



**INSTITUTO
FEDERAL**
Rio de Janeiro

Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Rio de Janeiro

Programa de Pós-Graduação Stricto Sensu Mestrado
Profissional em Ciência e Tecnologia de Alimentos

Leonardo Marinho Fernandes

**DESENVOLVIMENTO E
CARACTERIZAÇÃO DE FILMES A
BASE DE PROTEÍNA ISOLADA DE
SORO DE LEITE ADICIONADOS DE
XILOOLIGOSSACARÍDEOS E
GALACTOOLIGOSSACARÍDEOS**

Rio de Janeiro

2019

Leonardo Marinho Fernandes

**DESENVOLVIMENTO E CARACTERIZAÇÃO DE FILMES A BASE DE
PROTEÍNA ISOLADA DE SORO DE LEITE ADICIONADOS DE
XILOOLIGOSSACARÍDEOS E GALACTOOLIGOSSACARÍDEOS**

Dissertação apresentada ao Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Rio de Janeiro como requisito parcial para a obtenção do grau de Mestre em Ciência e Tecnologia de Alimentos no Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos.

Orientadores: Dsc. Adriano Gomes da Cruz
Dsc. Márcia Cristina da Silva

Rio de Janeiro – RJ
2019

Dedico esse trabalho a minha esposa, minha filha, mãe, pai, irmã, sogra, sogro e cunhados que e com muita paciência e apoio, não mediram esforços para que eu concluísse esta etapa. Dedico também aos professores do IFRJ, Embrapa e UFRRJ que de alguma forma participaram desta jornada.

AGRADECIMENTOS

Agradeço a toda minha família, amigos e professores pelos rumos tomados nessa jornada. Em especial a Mariana, minha esposa, que ao longo da gravidez, e nascimento da nossa filha, teve contribuição direta para a conclusão deste trabalho.

Minha mãe, pai, e irmã que pavimentaram toda a estrada e me guiaram até aqui.

A Isabel e Carlos Alberto que se disponibilizaram como avós da Clara e liberaram o tempo aos finais de semana.

Aos professores Marcia Cristina da Silva, Carlos Wanderlei Piler de Carvalho, Mauricio Cordeiro Mancini, José Lucena Barbosa e Jonas de Toledo Guimarães que se dividem na minha história entre classes de professores, educadores, pesquisadores, formadores de cidadãos e pais, que de uma forma ou de outra, tiveram influência ou participação no todo.

Ao Adriano Gomes da Cruz que impulsionou com ideias, tempo e orientação, e ajudou a construir um desafio factível e de bons resultados.

FERNANDES, Leonardo Marinho Fernandes Desenvolvimento e caracterização de filmes a base de proteína isolada de soro de leite adicionados de xilooligossacarídeos e galactooligossacarídeos. 66p. Dissertação, Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia dos Alimentos, Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Rio de Janeiro (IFRJ), Campus Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, RJ, 2019

RESUMO

A incorporação de prebióticos e proteínas do leite em filmes comestíveis é uma tecnologia emergente e se apresenta como alternativa para o aumento da ingestão diária de prebióticos e probióticos pela população. Neste estudo foi avaliado a adição de xilooligossacarídeos (XOS) e galactooligossacarídeos (GOS) em filmes de proteína isolada de soro de leite (WPI) pela técnica casting. Quatro concentrações foram estudadas nos filmes de WPI : 0, 10, 20 e 30g de prebióticos/100g sólidos, demonstrados da seguinte forma: W100, W90X10, W80X20, W70X30 respectivamente para amostras adicionadas de XOS e W100, W90G10, W80G20, W70G30 respectivamente para amostras de GOS. Foram realizadas análises de espessura, MEV, DSC, Tensão na ruptura, % de Deformação, PVA e ângulo de contato, para a caracterização dos filmes obtidos no presente estudo. Observou-se que todas as formulações apresentaram boas características de manuseio, homogeneidade, e tiveram fácil des plaqueamento, sem apresentar bolhas, separação de fases ou quebras. Os resultados obtidos, demonstraram filmes com boa solubilidade e homogeneidade, relacionando a ausências de partículas insolúveis. A Inclusão dos prébióticos XOS e GOS nos filmes indicou um efeito de preenchimento dentro da estrutura globular das proteínas, após o tratamento térmico, aumentando os espaços livres intermoleculares da estrutura da proteína, facilitando a mobilidade das moléculas e criando um aumento da flexibilidade dos filmes, semelhante a relação de adição de agentes plastificantes em demais filmes com características hidrofílicas. Dessa forma aumento da concentração de GOS e XOS reduziu os valores de Tensão (MPa), de Temperatura de Pico (°C) e aumentou os valores de Deformação na ruptura dos filmes (%), além disso não se obteve efeito significativos nas propriedades de barreira a água como PVA e Ângulo de contato. Sendo assim a incorporação de prebióticos em filmes de WPI se mostra como uma alternativa promissora para inclusão de prebióticos em diversos tipos de alimentos.

Palavras chave: Galactooligosacarídeos; Xilooligosacarídeos; Filme de proteína isolada de soro de leite

FERNANDES, Leonardo Marinho Fernandes Edible films using whey protein and galactooligosaccharide and xylooligosaccharide. 66p. Dissertação, Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia dos Alimentos, Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Rio de Janeiro (IFRJ), Campus Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, RJ, 2019

ABSTRACT

This study to evaluate the effect of the addition of xylooligosaccharides (XOS) or galactooligosaccharides (GOS) (0, 10, 20, or 30g /100g) to whey protein (WP) films produced by the casting technique, using glycerol (30 g/100 g) as a plasticizer. The films were evaluated for thickness, scanning electron microscopy (SEM), differential scanning calorimetry (DSC), mechanical properties, water vapor permeability (WVP) and contact angle. There was no impact of the addition of prebiotic components on thickness and microstructure (SEM) of the films, which presented smooth and homogeneous surface and absence of granules, particles, or bubbles, while the cross-section surface was less dense and more heterogeneous. In addition, the films were less resistant and more flexible (lower tensile strength and higher elongation), and exhibited lower WVP. Therefore, the incorporation of GOS and XOS into WP-based edible film formulation constitutes a promising alternative, as it provides desirable characteristics (higher flexibility and lower WVP) at the films.

Key words: edible films, whey protein, galactooligosaccharide, xylooligosaccharide

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1: Estrutura quaternária da β -Lg of pH	17
Figura 2: Estrutura da Xilose e Xilooligossacarídeos	18
Figura 3: Exemplos de diferentes estruturas de GOS.....	20
Figura 4: Fluxograma do processo de obtenção dos filmes	21
Figura 5: Câmara hermética a vácuo	24
Figura 6: Representação de análise de permeabilidade ao vapor de água	26
Figura 7: Analisador de textura	27
Figura 8: Medidor de ângulo de contato CAM101	28
Figura 9: DSC Q200.....	29
Figura 10: Coloração das soluções filmogênicas após aquecimento.....	31
Figura 11: Análise visual dos filmes	32
Figura 12: Microscopia Eletrônica de Varredura da superfície dos filmes (MEV) ...	34
Figura 13: Microscopia Eletrônica de Varredura da Seção Transversal dos filmes (MEV).....	35

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Pesquisas e principais resultados dos filmes de proteínas de soro de leite	14
Tabela 2 – Composição química e propriedades físicas do soro de leite	15
Tabela 3 – Concentração das principais proteínas do soro de leite	16
Tabela 4 – Planejamento experimental	23
Tabela 5 – Caracterização química da proteína isolada de soro de leite	29
Tabela 6 – Teor de umidade presente nas matérias primas	30
Tabela 7 – Valores de espessura média dos filmes	33
Tabela 8 – Valores de Temperatura de pico (Tp)	36
Tabela 9 – Valores de tensão na ruptura dos filmes	37
Tabela 10 – Valores de % de deformação dos filmes	38
Tabela 11 – Valores da Permeabilidade ao vapor de água dos filmes (PVA)	39
Tabela 12 – Valores de Ângulo de contato	40

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	11
2	REFERENCIAL TEÓRICO	13
3.1	BIOPOLÍMEROS	13
3.2	TENDÊNCIAS NO DESENVOLVIMENTO DOS BIOPOLÍMEROS	14
3.2.1	Embalagens ativas	15
3.2.2	Embalagens comestíveis como alimentos funcionais	16
3.3	PROTEÍNA DO SORO DE LEITE	20
3.3.1	β -Lactoglobulinas	21
3.3.2	α -Lactoalbuminas	22
3.4	PRÉBIOTICOS	22
3.4.1	Xilooligossacarídeos	22
3.4.2	Galactooligossacarídeos	24
3	OBJETIVOS	26
2.1	GERAL	26
2.2	ESPECÍFICOS	26
4	JUSTIFICATIVA	27
5	METODOLOGIA	28
5.1	DESENVOLVIMENTO DO FILME	30
5.2	ANÁLISES FÍSICO-QUÍMICAS	32
5.2.1	Umidade	32
5.2.2	Determinação do pH	32
5.2.3	Espessura	32
5.2.4	Permeabilidade ao vapor de água	32
5.2.5	Propriedades Mecânicas	33
5.2.6	Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)	34
5.2.7	Ângulo de Contato	34
5.2.8	Calorimetria Diferencial de Varredura (DSC)	35
5.2.9	Análise Estatística	36
6	RESULTADOS E DISCUSSÃO	36
6.1.1	Caracterização das matérias primas	36
6.1.2	Avaliação geral das soluções e filmes preparados	37
6.1.3	Espessura	40

6.1.4 MEV	41
6.1.5 DSC	43
6.1.6 Tensão	44
6.1.7 Deformação	45
6.1.8 Permeabilidade ao vapor de água.....	46
6.1.9 Ângulo de Contato	48
7 CONCLUSÃO	49
8 TRABALHOS FUTUROS.....	50
9 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	52

1 INTRODUÇÃO

A vida contemporânea junto com novos hábitos de consumo e novas tecnologias têm causado um aumento na produção de resíduos sólidos. Grande parte destes resíduos podem permanecer por centenas e milhares de anos no meio ambiente, gerando impactos sociais, econômicos e ambientais de difíceis soluções (RAHMANI *et al.*,2013).

Os resíduos provenientes de embalagens em alguns países representam de 15% a 20% de total de resíduos sólidos coletados nas cidades, porém em países mais industrializados, como Inglaterra, Canadá e Austrália, os resíduos de embalagens estão entre 30% a 35% do total de resíduos coletados (EPA, 2013; OECD,2013). Alguns aspectos socioeconômicos têm sido determinantes para este aumento, tais como o incremento de renda, dinâmica de urbanização, alterações nos padrões de consumo e menor tamanho das famílias que geraram uma demanda de redução da porção de diversos produtos, criando-se uma tendência para o aumento do uso de embalagens individuais e de tamanho reduzido e por consequência aumentado o volume de embalagens a serem descartadas (WPO, 2008; EUROPEAN, 2013).

O segmento da indústria de alimentos se destaca por ser um dos principais usuários de embalagens plásticas e teve em 2016 discutidas seis principais tendências do mercado relativo ao desenvolvimento de embalagens. Dentre elas foi destacado que as embalagens flexíveis não são mais consideradas como embalagens de menor qualidade pelos consumidores e tendem a aumentar sua utilização em substituição a embalagens de plásticos rígidos, latas e vidros. Além disso, em pesquisa, 32% dos consumidores apontaram as embalagens flexíveis como embalagens modernas, devido ao avanço da categoria em formatos de *stand up pouches* e híbridos rígidos/flexíveis que oferecem benefícios funcionais e ambientais. Outra tendência foi a preferência de compra do consumidor, em 63% das vezes, por embalagens que promovam alternativas ecológicas associando este ponto como fator decisivo de compra (MINTEL, 2017).

Muitas iniciativas para a redução dos resíduos sólidos ou com intuito de promover novas formas de disposição, estão em discussão em todo o mundo. Muitas delas direcionadas a pesquisas científicas, regulamentações e políticas públicas. Em relação as regulamentações e políticas pode-se destacar no Brasil a Lei nº 12.305/10 sancionada em 2010, que instituiu política nacional de resíduos sólidos e a Resolução

da ANTT 420 de 2004, sobre o Regulamento do Transporte Terrestre de Produtos Perigosos (MMA, 2017; ANTT, 2004). No âmbito das pesquisas científicas destacam-se o desenvolvimento de polímero a partir de fontes renováveis, como o Polietileno obtido a partir do etanol oriundo da fermentação da cana de açúcar e o desenvolvimento do PLA (poli ácido láctico) oriundo de fermentação de polissacarídeos de diversas naturezas (TSIROPOULOS *et al.*, 2015; NOFAR *et al.*, 2013).

Muitos outros materiais estão sendo estudados em busca de aplicações específicas, capazes de substituir o uso de plásticos convencionais total ou parcialmente nas embalagens. Dentre os materiais mais relatados na literatura científica, estão as proteínas, carboidratos e fibras, encontrados na natureza ou gerados a partir de resíduos industriais. Os maiores desafios das pesquisas atuais estão em aprimorar as propriedades mecânicas e de barreira deste biopolímeros, para que possam manter a estabilidade dos produtos sem perda de suas características, como por exemplo, não rasgar durante manuseio, atuar como barreira a umidade, como barreira ao oxigênio, entre outros requerimentos determinantes para uma boa proteção do produto (WIHODO *et al.*, 2013).

Os filmes baseados em proteínas têm-se apresentado promissores, devido a sua composição, que podem ser aplicadas aos produtos de diversas maneiras como por exemplo: filmes para contenção do produto, coberturas comestíveis, carregador de aditivos funcionais, entre outros. Porém ainda possuem algumas características distantes dos polímeros convencionais, as proteínas possuem alta permeabilidade ao vapor de água, devido a sua natureza hidrofílica e propriedades mecânicas inferiores aos materiais sintéticos. Dentre as matrizes proteicas estudadas, as proteínas do soro de leite, tem um grande potencial a ser explorado para melhoramento dessas propriedades, devido a sua estrutura molecular e estão presentes em diversos segmentos da indústria de alimentos (WIHODO *et al.*, 2013).

O soro de leite é um dos resíduos da indústria láctea, que possuem uma larga produção e difícil destinação. Calcula-se que 50% do soro de leite produzido mundialmente seja eliminado em sistemas hídricos ou em solos, gerando perdas econômicas e problemas de poluição. (SISO, 1996; RODRIGUES, 2001; MIZUBUTI, 1994). Alguns estudos calcularam os impactos ambientais de diferentes produtos da indústria láctea e a produção de queijos foi considerado o segundo principal poluente,

atrás somente da produção de leite, (GONZALEZ-GARCIA *et al.*, 2013a; 2013b; KIM 18 *et al.*, 2013; VAN MIDDELAAR *et al.*, 2011). O soro do leite se destinado diretamente no ambiente sem tratamento prévio, gera impactos ambientais severos. Como característica, sua carga orgânica tem alto potencial de consumo de oxigênio dissolvido em corpos hídricos e contribui diretamente para o processo de eutrofização de rios e lagos (PRAZERES *et al.*, 2012; RIVAS *et al.*, 2011). O impacto da eutrofização gera diversos problemas relacionados a qualidade de água como, aumento dos custos de tratamento da água, morte da fauna aquática, proliferação não controlada de algas que podem gerar toxinas entre outros fatores (FARIZOGLU *et al.*, 2007).

O alto poder de poluição deste resíduo levou países como Estados Unidos, Canada, Austrália, Nova Zelândia e União Europeia a introduzir legislações para evitar os impactos ambientais estimulando a indústria a buscar oportunidades para a gestão destes efluentes (SMITHERS, 2008).

Existe interesse na indústria de alimentos em encontrar usos específicos para este subproduto para gerar valor a produtores e reduzir os problemas ambientais relacionados aos descartes não controlados. O soro de leite possui em sua composição proteínas em uma boa concentração com bom perfil funcional, nutricional e são capazes de gerar filmes com boas características de transparência e flexibilidade (FERRREIRA *et al.*, 2009).

2 REFERENCIAL TEÓRICO

3.1 BIOPOLÍMEROS

Os biopolímeros podem ser definidos como materiais de fontes renováveis e classificados de acordo com seu método de obtenção. Dentre eles destacam-se os polímeros extraídos diretamente de plantas como os polissacarídeos e proteínas, os polímeros sintetizados quimicamente de monômeros derivados de fontes renováveis como o ácido polilático e os polímeros produzidos por microrganismos como o polihidroxibutiratos (PETERSEN, *et al.*, 1999)

As diversas características dos biopolímeros e as recentes pesquisas têm permitido suas aplicações como embalagens comestíveis, agregando propriedades sensoriais, suplementos nutricionais, como veículos de antioxidantes (SOUZA *et al.*,

2017), antimicrobianos (HASHEMI, *et al.*, 2017) e em coberturas de frutas como banana (SORADECH *et al.*, 2017), cereja (YAMAN e BAYOINDIRLI, 2002), cogumelos (EISSA, 2007) entre outros vegetais.

Alguns dos biopolímeros mais difundidos em escala industrial, a celulose, está largamente aplicada nas embalagens de alimentos como o papel, cartão e caixas de papelão. Também é possível encontrar grande aplicação de outros biopolímeros na indústria farmacêutica e médica, como em estruturas de cápsulas de medicamentos (CHANDRA e RUSTGI, 1998).

Apesar dos avanços nas pesquisas e desenvolvimento dos biopolímeros, suas propriedades mecânicas e de barreira ainda são muito inferiores à dos polímeros sintéticos, embora possuam excelentes propriedades de barreira a gás, as propriedades mecânicas são fracas, possuem menor alongamento, e alta permeabilidade ao vapor d'água. (WIHODO *et al.*, 2013).

Os filmes produzidos a partir de proteínas apresentam de forma geral, propriedades funcionais superiores à de polissacarídeos. As proteínas são macromoléculas complexas e suas propriedades podem ser alteradas por diversos agentes físicos, químicos e biológicos. Na literatura observa-se variações de métodos afim de obter uma otimização das estruturas, como a adição de plastificantes (SHAW *et al.*, 2002; WAN *et al.*, 2005), alterações de pH e adição de lipídeos (SOHAIL *et al.*, 2006).

3.2 TENDÊNCIAS NO DESENVOLVIMENTO DOS BIOPOLÍMEROS

Muitas pesquisas vêm sendo realizadas para desenvolver embalagens com fontes e aplicações alternativas aos polímeros sintéticos. Algumas destas estão ligadas ao efeito de biodegradabilidade dos polímeros, outras ligadas a melhoria e manutenção das características dos produtos e outras afins de agregar valor nutricional ou de melhoria a saúde do consumidor (PAVLI *et al.*, 2018).

A incorporação de probióticos e prebióticos em filmes e coberturas é uma das tecnologias emergentes que tem recebido bastante apelo, pelo número de estudos e interesse da sociedade (PAVLI *et al.*, 2018). Os consumidores têm aumentado a demanda por alimentos de alta qualidade nutricional e apenas com ingredientes naturais. Para o atendimento desta nova crescente diversas técnicas vêm sendo

utilizados para atender os anseios desses consumidores substituindo embalagens convencionais por coberturas comestíveis e outros tipos de filmes, com resultados importantes (BOSQUEZ-MOLINA *Et al.*, 2003).

Desenvolver novos materiais de fontes naturais e caracterizá-los é o primeiro desafio, porém a aplicação deste tipo de material muitas vezes não será destinada ao uso de maneira abrangente a todo e qualquer tipo de alimento, uma vez que os tipos de interações e propriedades requeridas para estes materiais e alimentos são geralmente específicas.

Existem muitos trabalhos e patentes relacionadas a produção de embalagens comestíveis. Algumas aplicações relacionadas a encapsulação de antioxidantes, para melhorar a saúde do consumidor e qualidade do produto (CHENG *et al.*, 2015; REALINI AND MARCOS, 2014), antimicrobianos orientados ao aumento do shelf life (ARISMENDI *et al.*, 2013) e compostos aromáticos ou nutricionais que atuam agregando valor ao produto (VANDEROOST *et al.*, 2014; ZAMBRANO-ZARAGOZA *et al.*, 2014) tem sido bem recebidas por consumidores.

Estudos mais recentes trazem diferenciações importantes nas formas de aplicação das embalagens e classificam o objetivo final de sua aplicação nos conceitos de embalagens ativas e embalagens funcionais (PAVLI *et al.*, 2018).

3.2.1 Embalagens ativas

Embalagens ativas podem ser classificadas, como o material de embalagem, que possui algum tipo de interação com o produto e o ambiente, com o objetivo de manter, melhorar ou aumentar o *shelf life* do produto (WYRWA *et al.*, 2017). Os materiais de embalagens nestes tipos de aplicações atuam basicamente com mecanismos que absorvem componentes responsáveis pela deterioração do alimento ou promovem a incorporação de um novo componente no alimento para promover melhorias em suas propriedades (EUROPEAN COMMISSION, 2004; 2009).

Alguns dos benefícios mais comuns em embalagens ativas estão o controle de umidade do produto, controle da difusão de gases, como oxigênio, gás carbônico e etileno, absorção de gases e a presença de agentes antimicrobianos.

As pesquisas atualmente têm gerado grande utilização de substâncias antimicrobianas em embalagens ativas, destacam-se o uso de óleos essenciais como cravo, canela, alho, camomila, orégano entre outros, correlacionando técnicas,

aspectos sensoriais, características físico químicas dos filmes e efeito de inibição do crescimento de microrganismos. Outro fator importante destas pesquisas, é o aumento das discussões importantes sobre o uso de aditivos alimentares sintéticos em comparação a antimicrobianos e antioxidantes naturais uma vez que alguns destes óleos essenciais são reconhecidos com seguros (GRAS), pelos órgãos regulamentadores como ANVISA, U.S.FDA e Comissão Europeia (RIBEIRO *et al.*, 2017), passando também por estudos avançados que comprovam ou indicam propriedades antioxidantes, anti tumores e anti inflamatórias dos matérias utilizados para os consumidores (BRAHMI *et al.*, 2016; OCANA-FUENTES *et al.*, 2010; PERIASAMY *et al.*, 2016; YEN *et al.*, 2015).

3.2.2 Embalagens comestíveis como alimentos funcionais

De acordo com o IFT (Institute of Food Technologist), a definição de alimentos funcionais é o alimento que em sua composição proporciona, além da nutrição básica, um benefício para a saúde. Nestes casos os componentes destes alimentos podem fornecer elementos essenciais em quantidades que excedem a quantidade de manutenção individual, para um crescimento e desenvolvimento padrão, além de também poder fornecer outros componentes biologicamente ativos com efeitos desejáveis à saúde (MOHAN, *et al.*, 2018).

As embalagens funcionais, são classificadas como aquelas que, de acordo com seus constituintes são capazes de gerar benefícios a saúde do consumidor, aproximando-se do conceito dos alimentos funcionais. A principal diferença entre a tecnologia de embalagens ativas e as embalagens funcionais está no tipo de interação da embalagem. Na primeira delas, a embalagem interage com o produto afim de aumentar a *shelf life* ou qualidade do produto, enquanto as embalagens funcionais estão associadas ao benefício de saúde gerado pela sua ingestão (PAVLI *et al.*, 2018).

As embalagens comestíveis têm sido estudadas em associação com os alimentos funcionais com objetivo de atuar como um suporte ou transportador de componentes ativos que combinem a função tanto de embalagem e como a de alimento. Sendo assim as embalagens comestíveis desempenham o papel de ser o próprio alimento funcional ou atuar como um meio estável de suporte e transporte de componentes funcionais. Objetiva-se assim agregar valor dos alimentos funcionais em um grupo de produtos que ainda não foi largamente explorado a nível de mercado e

indústria, seja por algum tipo de barreira tecnológica durante o processamento, armazenagem ou adição de componentes nos alimentos.

Muitos estudos ao longo dos anos vêm demonstrando e confirmando os benefícios gerados pelos alimentos funcionais principalmente nas atuações na prevenção de doenças crônicas presentes ao redor do mundo. Alguns dos efeitos destes alimentos são, a diminuição do risco de câncer, melhorias no sistema cardiovascular, melhoria na imunidade, redução dos sintomas da menopausa, melhora da saúde gastrointestinal, preservação do trato urinário, atuações antiinflamatórias, diminuição de pressão sanguínea, melhoria em aspectos da visão, atividades antibacterianas e antivirais, regressão de quadros de osteoporose e influência direta na redução da obesidade (AL-SHERAJI, *et al.*, 2012).

Com o passar dos anos desenvolveu-se rapidamente o entendimento do papel dos diversos ecossistemas microbianos que habitam e consistem em nosso organismo, entretanto considera-se ainda que muitas pesquisas possam ser feitas nessa área com grande contribuição à saúde humana. De maneira geral, os filmes de proteínas do soro de leite, adicionados ou não de alguns outros compostos, casos podem auxiliar na conservação de muitos produtos devido sua característica hidrofílica, que funcionam positivamente como barreira para componentes apolares, como o gás carbônico e oxigênio. Existem muitas possibilidades dos enriquecimentos dos filmes de proteínas, que envolvem desde microrganismos ou compostos ativos.

Um exemplo tem sido o emprego das bactérias ácido lácticas (bal), que são reconhecidas como seguras (GRAS - Generally Recognized As Safe), e atualmente são as mais difundidas em produtos alimentícios como probióticos, principalmente representadas pelo *Lactobacillus acidophilus* e *Lactobacillus rhamnosus*, na maioria das vezes em produtos lácteos.

As bactérias ácido lácticas, são os principais representantes atualmente dos grupos de probióticos, já são comuns a cavidade oral e trato digestivo humano, possuem comprovações muito claras do benefício a saúde, auxiliam na prevenção do crescimento de microrganismo indesejáveis dessa forma cria-se uma combinação importante o estudo da interação entre as bactérias ácido lácticas e substrato do filme de maneira a criar compatibilidade do seu metabolismo, para avaliação e desenvolvimento inicial neste conceito de difusão das embalagens funcionais (GUIMARÃES, *et al.*, 2018).

Algumas pesquisas já demonstram a difusão na expansão dos alimentos funcionais, para além dos produtos lácteos, por meio da inclusão de prebióticos e probióticos, usando como veículo filmes de proteínas de soro de leite. A Tabela 1 mostra os principais estudos obtidos para outras categorias de alimentos como frutas e hortaliças e produtos cárneos e produtos de panificação.

Tabela 1- Pesquisas e principais resultados dos filmes de proteínas de soro de leite

Filme	Tipo de alimento	Estudo Realizado	Resultados	Fonte
Proteínas do soro de leite, pectina e transglutaminase	Cenouras Batatas e Maças	Avaliação dos efeitos dos filmes durante estocagem dos vegetais	Redução de perda de massa, prevenção do crescimento de microrganismos deteriorantes, atividades antioxidantes e manutenção das características de firmeza e textura dos vegetais.	Rossi Marquez, <i>et al.</i> , 2017
Proteínas do soro de leite e quitosana	Carne de Peru	Avaliação de atividades microbianas	Retardamento do crescimento de microrganismos deteriorantes e patogênicos	Šipailienė, <i>et al.</i> , 2019
Proteínas de soro de leite e óleo Essencial de Orégano	Linguiças	Avaliação de shelf life	Aumento de 15 dias no shelf life, otimização de propriedades sensoriais, redução de descoloração e de oxidação lipídica	Catarino, <i>et al.</i> , 2017
Proteínas de soro de leite e óleo Essencial de Alecrim e Canela	Simulante	Avaliação de atividades microbianas	Inibição de microrganismo e redução da oxidação lipídica	Ribeiro-Santos, <i>et al.</i> , 2017
Proteínas de soro de leite e quitosana	Queijo Ricota	Atividade microbiana em atmosferas modificadas	Redução do crescimento de Microrganismos e retardou o desenvolvimento de acidez	Di Pierro, <i>et al.</i> , 2011
Proteínas de soro de leite, natamicina,	Queijo	Comparação com a	Otimização da cor e redução de	Ramos, <i>et al.</i> , 2012

quitoligossacarídeo e ácido láctico		embalagem comercial	crescimento de microrganismos	
Proteínas de soro de leite, Alginato de sódio e <i>L. rhamnosus</i> GG	Pão	Viabilidade do probiótico na matriz pão e filme	Melhora na viabilidade celular do <i>L. rhamnosus</i> GG ao longo da estocagem, digestão in vitro e manutenção dos aspectos sensoriais do pão	Soukoulis <i>et al.</i> , 2014
Proteínas de soro de leite, pectina e alginato	Pão	Avaliação da secagem do filme em pães por e espectroscopia no infravermelho	Determinação dos tempos de secagem e possíveis interações do pão com o filme	Chakravartula, <i>et al.</i> , 2019
Proteínas de soro de leite, glicerol e trealose	Maças	Avaliação da armazenagem da fruta	Redução do escurecimento, redução da perda de massa, retenção de compostos fenólicos	Feng, <i>et al.</i> , 2018
Proteínas de soro de leite e transglutaminase	Salmão	Avaliação de parâmetros de qualidade	Redução da oxidação lipídica,	Rodriguez-Turienzo, <i>et al.</i> , 2013

Os prebióticos compreendem neste contexto uma estratégia essencial para criar um efeito de mudança na composição e colonização das bactérias existentes em alguns sistemas, como também no metabolismo destas populações de bactérias via ingestão ou não de determinados componentes pelo indivíduo (GIBSON, *et al.*, 2017).

A incorporação de prebióticos e proteínas do leite em filmes comestíveis é uma tecnologia emergente que vem evoluindo em suas aplicações para uma matriz diversificada de produtos, se apresentando como uma grande alternativa para o aumento de sua ingestão diária pela população. Uma vez que a inclusão de probióticos diretamente nos alimentos tendem a gerar efeitos nas características sensoriais de vários produtos, reduzindo a aceitação do produto por parte dos consumidores, a sua adição em formato de coberturas ou filmes geralmente produzem impactos neutros ou as vezes não detectados pelos consumidores (CORONA-HERNANDEZ *et al.*, 2013).

3.3 PROTEÍNA DO SORO DE LEITE

O soro de leite é o produto que resulta da precipitação de caseína e gorduras do leite, no processo de fabricação do queijo. Representa entre 85 a 90% do volume do leite usado para a produção dos queijos e contém 55% do total dos seus nutrientes (SERPA *et al.*, 2009). São proteínas solúveis, com excelente biodisponibilidade de aminoácidos essenciais e alta digestibilidade.

As proteínas do soro de leite, constituem entre 15–20% do total de proteínas do leite. (SINDAYIKENGERA E XIA, 2006), os principais componentes são a β -lactoglobulinas e α -lactoalbuminas dentre outras frações proteicas como, glicomacropéptidos, imunoglobulinas, albuminas do soro, lactoferrina e alguns peptídeos resultantes da proteólise das caseínas por enzimas do leite. A composição do soro pode ser descrita conforme Tabela 2.

Tabela 2- Composição química e propriedades físicas do soro de leite

Proteína	%	Peso Molecular (kg/mol)	Ponto isoelétrico pH
β - lactoglobulina	48 - 58	18	5,4
α -lactoalbumina	13-19	14	4,4
Glicomacropéptidos	12 - 20	8,6	<3,8
Albumina do soro	6	66	5,1
Imunoglobulina	8 - 12	150	5 - 8
Lactoferrina	2	77	7,9
Lactoperoxidase	0,5	78	9,6

Fonte: adaptado de ONWULATA *et al.*, (2008);

Na tabela 3, descreve-se principais proteínas encontradas no soro de leite bovino e ovino seguindo de suas respectivas concentrações, massa molar e ponto isoelétrico.

Tabela 3 - Concentração das principais proteínas do soro de leite bovino e no soro de leite ovino e suas respectivas massas molares e pontos isoelétricos

Proteína	Soro bovino (g/L)	Soro ovino (g/L)	Massa molar (kDa)	Ponto isoelétrico
β -lactoglobulina	3,2 - 4,0	2,7 - 5,0	18,3	5,2
α -lactoalbumina	1,2 - 1,5	1,2 - 2,6	14,2	4,8
Albumina do soro	0,3 - 0,6	0,26 - 0,3	66,2	4,7
Lactoferrina	0,05 - 0,2	0,1	76	8

Fonte: adaptado de ANTUNES (2003); HERNANDEZ-LEDESMA, *et al.*, (2011)

3.3.1 β -Lactoglobulinas

A β -Lg é a principal proteína encontrada nos leites de ovinos, bovinos, caprinos entre outros ruminantes, mas não é presente no leite humano, embora algumas pesquisas avançadas passem a sugerir sua presença em quantidades mínimas (HAMBRAEUS *et al.*, 2003). Representa cerca de 50% do total de proteínas do soro e 10% do total de proteínas do leite (CREAMER e SAWYER, 2003). Possui peso molecular de 18,3 kDa, formato globular, é solúvel e contém 162 aminoácidos em sua cadeia (SHAFAEI *et al.*, 2017).

A β -Lg tem sido objeto de inúmeros estudos devido as suas características nutricionais, funcionais nos alimentos, sua alta variedade de aplicações tem destinado sua escolha como substituinte de outros materiais e adição em formulações. Têm sido empregadas por exemplo como uma alternativa a matérias primas como a clara de ovo, para melhorar propriedades de cremosidade, estabilidade e aeração nos alimentos. (DERECK *et al.*, 2006)

A molécula de β - lactoglobulina possui duas ligações dissulfídicas e uma sulfidrila livre, não contendo fósforo, e possui ponto isoelétrico próximo de pH 5,2 (ANTUNES, 2003).

Em pH acima do ponto isoelétrico a proteína existe como um dímero de massa molar de 36,7 kDa. Em temperatura ambiente e valores de pH abaixo de 3,5 e acima de 8,0, ocorre a a proteína se apresenta na forma monomérica devido a ocorrência

de dissociação, em pH entre 3,5 e 5,2 a forma dimérica se polariza dando origem a um octômero com massa molar de 147 kDa, (ONWULATA, 2008).

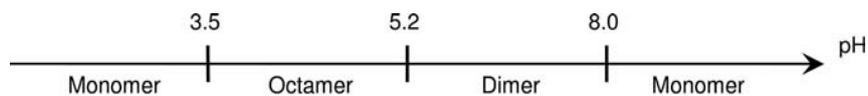


Figura 1 - Estrutura quaternária da β -Lg of pH

A β -Lg é uma proteína termossensível e vários efeitos são produzidos por ação da temperatura, entre eles perda de solubilidade e exposição de regiões da molécula apropriada para diferentes tipos de interação com outros componentes, em sistemas complexos. (SGARBIERI, 2005). Em temperaturas menores que 70°C a β -Lg sofre mudanças conformacionais reversíveis. Temperaturas elevadas podem provocar desnaturação e polimerização irreversível (GIRALDO-ZUÑIGA *et al.*, 2002)

3.3.2 α -Lactoalbuminas

As α -lactoalbuminas é segunda maior proteína em concentração no soro de leite, é solúvel em água, possui ponto isoelétrico de 4,4, 123 aminoácidos estrutura globular compacta em formato de esfera. É considerada como uma metaloproteína que contém cálcio, e possui 4 ligações dissulfídicas, com ausência de grupo fosfato. Apesar da α -La possuir uma temperatura de desnaturação menor que da β -Lg seu processo ocorre de maneira reversível, diferente da β -Lg que a desnaturação térmica é um processo irreversível. (FENNEMA, 2010)

A composição da sua estrutura é rica em triptofano, são compostas por 9 dos 20 aminoácidos formadores de proteína e é considerado um excelente alimento para a nutrição e na formulação de alimentos infantis devido a ser a mesma proteína presente em maior quantidade no leite materno. (GIRALDO-ZUÑIGA *et al.*, 2002).

3.4 PRÉBIOTICOS

3.4.1 Xilooligossacarídeos

Os Xilooligossacarídeos são oligômeros contendo de 2 a 10 moléculas de xilose em ligações tipo β -1,4, produzidos partir da hidrólise de xilanas de materiais lignocelulósicos.

O processo de produção de XOS é realizada em duas etapas, a primeira a xilana é extraída dos resíduos lignocelulósicos via hidrólise química, seguido de uma reação enzimática envolvendo a xilanase ou uma hidrólise ácida.

Recentemente com o aumento do interesse pela busca de prebióticos como o XOS, estudou-se várias formas de obtenção e diferentes matérias primas lignocelulósicas, buscando-se a melhoria dos processos de produção e reaproveitamento de resíduos industriais.

Os matérias lignocelulósicos representam uns dos resíduos orgânicos mais abundantes no mundo. No Brasil a maior destinação de resíduos lignocelulósicos ocorre na cadeia de produção sucro-alcooleria por meio da geração do bagaço de cana de açúcar.

Em 2012 a produção estimada de cana de açúcar para a produção de açúcar e etanol foi de 596,6 bilhões de toneladas (CONAB, 2012). Dessa forma somente no ano de 2012 estima-se que foram gerados 80 bilhões de toneladas de bagaço de cana.

O reaproveitamento do bagaço de cana atualmente tem sido destinado para a geração de energia pela queima em fornos no próprio processo de aquecimento e geração de vapor nas usinas sucro-alcooleiras, como forma de redução de consumo de gás ou outras energias. Dessa forma a produção de XOS é uma alternativa para destinação deste tipo de resíduo afim de aumentar o valor agregado dos subprodutos.

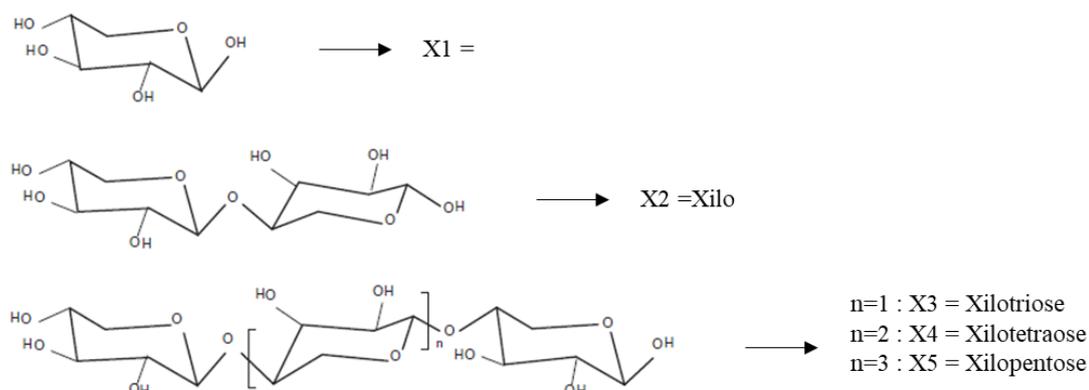


Figura 2 - Estrutura da Xilose e Xilooligossacarídeos

Os XOS não são digeridos por humanos devido à ausência de enzimas para hidrolisar as ligações β , portanto são considerados prebióticos e fibras solúveis pois não são degradadas no estômago e nem no intestino (GÚLLON *et al.*, 2008; CHOQUE DELGADO *et al.*, 2011).

A ingestão de XOS ou adição em alimentos de consumo regulares promove benefícios a saúde como melhora no trato digestivo, absorção de cálcio, metabolismo de lipídeos, prevenção de cáries dentárias, redução de risco de doenças cardiovasculares, e redução do risco de câncer no colón (GROOTAERT *et al.*, 2007; WANG *et al.*, 2009). Além disso pode promover outros benefícios para pele, sangue, sistema imunológico, efeitos antioxidantes, anti-inflamatórios e antialérgico (AACHARY E PRAPULLA, 2009). Estudos indicam de 4 g de XOS por dia durante 3 semanas melhora a microbiota do intestino entre as pessoas com 65 anos (CHUNG *et al.*, 2007).

Os XOS também possui um aspecto tecnológico favorável pela sua estabilidade térmica, em pH ácidos, resistência ao aquecimento, baixa caloria, ausência de toxicidade, e outras propriedades relacionadas (VÁSQUEZ *et al.*, 2000).

3.4.2 Galactooligossacarídeos

Os oligossacarídeos são definidos como carboidratos que contém de 2 a 10 monossacarídeos, ligados através de ligações glicosídicas (MEHRA E Kelly, 2006). Estão presentes naturalmente em muitos alimentos e em tecidos vegetais, sua propriedade biológica e físico química de seus componentes tem sido relatada aproximada a função das fibras dietéticas, associando sua ação fisiológica com importantes aspectos da saúde humana (MARTINS *et al.*, 2009).

Entre muitos prebióticos os galactooligossacarídeos destacam-se por sua alta utilização na indústria de fórmulas infantis e em produtos lácteos, pelo efeito de mimetizar as funções biológicas dos oligossacarídeos presentes no leite materno.

Quimicamente os GOS são formados por moléculas de galactose ligadas a glicose formando tri a decassacarídeos, com 2 a 9 unidades de galactose, respectivamente (Liet *et al.*, 2008).

Os GOS são produzidos a partir da lactose por atividade de transgalactosilação da enzima β -galactosidase.

O processo de obtenção é baseado em soluções com altas concentrações de lactose, geralmente é feita a utilização de substratos como o leite e o soro de leite. A partir daí em um processo de transgalactosilação feito pela β -galactosidase, ocorre a hidrólise da lactose como a transgalactosilação da galactose.

As principais estruturas dos GOS, podem apresentar diferenciações em relação a composição, regioquímica, ligação glicosídica e grau de polimerização apresentada na Figura 3 (FRENZEL *et al.*, 2015; GOSLIN *et al.*, 2010).

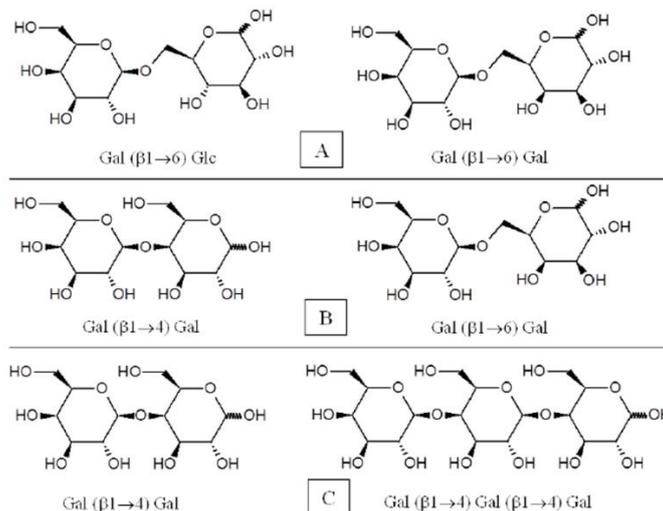


Figura 3 - Exemplos de diferentes estruturas de GOS (A) composição; (B) regioquímica; (C) grau de polimerização

Todos os tipos de GOS incluindo os dissacarídeos, são considerados oligossacarídeos não digeríveis e apresentam propriedades fisiológicas similares (CARDELLE-COBAS *et al.*, 2011).

Os benefícios da ingestão de galactooligosacarídeos são o aumento da população de bifidobactérias no colón e por efeito antagônico, supressão da atividade de bactérias putrefativas reduzindo a formação de metabólitos tóxicos (MONTILLA *et al.*, 2015; NERI *et al.*, 2009).

Dentre outros carboidratos não digeríveis os GOS se destacam por estimular e aumentar a absorção de Cálcio e minerais no intestino (RASTALL, 2013; Santos *et al.*, 2011).

Os GOS são termo e quimicamente estáveis em ampla faixa de pH, com resistência a 160 °C em pH neutro e diminuem um pouco em pH extremamente ácidos (MARTINS E BURKERT, 2009). Podem ser utilizados largamente na indústria de alimentos como na produção de pães, bolos, doces e geleias. Atualmente estão

presentes como aditivos em fórmulas infantis, uma vez que o GOS estão presentes naturalmente no leite materno, para replicação do efeito bifidogênico a este tipo de produto (BRUNO-BARCENA e AZCARTE-PERIL, 2015)

As propriedades elencadas mostram a importância destes oligossacarídeos por não ser fermentado pela microflora bucal, não são considerados cariogênicos, podendo ser utilizados como adoçantes em dietas de restrição calórica ou restritivas devido a diabetes. (MICHELON *et al.*, 2014; MUSSATO e MANCILHA, 2007).

3 OBJETIVOS

3.1 GERAL

Desenvolver e caracterizar filmes de proteína de soro de leite adicionados de prebióticos.

3.2 ESPECÍFICOS

- Produzir filmes de proteína de soro de leite adicionados de xilooligossacarídeos e galactooligossacarídeos;
- Obter filme com características necessárias a fim de criar material estável aos testes e tratamentos;
- Caracterizar mecanicamente os filmes produzidos e verificar efeitos das adições de prebióticos em sua composição;
- Determinar propriedades térmica dos filmes;
- Avaliar aspectos relacionados a cor e transparência dos filmes;
- Avaliar biodegradabilidade do material;
- Determinar propriedade de barreira ao vapor de água;
- Avaliar potencial de aplicação do filme em alimentos ou como embalagens comestíveis.

4 JUSTIFICATIVA

Muitos materiais estão sendo estudados em busca de aplicações, capazes de substituir o uso de plásticos convencionais total ou parcialmente nas embalagens. Os maiores desafios das pesquisas atuais estão em aprimorar as propriedades mecânicas e de barreira deste biopolímeros, para que possam manter a estabilidade dos produtos sem perda de suas características, como por exemplo, não rasgar durante manuseio, atuar como barreira a umidade, como barreira ao oxigênio, entre outros requerimentos determinantes para uma boa proteção do produto. Existem diversas expectativas e tendências de mercado para desenvolver embalagens com fontes e aplicações alternativas aos polímeros sintéticos. Algumas destas estão ligadas ao efeito de biodegradabilidade dos polímeros, outras ligadas a melhoria e manutenção das características dos produtos e outras afins de agregar valor nutricional e de melhoria a saúde do consumidor.

Por conta disso, a busca por tecnologias inovadoras e que consigam gerar um produto com boa aceitação e ao mesmo tempo atendendo a todos os requisitos físicos, químicos e microbiológicos vem se tornando frequente. Nesse aspecto surgem as tecnologias emergentes, que visam estender a validade comercial do produto, atendendo as legislações vigentes, manutenção das características sensoriais e nutricionais, desenvolvimento de novas propriedades funcionais nos alimentos, além de gerar menor impacto ambiental, melhorando assim a sustentabilidade na cadeia alimentar.

As embalagens comestíveis em associação com os alimentos funcionais têm como objetivo de atuar como um suporte ou transportador de componentes ativos que combinem a função tanto de embalagem e como a de alimento. Sendo assim as embalagens comestíveis desempenham o papel de ser o próprio alimento funcional ou atuar como um meio estável de suporte e transporte de componentes funcionais. Objetiva-se assim agregar valor dos alimentos funcionais em um grupo de produtos que ainda não foi largamente explorado a nível de mercado e indústria, seja por algum tipo de barreira tecnológica durante o processamento, armazenagem ou adição de componentes nos alimentos.

É objetivo da presente invenção é desenvolver um processo que permita a incorporação de prebióticos (Xilooligossacarídeo e Galactooligossacarídeo) e

proteínas do soro de leite em filmes comestíveis para a aplicação em uma matriz diversificada de produtos, como uma alternativa para o aumento da ingestão diária de prebióticos e probióticos pela população. Uma vez que a inclusão de probióticos diretamente nos alimentos tendem a gerar efeitos nas características sensoriais de vários produtos, reduzindo a aceitação do produto por parte dos consumidores, a sua adição em formato de coberturas ou filmes geralmente produzem impactos neutros ou as vezes não detectados pelos consumidores. Ainda não há relatos sobre a adição de Xilooligosacarídeos e Galactooligosacarídeos a uma matriz de proteínas de soro de leite para aplicação em filmes comestíveis. A pesquisa desta dissertação busca associar a tecnologia de produção de filmes comestíveis com a incorporação de Xilooligosacarídeos e Galactooligosacarídeos, como uma alternativa para o aumento da ingestão diária de prebióticos e probióticos pelos consumidores.

5 METODOLOGIA

A produção e caracterização dos filmes obtidos neste trabalho foram feitos nos laboratórios da Embrapa Agroindústria de Alimentos e IFRJ. De acordo com fluxograma descrito abaixo.

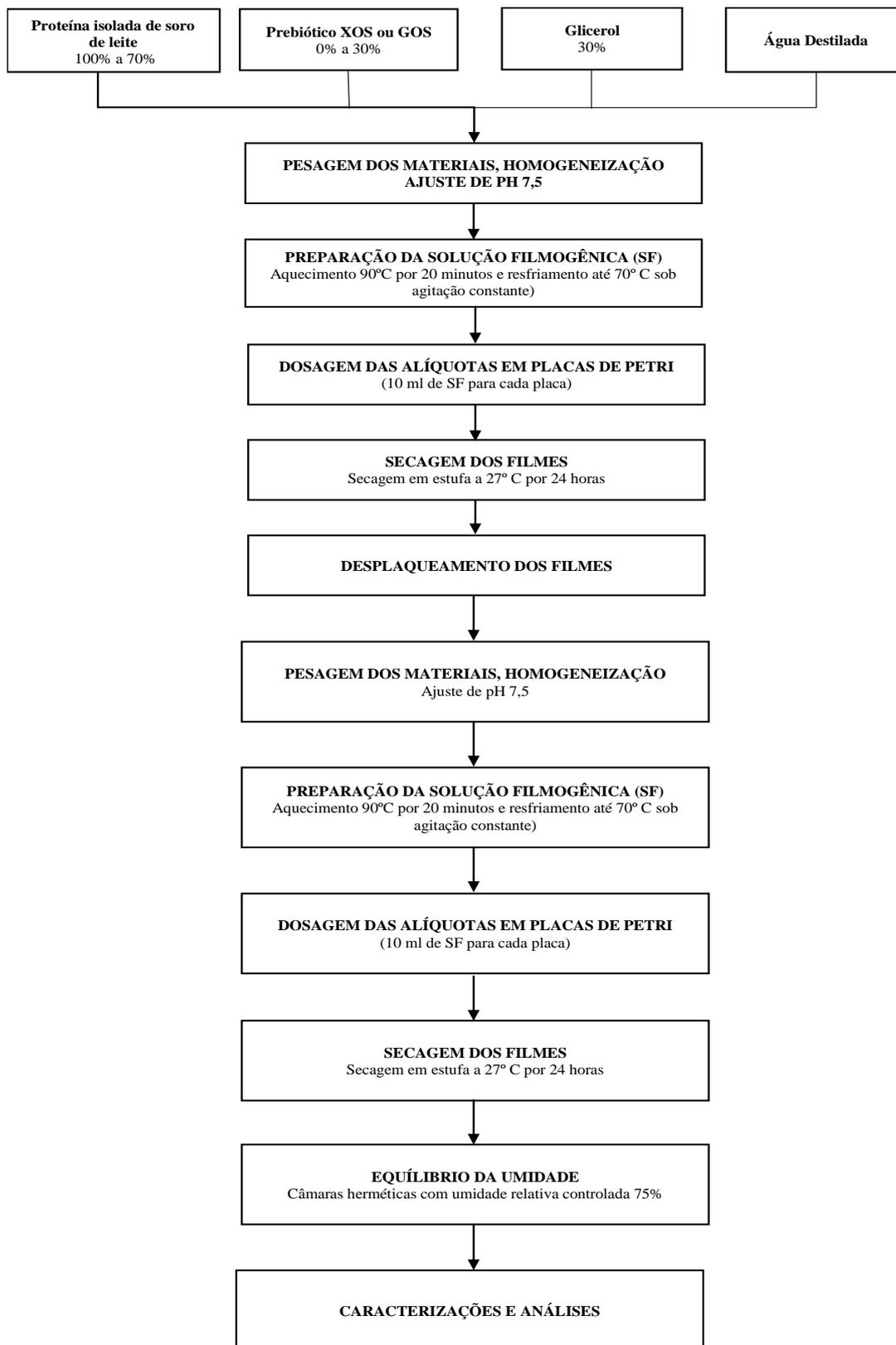


Figura 4. Fluxograma do processo de obtenção dos filmes

O objetivo inicial para preparação dos filmes considera a adição ao maior nível possível de prebióticos, com objetivo de adição de quantidade suficiente para o efeito

metabólico no organismo humano. A dosagem do GOS encontradas geralmente em produtos estão normalmente a um nível de 0,8 g/100ml em fórmulas infantis de até 5g/100 ml em produtos lácteos. Para efeitos prebióticos sugere-se a ingestão de 4 a 12 g/dia.

Para o XOS considera-se uma dosagem de ingestão 4 g/dia suficientes para exercer os efeitos benéficos a saúde.

5.1 DESENVOLVIMENTO DO FILME

Os filmes foram desenvolvidos utilizando-se a técnica casting. Este método baseia-se na desidratação da solução filmogênicas aplicada a uma superfície. As definições das concentrações e combinações utilizadas foram baseadas nos estudos de (WIHODO *et al.*, 2012; HASSANNIA-KOLAEI *et al.*, 2015), afim de obter as melhores propriedades dos filmes, e em ensaios preliminares em laboratório para garantir a capacidade de formação do filme, deslaminagem, e aplicação dos métodos de caracterização. O modelo experimental foi preparado utilizando 7 tratamentos. As variáveis independentes foram o tipo de prebiótico, GOS e XOS e sua respectiva concentração a concentração (%).

Os experimentos foram elaborados conforme apresentado na Tabela 4. Manteve-se a concentração de Glicerol fixa em 30%, em relação ao total de massa seca da solução, com objetivo de obter o efeito plastificante em todos os tratamentos e estudar os efeitos da proteína de soro leite associada ao teor dos prebióticos.

Tabela 4 – Planejamento Experimental

Amostra	Proteína Soro de Leite (%)	Glicerol (%)	XOS (%)	GOS (%)
W100	100	30	0	0
W90X10	90	30	10	0
W80X20	80	30	20	0
W70X30	70	30	30	0
W90G10	90	30	0	10
W80G20	80	30	0	20
W70G30	70	30	0	30

As soluções filmogênicas foram preparadas de acordo com o delineamento experimental adicionando a proteína de soro de leite, o glicerol e o prebiótico, em um béquer, e acrescentando água destilada, formando uma solução 10% em concentração de sólidos totais. As S.F. foram homogeneizadas com um agitador magnético a temperatura ambiente por 10 minutos, e ajustado o pH em 7,5 com solução de hidróxido de sódio. Posteriormente as soluções previamente preparadas foram aquecidas até 90°C e permaneceram nesta temperatura por 20 minutos, sob constante agitação, em um viscoamilógrafo Brabender (Duisburg, Alemanha).

Em seguida a solução filmogênica foi resfriada a 70°C, e com auxílio de uma pipeta volumétrica alíquotas de 10ml foram vertidas em placas de acrílico (8,4 cm de diâmetro interno) e colocados em estufa de convecção forçada (ELKA, Alemanha) por 24 horas a temperatura de 27°C. Após secagem os filmes foram retirados das placas manualmente e acondicionados em câmaras herméticas, sob vácuo e umidade relativa do ar controlada por uma solução supersaturada de Cloreto Sódio. Os filmes foram mantidos na câmara por 5 dias até o equilíbrio do teor de umidade e após este período as amostras seguiram para as respectivas análises.



Figura 5 - Câmara hermética a vácuo (Marconi, São Paulo, Brasil) usadas no condicionamento dos filmes.

Foram utilizados proteína isolada de soro de leite comercial (Clean Whey, Glanbia Nutritionals Inc), xilooligossacarídeos e galactooligossacarídeos. Glicerina

P.A. (Vetec, Química Fina, Rio de Janeiro), cloreto de sódio (Vetec, Química Fina, Rio de Janeiro) e hidróxido de sódio P.A (Reagentes Analíticos Dinâmica, Diadema, SP). Placas de Petri de Poliestireno.

5.2 ANÁLISES FÍSICO-QUÍMICAS

5.2.1 Umidade

A umidade das matérias-primas foi determinada pela técnica gravimétrica em estufa, à temperatura de 105 °C, até a obtenção de peso constante, de acordo com a metodologia 934.01, da AOAC (2010). Neste avalia-se a perda de peso da amostra em estufa a 105°C até peso constante.

5.2.2 Determinação do pH

O pH das soluções filmogênicas foi determinado utilizando pHmetro (Gehaka, Modelo PG 1800, São Paulo, Brasil), seguindo método descrito por Silva *et al.*, (2001) a temperatura de ambiente.

5.2.3 Espessura

A espessura dos filmes foi determinada em micrômetro digital modelo Fowler IP 54 (Fowler, Newton, EUA), com sensibilidade de $\pm 0,001$ mm, em dez pontos aleatórios em diferentes partes do filme. A espessura final do corpo-de-prova foi a média aritmética das 10 medidas.

5.2.4 Permeabilidade ao vapor de água

A transmissão do vapor da água nos filmes foi determinada gravimetricamente segundo método proposto pela ASTM (American Society for Testing and Material), E96-80 (2001) modificado, à temperatura de 25°C, citado por Vicentini (2003). Amostras de filmes foram dimensionadas em formato circular com 40 mm de diâmetro e aplicadas em células de permeação contendo água destilada. Estas células foram colocadas em dessecador contendo sílica gel azul de forma a assegurar um gradiente hídrico no sistema, conforme Figura 6. Ao longo de cinco dias, houve monitoramento do peso das células e filmes em intervalos de 24 h de forma a acompanhar a variação

de peso no período. O fluxo de permeabilidade ao vapor de água (Fva) foi determinado de acordo com a metodologia descrita por Truhan *et al.*, 2004. O cálculo foi feito através de regressão linear entre os pontos de ganho de peso, segundo as Equações 1 e 2.

$$Fva = \frac{g}{t \cdot A} \quad \text{Equação 1}$$

$$PVA = \left(\frac{g}{t \cdot A} \right) * \frac{x}{\Delta P} \quad \text{Equação 2}$$

Sendo que:

- Fva é o fluxo de permeabilidade ao vapor de água;
- g é o ganho de peso (g);
- t é o tempo total em horas;
- A é a área de permeação;
- g/t foi calculado por regressão linear entre os pontos de ganho de peso e tempo (regime permanente);
- PVA é permeabilidade ao vapor de água ($\text{g} \cdot \text{mm} \cdot \text{h}^{-1} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{kPa}^{-1}$);
- x é a espessura média do filme (mm);
- ΔP é a diferença de pressão de vapor do ambiente contendo sílica gel (kPa, a 25°C) e a água pura (3,167 kPa, a 25°C).

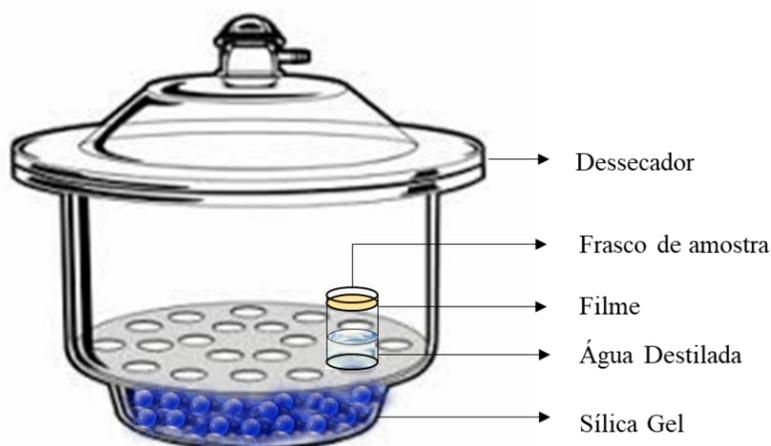


Figura 6 - Representação de análise de permeabilidade ao vapor de água

5.2.5 Propriedades Mecânicas

As propriedades mecânicas dos filmes resistência a tração (Mpa), deformação na ruptura (%) foram determinados de acordo com o método padrão ASTM D 882-83 (ASTM, 1995D) em um analisador de textura Texture Analyser TA XT Plus (Stable Microsystems, Surrey, Inglaterra). O teste de tração, os filmes foram cortados em corpos de prova com 50 mm de comprimento e 20 mm de largura, armazenados por

48 h a 25°C e umidade relativa de 75%. Os corpos de prova foram fixados nas garras do equipamento com distância inicial entre elas de 10 mm e a velocidade de tração de 1 mm/s. A tensão na ruptura foi determinada pela relação entre força e área da seção transversal inicial do filme. A deformação na ruptura foi determinada pela curva de tensão versus deformação (deformação linear $[(l - l_0) / l_0]$) Foram realizadas ao menos 10 repetições para cada tratamento.



Figura 7 - Analisador de textura Texture Analyzer TA XT Plus (Surrey, Inglaterra) equipado para ensaios de tração.

5.2.6 Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)

A análise da microestrutura dos filmes foi realizada no microscópio eletrônico de varredura (MEV) TM 3000 (Hitachi, Tóquio, Japão). As amostras analisadas foram previamente secas em estufa com circulação, a uma temperatura de 60°C por 24 horas. Posteriormente, as amostras foram colocadas em suporte apropriado para a análise no MEV e realizado a visualização e captura das estruturas de cada tratamento empregado nos filmes.

5.2.7 Ângulo de Contato

O ângulo de contato da gota com o filme foi determinado a temperatura ambiente conforme descrito por SILVA *et al* (2007). Foi utilizado o medidor de ângulo de contato CAM 101(KSV, Cidade, Finlândia). O resultado foi determinado pela média dos ângulos direito e esquerdo da gota de acordo com o tempo de 20 s, calculados

automaticamente por meio de software do sistema utilizado. Foram realizadas medidas de ângulo do lado direito e esquerdo de três gotas. Amostras de 50 x 20 mm foram fixadas em uma lâmina de vidro por meio de fita adesiva dupla face, colocadas na base do aparelho. Uma gota de água de 0,1 mL foi colocada sobre a superfície da amostra com auxílio de uma seringa e a imagem da gota foi captada por uma câmera digital durante 60 s com intervalos de 1 segundo. Os valores do ângulo de contato representam a média dos ângulos das três repetições.



Figura 8 - Medidor de ângulo de contato CAM 101(KSV, Cidade, Finlândia)

5.2.8 Calorimetria Diferencial de Varredura (DSC)

Para a análise do comportamento térmico dos filmes foi utilizado a Calorimetria Diferencial de varredura. A análise permite verificar as transições térmicas de primeira (fusão) e segunda (transição vítrea) ordem. Através desta análise pode-se acompanhar os efeitos de calor associados com alterações físicas ou químicas da amostra, como transições de fase (ebulição, fusão, sublimação, congelamento, inversões de estruturas cristalinas) ou reações de desidratação, de dissociação, de decomposição, de óxido-redução entre outras. O equipamento utilizado foi um DSC Q200 (TA Instruments, New Castle, EUA). As amostras foram pesadas 0,03 mg em cápsulas de alumínio herméticas. A amostra foi aquecida a 10 °C/min na faixa de 5 a 250°C, resfriada a 20°C e novamente aquecida até 220°C. A entalpia foi determinada por meio da integral da área sob a curva e expressa em J/g. As análises foram feitas em triplicata.



Figura 9 - DSC Q200 (TA Instruments, New Castle, EUA).

5.2.9 Análise Estatística

As análises foram feitas considerando no mínimo três repetições de cada tratamento, expressos por média \pm desvio padrão. Os dados foram avaliados e interpretados estatisticamente utilizando-se o programa XLSTAT for Windows 2018.5 (Adinsoft, Paris, França) para calcular as análises de variância (ANOVA), com posterior teste de Tukey utilizado para determinar diferenças entre os tratamentos no intervalo de 95% de confiança.

6 RESULTADOS E DISCUSSÃO

6.1.1 Caracterização das matérias primas

Os valores de composição química da proteína isolada de soro de leite estão listados na Tabela 4. Os isolados protéicos em forma de pó, devem ter em sua composição concentração de proteínas superior a 90%, enquanto que os produtos denominados concentrados protéicos estão entre a faixa de 50% a 80% (BRASIL, 2014). O resultado apresentado na Tabela 4 classifica os valores do teor de proteína dentro do aceitável para ser classificado como isolado protéico de soro de leite.

Tabela 5 –Caracterização Química da Proteína Isolada de Soro de Leite

Parâmetro	Teor (%)
Carboidratos	2,57
Umidade	4,81

Proteínas	90,07
Gorduras totais	1,14
Fibra alimentar	ND
Sódio	0,22
Cálcio	0,41
Potássio	0,49
Magnésio	0,08
Fósforo	0,2

Os teores de umidade das matérias primas foram determinados e descritos na tabela 5. Os respectivos valores de umidade encontrados em cada matéria prima, foram utilizados para correção do teor de sólidos durante a preparação das soluções filmogênicas com objetivo de reduzir a variabilidade na concentração das diferentes amostras e manter.

Tabela 6 – Teor de umidade presente nas matérias primas utilizadas

Proteína	Umidade (%)
WPI	4,81
XOS	2,11
GOS	21,45

6.1.2 Avaliação geral das soluções e filmes preparados

Foi realizada uma análise visual das amostras das soluções filmogênicas após o aquecimento e dos filmes após três dias estocados. Estão demonstrados na Figura 10 alíquotas das soluções referentes a cada tratamento após o processo de aquecimento e na Figura 11, os filmes elaborados de acordo do o delineamento experimental, pela técnica *casting*.

Tantos as soluções quanto os filmes demonstraram colorações diferentes, variando entre transparente até a colorações de amarelo escuro, sendo que a presença do prebiótico nas soluções, assim como o aumento de sua concentração resultaram em colorações de soluções mais escuras.

Os escurecimentos das amostras estão associados a reações de escurecimento não enzimático que compreendem principalmente de reações químicas como a de Maillard considerando que o aquecimento da solução filmogênica

durante o processo de fabricação dos filmes, gera por consequência uma inativação prévia das enzimas.

A reação de Maillard é uma reação entre um aminoácido ou proteína e um carboidrato reduzido (o grupo carbonila (=O) do carboidrato interage com o grupo amino (-NH₂) do aminoácido), gerando melanoidinas que conferem escurecimento superficial.

Em alguns estudos são relatados a reação de Maillard em filmes de WPI associando, ao aquecimento e a presença residual de lactose, ao grupo -SH nos resíduos de cisteína e o grupo ϵ -amino nos resíduos de lisina da proteína de soro de leite. Além disso a presença de outros carboidratos com grupos carbonilas livres pela adição de XOS e GOS nas soluções tendem a acelerar a reação de escurecimento dos filmes (PÉREZ *et al.*, 2016).



Figura 10 – Coloração das soluções filmogênicas após aquecimento

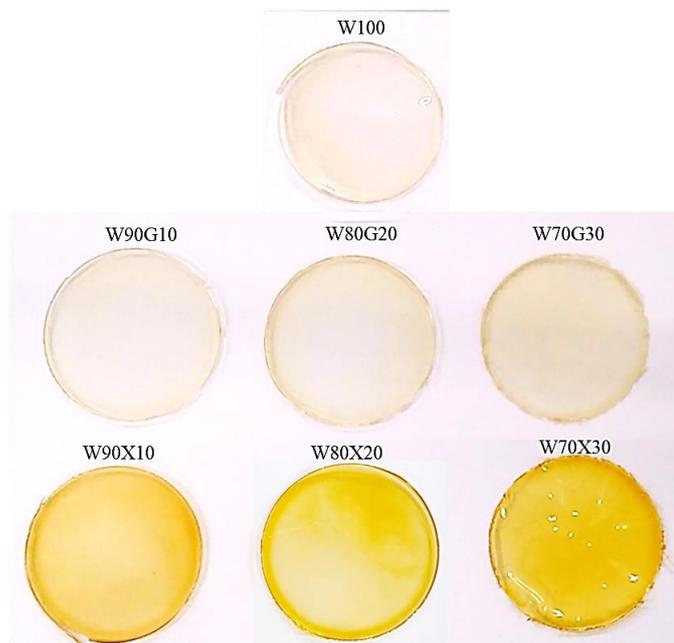


Figura 11 – Análise visual dos filmes

Os filmes apresentaram espessuras médias de 0,14 mm com 8,4 cm de diâmetro e como pode ser observado na Figura 11 mostraram-se com aspectos firmes, contínuos e homogêneos, além de um fácil manuseio, como já indicado anteriormente nos pré-testes.

Foi possível identificar que os filmes com maior percentual de adição de prebióticos, W70G30 E W70X30, em comparação com os demais tratamentos, apresentaram uma estrutura mais flexível e de maior aderência a placa de petri, o que gerou um maior cuidado para sua retirada sem que houvesse ruptura do filme. Os filmes com menor percentual de adição de prebióticos, apresentaram se mais rígidos e destacáveis da placa. Indicando que a adição de prebióticos, tendeu a atuar como plastificantes na estrutura do filme.

Visualmente as colorações dos filmes variaram entre transparentes ou levemente esbranquiçados até a filmes com colorações de amarelo escuro.

Foi possível identificar que os filmes compostos com XOS apresentaram escurecimento maior em relação as amostras adicionadas de GOS em sua formulação. Dessa forma é possível relacionar o maior escurecimento das amostras de XOS devido a aspectos da sua estrutura após processamento térmico apresentar maior resíduo de grupos carbonilas livres, provenientes de resíduos ou hidrólises em comparação ao GOS (COURTIN *et al.*, 2009)

6.1.3 Espessura

Os resultados experimentais de análise de espessura estão descritos na Tabela 7. Os valores de espessura média não tiveram variações significativas entre $0,13\pm 0,00$ mm a $0,14\pm 0,00$ mm (teste de Tukey, $p\leq 0,05$) em relação as concentrações e tipo de prebióticos nas amostras. A baixa variabilidade possui grande importância para permitir a comparação das diversas propriedades dos filmes elaborados, uma vez que se sabe que a espessura apresenta forte interferência na resposta. Por consequência as possíveis diferenças encontradas nas respostas poderiam ser devidas não só a formulação, mas ao efeito da diferença na espessura dos filmes. Dessa forma a metodologia empregada para a confecção dos filmes, mostrou-se adequada, garantindo a reprodutibilidade, manutenção do teor de sólidos nos filmes e boa homogeneidade ao longo do diâmetro da placa de petri reduzindo assim a variação na espessura das amostras e permitindo a comparação entre os filmes. (NASCIMENTO *et al.*, 2012)

A manutenção dos valores de espessura pela adição de prebióticos, podem indicar que o filme obteve boa solubilidade e homogeneidade, relacionando a ausências de partículas insolúveis. Indicando que matriz de proteínas do soro de leite, que está presente em maiores concentrações em todas as amostras dos filmes, obteve boa interação com os prebióticos em sua estrutura de rede tridimensional.

Resultados e variação não significativa nos valores de espessura foram encontrados por Bersaneti (2016) em filmes de amido de mandioca e FOS, com valores entre 0,17 e 0,22 mm, correlacionando a boa dissolução e incorporação de FOS nos filmes de amido, além da obtenção de filmes com aspectos importantes de desplaqueamento e aparência.

Pérez 2016, Osés 2009, Soazo 2016 e Gagliarini 2019, obtiveram resultados semelhantes em filmes compostos de proteínas de soro de leite com baixa variabilidade e com resultados entre 0,12 e 0,14 mm de espessura.

Erben *et al.*, 2019, encontraram espessuras variando entre 0,05 e 0,18mm, para filmes de polissacarídeos adicionados de proteínas de soro de leite, porém com variações significativas entre as amostras, relacionadas diretamente adição de quantidades volumétricas com diferente teor de sólidos, gerando aumento de espessura de acordo com o aumento de WPC.

Tabela 7 – Valores de espessura média

Amostra	Espessura (mm)
W100	0,13±0,01 ^a
W90G10	0,13±0,02 ^a
W80G20	0,13±0,01 ^a
W70G30	0,13±0,02 ^a
W90X10	0,14±0,00 ^a
W80X20	0,14±0,00 ^a
W70X30	0,13±0,00 ^a

6.1.4 MEV

As análises de microscopia eletrônica de varredura foram feitas com base na superfície dos filmes demonstrada da Figura 12 e em uma seção transversal dos filmes demonstrada da Figura 13. Nas amostras de superfície as imagens apresentaram estruturas lisas e homogêneas, com ausência de estruturas heterogêneas como grânulos, partículas e bolhas. A adição de GOS e XOS aturam sem apresentar diferenças significativas nas estruturas dos filmes,

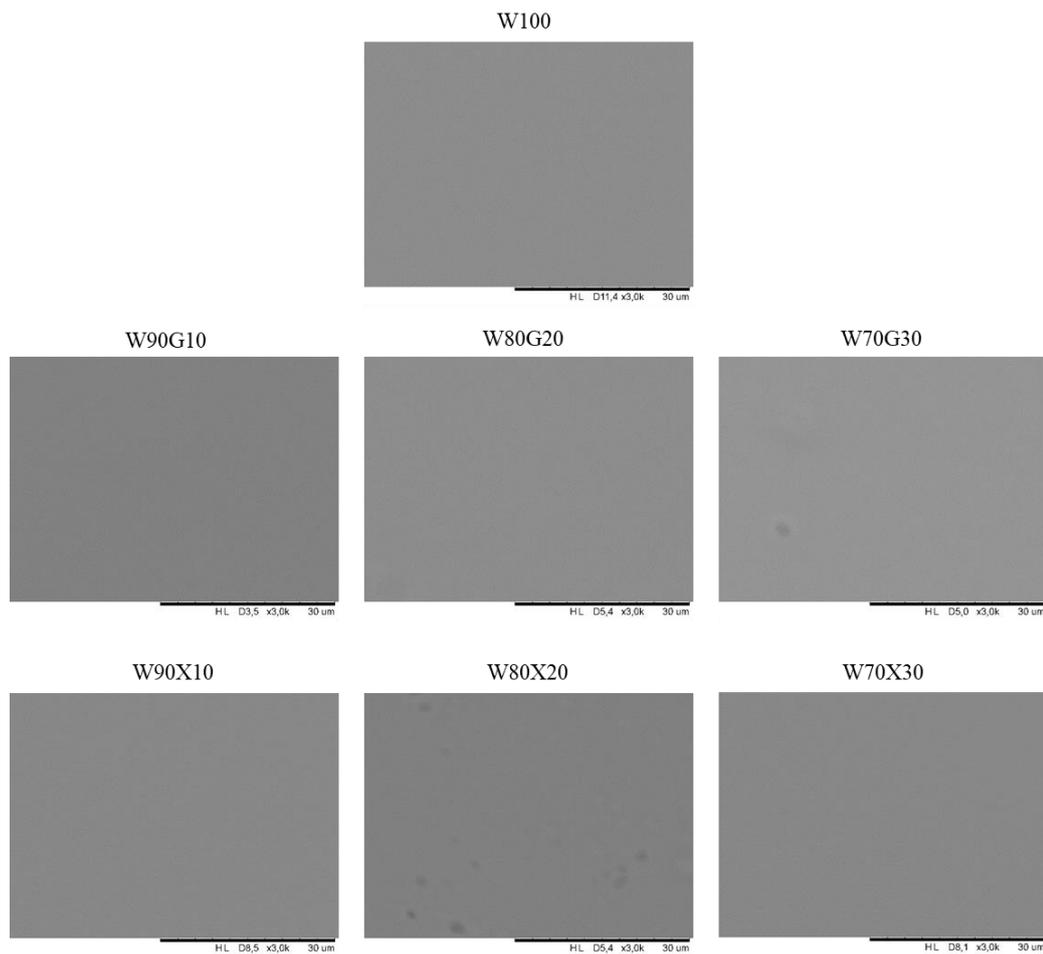


Figura 12 – Microscopia Eletrônica de Varredura da superfície dos filmes (MEV)

Da mesma forma que nas análises de MEV da superfície do filme, as amostras de seção transversal apresentaram estruturas homogêneas, sem indicações de separação de fases, sugerindo uma distribuição homogênea com boa interação intermolecular entre as proteínas de soro de leite e os prebióticos XOS e GOS. Resultados similares foram obtidos por Gagliarini *et al.*, 2019.

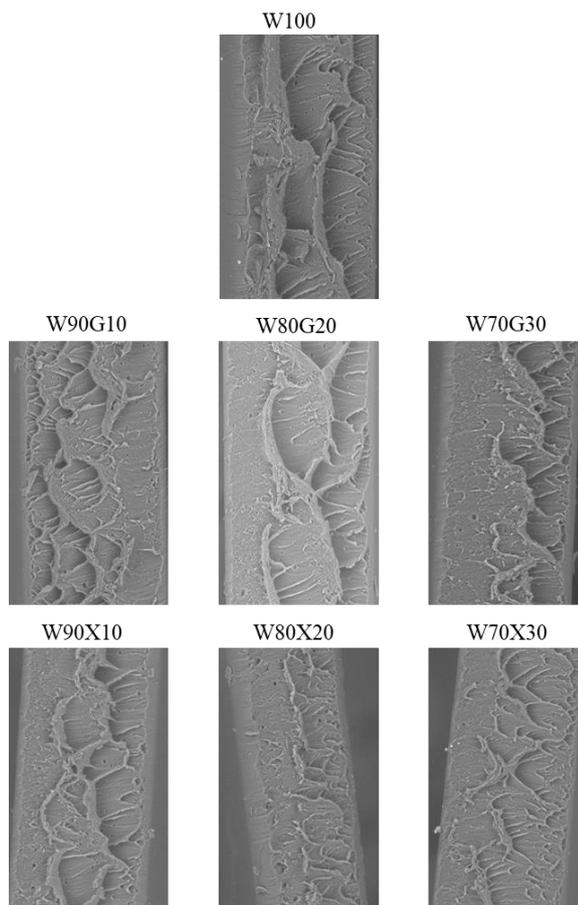


Figura 13 – Microscopia Eletrônica de Varredura da Seção Transversal dos filmes (MEV)

6.1.5 DSC

As propriedades térmicas do filme são variáveis importantes para sua aplicação na indústria, uma vez que os materiais de embalagem geralmente passam por processos de aquecimento durante a fabricação e consumo de produtos. A análise de DSC permite acompanhar os efeitos de transição de fase como fusão, ebulição, sublimação, congelamento e alterações de cristalinidade, além reações de decomposição dos filmes (WANG *et al*, 2015).

Os resultados dos experimentos estão descritos na Tabela 8, onde as temperaturas de pico (T_p) estão relacionadas de acordo com as composições dos filmes.

Tabela 8 – Valores de temperatura de pico

Amostra	T_p (°C)
W100	169,6 ± 0,92 ^a
W90G10	160,79 ± 1,07 ^b
W80G20	153,75 ± 0,78 ^c
W70G30	135,65 ± 0,99 ^d
W90X10	160,76 ± 1,73 ^b
W80X20	150,37 ± 0,65 ^c
W70X30	136,19 ± 0,84 ^d

Os filmes com maior proporção de adição de prebióticos apresentaram redução dos valores dos picos endotérmicos (T_p), em relação as amostras com maior proporção de WPI, sendo as amostras com 30% de ambos os prebióticos apresentaram valores de 136,19 ± 0,84 °C e 135,65 ± 0,99 °C, respectivamente para XOS e GOS.

O efeito de redução de T_p, pela adição de XOS e GOS na matriz de WPI, pode ser atribuído a interferência nas ligações de hidrogênio pelos grupos hidroxilas das moléculas dos prebióticos nas cadeias moleculares da proteína, reduzindo-se a força dessas interações intermoleculares e os valores de T_p. Este tipo de relação é a mesma observado durante a adição de plastificantes em demais filmes com características hidrofílicas (Tang *et al.*, 2015).

Ustunol e Mert 2006, encontram resultados de 175 °C de T_p para filmes de WPI, glicerol e agentes ligantes, onde a adição de glutaraldeído, formaldeído, entre outros agentes transitaram o pico para valores de 230 °C em ambos os casos. Valor similar foi obtido por Leuangsukrerk *et al.*, 2014, em que relataram transições térmicas entre 175 a 179 °C para filmes de WPI e compostos de Konjac.

Jiang *et al.*, 2016, encontrou valores de 122,88 °C em amostra de filme de WPC, apresentando redução dos valores de T_p em filmes adicionados de quitosana com tratamento de transglutaminase.

6.1.6 Tensão

Os resultados dos ensaios de tensão, dos filmes de proteínas adicionados de XOS e GOS estão descritos na Tabela 9. A adição de ambos os prebióticos reduziram os valores de Tensão na ruptura dos filmes de 3,80 ± 0,08 da amostra contendo

somente proteína de soro de leite para $1,89 \pm 0,06$ para a maior concentração de XOS e $1,73 \pm 0,31$ para a maior concentração de GOS.

O efeito da adição de ambos os prebióticos apresentaram reduções significativas conforme o aumento de sua concentração na matriz do filme. O mesmo efeito foi obtido por Janjarasskul 2014, ao adicionar cera de candelilla em filmes de proteínas de soro de leite, por Shaw *et al* 2002, para filmes de WPI adicionados de glicerol com 3,4 Mpa e Ustunol e Mert, 2004 com 4,68 MPa.

Porém a adição de prebióticos apresentou menor efeito nas propriedades mecânicas de tensão em filmes de WPI, em relação a adição de probióticos descritos por Gagliarini *et al*, 2019, com valores de 1,8 Mpa.

Este efeito pode ser relacionado a atuação dos prebióticos, em espaços intermoleculares das proteínas de soro de leite. Dessa forma conforme relatado por Tang *et al*, 2016, o menor tamanho das cadeias dos prebióticos e o seu baixo peso molecular em comparação a matriz do filme, desenvolve um efeito de espaçamento intermolecular semelhantes ao dos plastificantes a base de polióis nos filmes.

Vários trabalhos mostraram a relação entre a adição de plastificantes nas propriedades de tração (DE CASTRO, 2017; PICCIRILLI, 2019; PÉREZ 2016 e SHAW 2002). Em linhas gerais a adição de plastificantes, gera uma redução na resistência, no módulo de elasticidade e o aumento da deformação, pois a presença de plastificantes diminui a densidade das interações, aumentando a mobilidade das cadeias poliméricas que por consequência, tornam os filmes menos resistentes e mais elásticos.

Tabela 9 – Valores de tensão na ruptura dos filmes

Amostra	Tensão (Mpa)
W100	$3,80 \pm 0,08$ ^a
W90G10	$3,17 \pm 0,08$ ^b
W80G20	$2,70 \pm 0,13$ ^c
W70G30	$1,73 \pm 0,31$ ^d
W90X10	$3,54 \pm 0,15$ ^b
W80X20	$2,65 \pm 0,13$ ^c
W70X30	$1,89 \pm 0,06$ ^d

6.1.7 Deformação

Os resultados descritos na Tabela 10, mostram que adição de XOS e GOS, aumentou os valores de deformação nos filmes, ao contrário dos resultados de tensão demonstrados anteriormente. As amostras de XOS tiveram um efeito de deformação superior as amostras de GOS, alcançando valor de $208,22 \pm 4,71$ MPa, correspondente a 44% de aumento no valor do % de Deformação do filme originalmente composto somente de WPI.

Ustunol e Mert, 2004 encontram valores máximo correspondentes a 114 % de Deformação para WPI adicionados compostos como ligações cruzadas. Gagliarini *et al* 2019, encontrou valores de deformação entre 80,5% e 105,2% nas amostras de filmes de WPI e probióticos.

A redução dos valores de Tensão (Mpa), associados aos aumentos dos valores de % Deformação, indicam que os prebióticos atuaram como agentes plastificantes nas amostras dos filmes. Indicando haver incorporação das moléculas de XOS e GOS, na estrutura molecular das proteínas de soro de leite, aumentando os espaços livres intermoleculares da estrutura da proteína, facilitando a mobilidade das moléculas e criando um aumento da flexibilidade dos filmes.

Tabela 10 – Valores de % de deformação dos filmes

Amostra	Deformação (%)
W100	$144,03 \pm 2,72$ ^d
W90G10	$149,41 \pm 4,79$ ^{cd}
W80G20	$161,64 \pm 6,83$ ^c
W70G30	$189,55 \pm 6,59$ ^b
W90X10	$151,99 \pm 2,33$ ^{cd}
W80X20	$181,51 \pm 3,65$ ^b
W70X30	$208,22 \pm 4,71$ ^a

6.1.8 Permeabilidade ao vapor de água

A permeabilidade ao vapor de água variou entre $0,63 \pm 0,06$ a $1,019 \pm 0,18$ ($\text{g}\cdot\text{mm}\cdot\text{h}^{-1}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{kPa}^{-1}$) dependendo da formulação aplicada. Segundo a análise estatística por meio de ANOVA, a adição de prebiótico de GOS e XOS manteve constante a permeabilidade ao vapor de água para ambos os prebióticos, sendo que as amostras contendo somente WPI tiveram um valor de PVA um pouco maior.

Tabela 11 – Valores da Permeabilidade ao vapor de água dos filmes (PVA)

Amostra	PVA (g.mm.h ⁻¹ .m ⁻² .kPa ⁻¹)
W100	1,09 ± 0,18 ^a
W90G10	0,78 ± 0,10 ^b
W80G20	0,76 ± 0,03 ^b
W70G30	0,69 ± 0,03 ^b
W90X10	0,74 ± 0,05 ^b
W80X20	0,71 ± 0,08 ^b
W70X30	0,63 ± 0,06 ^b

A pequena variação da PVA, com a adição de prebióticos nos filmes de proteínas de soro é um resultado que pode ser associado a formação de um filme, em que os prebiótico atuaram de maneira homogênea criando um efeito de preenchimento dentro da estrutura globular das proteínas que foram abertas após o tratamento térmico, auxiliados pela capacidade de plastificação do glicerol, e água, nesta matriz com várias interações moleculares (SOUKOULIS *et al.*, 2014). Resultados com tendências similares, porém, com efeitos mais otimizados foram reportados com a inclusão de componentes hidrofóbicos a filmes de proteínas de soro de leite como ácidos graxos (FERNANDÉZ *et al.*, 2007), azeite de oliva (JAVANMARD *et al.*, 2008) e ceras (TALENS *et al.*, 2005).

Filmes com características polares com os de proteínas e carboidratos geralmente apresentam taxas altas de PVA, e baixa permeabilidade a gases. Os filmes com características apolares como os que possuem lipídeos em sua composição tendem a ter efeitos reversos do citado acima (MCHUGH *et al.*, 1994).

A permeabilidade ao vapor de água ocorre pela difusão do vapor de água na matriz do filme, do lado de maior concentração para o da menor concentração. As características e a estrutura do filme determinam como essa permeabilidade será. Quando as proteínas de soro de leite são aquecidas o tamanho das suas cadeias e a estrutura coesiva da matriz aumentam devido a formação das ligações covalentes de dissulfeto entre as cadeias polipeptídicas. Filmes com estruturas mais coesivas geralmente apresentam porosidade menor e conseqüentemente menor permeabilidade ao vapor de água (SILVA *et al.*, 2018).

A transferência de vapor de água em filmes esta fortemente ligada ao tamanho e distribuição das partículas, correlacionadas ao método de homogeneização. O menor tamanho das partículas assim como a criação de uma estrutura mais homogênea, indica uma menor PVA das matrizes dos filmes. (GALUS *et al.*, 2014)

6.1.9 Ângulo de Contato

As medidas de ângulo de contato de água, é um dos indicadores de hidrofobicidade e hidrofiliabilidade dos filmes. Materiais de natureza hidrofílica possui valores mais altos nas medidas dos ângulos devido a interação entre a água depositada e a superfície do filme, este fenômeno também pode ser atribuído a solubilidade do filme (GALUS *et al.*, 2016).

As medidas de ângulo de contato, não apresentaram diferenças significativas em relação ao aumento da concentração de prebiótico, indicando que a adição dos prebióticos ao nível de 30% não alteraram as características de hidrofiliabilidade da matriz protéica. Uma vez que a natureza dos prebióticos, também é hidrofílica. O resultado obtido reforça o resultado encontrado para as análises de PVA, que relaciona a característica de interação do filme com água, para transporte de massa.

Tabela 12 – Valores de Ângulo de Contato

Amostra	Ângulo de Contato (°)
W100	56,61 ± 0,39 ^a
W90G10	49,55 ± 4,04 ^{ab}
W80G20	50,93 ± 3,49 ^b
W70G30	51,66 ± 5,04 ^b
W90X10	46,75 ± 1,49 ^b
W80X20	46,97 ± 1,18 ^b
W70X30	46,69 ± 1,82 ^b

7 CONCLUSÃO

Foi possível elaborar os filmes de proteínas isolada de soro de leite, adicionado de prebióticos, GOS e XOS pela técnica *casting*.

Nos pré-testes, identificou-se que para concentrações maiores que 30% na composição do filme, as amostras apresentam dificuldade durante o desplaqueamento e manuseio, se tornando assim um parâmetro importante no delineamento experimental.

Os filmes adicionados de prebióticos apresentaram colorações levemente amarelados em comparação ao filme composto apenas de WPI.

O método empregado para a confecção dos filmes se mostrou adequado para a baixa variabilidade dos valores de espessura na comparação das amostras, uma vez que esta variável corresponde por muitos erros experimentais em análises de filmes obtidos pela técnica *casting*.

Na MEV os filmes apresentaram estruturas lisas e homogêneas, com ausência de estruturas heterogêneas como grânulos, partículas e bolhas. A homogeneidade é um fator importante para a dispersão dos prebióticos na matriz do filme, para manutenção das propriedades mecânicas e de barreira do filme e para a aplicação como material de embalagem.

A adição de ambos prebióticos alteraram significativamente as propriedades mecânicas dos filmes, o aumento da concentração reduziu os valores de Tensão (MPa) e aumentou o % de deformação dos filmes, indicando o efeito plastificantes dos prebióticos nos filmes. Dessa forma, os prebióticos auxiliaram no aumento da flexibilidade dos filmes de WPI. Assim como a redução da T_p ($^{\circ}\text{C}$), nas análises de DSC, devido ao enfraquecimento das ligações intermoleculares pelo efeito plastificantes gerado.

Os resultados de PVA, assim como os valores de Ângulo de contato do filme, indicam natureza hidrofílica dos filmes, e a presença dos prebióticos não gerou alterações significativas no comportamento do filme.

Tendo em vista os resultados alcançados, a importância dos prebióticos na alimentação humana e a busca por alternativas as embalagens convencionais, os filmes de proteína isolada de soro de leite adicionados de prebióticos é uma tecnologia emergentes com potencial prático na indústria de alimentos agregando valores de sustentabilidade, nutricional e inovação de mercado.

Apesar dos filmes apresentarem propriedades similares de alguns outros biopolímeros, existe ainda a necessidade de otimização de suas características e associação para tecnologia de formação da embalagem em escalas industriais, como a obtenção por processo de extrusão.

8 TRABALHOS FUTUROS

Os resultados desta dissertação geraram cinco produtos:

Publicação de artigo para FOOD HYDROCOLLOIDS – JOURNAL conforme abaixo:



Requerimento de patente conforme abaixo:

Em terça-feira, 10 de setembro de 2019, Coord. Transferência de Tecnologia e Propriedade Intelectual - PROPTI <ctpi@ifrj.edu.br> escreveu:

Prezado Adriano,

Os pedidos de **patente**

BR 10 2019 017598 2

BR 10 2019 017627 0

BR 10 2019 017542 7

BR 10 2019 017617 2

Foram publicadas na Revista de Propriedade Industrial, meio oficial do INPI.

--

Atenciosamente,

Fernanda Sá Freire Lefevre, M.^a

Assistente em Administração, Desenhista Industrial

Coordenadora de Transferência de Tecnologia e Propriedade Intelectual (CTPI)

Diretoria da Agência de Inovação (DIRAGI)

[Pró-Reitoria de Pesquisa, Inovação e Pós-Graduação \(ProPPI\)](#)

[Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Rio de Janeiro - IFRJ](#)

Envio de resumo ao SLACA 2019, conforme certificado abaixo:



Publicação de capítulo de Livro Interncional, conforme abaixo:



Publicação de artigo técnico na Revista Milk Point 2019, conforme abaixo:

MILKPOINT NOTÍCIAS & MERCADO COLUNAS ARTIGOS EMPRESAS SEU ESPAÇO FÓRUM CONTATO QUEM SOMOS BUSCA

Prebióticos e proteínas do soro de leite para filmes comestíveis em produtos lácteos

INDÚSTRIA
EM 30/04/2019

CHY-MAX® Supreme
nossa mais moderna enzima de coagulação, para um aumento no rendimento de até 1%

MAIS EM INDÚSTRIA

- Interferência dos padrões de qualidade ICCS e CETI no processamento de leite fluido e derivados
- Importância da etapa de pré-maturação do leite no processamento de queijos
- Bactérias de iogurte natural podem prevenir câncer de mama
- Produtos lácteos probióticos são eficientes na redução da glicemia
- Manteiga: benefícios à saúde e

**Leonardo M. Fernandes, Adriano G. Cruz, Marcia C. Silva, do Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Rio de Janeiro (IFRJ), Departamento de Alimentos*

Os resíduos provenientes de embalagens em alguns países representam de 15% a 20% do total de resíduos sólidos coletados nas cidades, porém em países mais industrializados, os resíduos de embalagens estão próximos de 30% do total de resíduos coletados. No entanto, muitas iniciativas vêm sendo pesquisadas para a redução dos resíduos sólidos, sejam elas direcionadas a novas formas de disposição ou buscando a substituição de materiais de embalagens convencionais.

Uma das alternativas às embalagens convencionais mais estudadas atualmente referem-se aos **desenvolvimentos de biopolímeros, aplicadas como embalagens biodegradáveis e comestíveis**. Os biopolímeros podem ser definidos como materiais de fontes renováveis e classificados de acordo com sua origem e método de obtenção.

9 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AACHARY, A. A.; PRAPULLA, S. G. Value addition to corncob: Production and characterization of xylo-oligosaccharides from alkali pretreated lignin-saccharide complex using *Aspergillus oryzae* MTCC 5154. *Bioresource Technology*, Volume 100, Páginas 991–995, 2009.

AMERICAN SOCIETY FOR TESTING AND MATERIALS (ASTM). Method D 882-83: Standard test methods for tensile properties of thin plastic sheeting. In: *Annual Book of ASTM Standards*. Conshohocken, PA, 1995

ANTT: Agencia Nacional de Transportes Terrestre: Resolução nº 420 de 12 de Fevereiro de 2004. Aprova as Instruções Complementares ao Regulamento do Transporte Terrestre de Produtos Perigosos <http://www.antt.gov.br/index.php/content/view/1420/Resolucao_420.html> acesso em Agosto de 2017

ANTUNES, A. J. *Funcionalidade de proteínas do soro de leite bovino*. Barueri: Manole, 2003.

AOAC. Association of Official Analytical Chemists. *Official Methods of Analysis of AOAC International*, 17a. ed. Arlington, Virginia. USA. 2010.

ARISMENDI, C.; CHILLO, S.; CONTE, A.; DEL NOBILE, M. A.; FLORES, S.; GERSCHENSON, L. N. Optimization of physical properties of xanthan gum/tapioca starch edible matrices containing potassium sorbate and evaluation of its antimicrobial effectiveness. *LWT - Food Science and Technology*, Volume 53, Páginas 290-296, 2013.

BERSANETI, G. T.; MANTOVAN, J.; MAGRI, A.; MALI, S.; CELLIGOI, M. A. P. C. Edible films based on cassava starch and fructooligosaccharides produced by *Bacillus subtilis* natto CCT 7712. *Carbohydrate Polymers*, Volume 151, Páginas 1132–1138, 2016.

BOSQUEZ-MOLINA, E.; GUERRERO-LEGARRETA, I.; VERNON-CARTER, E. J. Moisture barrier properties and morphology of mesquite gum-candelilla wax based edible emulsion coatings. *Food Research International*, páginas 885e893, 2003.

BRAHMI, F.; ABDENOUR, A.; BRUNO, M.; SILVIA, P.; ALESSANDRA, P.; DANILO, F., DRIFA YG.; FAHMI, E. M.; KHODIR, M.; MOHAMED, C. Chemical composition and in vitro antimicrobial, insecticidal and antioxidant activities of the essential oils of *Mentha pulegium* L. and *Mentha rotundifolia* (L.) Huds growing in Algeria. *Industrial Crops and Products*, Volume 88, Páginas 96–105, 2016.

BRASIL, Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Brasília, 2014. Disponível em: <http://www.agricultura.gov.br/assuntos/inspecao/produtos-animal/empresario/arquivos/MANUALROTULAGEMLEITE14082014.pdf/view>

BRUNO-BARCENA, J.M.; AZCARATE-PERIL, M.A. Galacto-oligosaccharides and colorectal cancer: feeding our intestinal probiome. *Journal of Functional Foods* Volume 12, Páginas 92-108, 2015

CARDELLE-COBAS, A.; CORZO, N.; OLANO, A.; PELÁEZ, C.; REQUENA, T.; ÁVILA, M. Galactooligosaccharides derived from lactose and lactulose: Influence of structure on *Lactobacillus*, *Streptococcus* and *Bifidobacterium* growth. *International Journal of Food Microbiology*. Páginas 149: 81-87, 2011.

CHANDRA, R.; RUSTGI, R. Biodegradable polymers, *Progress in Polymer Science*, Volume 23, Issue 7, Páginas 1273-1335, 1998.

CHATTERTON, D. E. W.; SMITHERS, G.; ROUPAS, P.; BRODKORB, A. Bioactivity of α -lactoglobulin and lactalbumin technological implications for processing, *International Dairy Journal*, Volume 16, Issue 11, Páginas 1229-1240, 2006.

CHOQUE DELGADO, G. T.; TAMASHIRO, W. M. S. C.; JUNIOR, M. R. M., MORENO, Y. M. F.; PASTORE, G. M. The putative effects of prebiotics as immunomodulatory agents. *Food Research International*, Volume 40, Páginas 3167–3173, 2011.

CHUNG, Y. C.; HSU, C. K.; KO, C. Y.; CHAN, Y. C. Dietary intake of xylooligosaccharides improves the intestinal microbiota, fecal moisture, and pH value in the elderly. *Nutrition Research*, Volume 27, Páginas 756–761, 2007.

CONAB (2012). National company of supply. http://www.conab.gov.br/OlalaCMS/uploads/arquivos/12_08_10_14_57_19_boletim_cana_portugues_-_agosto_2012_2o_lev.pdf (Acessado em Agosto, 2018)

CORONA-HERNANDEZ, R. I.; ÁLVAREZ-PARRILLA, E.; LIZARDI-MENDOZA, J.; ISLAS-RUBIO, A. R.; DE LA ROSA, L. A.; WALL-MEDRANO, A. Structural Stability and Viability of Microencapsulated Probiotic Bacteria: A Review. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, Volume 12, Páginas 614–628, 2013.

COURTIN, C. M.; SWENNEN, K.; VERJANS, P.; DELCOUR, J. A. Heat and pH stability of prebiotic arabinoxylooligosaccharides, xylooligosaccharides and fructooligosaccharides. *Food Chemistry*, Volume 112, Páginas 831–837, 2009.

CREAMER, L. K.; SAWYER, L. β -Lactoglobulin. In H. Roginski, J. W. Fuquay, & P. F. Fox, *Encyclopedia of dairy sciences*. New York: Academic Press, 2003.

DE CASTRO, R. J. S.; DOMINGUES, M. A. F.; OHARA, A.; OKURO, P. K.; DOS SANTOS, J. G.; BREXÓ, R. P.; SATO, H. H. Whey protein as a key component in

food systems: Physicochemical properties, production technologies and applications. *Food Structure*, Volume 14, Páginas 17–29, 2017.

EISSA, H. A. A. Effect of chitosan coating on shelf life and quality of fresh-cut mushrooms. *Journal of Food Quality* Volume 30, Página 623–645, 2007.

EPA (Environmental Protection Agency), 2013. *Municipal Solid Waste in the United States: Facts and Figures*, 2011.

ERBEN, M.; PÉREZ, A. A.; OSELLA, C. A.; ALVAREZ, V. A.; SANTIAGO, L. G. Impact of gum arabic and sodium alginate and their interactions with whey protein aggregates on bio-based films characteristics, *International Journal of Biological Macromolecules*, Volume 125, Páginas 999-1007, 2019.

EUROPEN: EUROPEN position on extended producer responsibility for postconsumer packaging in the EU, 2013.

FARIZOGLU, B.; KESKINLER, B.; YILDIZ, E.; NUHOGLU A. Simultaneous removal of C, N, P from cheese whey by jet loop membrane bioreactor. *J Hazard Mater* Volume 146, Páginas 399–407, 2007.

FENNEMA, O. R.; DAMODARAN, S.; PARKIN, K. L. *Química de Alimentos de Fennema – 4ª ed.* - Editora Artmed, 2010.

FERNÁNDEZ, L., DE APODACA, E., CEBRIÁN, M. *et al.* Effect of the unsaturation degree and concentration of fatty acids on the properties of WPI-based edible films. *European Food Research and Technology*, Volume 224, Páginas 415–420, 2007.

FERREIRA, C. O.; NUNES, C. A.; DELGADILLO, I.; LOPES-DA-SILVA, J.A. characterization of chitosan–whey protein films at acid pH, *Food Research International*, Volume 42, Páginas 807-813, 2009.

FRENZEL, M.; ZERGE, K.; CLAWIN-RADECKER, I.; LORENZEN, P.C. 2015. Comparison of the galactooligosaccharide forming activity of different b-

galactosidases. *LWT – Food Science and Technology* Volume 60, Páginas 1068-1071

GAGLIARINI, N.; DIOSMA, G.; GARROTE, G. L.; ABRAHAM, A. G.; PIERMARIA, J. Whey protein-kefiran films as driver of probiotics to the gut. *Lwt*, Volume 105, Páginas 321–328, 2019.

GALUS, S., & KADZIŃSKA, J. Whey protein edible films modified with almond and walnut oils. *Food Hydrocolloids*, Volume 52, Páginas 78–86, 2016.

GONZALEZ-GARCIA, S.; CASTANHEIRA, E. G.; DIAS, A. C.; ARROJA, L. Environmental performance of a Portuguese mature cheese-making dairy mill. *J. Clean. Prod.* Volume 41, Páginas 65–73, 2013.

GONZALEZ-GARCIA, S.; HOSPIDO, A.; MOREIRA, M.T.; FEIJOO, G.; ARROJA, L. Environmental Life Cycle Assessment of a Galician cheese: San Simon da Costa. *J. Clean. Prod.*, Volume 52, Páginas 253–262, 2013.

GOSLIN, A.; STEVENS, G.; BARBER, A.R.; KENTISH, S.E.; GRAS S.L. Recent advances refining galactooligosaccharide production from lactose. *Food Chemistry Production using permeabilized cells*. Páginas 307-318, 2010.

GROOTAERT, C.; DELCOUR, J. A.; COURTIN, C. M.; BROEKAERT, W. F.; VERSTRAETE, W.; WIELE, T. V. Microbial metabolism and prebiotic potency of arabinoxylan oligosaccharides in the human intestine. *Trends in Food Science & Technology*, Volume 18, Páginas 64–71, 2007

GULLÓN, P.; MOURA, P.; ESTEVES, M.; GIRIO, F. M., DOMÍNGUEZ, H.; PARAJÓ, J. C. Assessment on the fermentability of xylo-oligosaccharides from rice husks by pro- biotic bacteria. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, Volume 56, Páginas 7482–7487, 2008.

HAMBRAEUS, L.; LOÑNERDAL, B. Nutritional aspects of milk proteins. *Advanced dairy chemistry*, 2003.

HAN, J. H., & FLOROS, J. D. Casting antimicrobial packaging films and measuring their physical properties and antimicrobial activity. *Journal of Plastic Film and Sheet*, Volume 13, Páginas 287- 298, 1997.

HASHEMI, S. M. B.; KHANEGHAH, A. M.; Characterization of novel basil-seed gum active edible films and coatings containing oregano essential oil. *Progress in Organic Coatings*, Volume 110, Páginas 35-41, 2017.

HERNÁNDEZ-LEDESMA, B.; RAMOS, M.; GÓMEZ-RUIZ, J. A. Bioactive components of ovine and caprine cheese whey, *Small Ruminant Research*, Volume 101, Páginas 196-204, 2011.

IMASATO, H. Reação de Maillard: propriedades e estrutura das melanoidinas da frutose e glicina, *Dissertação Mestrado*, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 1979.

IONASHIRO, M. Fundamentos de Termo gravimetria e Análise Térmica Diferencial/Calorimetria Exploratória Diferencial. 1. Ed. São Paulo: Giz, 205, 80p.

JAVANMARD, M.; GOLESTAN, L. Effect of olive oil and glycerol on physical properties of whey protein concentrate films. *Journal of Food Process Engineering*, Volume 31, Páginas 628-639, 2008.

JANJARASSKUL, T.; RAUCH, D. J.; MCCARTHY, K L.; KROCHTA, J. M. Barrier and tensile properties of whey protein–candelilla wax film/sheet, *LWT - Food Science and Technology*, Volume 56, Páginas 377-382, 2014.

JIANG, S. J.; ZHANG, X.; MA, Y.; TUO, Y.; QIAN, F.; FU, W.; MU, G. Characterization of whey protein-carboxymethylated chitosan composite films with and without transglutaminase treatment. *Carbohydrate Polymers*, Volume 153, Páginas 153-159, 2016.

KALYANKAR, S. D.; SARODE, A. R.; KHEDKAR, C. D.; DEOSARKAR S. S.; PAWSHE, R. D. SHEEP: MILK, In Encyclopedia of Food and Health, Academic Press, Oxford, Páginas 758-763, 2016

KIM, D.; THOMA, G.; NUTTER, D.; MILANI, F.; ULRICH, R.; NORRIS, G. Life cycle assessment of cheese and whey production in the USA. *Int. J. Life Cycle Assess.* Volume 18, Páginas 1019–1035, 2013.

LEUANGSUKRERK, M.; PHUPOKSAKUL, T.; TANANUWONG, K.; BOROMPICHAICHARTKUL, C.; & JANJARASSKUL, T. Properties of konjac glucomannan—Whey protein isolate blend films. *LWT Food Science and Technology*, Volume 59, Páginas 94–100, 2014.

MAHBOBEH HASSANNIA-KOLAEI, FARAMARZ KHODAIYAN, REZVAN POURAHMAD, IMAN SHAHABI-GHAHFARROKHI, Development of ecofriendly bionanocomposite: Whey protein isolate/pullulan films with nano-SiO₂, *International Journal of Biological Macromolecules*, Volume 86, Páginas 139-144, 2016.

MARTINS, A. R.; BURKERT, C. A. V Revisão Galacto-oligossacarídeos (GOS) e seus efeitos prebióticos e bifidogênicos. Volume 16, Páginas 230–240, 2009.

MARTINS, A; BURKERT, C. A. V. Revisão galacto-oligossacarídeos (GOS) e seus efeitos prebióticos e bifidogênicos. *Brazilian Journal of Food Technology*. Volume 12, Páginas 230-240, 2009.

MARTUCCI, J. F.; RUSECKAITE, R. A. Tensile properties, barrier properties, and biodegradation in soil of compression Molded gelatin-dialdehyde starch films. *J. Appl. Polym. Sci.*, Páginas 2166-2178, 2009.

MCHUGH, J. F., AUJARD, T. H., & KROCHTA, J. M. Plasticized whey protein edible films: Water vapor permeability properties. *Journal of Food Science*, Volume 59, Páginas 416–419, 1994.

MEHRA, R.; KELLY, P. Milk oligosaccharides: structural and technological aspects. *International Dairy Journal*, Oxford, n. 11, p. 1334-1340, 2006.

MICHELON, M.; MANERA, A. P.; CARVALHO, A. L.; FILHO, F. M. Concentration and purification of galactooligosaccharides using nanofiltration membranes *International Journal of Food Science and Technology* Volume 49, Páginas 1953-1961, 2014.

MINTEL: Global Market Research & Market Insight - <<http://brasil.mintel.com/imprensa/alimentos-e-bebidas/mintel-anuncia-as-seis-tendencias-em-embalagem-que-impactarao-os-mercados-globais-em-2016>> acesso em Julho de 2017.

MIZUBUTI I. Y. Soro de leite: Composição, Processamento e Utilização na Alimentação. *Semana de Ciências Agrárias*, Volume 15, n.1, Páginas80-94, 1994

MMA; Ministério do Meio Ambiente: Política Nacional de Resíduos Sólidos - Lei nº 12.305/10 <<http://www.mma.gov.br/politica-de-residuos-solidos>> acesso em Agosto de 2017.

MONTILLA, A.; MEGÍAS-PÉREZ, R.; OLANO, A.; VILLAMIEL, M. Presence of galactooligosaccharides and furosine in special dairy products designed for elderly people. *Food Chemistry* Volume 172, Páginas 481-485, 2015.

MUSSATTO, S. I.; MANCILHA, I. M. Non-digestible oligosaccharides: a review. *Carbohydrate Polymers*, Volume 68, Página 587-597, 2007.

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*, Volume 49, Páginas 588–595, 2012.

NAZAN TURHAN, K.; SAHBAZ, F. Water vapor permeability, tensile properties and solubility of methylcellulose-based edible films. *Journal of Food Engineering*, Volume 61, Páginas, 459-466, 2004.

NERI, D. F. M.; BALCÃO, V. M.; COSTA, R. S.; ROCHA, I. C. A. P.; FERREIRA, E. M. F. C.; TORRES, D. P. M.; RODRIGUES, L. R. M.; CARVALHO JÚNIOR, L. B.; TEIXEIRA, J.A. Galacto-oligosaccharides production during lactose hydrolysis by free *Aspergillus oryzae* β -galactosidase and immobilized on magnetic polysiloxane-polyvinyl alcohol. *Food Chemistry*. Volume 115, Páginas 92-99, 2009.

NOFAR, M.; TABATABAEI, A.; PARK, C.B. Effects of nano-/micro-sized additives on the crystallization behaviors of PLA and PLA/CO₂ mixtures, *Polymer*, Página 54, 2013.

OCAÑA-FUENTES, A.; ARRANZ-GUTIÉRREZ, E.; SEÑORANS, F. J.; REGLERO, G. Supercritical fluid extraction of oregano (*Origanum vulgare*) essential oils: Ant inflammatory properties based on cytokine response on THP-1 macrophages. *Food and Chemical Toxicology*, Volume 48, Páginas 1568–1575, 2010.

OECD (Organization for Economic Co-operation and Development). *OECD Waste Statistics, OECD Environment Statistics*, 2013.

ONWULATA, C.; HUTH, P. *Whey processing, functionality and health benefits*. 404 p, 2008.

OSÉS, J.; FERNÁNDEZ-PAN; I., MENDOZA, M.; MATÉ, J. I. Stability of the mechanical properties of edible films based on whey protein isolate during storage at different relative humidity. *Food Hydrocolloids*, Volume 23, Páginas 125-131, 2009.

PALMIERI, N.; FORLEO, M. B.; SALIMEI, E. Environmental impacts of a dairy cheese chain including whey feeding: An Italian case study, *Journal of Cleaner Production*, Volume 140, Páginas 881-889, 2017.

PAVLI, F. T. C.; NYCHAS, G-JE.; CHORIANOPOULOS N.; Probiotic Incorporation in Edible Films and Coatings: Bioactive Solution for Functional Foods. *International Journal of Molecular Sciences*, 2018.

PÉREZ, L. M.; PICCIRILLI, G. N.; DELORENZI, N. J.; VERDINI, R. A. Effect of different combinations of glycerol and/or trehalose on physical and structural properties of whey protein concentrate-based edible films. *Food Hydrocolloids*, Volume 56, Páginas 352–359, 2016.

PERIASAMY, V. S.; ATHINARAYANAN, J.; ALSHATWI, A. A. Anticancer activity of an 29 ultrasonic nanoemulsion formulation of *Nigella sativa* L. essential oil on human breast cancer cells. *Ultrasonics Sonochemistry*, Volume 31, Páginas 449–455, 2016.

PETERSEN, K.; NIELSEN, P. V.; BERTELSEN, G.; LAWThER, M.; OLSEN, M. B.; NILSSON, N. H.; MORTENSEN, G. Potential of biobased materials for food packaging, *Trends. Food Science & Technology*, Volume 10, Issue 2, Páginas 52-68, 1999.

PICCIRILLI, G. N.; SOAZO, M.; PÉREZ, L. M.; DELORENZI, N. J.; VERDINI, R. A. Effect of storage conditions on the physicochemical characteristics of edible films based on whey protein concentrate and liquid smoke. *Food Hydrocolloids*, Volume 87, Páginas 221–228, 2019.

PRAZERES, A. R.; CARVALHO F.; RIVAS, J. Cheese whey management: a review. *Environ. Management*, Volume 110, Páginas 48–68, 2012.

RAHMANI, E.; DEHESTANI, M.; BEYGI, M. H. A.; ALLAHYARI, H.; NIKBIN, I. M. On the mechanical properties of concrete containing waste PET particles. *Construction & Building Materials*, 2013.

RASTALL, R. A. Gluco and galacto-oligosaccharides in food: update on health effects and relevance in healthy nutrition. *Current Opinion in Clinical Nutrition & Metabolic Care*. Páginas 675-678, 2013.

REALINI, C. E.; MARCOS, B. (2014). Active and intelligent packaging systems for a modern society. *Meat Science*, 98(3), 404–419

RIBEIRO R. S.; MARIANA A.; NATHÁLIA R. M.; ANA S. S. Use of essential oils in active food packaging: Recent advances and future trends, *Trends in Food Science & Technology*, Volume 61, Páginas 132-140, 2017.

RIVAS, J.; PRAZERES, A. R.; CARVALHO, F. Aerobic biodegradation of pre-coagulated cheese whey wastewater. *J. Agr. Food Chem.* Volume 59, Páginas 2511–2517, 2011.

RODRIGUES L. R. M. Valorização da fração proteica do soro de queijo. Dissertação de mestrado. Escola de Engenharia – Departamento de Engenharia Biológica. Universidade de Minho. Portugal 2001.

ROMANO, N.; TAVERA-QUIROZ, M.; J., BERTOLA, N.; MOBILI, P.; PINOTTI, A.; GÓMEZ-ZAVAGLIA, A. A. Edible methylcellulose-based films containing fructo-oligosaccharides as vehicles for lactic acid bacteria. *Food Research International*, Volume 64, Páginas 560–566, 2014.

SANTOS, E.F.; TSUBOI, K.H.; ARAÚJO, M.R.; ANDREOLLO, N.A.; MIYASAKA, C.K. Influência da dieta com galactooligossacarídeos sobre a absorção de cálcio em ratos normais e gastrectomizados. *Revista do Colégio Brasileiro de Cirurgiões*. Volume 38, Páginas 186-191, 2011.

SERPA, L.; PRIAMO, W. L.; REGINATTO, V. Destino Ambientalmente Correto a Rejeitos de Queijaria e Análise de Viabilidade Econômica. 2nd International Workshop. *Advances in Cleaner Production*, 2009.

SHAFAEI, Z.; GHALANDARI, B.; VASEGHI, A.; DIVSALAR, A; HAERTLÉ, T.; SABOURY, A. A.; SAWYER, L. β -Lactoglobulin: An efficient nanocarrier for advanced delivery systems, *Nanomedicine: Nanotechnology, Biology and Medicine*, Volume 13, Issue 5, Páginas 1685-1692, 2017.

SHAW, N. B., MONAHAN, F. J., O'RIORDAN, E.D., O'SULLIVAN, M. Physical properties of WPI films plasticized with glycerol, xylitol, or sorbitol. *Journal of Food Science* Volume 67, Páginas 164–167, 2002.

SHAW, N. B.; MONAHAN, F. J.; O'RIORDAN, E. D.; O'SULLIVAN, M. Physical Properties of WPI Films Plasticized with Glycerol, Xylitol, or Sorbitol. *Journal of Food Science*, Volume 67(1), Páginas 164–167, 2006.

SILVA, K. S.; FONSECA T.M.R; AMADO L. R.; MAURO, M. A; Physicochemical and microstructural properties of whey protein isolate-based films with addition of pectin, *Food Packaging and Shelf Life*, Volume 16, Páginas 122-128, 2018.

SILVA, W. AV; PEREIRA, J.; CARVALHO, C. W. P.; FERRUA, F. Q. Determinação da cor, imagem superficial topográfica e ângulo de contato de biofilmes de diferentes fontes de amido. *Ciênc. Agrotec* , Volume 31, Páginas 154-163, 2007.

SILVA, F. I.; CABELLO, C. Caracterização das estruturas moleculares de amido de mandioca utilizando metodologia de permeação em gel. *Energia e Agricultura*, Volume 21, Páginas 50-68, 2006.

SILVA, J. P. L.; DUARTE-ALMEIDA, J. M.; PEREZ, D. V.; FRANCO, B. D. G. M. Óleo essencial de orégano: interferência da composição química na atividade frente a *Salmonella enteridis*. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, Volume 30, 2010.

SINDAYIKENGERA, S.; XIA,W. Nutritional evaluation of caseins and whey proteins and their hydrolysates from Protamex. *Journal of Zhejiang University*. Página 90–98, 2006.

SISO, M. I. G. The biological utilization of cheese whey: A review. *Bioresource Technology*, Essex, Volume 57, Página 1-11, 1996.

SMITHERS, G. W. Whey and whey proteins— From 'gutter-to-gold'. *International Dairy Journal*, Volume 18, Páginas 695-704, ISSN 0958-6946, 2008.

SOAZO, M.; PÉREZ, L. M.; PICCIRILLI, G. N.; DELORENZI, N. J.; VERDINI, R. A. Antimicrobial and physicochemical characterization of whey protein concentrate edible films incorporated with liquid smoke. *LWT - Food Science and Technology*, Volume 72, Páginas 285-291, 2016.

SOHAIL, S. S.; WANG, B.; BISWAS, M. A. S.; OH, J. H. Physical, morphological, and barrier properties of edible casein films with wax applications. *Journal of Food Science* Volume 71, Páginas 255–259, 2006.

SORADECH, S.; NUNTHANID, J.; LIMMATVAPIRAT, S.; LUANGTANA-ANAN, M. Utilization of shellac and gelatin composite film for coating to extend the shelf life of banana. *Food Control*, Volume 73, Páginas 1310-1317, 2017.

SOUKOULIS, C.; BEHBOUDI-JOBBEHDAR, S.; YONEKURA, L.; PARMENTER, C.; FISK, I. D. Stability of *Lactobacillus rhamnosus* GG in prebiotic edible films. *Food Chemistry*, Volume 159, Páginas 302–308, 2014.

SOUZA, V. G. L.; FERNANDO, A. L.; PIRES, J. R. A.; RODRIGUES, P. F.; ANDREIA A. S. L.; FERNANDES, F. M. B. Physical properties of chitosan films incorporated with natural antioxidants, *Industrial Crops and Products*, 2017.

TALENS, P.; KROCHTA, J. M. Plasticizing Effects of Beeswax and Carnauba Wax on Tensile and Water Vapor Permeability Properties of Whey Protein Films. *Journal of Food Science*, Volume 70, Páginas 239-243, 2005.

TANG, Y.; XIE, F.; ZHANG, D.; ZHU, M.; LIU, L.; LIU, P. Physical properties and prebiotic activity of maize starch-based functional films. *Starch/Staerke*, Volume 67, Páginas 124–131, 2015.

TSIROPOULOS, I.; FAAIJ, A. P. C.; LUNDQUIST, L.; SCHENKER, U.; BRIOIS, J. F.; PATEL, M. K. Life cycle impact assessment of bio-based plastics from sugarcane ethanol, *J. Clean. Prod.* Página 90, 2015.

USTUNOL, Z.; MERT, B. Water Solubility, Mechanical, Barrier, and Thermal Properties of Cross-linked Whey Protein Isolate-based Films. *Journal of Food Science*, Volume 69, Páginas 129–133, 2006.

VAN MIDDELAAR, C.E.; BERENTSEN, P.B.M., DOLMAN, M.A., DE BOER, I.J.M. Eco-efficiency in the production chain

VANDERROOST, M. *et al.* Intelligent packaging: The next generation. *Trends in Food Science & Technology*, Volume 39, Páginas 47-62, 2014.

VÁZQUEZ, M.J. *et al.* Xylooligosaccharides: manufacture and applications. *Trends in Food Science & Technology*, Volume.11, Páginas387-393, 2000.

VICENTINI, N.M. *Elaboração e caracterização de filmes comestíveis a base de fécula de mandioca para uso em pós-colheita (Tese de Doutorado) Faculdade de Ciências Agrônômicas – UNESP, Botucatu – SP, 2003.*

WAN, V. C.; KIM, M.S.; LEE, S. Water vapor permeability and mechanical properties of soy protein isolate edible films composed of different plasticizer combinations. *Journal of Food Science*, Volume 70, Páginas 387–391, 2005.

WANG, J.; YUAN, X.; SUN, B.; CAO, Y.; TIAN, Y.; WANG, C. On-line separation and structural characterization of feruloylated oligosaccharide from wheat bran using HPLC–ESI–MSn. *Food Chemistry*, Volume 115, Páginas 1529–1541, 2009.

WANG, Y. M., LIU, A. J., YE, R., WANG, W. H., & LI, X. (2015). Transglutaminase-induced crosslinking of gelatin–calcium carbonate composite films. *Food Chemistry*, 166, 414- 422, 2015.

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*, Volume 114, Páginas 292-302, 2013.

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*, Volume 114, Páginas 292-302, 2013.

WPO (World Packaging Organisation). *Market Statistics and Future Trends in Global Packaging*. World Packaging Organisation/PIRA International Ltda, 2008.

WYRWA, J.; BARSKA, A. Innovations in the food packaging market: Active packaging. *Eur. Food Res. Technol.*, Volume 243, Páginas 1681–1692, 2017.

YAMAN, O.; BAYOINDIRLI, L. Effects of an edible coating and cold storage on shelf-life and quality of cherries. *Lebensmittel-Wissenschaft & -Technologie* Volume 35, Páginas 146–150, 2002.

YEN, H. F.; HSIEH, C. T.; HSIEH, T. J.; CHANG, F. R.; WANG, C. K. In vitro anti-diabetic effect and chemical component analysis of 29 essential oils products. *Journal of Food and Drug Analysis*, Volume 23, Páginas 124–129, 2015.

ZAMBRANO-ZARAGOZA, M. L.; MERCADO-SILVA, E.; DEL REAL L. A.; GUTIÉRREZ-CORTEZ, E.; CORNEJO-VILLEGAS, M. A.; QUINTANAR-GUERRERO, D. The Effect of Nano-Coatings with α -tocopherol and Xanthan Gum on shelf-life and Browning Index of Fresh-Cut "Red Delicious" Apples. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, Amsterdam, Volume 22, Páginas 188-196, 2013.