINI, E. et al. Recycled wastes of tomato and hemp fibres for biodegradable pots: Physico-chemical characterization and field performance. **Resources, Conservation and Recycling**, v. 70, p. 9-19, 1// 2013. ISSN 0921-3449. Disponível em: < <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0921344912002017> >.

SEDLAŘÍK, V. et al. Environmentally friendly biocomposites based on waste of the dairy industry and poly(vinyl alcohol). **Journal of Applied Polymer Science**, v. 106, n. 3, p. 1869-1879, 2007. ISSN 1097-4628. Disponível em: < <http://dx.doi.org/10.1002/app.26589> >.

SHAH, A. A. et al. Biological degradation of plastics: A comprehensive review. **Biotechnology Advances**, v. 26, n. 3, p. 246-265, 5// 2008. ISSN 0734-9750. Disponível em: < <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0734975008000141> >. Acesso em: 2008/6//.

SHEN, Z.; GHASEMLOU, M.; KAMDEM, D. P. Development and compatibility assessment of new composite film based on sugar beet pulp and polyvinyl alcohol intended for packaging applications. **Journal of Applied Polymer Science**, v. 132, n. 4, p. 41354, 2015. ISSN 1097-4628. Disponível em: < <http://dx.doi.org/10.1002/app.41354> >.

SILVA, L. M. R. et al. Quantification of bioactive compounds in pulps and by-products of tropical fruits from Brazil. **Food Chemistry**, v. 143, p. 398-404, Jan 15 2014. ISSN 0308-8146 (Print) 0308-8146.

SILVA-WEISS, A. et al. Natural Additives in Bioactive Edible Films and Coatings: Functionality and Applications in Foods. **Food Engineering Reviews**, v. 5, n. 4, p. 200-216, 2013/12/01 2013. ISSN 1866-7910. Disponível em: < <http://dx.doi.org/10.1007/s12393-013-9072-5> >.

SINGH, M. C.; GUJAR, K. N. Nutraceuticals: Uses, risks and regulatory scenario. **International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences**, v. 5, n. 3, p. 23-26, 2013.

SOTHORNVIT, R.; KROCHTA, J. M. Plasticizer Effect on Oxygen Permeability of β -Lactoglobulin Films. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 48, n. 12, p. 6298-6302, 2000/12/01 2000. ISSN 0021-8561. Disponível em: <
<http://dx.doi.org/10.1021/jf0008361>>. Acesso em: 2014/04/22.

SOTHORNVIT, R.; KROCHTA, J. M. Plasticizer effect on mechanical properties of β -lactoglobulin films. **Journal of Food Engineering**, v. 50, n. 3, p. 149-155, 11// 2001. ISSN 0260-8774. Disponível em: <
<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0260877400002375>>.

SOUZA, P. M. D. et al. Modified sodium caseinate films as releasing carriers of lysozyme. **Food Hydrocolloids**, v. 24, n. 4, p. 300-306, 6// 2010. ISSN 0268-005X. Disponível em: <
<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0268005X09002094>>.

THARANATHAN, R. N. Biodegradable films and composite coatings: past, present and future. **Trends in Food Science & Technology**, v. 14, n. 3, p. 71-78, 3// 2003. ISSN 0924-2244. Disponível em: <
<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0924224402002807>>.

TONGNUANCHAN, P.; BENJAKUL, S.; PRODPRAN, T. Properties and antioxidant activity of fish skin gelatin film incorporated with citrus essential oils. **Food Chemistry**, v. 134, n. 3, p. 1571-1579, 10/1/ 2012. ISSN 0308-8146. Disponível em: <
<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0308814612005778>>.

TONGNUANCHAN, P.; BENJAKUL, S.; PRODPRAN, T. Physico-chemical properties, morphology and antioxidant activity of film from fish skin gelatin incorporated with root essential oils. **Journal of Food Engineering**, v. 117, n. 3, p. 350-360, 8// 2013. ISSN 0260-8774. Disponível em: <
<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0260877413001180>>.

TONGNUANCHAN, P. et al. Emulsion film based on fish skin gelatin and palm oil: physical, structural and thermal properties. **Food Hydrocolloids**, v. 48, n. 0, p. 248-259, 2015. ISSN 0268-005X. Disponível em: <
<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0268005X15000867>>.

VANDERMEERSCH, T. et al. Environmental sustainability assessment of food waste valorization options. **Resources, Conservation and Recycling**, v. 87, p. 57-64, 6// 2014. ISSN 0921-3449. Disponível em: <
<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0921344914000664>>.

VARGAS, M. et al. Recent advances in edible coatings for fresh and minimally processed fruits. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v. 48, n. 6, p. 496-511, Jun 2008. ISSN 1040-8398.

VERMEIREN, L. et al. Developments in the active packaging of foods. **Trends in Food Science and Technology**, v. 10, n. 3, p. 77-86, 1999. Disponível em: <
<http://www.scopus.com/inward/record.url?eid=2-s2.0-0033102649&partnerID=40&md5=889c8057a3260ba944b178655632a5af>>.

VERSINO, F.; LÓPEZ, O. V.; GARCÍA, M. A. Sustainable use of cassava (*Manihot esculenta*) roots as raw material for biocomposites development. **Industrial Crops and Products**, v. 65, n. 0, p. 79-89, 3// 2015. ISSN 0926-6690. Disponível em: < <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0926669014007626> >.

WAN, V. C.-H.; KIM, M. S.; LEE, S.-Y. Water Vapor Permeability and Mechanical Properties of Soy Protein Isolate Edible Films Composed of Different Plasticizer Combinations. **Journal of Food Science**, v. 70, n. 6, p. e387-e391, 2005. ISSN 1750-3841. Disponível em: < <http://dx.doi.org/10.1111/j.1365-2621.2005.tb11443.x> >.

WANG, S. et al. Fortification of dietary biopolymers-based packaging material with bioactive plant extracts. **Food Research International**, v. 49, n. 1, p. 80-91, 11// 2012. ISSN 0963-9969. Disponível em: < <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0963996912002669> >.

WENG, W.; ZHENG, H. Effect of transglutaminase on properties of tilapia scale gelatin films incorporated with soy protein isolate. **Food Chemistry**, v. 169, p. 255-260, 2/15/ 2015. ISSN 0308-8146. Disponível em: < <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0308814614012278> >.

WIHODO, M.; MORARU, C. I. Physical and chemical methods used to enhance the structure and mechanical properties of protein films: A review. **Journal of Food Engineering**, v. 114, n. 3, p. 292-302, 2// 2013. ISSN 0260-8774. Disponível em: < <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0260877412004049> >.

WU, J. et al. Preparation, properties and antioxidant activity of an active film from silver carp (*Hypophthalmichthys molitrix*) skin gelatin incorporated with green tea extract. **Food Hydrocolloids**, v. 32, n. 1, p. 42-51, 7// 2013. ISSN 0268-005X. Disponível em: < <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0268005X12002949> >.

WU, J. et al. Properties and antimicrobial activity of silver carp (*Hypophthalmichthys molitrix*) skin gelatin-chitosan films incorporated with oregano essential oil for fish preservation. **Food Packaging and Shelf Life**, v. 2, n. 1, p. 7-16, 9// 2014. ISSN 2214-2894. Disponível em: < <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S2214289414000374> >.

YANG, Y. et al. A novel method for determining peroxide value of edible oils using electrical conductivity. **Food Control**, v. 39, p. 198-203, 5// 2014. ISSN 0956-7135. Disponível em: < <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0956713513005914> >.

ZEISEL, S. H. Regulation of "nutraceuticals". **Science**, v. 285, n. 5435, p. 1853-5, Sep 17 1999. ISSN 0036-8075 (Print) 0036-8075.

ZHANG, N. et al. Developing gelatin–starch blends for use as capsule materials. **Carbohydrate Polymers**, v. 92, n. 1, p. 455-461, 1/30/ 2013. ISSN 0144-8617. Disponível em: < <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0144861712009666> >.

ÇOKAYGIL, Z.; BANAR, M.; SEYHAN, A. T. Orange peel-derived pectin jelly and corn starch-based biocomposite film with layered silicates. **Journal of Applied Polymer Science**, v. 131, n. 16, p. n/a-n/a, 2014. ISSN 1097-4628. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1002/app.40654>>.