

INSTITUTO FEDERAL DE EDUCAÇÃO, CIÊNCIA E TECNOLOGIA
GOIANO – IF GOIANO - CAMPUS RIO VERDE
PROGRAMA DE PÓS - GRADUAÇÃO EM TECNOLOGIA DE
ALIMENTOS

FILMES COMESTÍVEIS BIOATIVOS BASEADOS EM
ALGINATO, POLPA DE MANGABA (*Hancornia speciosa*) E
Saccharomyces boulardii

Autor: Josemar Gonçalves de Oliveira Filho
Orientadora: Dra. Mariana Buranelo Egea

Rio Verde - GO
Maio – 2022

INSTITUTO FEDERAL DE EDUCAÇÃO, CIÊNCIA E TECNOLOGIA
GOIANO – IF GOIANO - CAMPUS RIO VERDE
PROGRAMA DE PÓS - GRADUAÇÃO EM TECNOLOGIA DE
ALIMENTOS

FILMES COMESTÍVEIS BIOATIVOS BASEADOS EM
ALGINATO, POLPA DE MANGABA (*Hancornia speciosa*) E
Saccharomyces boulardii

Autor: Josemar Gonçalves de Oliveira Filho
Orientadora: Dra. Mariana Buranelo Egea

Dissertação apresentada como parte das exigências para obtenção do título de MESTRE EM TECNOLOGIA DE ALIMENTOS, no Programa de Pós-Graduação em Tecnologia de Alimentos do Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia Goiano – Campus Rio Verde – Área de concentração Tecnologia e Processamento de Alimentos.

Rio Verde - GO
Maio – 2022

Sistema desenvolvido pelo ICMC/USP
Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)
Sistema Integrado de Bibliotecas - Instituto Federal Goiano

00L48f Oliveira Filho, Josemar Gonçalves de
Filmes comestíveis bioativos baseados em alginato,
polpa de mangaba (*Hancornia speciosa*) e
Saccharomyces boulardii / Josemar Gonçalves de
Oliveira Filho; orientadora Mariana Buranelo Egea;
co-orientadora Geovana Rocha Placido. -- Rio
Verde, 2022.
58 p.

Dissertação (Mestrado em Tecnologia de Alimentos) -
- Instituto Federal Goiano, Campus Rio Verde, 2022.

1. probióticos. 2. embalagens comestíveis. 3.
frutos do Cerrado. 4. alimentos funcionais. I.
Buranelo Egea, Mariana, orient. II. Rocha Placido,
Geovana, co-orient. III. Título.

TERMO DE CIÊNCIA E DE AUTORIZAÇÃO

PARA DISPONIBILIZAR PRODUÇÕES TÉCNICO-CIENTÍFICAS

NO REPOSITÓRIO INSTITUCIONAL DO IF GOIANO

Com base no disposto na Lei Federal nº 9.610, de 19 de fevereiro de 1998, AUTORIZO o Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia Goiano a disponibilizar gratuitamente o documento em formato digital no Repositório Institucional do IF Goiano (RIIF Goiano), sem ressarcimento de direitos autorais, conforme permissão assinada abaixo, para fins de leitura, download e impressão, a título de divulgação da produção técnico-científica no IF Goiano.

IDENTIFICAÇÃO DA PRODUÇÃO TÉCNICO-CIENTÍFICA

Tese (doutorado)

Dissertação (mestrado)

Monografia (especialização)

TCC (graduação)

Artigo científico

Capítulo de livro

Livro

Trabalho apresentado em evento

Produto técnico e educacional - Tipo:

Nome completo do autor:

Matrícula:

Título do trabalho:

RESTRIÇÕES DE ACESSO AO DOCUMENTO

Documento confidencial: Não Sim, justifique:

Informe a data que poderá ser disponibilizado no RIIF Goiano: / /

O documento está sujeito a registro de patente? Sim Não

O documento pode vir a ser publicado como livro? Sim Não

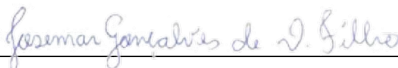
DECLARAÇÃO DE DISTRIBUIÇÃO NÃO-EXCLUSIVA

O(a) referido(a) autor(a) declara:

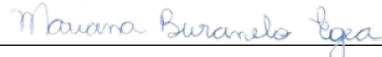
- Que o documento é seu trabalho original, detém os direitos autorais da produção técnico-científica e não infringe os direitos de qualquer outra pessoa ou entidade;
- Que obteve autorização de quaisquer materiais inclusos no documento do qual não detém os direitos de autoria, para conceder ao Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia Goiano os direitos requeridos e que este material cujos direitos autorais são de terceiros, estão claramente identificados e reconhecidos no texto ou conteúdo do documento entregue;
- Que cumpriu quaisquer obrigações exigidas por contrato ou acordo, caso o documento entregue seja baseado em trabalho financiado ou apoiado por outra instituição que não o Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia Goiano.

Local

/ /
Data


Assinatura do autor e/ou detentor dos direitos autorais

Ciente e de acordo:


Assinatura do(a) orientador(a)



SERVIÇO PÚBLICO FEDERAL
MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
SECRETARIA DE EDUCAÇÃO PROFISSIONAL E TECNOLÓGICA
INSTITUTO FEDERAL DE EDUCAÇÃO, CIÊNCIA E TECNOLOGIA GOIANO

**INSTITUTO FEDERAL DE EDUCAÇÃO, CIÊNCIA E TECNOLOGIA
GOIANO - CAMPUS RIO VERDE
DIRETORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM TECNOLOGIA DE ALIMENTOS**

Filmes comestíveis bioativos baseados em alginato, polpa de mangaba
(Hancornia speciosa) e Saccharomyces boulardii.

Autor: Josemar Gonçalves de Oliveira Filho
Orientadora: Mariana Buranelo Egea

TITULAÇÃO: Mestre em Tecnologia de Alimentos – Área de Concentração em
Tecnologia e Processamento de Alimentos

APROVADO em 27 de abril de 2022.

Dra. Geovana Rocha Plácido
Presidente da Banca
IF Goiano/RV

Dra. Sibeles Santos Fernandes
Avaliadora externa
IF Goiano/RV

Dra. Heloísa Alves de Figueiredo

Dra. Edilsa Rosa da Silva

Sousa
Avaliadora externa
Instituto Federal de Brasília

Avaliadora externa
Instituto Federal de Brasília

Documento assinado eletronicamente por:

- Sibeles Santos Fernandes, 2022102343460001 - Discente, em 27/04/2022 17:40:56.
- Heloisa Alves de Figueiredo Sousa, Heloisa Alves de Figueiredo Sousa - Professor Avaliador de Banca - If de Brasília (1), em 27/04/2022 17:34:12.
- Edilsa Rosa da Silva, Edilsa Rosa da Silva - Professor Avaliador de Banca - If de Brasília (1), em 27/04/2022 17:20:13.
- Geovana Rocha Placido, PROFESSOR ENS BASICO TECN TECNOLOGICO, em 27/04/2022 17:09:05.

Este documento foi emitido pelo SUAP em 27/04/2022. Para comprovar sua autenticidade, faça a leitura do QRCode ao lado ou acesse <https://suap.ifgoiano.edu.br/autenticar-documento/> e forneça os dados abaixo:

Código Verificador: 382535

Código de Autenticação: a469ee371b



INSTITUTO FEDERAL GOIANO
Campus Rio Verde
Rodovia Sul Goiana, Km 01, Zona Rural, None, RIO VERDE / GO, CEP 75901-970
(64) 3620-5600

AGRADECIMENTOS

Considero a elaboração de uma dissertação um produto coletivo embora sua redação, responsabilidade e estresse sejam predominantemente individuais. Várias pessoas contribuíram para que este trabalho chegasse ao bom termo. A todas elas registro minha gratidão. Hoje eu sei que a aprendizagem é muito importante... e aprender o que ainda não sei é uma tarefa árdua e incessante. Ah! E como existem coisas a serem aprendidas! E por isso serei sempre aprendiz. Sempre achei esta a pior parte da dissertação para escrever, talvez porque a vida não se coloca em análise de regressão e não é pelo valor de p que descobrimos a significância das pessoas na nossa trajetória. Primeiro de tudo, gostaria de agradecer a Deus por me guiar, iluminar e me dar tranquilidade para seguir em frente com os meus objetivos e não desanimar com as dificuldades.

Meus agradecimentos a minha orientadora Prof. Dra Mariana Buranela Egea, pelo carinho, atenção e pela amizade. Saliento o apoio incondicional prestado, a forma interessada, extraordinária e pertinente como acompanhou a realização deste trabalho. Agradeço também por me ajudar a tomar decisões, mostrar que só precisamos de oportunidades e força de vontade. Sou imensamente grato por toda dedicação a mim, não há como retribuir tudo o que fez.

À minha coorientadora Geovana Plácido Rocha por todo apoio e auxílio.

À minhas amigas Tainara, Mirella e Daiane pelo auxílio nas análises do projeto.

À toda minha família e meus amigos, pelo apoio.

Ao Instituto Federal Goiano – Campus Rio Verde e ao Programa de Pós-Graduação em Tecnologia de Alimentos, por proporcionarem a oportunidade de me especializar.

À CAPES, pelo incentivo financeiro que foi fundamental para a realização desse estudo.

A todos que por mim passaram, levando um pouco de mim e deixando um pouco de si, contribuindo de alguma forma para a conclusão deste.

Gratidão!

BIOGRAFIA DO AUTOR

Josemar Gonçalves de Oliveira Filho nasceu em Formosa, Estado de Goiás, no dia 22 de agosto de 1994. Ao concluir os estudos secundários, em 2012 foi admitido no Instituto Federal de Brasília, Campus Planaltina no curso de nível técnico em Agroindústria. No mesmo ano, continuou seus estudos na mesma instituição no curso superior de Agroecologia.

No primeiro semestre de 2021 foi admitido no Programa de Pós-Graduação em Tecnologia de Alimentos, a nível de mestrado, pelo Instituto Federal Goiano, Campus Rio Verde. Participou de atividades dos Laboratórios de Biocompostos e Bioprocessos, onde executou seu projeto de mestrado envolvendo a produção de filmes bioativos.

ÍNDICE

1. INTRODUÇÃO	16
1.1. Filmes comestíveis com potencial bioativo para alimentos	17
1.2. Microrganismos probióticos.....	18
1.2.1. <i>Saccharomyces boulardii</i>	19
1.3. Frutos nativos do Cerrado: mangaba (<i>Hancornia speciosa</i>)	20
2. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	22
CAPÍTULO I – Embalagem bioativa para alimentos: filmes comestíveis bioativos baseados em alginato, polpa de mangaba (<i>Hancornia speciosa</i>) e <i>Saccharomyces boulardii</i>	28
1. Introdução	29
2. Materiais e métodos	30
3. Resultados e discussão.....	37
4. Conclusão.....	47
5. Referências	52
3. CONCLUSÃO GERAL.....	58

ÍNDICES DE TABELA

CAPÍTULO I

Tabela 1. Propriedades relacionadas à água de filmes à base de alginato (A) com cultura probiótica (*S. boulardii*) (CP) e suplementados com polpa de mangaba (PM) em concentrações de 10% (PM10), 20% (PM 20) ou 40% (PM 40) 38

Tabela 2. Propriedades de tensão de filmes à base de alginato (A) com cultura probiótica (*S. boulardii*) (CP) e suplementados com polpa de mangaba (PM) em concentrações de 10% (PM10), 20% (PM20) ou 40% (PM40) 39

Tabela 3. Atributos de cor e opacidade de filmes à base de alginato (A) com cultura probiótica (*S. boulardii*) (CP) e suplementados com polpa de mangaba (PM) em concentrações de 10% (PM10), 20% (PM20) ou 40% (PM40) 41

ÍNDICES DE FIGURAS

CAPÍTULO I

Figura 1. Taxa de transmissão de luz dos filmes	44
Figure 2. FTIR	45
Figura 3. Curvas de TGA e DTG	46
Figura 4. Carotenoides totais (A) e vitamina C (ácido ascórbico) nos filmes de alginato	47
Figura 5. Compostos fenólicos totais (A) e atividade antioxidante nos filmes de alginato avaliados pelos métodos DPPH (B), ABTS (C) e FRAP (D)	48
Figura 6. Viabilidade celular de <i>S. boulardii</i> após secagem dos filmes (A) e números de células viáveis de <i>S. boulardii</i> durante o tempo de armazenamento a 4 °C (B) e a 25 °C (C)	51

LISTA DE SÍMBOLOS, SIGLAS, ABREVIACÕES E UNIDADES

DPPH	2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl
FRAP	Ferric reducing antioxidant power
ABTS	2,2'-azino-bis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulphonic acid)
PM	Polpa de mangaba
TROLOX	6-hidroxi-2,5,7,8-tetrametilcroman-2-carboxílico
TPTZ	2,4,6-tripiridil-S-triazina
A	Alginato
CP	Cultura probiótica
FTIR	Infravermelho por transformada de Fourier
TGA	Termogravimetria
DTA	análise térmica diferencial
DTG	Termogravimetria derivada
UV	Ultravioleta
TTVA	Taxa de transmissão de vapor d'água
PVA	Permeabilidade ao vapor d'água

RESUMO

OLIVEIRA FILHO, JOSEMAR GONÇALVES DE. Instituto Federal Goiano – Campus Rio Verde – GO, fevereiro de 2022. **Filmes comestíveis bioativos baseados em alginato, polpa de mangaba (*Hancornia speciosa*) e *Saccharomyces boulardii*.** DSc. Orientador: DSc. Mariana Buranelo Egea. Coorientadores: DSc. Geovana Plácido Rocha, DSc. Tatiane Colombo Pimentel.

Na última década têm crescido o interesse em filmes comestíveis baseados em biopolímeros para aplicação como materiais de embalagem para alimentos, devido à natureza biodegradável, não tóxica e biocompatível desses materiais. Os filmes comestíveis além de suas propriedades de barreira passiva, podem atuar como carreadores de compostos bioativos com propriedades funcionais como probióticos, prebióticos e polpas de frutas, podendo proporcionar efeitos benéficos para saúde dos consumidores. Neste contexto, o objetivo desta pesquisa foi desenvolver filmes comestíveis bioativos baseados em alginato, polpa de mangaba (*Hancornia speciosa*) e na levedura probiótica *Saccharomyces boulardii* para aplicação como material de embalagem de alimentos. Os filmes foram elaborados com base em alginato (1,5%), glicerol (0,6g/g de biopolímero), *S. boulardii* (9 log UFC/g) e polpa de mangaba (0-40%), e avaliados com relação em suas propriedades relacionadas à água, físico-mecânicas, ópticas, térmicas, teor de compostos bioativos, atividade antioxidante e viabilidade probiótica. A adição da polpa de mangaba melhorou as propriedades relacionadas a água, de tensão e térmicas dos filmes que apresentaram menor conteúdo de umidade, solubilidade em água e permeabilidade ao vapor de água, e maior estabilidade térmica, resistência à tração e alongamento na ruptura. O aumento da concentração de polpa de mangaba na solução filmogênica tornou os filmes mais escuros, com tons amarelos e mais saturados. A adição da levedura probiótica e/ou polpa de mangaba tornou os filmes mais opacos e melhorou suas propriedades de barreira a luz ultravioleta e visível. A incorporação da polpa de mangaba na suspensão filmogênica incorporou compostos bioativos e capacidade antioxidante aos filmes. As matrizes foram capazes de proteger as células probióticas durante a formação dos filmes, e durante o armazenamento aqueles filmes elaborados com polpa de mangaba e armazenados à 4°C apresentaram a maior viabilidade da levedura probiótica. Assim, esses filmes representam novos materiais bioativos com potencial aplicação como materiais de embalagem de alimentos.

PALASVRAS-CHAVE: probióticos, embalagens comestíveis, frutos do Cerrado, alimentos funcionais.

ABSTRACT

OLIVEIRA FILHO, JOSEMAR GONÇALVES DE. Federal Institute Goiano - Rio Verde Campus - GO, April 2022. **Bioactive edible films based on alginate, mangaba pulp (*Hancornia speciosa*) and *Saccharomyces boulardii*.** DSc. Advisor: Dsc. Mariana Buranelo Egea. Co-advisors: DSc.Geovana placido, DSc.Tatiane Pimentel.

In the last decade, interest in edible and biodegradable films based on biopolymers for application as food packaging materials has grown, due to the biodegradable, non-toxic and biocompatible nature of these materials. Edible films, in addition to their passive barrier properties, can act as carriers of bioactive compounds with functional properties such as probiotics, prebiotics and fruit pulps, which can provide beneficial effects for the health of consumers. In this context, the objective of this research was to develop edible films based on alginate, mangaba pulp (*Hancornia speciosa*) and the probiotic yeast *Saccharomyces boulardii* for application as food packaging material. The films were prepared based on alginate (1.5%), glycerol (0.6g/g of biopolymer), *S. boulardii* (9 log CFU/g) and mangaba pulp (0-40%) and evaluated in relation to its properties related to water, physical-mechanical, optical, thermal, content of bioactive compounds, antioxidant activity and probiotic viability. The addition of mangaba pulp improved the water-related, tensile and thermal properties of the films that showed lower moisture content, water solubility, water vapor permeability, thermal stability and tensile strength and elongation at break. The increase in the concentration of mangaba pulp in the film-forming solution made the films darker, with yellow tones and more saturated, visible to the naked eye, which can be attractive for the preparation of food packaging. The addition of probiotic yeast and/or mangaba pulp made the films opaquer and more improved their barrier properties to ultraviolet and visible light. Incorporation of mangaba pulp in the filmogenic suspension incorporated bioactive compounds and antioxidant capacity to the resulting films. Films were able to protect the probiotic cells during film formation, and during storage those films made with mangaba pulp and stored at 4°C showed the highest viability of the probiotic yeast during storage. Thus, these films represent new bioactive materials with potential application as food packaging materials.

KEYWORDS: probiotics, edible packaging, Cerrado fruits, functional foods.

1. INTRODUÇÃO

A embalagem desempenha um papel importante na contenção e preservação de alimentos. No entanto, os materiais utilizados em sua fabricação, principalmente os derivados do petróleo, são de difícil reciclagem e considerados não biodegradáveis, o que resulta em impacto negativo ao meio ambiente com aumento dos níveis de poluição e desequilíbrio ambiental (Weber Macena et al., 2021). Para minimizar o impacto negativo das embalagens de alimentos no meio ambiente, é necessário, além dos avanços no desenvolvimento de métodos mais eficientes de reciclagem desses produtos, identificar novas alternativas de materiais de embalagem sustentáveis e/ou biodegradáveis, que sejam simultaneamente eficientes para a proteção de alimentos e têm impacto ambiental negativo mínimo ou nenhum (Moshood et al., 2022).

Os filmes de biopoliméricos comestíveis e/ou biodegradáveis são alternativas biodegradáveis e não tóxicas aos polímeros derivados do petróleo, e têm despertado o interesse da comunidade científica (Oliveira Filho et al., 2019). Os filmes comestíveis são definidos como comestíveis camadas finas feitas de materiais de origem alimentar capazes de fornecer uma barreira contra gases, umidade e movimento de solutos nos alimentos. Os materiais de filme comestível são substitutos potenciais para materiais de embalagem tradicionais à base de petróleo devido às suas excelentes propriedades, como biocompatibilidade, comestibilidade e ampla gama de aplicações (Maan et al., 2021). Filmes comestíveis são feitos de macromoléculas orgânicas, geralmente proteínas e polissacarídeos ou uma mistura de ambos e um plastificante. Os plastificantes são adicionados aos filmes comestíveis para melhorar a flexibilidade e processabilidade dos polímeros, diminuindo a temperatura de transição de segunda ordem, a temperatura de transição vítrea (Vieira et al., 2011).

Filmes comestíveis para alimentos, além de sua função protetora passiva, também podem desempenhar um papel bioativo no transporte de compostos de interesse para a saúde humana. Nos últimos anos, uma nova geração de embalagens de alimentos comestíveis foi desenvolvida para incorporar ingredientes funcionais que podem ter efeitos benéficos à saúde dos consumidores (Espítia et al., 2016). Filmes e revestimentos bioativos auxiliam na produção de alimentos funcionais, impactando diretamente na saúde do consumidor e criando alimentos saudáveis (Oliveira Filho et al., 2021). Diferentes compostos funcionais como antioxidantes, corantes, aromatizantes, polpas de

frutas, probióticos, prebióticos e agentes antimicrobianos podem ser incorporados em filmes e revestimentos comestíveis (Pereira et al., 2016). A incorporação de probióticos em filmes comestíveis tem se mostrado uma abordagem adequada para aumentar sua sobrevivência após desidratação, armazenamento e processamento (Oliveira-Alcântara et al., 2020, Karimi et al., 2020). Os probióticos são microrganismos vivos que podem promover benefícios à saúde do hospedeiro se administrados em quantidades adequadas (Khodaei & Hamidi-Esfahani, 2019). *S. boulardii* é reconhecido como um probiótico com propriedades bioterapêuticas consideráveis. A viabilidade desta levedura é altamente dependente das condições ambientais durante o armazenamento (Duongthingoc et al., 2014).

A produção de filmes bioativos utilizando polpa de frutas também tem atraído a atenção da comunidade científica, devido à rica composição de compostos bioativos presente nas frutas, e a possibilidade de redução das perdas pós-colheita/desperdício de frutas (Matheus et al., 2021). Além disso, os filmes feitos com polpa de frutas muitas vezes preservam as características sensoriais da fruta, um atrativo adicional em relação a outros produtos inodoros e incolores (Martelli, Barros & Assis 2014). Os filmes elaborados a partir de polpa de frutas apresentam bons resultados em termos de propriedades mecânicas e barreira de gás (Rojas-Grau et al., 2006).

Neste sentido, o objetivo deste estudo foi desenvolver filmes comestíveis baseados em alginato, polpa de mangaba (*H. speciosa*) e *S. boulardii* para aplicação como material de embalagem comestível para alimentos.

1.1. Filmes comestíveis com potencial bioativo para alimentos

As embalagens tradicionais de alimentos, embora cumpram seu objetivo principal, impactam negativamente o meio ambiente (Heller, Selke, & Keoleian, 2019). Isso ocorre porque a maioria das embalagens atualmente em uso são compostas principalmente de filmes plásticos que não são biodegradáveis e são difíceis de reciclar (Dilkes-Hoffman et al., 2018). Na natureza, o acúmulo irrestrito de resíduos plásticos descartados principalmente em ecossistemas marinhos perturba o equilíbrio ecológico entre as espécies e aumenta os níveis de poluição (Paço et al., 2019). Para evitar mais danos, além de melhorar os métodos de reciclagem, alternativas mais sustentáveis são necessárias para projetar embalagens de alimentos que sejam ecologicamente corretas e ao mesmo tempo eficazes (Dilkes-Hoffman, et al., 2018).

O aumento da poluição ambiental causada pelos resíduos plásticos tem direcionado os esforços de pesquisa científica e industrial para a busca de polímeros biodegradáveis alternativos. Os filmes comestíveis e biodegradáveis são produzidos a partir de biopolímeros comestíveis que podem ser consumidos com alimentos (Zibaei et al., 2021). Embora os filmes comestíveis não possam substituir totalmente as embalagens convencionais (de plástico), eles são alternativas verdes e inovadoras que reduzem efetivamente o consumo de plásticos (Mohamed et al., 2020).

Vários biopolímeros, como polissacarídeos, proteínas, lipídeos ou uma combinação desses materiais são usados para produzir os filmes comestíveis. Os polissacarídeos têm recebido mais atenção devido às propriedades especiais, como a capacidade de formar um bom filme, maior abundância relativa e qualidade nutricional. Polissacarídeos como alginato, ágar, xantana, carragena, guar, pectina e goma de alfarroba têm sido amplamente utilizadas para produzir filmes comestíveis (Razavi, 2019).

Entre os polímeros biodegradáveis, o alginato é um polissacarídeo linear, extraído de algas marrons, que consiste em moléculas de ácido β -D-manurônico e ácido α -L-gulurônico ligadas por 1-4 ligações glicosídicas (Xiao, 2018). Este polissacarídeo é capaz de formar filmes atóxicos, biocompatíveis e baratos (Vu & Won, 2013). Filmes de alginato podem ser usados como veículo para componentes bioativos, produzindo embalagens bioativas.

Os filmes bioativos surgiram como uma nova metodologia, trazendo uma abordagem inovadora para o uso de alimentos funcionais associados a estratégias sustentáveis (Pavli et al., 2018). Esse tipo de tecnologia é voltado para consumidores que se preocupam com os aspectos de saúde e nutricionais, além dos impactos ambientais (Oliveira Filho et al., 2021). Essas embalagens são comestíveis e contêm substâncias bioativas, como prebióticos, probióticos, óleos marinhos e flavonóides (Lopez-Rubio, Gavara, & Lagaron, 2006), que promovem a saúde do consumidor (Arroyo et al., 2019).

1.2. Microrganismos probióticos

Probióticos são definidos como microrganismos vivos que, quando administrados em quantidades suficientes, proporcionam benefícios à saúde do hospedeiro (FAO, 2021); e por esse motivo, esses microrganismos ganharam relevância em diversas áreas (Stavropoulou & Bezirtzoglou, 2020). Os microrganismos probióticos têm a capacidade

de resistir aos ácidos biliares e estomacais e, quando atingem o intestino, demonstram adesão as células epiteliais ou mucosas, resistência antimicrobiana, atividade antagônica contra patógenos, bem como as atividades antimutagênica e anticarcinogênica (Brasiel et al., 2020).

Os probióticos podem ser encontrados e consumidos na forma de pós/líquidos, grânulos, géis e pastas, mas geralmente estão presentes na forma de cápsulas e sachês. Esses microrganismos são usados na forma de suplementos nutricionais, como produtos farmacêuticos, ou encontrados em uma variedade de alimentos (Saxelin et al., 2005). Para garantir que possam produzir efeitos benéficos à saúde quando adicionados aos alimentos, os probióticos devem ter uma viabilidade superior a 10^6 unidades formadoras de colônias (UFC)/g na matriz do alimento (FAO, 2021).

A ingestão de microrganismos probióticos tem sido associada a diversos efeitos benéficos à saúde, como estimulação do crescimento da microbiota intestinal, supressão de infecções patogênicas, síntese de vitaminas necessárias, melhora da resposta imune, regulação do processo fisiológico e produção de substâncias antimicrobianas que eliminam bactérias patogênicas (Dimitrellou et al., 2016).

Os gêneros *Lactobacillus* e *Bifidobacterium* são os principais gêneros tradicionais de probióticos considerados seguros e há muito tempo usados para o desenvolvimento de alimentos probióticos (Viderola et al., 2017). As cepas probióticas comumente usadas são *Escherichia coli* Nissle 1917 e *Saccharomyces boulardii*, bem como espécies pertencentes à Gêneros *Lactobacillus* e *Bifidobacterium*, como *Lactobacillus reuteri*, *Lactobacillus casei*, *Lactobacillus rhamnosus*, *Bifidobacterium infantis* e *Bifidobacterium breve* (Fijan et al., 2014).

1.2.1. *Saccharomyces boulardii*

Saccharomyces cerevisiae var. *boulardii* (*S. boulardii*) foi isolada pela primeira vez da lichia por Henri Boulardii em 1923. A *S. boulardii*, dessa forma, é reconhecida como o único microrganismo de origem vegetal com propriedades probióticas, que é utilizado, atualmente, em todo o mundo, sendo classificada como um subtipo da espécie *Saccharomyces cerevisiae* (Pereira et al., 2021).

A *S. boulardii* é considerada um ótimo agente probiótico, por apresentar capacidade de sobreviver ao trato gastrointestinal, a temperatura corporal (37 °C), a microbiota do intestino e aos ácidos estomacais e biliares (Capece et al., 2018). Além disso, a levedura *S. boulardii* tem demonstrado potencial em proteger o trato

gastrointestinal de processos inflamatórios, com eficácia clínica e experimental, por intermédio de modulação do sistema imunológico (McFarland et al., 1995).

1.3. Frutos nativos do Cerrado: mangaba (*Hancornia speciosa*)

O Brasil possui grande biodiversidade em toda a sua extensão territorial que pode representar uma fonte de compostos bioativos promotores da saúde (Valli & Bolzani 2019). Estima-se que em solo brasileiro existam aproximadamente 55 milhões de espécies de plantas, o que representa 20% do total mundial de espécies conhecidas. O bioma Cerrado é o segundo maior bioma dos seis biomas presentes no Brasil cobrindo 22% da área territorial brasileira (Zuin, 2020). O Cerrado brasileiro é considerado um *hotspot* devido à perda acelerada da diversidade biológica - menos de 30% de sua vegetação natural remanescente - causada pela urbanização, agricultura e pecuária (Damasco et al., 2018).

No Cerrado brasileiro existem inúmeras frutas nativas, ricas em vitaminas, minerais e diversos metabólitos secundários, que têm recebido atenção pela capacidade de proteger o corpo humano contra o estresse oxidativo e auxiliar na prevenção de doenças crônico-degenerativas (Bailão et al., 2015). Por apresentarem alto valor nutricional e características sensoriais atrativas, essas frutas são alvo de extração pelas comunidades locais e, posteriormente, são comercializadas no comércio local e informal nas propriedades rurais para consumo in natura ou processadas manualmente, resultando em produtos como licores, picolés, sorvetes e geleias. Um grande desafio para a ciência é explorar esse patrimônio de forma sustentável, ou seja, preservando o meio ambiente e garantindo o crescimento econômico de pequenas e médias empresas e cooperativas (Zuin, 2020). Além disso, sabe-se que a utilização sustentável dos biomas contribui para o aumento da renda da população local (Bortolotto et al., 2017).

H. speciosa Gomes, popularmente conhecida como “mangabeira”, é uma árvore frutífera nativa da flora brasileira pertencente à família Apocynaceae, encontrada no bioma Cerrado e no litoral do Nordeste brasileiro (Monachino, 1945). A fruta de *H. speciosa*, a mangaba, é utilizada na alimentação das populações locais, além de ser utilizada na indústria de alimentos principalmente para a produção de sucos, geleias e sorvetes, desempenhando um papel importante na economia local. Os frutos aparecem como bagas amarelas com pequenas e grandes manchas vermelhas, têm polpa doce-ácida e amadurecem de outubro a março (Lorenzi et al., 2006). Embora a árvore produza látex

que sensorialmente não é apreciado, as frutas são o principal produto e são consideradas uma boa fonte de minerais e vitaminas (Reis & Schmiele 2019).

A polpa da mangaba representa 77% da composição do fruto, enquanto a casca e a semente representam uma quantidade menor com 11% e 12%, respectivamente (Narain, França & Neta 2018); tem teor de proteína de 0,7-1,2 g/100 g e baixo teor de lipídios de 1,3-1,7 g/100 g; e é rico em ácidos graxos palmítico (29%), oleico (12%), linoléico (18%) e linolênico (8%) (Narain, França & Neta 2018). Além disso, a mangaba contém cálcio (8,52 mg/100 g), zinco (0,12 mg/100 g) (Almeida et al. 2011), fósforo (18 mg) e ferro (2,8 mg) (Oliveira e Rocha 2008). O alto teor de ferro caracteriza essa fruta como uma das mais ricas nesse nutriente, além de ser fonte de vitamina C (93,3-474,1 mg/100 g) (Rufino et al. 2010; Almeida et al., 2011), apresentando valores superiores aos encontrados no suco de laranja (De Ancos et al., 2020). A presença de vitamina C junto com ferro nesta fruta pode aumentar a biodisponibilidade e absorção de ferro pelo organismo (Narain, França & Neta 2018).

A fruta mangaba possui compostos fenólicos (ácidos fenólicos e flavonóides) (Almeida et al. 2011), que contribuem para sua capacidade de eliminar os radicais livres, dependendo da posição dos grupos hidroxila na molécula (Minatel et al., 2017), como a seguir: IC₅₀ de 890 g/g (método DPPH), 65,6 µmol Trolox/g (método ABTS), 163,0 µmol Fe₂SO₄/g (método FRAP), e 34,7% de inibição de oxidação (método de branqueamento de β-caroteno) (Rufino et al. 2010). Os principais compostos fenólicos e ácidos orgânicos descritos para polpa de mangaba são L-bornesitol, ácido quínico, ácido ascórbico, ácido clorogênico, ácido isoclorogênico, ácido 3-feruloilquínico, rutina, ácido 5-feruloilquínico, quercetina-3-O-hexosídeo, kaempferol- rutinosídeo, kaempferolhexósido, isorhamnetina-3-O-rutinosídeo e quercetina (de Oliveira Yamashita et al. 2020). Os compostos fenólicos com maior bioatividade descritos na polpa da mangaba são a rutina e o ácido clorogênico (Figura 1) (Torres-Rêgo et al. 2016).

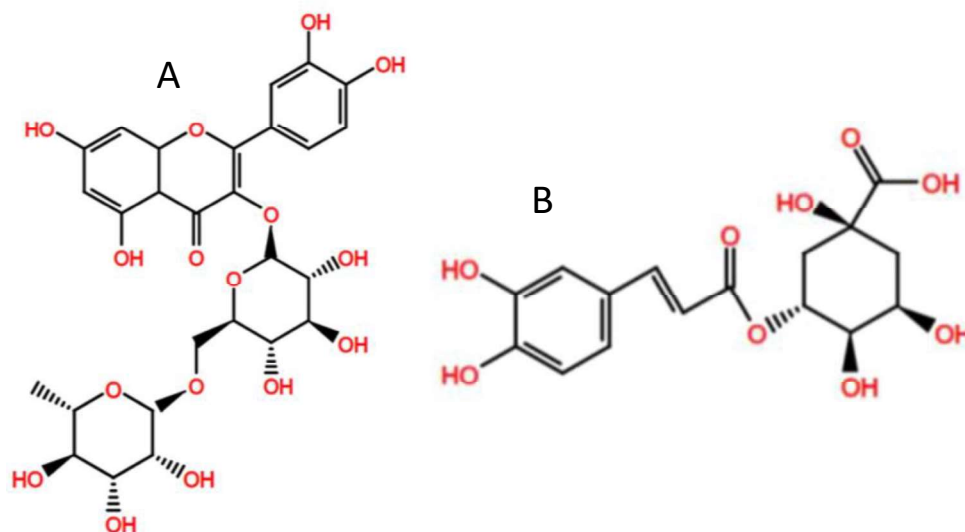


Figura 1. Estrutura química da rutina (A) e ácido clorogênico (B).

2. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Almeida, M. M. B., P. H. M. de Sousa, Â. M. C. Arriaga, G. M. do Prado, C. E. de Carvalho Magalhães, G. A. Maia, and T. L. G. de Lemos. 2011. Bioactive compounds and antioxidant activity of fresh exotic fruits from northeastern Brazil. *Food Research International* 44 (7):2155–9.
- Arroyo, B., Santos, A., de Melo, E. d. A., Campos, A., Lins, L., & Boyano-Orozco, L. (2019). Bioactive compounds and their potential use as ingredients for food and its application in food packaging. In *Bioactive Compounds* (pp. 143-156): Elsevier.
- Bailão, E. F. L. C., I. A. Devilla, E. C. Da Conceição, and L. L. Borges. 2015. Bioactive compounds found in Brazilian Cerrado fruits. *International Journal of Molecular Sciences* 16 (10):23760–83. doi: 10.3390/ijms161023760.
- Bortolotto, I. M., P. A. Hiane, I. H. Ishii, P. R. de Souza, R. P. Campos, R. Juraci Bastos Gomes, C. da Silva Farias, F. M. Leme, R. do Carmo de Oliveira Arruda, L. B. de Lima Corrêa da Costa, et al. 2017. A knowledge network to promote the use and valorization of wild food plants in the Pantanal and Cerrado. *Regional Environmental Change* 17 (5):1329–41.
- Brasiel PdA, Dutra Luquetti S, Peluzio MdC, Novaes R, Gonçalves R. Preclinical Evidence of Probiotics in Colorectal Carcinogenesis: A Systematic Review. *Digestive Diseases and Sciences*. 2020/11/01 2020;65(11):3197-3210. doi:10.1007/s10620-020-06062-3

- Damasco, G., C. Fontes, R. Franoso, and R. Haidar. 2018. The Cerrado biome: A forgotten biodiversity hotspot. *Frontiers for Young Minds* 6:22.
- de Oliveira Yamashita, F., Torres-Ręgo, M., dos Santos Gomes, J. A., Fęlix-Silva, J., Passos, J. G. R., de Santis Ferreira, L., ... & de Freitas Fernandes-Pedrosa, M. (2020). Mangaba (*Hancornia speciosa* Gomes) fruit juice decreases acute pulmonary edema induced by *Tityus serrulatus* venom: Potential application for auxiliary treatment of scorpion stings. *Toxicon*, 179, 42-52.
- Dilkes-Hoffman, L., Lane, J., Grant, T., Pratt, S., Lant, P., & Laycock, B. (2018). Environmental impact of biodegradable food packaging when considering food waste. *Journal of Cleaner Production*, 180, 325-334.
- Dimitrellou D, Sidira M, Charalampopoulos D, et al. Effect of Cell Immobilization on Properties of Presumptive Probiotics. *Emerging and Traditional Technologies for Safe, Healthy and Quality Food*. 2016:257-268.
- Duongthingoc, D., George, P., Katopo, L., Gorczyca, E., & Kasapis, S. (2013). Effect of whey protein agglomeration on spray dried microcapsules containing *Saccharomyces boulardii*. *Food chemistry*, 141(3), 1782-1788.
- Espitia, P. J., Batista, R. A., Azeredo, H. M., & Otoni, C. G. (2016). Probiotics and their potential applications in active edible films and coatings. *Food Research International*, 90, 42-52.
- FAO/WHO. Report Guidelines for the evaluation of probiotics in food: Report of a joint FAO/WHO working group on drafting guidelines for the evaluation of probiotics in food. Accessed August 5, 2021.
- Fijan S. Microorganisms with claimed probiotic properties: an overview of recent literature. *Int J Environ Res Public Health*. 2014;11(5):4745-4767.
- Heller, M., Selke, S., & Keoleian, G. (2019). Mapping the influence of food waste in food packaging environmental performance assessments. *Journal of Industrial Ecology*, 23, 480-495.
- Karimi, N., Alizadeh, A., Almasi, H., & Hanifian, S. (2020). Preparation and characterization of whey protein isolate/polydextrose-based nanocomposite film incorporated with cellulose nanofiber and *L. plantarum*: A new probiotic active packaging system. *LWT*, 121, 108978.

- Khodaei, D., & Hamidi-Esfahani, Z. (2019). Influence of bioactive edible coatings loaded with *Lactobacillus plantarum* on physicochemical properties of fresh strawberries. *Postharvest Biology and Technology*, 156, 110944.
- Lopez-Rubio, A., Gavara, R., & Lagaron, J. (2006). Bioactive packaging: turning foods into healthier foods through biomaterials. *Trends in Food Science & Technology*, 17, 567-575.
- Lorenzi, H., L. Bacher, M. Lacerda, and S. Sartori. 2006. Frutas brasileiras e exóticas cultivadas (de consumo in natura) [Brazilian and exotic cultivated fruits (for fresh consumption), 640. São Paulo: Instituto plantarum de estudos da Flora.
- Maan AA, Ahmed ZFR, Khan MKI, Riaz A, Nazir A: Aloe vera gel, an excellent base material for edible films and coatings. *Trends in Food Science & Technology* 2021, 116:329-341.
- Martelli, M. R., T. T. Barros, and O. B. G. Assis. 2014. Filmes de polpa de banana produzidos por batelada: Propriedades mec^anicas e colorac,~ao [Banana pulp films produced by batch: Mechanical properties and coloration. *Pol ímeros Ci^encia e Tecnologia* 24 (1):137–42. doi: 10.4322/polimeros.2014.062
- Matheus, J. R. V., Miyahira, R. F., & Fai, A. E. C. (2021). Biodegradable films based on fruit puree: A brief review. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 61(12), 2090-2097.
- Mohamed, S. A., El-Sakhawy, M., & El-Sakhawy, M. A. M. (2020). Polysaccharides, protein and lipid-based natural edible films in food packaging: A review. *Carbohydrate Polymers*, 238, 116178.
- Monachino, J. 1945. A revision of *Hancornia* (Apocynaceae). *Lilloa* 11:19–48
- Moreno, O., Atarés, L., & Chiralt, A. (2015). Effect of the incorporation of antimicrobial/antioxidant proteins on the properties of potato starch films. *Carbohydrate polymers*, 133, 353-364.
- Moshood, T. D., Nawanir, G., Mahmud, F., Mohamad, F., Ahmad, M. H., & AbdulGhani, A. (2022). Sustainability of biodegradable plastics: New problem or solution to solve the global plastic pollution?. *Current Research in Green and Sustainable Chemistry*, 100273.
- Narain, N., F. R. M. França, and M. T. S. L. Neta. 2018. Mangaba—*Hancornia speciosa*. In *Exotic fruits*, ed. S. Rodrigues, E. de Oliveira Silva and E. S. de Brito, 305–318. Cambridge, MA: Academic Press.

- Oliveira Filho J, Rodrigues J, Valadares A, Almeida A, Lima T, Takeuchi K, Alves C, Sousa H, Silva E, Dyszy F, et al.: Active food packaging: Alginate films with cottonseed protein hydrolysates. *Food Hydrocolloids* 2019, 92:267-275.
- Oliveira Filho, J. G., Braga, A. R. C., de Oliveira, B. R., Gomes, F. P., Moreira, V. L., Pereira, V. A. C., & Egea, M. B. (2021). The potential of anthocyanins in smart, active, and bioactive eco-friendly polymer-based films: A review. *Food Research International*, 142, 110202.
- Oliveira-Alcântara, A. V., Abreu, A. A. S., Gonçalves, C., Fuciños, P., Cerqueira, M. A., Gama, F. M., ... & Azeredo, H. M. (2020). Bacterial cellulose/cashew gum films as probiotic carriers. *Lwt*, 130, 109699.
- Paço, A., Jacinto, J., da Costa, J., Santos, P., Vitorino, R., Duarte, A., & Rocha-Santos, T. (2019). Biotechnological tools for the effective management of plastics in the environment. *Critical Reviews in Environmental Science and Technology*, 49, 410-441
- Pavli, F., Tassou, C., Nychas, G.-J., & Chorianopoulos, N. (2018). Probiotic incorporation in edible films and coatings: Bioactive solution for functional foods. *International journal of molecular sciences*, 19, 150.
- Razavi, S. M. (Ed.). (2019). *Emerging natural hydrocolloids: rheology and functions*. John Wiley & Sons.
- Reis, A., and M. Schmiele. 2019. Characteristics and potentialities of Savanna fruits in the food industry. *Brazilian Journal of Food Technology* 22:e2017150.
- Rojas-Grau, M. A., R. J. Avena-Bustillos, M. Friedman, P. R. Henika, plant essential oils. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 54 (24):9262–7. doi: 10.1021/jf061717u.
- Rufino, M. D S. M., R. E. Alves, E. S. de Brito, J. Pérez-Jiménez, F. Saura-Calixto, and J. Mancini-Filho. 2010. Bioactive compounds and antioxidant capacities of 18 non-traditional tropical fruits from Brazil. *Food Chemistry* 121 (4):996–1002.
- Rufino, M., Alves, R., De Brito, E.S., De Moraes, S.M, Sampaio, C.G., Pérez-Jiménez, J.E., & Saura-Calixto, F.D. (2006). Metodologia científica: determinação de atividade antioxidante total em frutas pelo método de redução de ferro (FRAP). Comunicado Técnico on line. EMBRAPA, Fortaleza
- Saxelin M, Tynkkynen S, Mattila-Sandholm T, de Vos W. Probiotic and other functional microbes: from markets to mechanisms. *Current Opinion in Biotechnology*. 2005;16(2):204-211.

Stavropoulou E, Bezirtzoglou E. Probiotics in medicine: a long debate. *Frontiers in Immunology*. 2020;11:2192.

Torres-Rêgo, M., A. A. Furtado, M. A. O. Bitencourt, M. C. J. D S. Lima, R. C. L. C. D Andrade, E. P. D Azevedo, T. D C. Soares, J. C. Tomaz, N. P. Lopes, A. A. da Silva-Júnior, et al. 2016. Anti-inflammatory activity of aqueous extract and bioactive compounds identified from the fruits of *Hancornia speciosa* Gomes (Apocynaceae). *BMC Complementary and Alternative Medicine* 16 (1):275. nt of scorpion stings. *Toxicon* 179:42.

Valli, M., and V. Bolzani. 2019. Natural products: Perspectives and challenges for use of Brazilian plant species in the bioeconomy. *Anais da Academia Brasileira de Ciências* 91 (suppl 3): e20190208.

Vieira MGA, da Silva MA, dos Santos LO, Beppu MM: Natural-based plasticizers and biopolymer films: A review. *European polymer journal* 2011, 47:254-263.

Weber Macena, M., Carvalho, R., Cruz-Lopes, L. P., & Guiné, R. P. (2021). Plastic food packaging: perceptions and attitudes of Portuguese consumers about environmental impact and recycling. *Sustainability*, 13(17), 9953.

Xiao, Q. (2018). Drying process of sodium alginate edible films forming solutions studied by LF NMR. *Food chemistry*, 250, 83-88.

Zibaei, R., Hasanvand, S., Hashami, Z., Roshandel, Z., Rouhi, M., de Toledo Guimarães, J., ... & Mohammadi, R. (2021). Applications of emerging botanical hydrocolloids for edible films: A review. *Carbohydrate polymers*, 256, 117554.

Zuin, V. 2020. What can be learnt from the Brazilian Cerrado? In *Biomass burning in sub-Saharan Africa*, ed. L. Mammino, 143–160. Dordrecht: Springer.

3. OBJETIVOS

2.1. Objetivo Geral

Desenvolver filmes comestíveis baseados em alginato, polpa de mangaba (*H. speciosa*) e *S. boulardii* para aplicação como material de embalagem comestível para alimentos.

2.2. Objetivos Específicos

- Desenvolver filmes comestíveis baseados alginato, polpa de mangaba (*H. speciosa*) e *S. boulardii*;
- Caracterizar os filmes bioativos em relação às propriedades físico-mecânicas, térmicas e ópticas
- Avaliar a atividade antioxidante e teor de compostos bioativos presentes nos filmes;
- Avaliar a viabilidade da cepa probiótica nos filmes durante o período de armazenamento.

CAPÍTULO I – Embalagem bioativa para alimentos: filmes comestíveis baseados em alginato, polpa de mangaba (*Hancornia speciosa*) e *Saccharomyces boulardii*

(Normas de acordo com a revista Food Research International)

RESUMO

Nos últimos anos têm crescido o interesse em filmes comestíveis bioativos que além de suas propriedades de barreira passiva, podem atuar como carreadores de compostos bioativos com propriedades funcionais como probióticos e polpas de frutas, podendo proporcionar efeitos benéficos para saúde dos consumidores. Neste contexto, o objetivo desta pesquisa foi desenvolver filmes comestíveis baseados em alginato, polpa de mangaba (*Hancornia speciosa*) e na levedura probiótica *Saccharomyces boulardii* para aplicação como material de embalagem de alimentos. Os filmes foram elaborados utilizando alginato (1,5%), glicerol (0,6g/g de biopolímero), *S. boulardii* (9 log UFC/g) e polpa de mangaba (10-40%), e avaliados com relação as suas propriedades relacionadas à água, físico-mecânicas, ópticas, térmicas, teor de compostos bioativos, atividade antioxidante e viabilidade probiótica. A adição da polpa de mangaba melhorou as propriedades relacionadas a água, de tensão e térmicas dos filmes que apresentaram menor conteúdo de umidade, solubilidade em água e permeabilidade ao vapor de água, e maior estabilidade térmica, resistência à tração e alongamento na ruptura. O aumento da concentração de polpa de mangaba na solução filmogênica tornou os filmes mais escuros, com tons amarelos e mais saturados. A adição da levedura probiótica e/ou polpa de mangaba tornou os filmes mais opacos e melhorou suas propriedades de barreira a luz ultravioleta e visível. A incorporação da polpa de mangaba na suspensão filmogênica incorporou compostos bioativos e capacidade antioxidante aos filmes resultantes. As matrizes foram capazes de proteger as células probióticas durante a formação dos filmes, e durante o armazenamento aqueles filmes elaborados com polpa de mangaba e armazenados à 4°C apresentaram a maior viabilidade da levedura probiótica. Assim, esses filmes representam novos materiais bioativos com potencial aplicação como materiais de embalagem de alimentos.

Palavras-chave: probióticos, embalagens comestíveis, frutos do Cerrado, alimentos funcionais.

1. Introdução

A produção de filmes comestíveis e/ou biodegradáveis têm despertado um crescente interesse da comunidade científica em virtude da necessidade de reduzir o uso de polímeros derivados do petróleo que não são biodegradáveis, por materiais biodegradáveis e não tóxicos (Oliveira Filho et al., 2019). Os filmes comestíveis são materiais finos elaborados a partir de macromoléculas orgânicas, geralmente proteínas e polissacarídeos, adicionados de um agente plastificante (Viana et al., 2018).

Os filmes comestíveis são desenvolvidos para aplicações como envoltório de produtos alimentícios, agindo como camada protetora sem apelo nutricional e sensorial. Por outro lado, filmes com propriedades sensoriais podem ser desejáveis visando aplicações como envoltórios para sushis e sanduíches, filmes para separar crostas e coberturas de pizzas congeladas ou até sanduíches de filmes (Otoni et al., 2017).

Além de sua função protetora passiva, os filmes comestíveis para alimentos, também podem desempenhar algum papel bioativo no transporte de compostos de interesse para a saúde humana. Nos últimos anos, uma nova geração de embalagens para alimentos comestíveis foi especialmente desenvolvida para incorporar ingredientes funcionais que podem ter efeitos benéficos para a saúde do consumidor (Espitia et al., 2016).

Dentre os ingredientes funcionais, o interesse em microrganismos probióticos têm aumentado a cada ano em virtude de seus diversos efeitos benéficos para saúde. A levedura *Saccharomyces boulardii* é a única levedura probiótica disponível até agora no mercado com muitas características probióticas (Tomičić et al., 2016). A demanda por suplementos dietéticos contendo *S. boulardii* no mercado de probióticos tem aumentado devido aos diferentes efeitos terapêuticos das cepas de *S. boulardii* (Venugopalan, Shriner, & Wong-Beringer, 2010).

Alguns estudos foram realizados no desenvolvimento de filmes bioativos contendo probióticos (Oliveira-Alcântara et al., 2020, Karimi et al., 2020, Khodaei, Hamidi-Esfahani & Lacroix, 2020). Os filmes bioativos com probióticos podem ser utilizados como materiais auxiliares de embalagens, atuando como matrizes protetoras aos probióticos, e apresentando propriedades bioativas, contribuindo para a saúde do consumidor. Além disso, eles podem estender a estabilidade microbiana dos alimentos devido aos efeitos competitivos dos probióticos contra microrganismos deteriorantes (Oliveira-Alcântara et al., 2020).

Pesquisas recentes também têm demonstrado o potencial de purês ou sucos de frutas no desenvolvimento de filmes comestíveis para alimentos (Viana et al., 2018, Rangel-Marrón et al., 2019, Azeredo et al., 2012). De acordo com Viana et al. (2018) os componentes presentes em frutas e hortaliças podem atuar como matrizes ou comatrizes, como é o caso das fibras e dos açúcares que podem atuar como plastificantes. Além disso, as frutas são ricas em compostos bioativos e apresentam propriedades sensoriais desejáveis, o que favorece o seu uso no desenvolvimento de embalagens comestíveis.

No Cerrado brasileiro existem inúmeras frutas nativas, ricas em vitaminas, minerais e diversos metabólitos secundários, que têm recebido atenção pela capacidade de proteger o corpo humano contra o estresse oxidativo e auxiliar na prevenção de doenças crônico-degenerativas (Bailão et al. 2015). A mangaba é uma fruta nativa do Cerrado que apresenta uma composição rica em minerais como cálcio, zinco, fósforo e ferro, e compostos bioativos como vitamina C, compostos fenólicos e carotenoides entre outros, além de apresentar considerável atividade antioxidante (Santos et al., 2021).

Diante disso este estudo objetivou desenvolver filmes comestíveis baseados em alginato, polpa de mangaba (*Hancornia speciosa*) e *Saccharomyces boulardii* em para aplicação como material de embalagem de alimentos.

2. Materiais e métodos

2.1. Materiais

O alginato de sódio, 2,2-Difenil-picrilidrazilo (DPPH), 2-desoxirribose, 2,2'-azino-bis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulphonic acid) (ABTS), ácido 6-hidroxi-2,5,7,8-tetrametilcroman-2-carboxílico (Trolox), 2,4,6-tripiridil-S-triazina (TPTZ), o reagente de fenol de Folin & Ciocalteu e o ágar batata dextrose foram adquiridos da Sigma Chemical Co. (St. Louis, MO, EUA). A levedura *Saccharomyces boulardii* CNCM I-745 foi obtida do produto comercial Floratil®. Todos os outros solventes e produtos químicos utilizados foram de grau analítico.

2.2. Obtenção da polpa de mangaba

Os frutos da mangaba foram coletados manualmente no Instituto Federal Goiano, Campus Rio Verde de Rio Verde de Goiás (Goiás, Brasil) de outubro a novembro de 2020. Após a coleta, o material foi levado ao laboratório de Biocompostos e Bioprocessos do Instituto Federal Goiano - Campus Rio Verde, foram lavados, sanitizados (5 mL/L de

Hipoclorito de Sódio por 15 min), despulpados e armazenados sob refrigeração (-80°C) até a realização do experimento.

As polpas de frutos sob congelamento (a -80°C) foram liofilizadas em equipamento de bancada (Enterprise II, Terroni, São Carlos (SP), Brasil), a temperatura de -55°C . Elas foram dispostos em três porções de 150 g, em bandejas de metal (23 cm de comprimento x 8,5 cm de largura) em uma camada de massa de 2,0 cm de espessura. A polpa da mangaba liofilizada apresentou valores de pH de $4,3\pm 0,2$, acidez de $1,09\pm 0,1$ g de ácido cítrico/100 mL, sólidos solúveis totais de $9,85\pm 0,42$, teor de compostos fenólicos de $547\pm 1,08$ mg GAE 100g^{-1} , vitamina C de $231\pm 5,32$ mg/g, teor de carotenóides de $54,01\pm 0,22$ $\mu\text{g}/100\text{g}$ e atividade antioxidante pelos métodos DPPH de $80,74\pm 0,29\%$ e ABTS de $24,35\pm 0,22$ μg Trolox/ g de polpa.

2.3. Produção dos filmes

Os filmes foram preparados segundo método proposto por Bierhalz, Silva & Kieckbusch (2012) com modificações. Preparou-se uma solução formadora de filme de alginato (1,5 g/100 mL) em água destilada contendo 0,6 g de glicerol/g de alginato. A solução foi agitada mecanicamente à 900 RPM (Tecnal, TE-139, Brasil) à 70°C por cerca de 1 h para assegurar a homogeneidade. Após este período, a temperatura do sistema foi reduzida para 40°C , e então, a levedura *S. boulardii* foi adicionada na forma liofilizada às soluções formadoras de filme em quantidade suficiente para atingir 9 log UFC/mL de solução formadora de filme, e a mistura foi agitada durante 15 min. A polpa de mangaba foi adicionada diretamente na suspensão filmogênica em diferentes concentrações, 0%, 10%, 20% e 40% (massa de polpa liofilizada de mangaba/ massa de alginato) e homogeneizada. O glicerol foi adicionado à solução na concentração de 0,6 g/g de alginato. Aliquotas de 50 mL das suspensões resultantes foram distribuídas na placa suporte (12 cm de diâmetro). A solução (50 mL) foi vertida em placas de poliestireno Cralplast® (90x15 mm) e seca em estufa com circulação de ar (Tecnal, TE 394/2, Brasil) a 40°C durante aproximadamente 20 h.

Todos os filmes foram acondicionados à temperatura ambiente e 50% de umidade relativa dentro de dessecadores com soluções saturadas de nitrato de magnésio durante 2 dias antes da submissão à caracterização física.

2.4. Caracterização dos filmes

2.4.1. Espessura e teor de umidade

A espessura do filme foi determinada usando um micrômetro digital portátil (Mitutoyo Co., Kawasaki-Shi, Japão) com uma precisão de 0,001 mm. As medições foram realizadas em pelo menos cinco locais aleatórios em cada filme, e o valor médio da espessura será calculado.

Amostras dos filmes foram cortadas na dimensão de 2 cm² e pesadas antes e depois de secar em estufa a 105 °C por 24 h. O conteúdo de umidade foi calculado utilizando a Equação 1.

$$\text{Teor de umidade (\%)} = \frac{\text{massa inicial} - \text{massa final}}{\text{massa inicial}} * 100 \quad \text{Eq. (1)}$$

2.4.2. Solubilidade em água

A solubilidade em água dos filmes foi determinada como descrito por Kavoosi et al. (2014), com modificações. Para determinar a massa seca inicial, amostras de filme de 2 cm² foram cortadas e secas a 100 ± 5 °C, por 24 horas. As amostras foram embebidas em 50 mL de água destilada e após 24 horas a 23 ± 2 °C foram secas novamente a 100 ± 5 °C por 24 horas para obter a massa seca final. A solubilidade em água do filme foi calculada usando a Equação 2:

$$\text{Solubilidade (\%)} = \frac{\text{massa inicial} - \text{massa final}}{\text{massa inicial}} * 100 \quad \text{Eq. (2)}$$

2.4.3. Ângulo de contato

A molhabilidade superficial macroscópica foi avaliada medindo-se os ângulos de contato entre uma gota de água e a superfície superior do filme pela técnica da gota sésil com um KSV Cam101. Uma gota de água destilada (3 µL) foi depositada na superfície do filme e as imagens foram capturadas (usando o software Cam2008, KSV Instruments, Helsinki, Finlândia) a cada 1 s até 1 min. Foram realizadas 10 réplicas para cada amostra de filme.

2.4.4. Permabilidade ao vapor de água (PVA)

A PVA foi determinada usando uma adaptação do método gravimétrico (ASTM E96-92). Água destilada (6 mL) foi dispensada em copos de plano fundo. Amostras circulares foram cortadas de cada filme e seladas às bases do copo, atingindo uma área efetiva do filme de 28,27 cm². Os copos foram colocados dentro de exsiccadores com temperatura controlada a 40 °C com uma umidade relativa interna de 50%. Os copos

foram pesados de hora em hora por um período de 34 h, utilizando uma balança analítica (Gehaka AG 2000, Gehaka Co., Brasil).

A permeabilidade vapor de água (PVA) foi calculada utilizando a Eq. 3.

$$PVA = \frac{m}{t} \cdot \frac{x}{A \cdot \Delta p} \quad \text{Eq. (3)}$$

onde PVA é a permeabilidade ao vapor de água (g/ms Pa) calculada a partir da variação da massa, pela perda do vapor de água (m) que atravessou o material polimérico com largura (x) e área (w), durante o intervalo de tempo (t) sob a pressão (Δp) (diferença pressão vapor de água da do meio externo e interno).

2.4.5. Propriedades mecânicas

Os testes de tração uniaxial foram realizados até a fratura do filme usando o Texture Analyzer TA.XT Plus (Stable Micro System, Surrey, Reino Unido), com uma célula de carga de 50 N e garras de tração a uma separação inicial de 20 mm. Os testes foram realizados com amostras retangulares de 50 mm $\times$ 10 mm e uma velocidade de cross-head de 80 mm/min (ASTM D882-97). As curvas de tensão - deformação foram plotadas para cada teste e a tensão máxima (MPa) e o alongamento na ruptura (%) foram determinados diretamente a partir das curvas.

2.4.6. Propriedades ópticas

A cor das amostras de filme foi determinada utilizando um colorímetro Konica Minolta 230 CM-5 (Minolta Camera Co., Ltd, Osaka, Japão) usando o sistema CIE $L^*a^*b^*$ L^* (luminosidade), a^* (vermelho-verde) e b^* (amarelo-azul). O cálculo do ângulo hue (h°) em graus, considerando o atributo qualitativo de cor, foi calculado conforme Eq. 4. O cálculo do índice croma (C^*) considerou o atributo quantitativo de cor e a diferença total de cor (ΔE^*) foram realizados de acordo com a Eq. 5 e Eq. 6, respectivamente.

$$h^\circ = \tan^{-1} (b^*/a^*) \quad \text{Eq. (4)}$$

$$C^* = (a^{*2} + b^{*2})^{1/2} \quad \text{Eq. (5)}$$

$$\Delta E = \sqrt{(L^* - L)^2 + (a^* - a)^2 + (b^* - b)^2} \quad \text{Eq. (6)}$$

Opacidade dos filmes foi medida com base no valor da transparência com o espectrofotômetro, usando o método de Hamdi et al. (2019).

$$\text{Opacidade} = \frac{-\log(T_{600})}{x} \quad \text{Eq. (7)}$$

onde T_{600} é a transmitância fracionária a 600 nm e 'x' é a espessura média do filme (mm).

As propriedades de barreira de filmes contra luz ultravioleta (UV) e visível foram medidas em comprimentos de onda variando entre 250 e 800 nm, utilizando um espectrofotômetro UV-Vis (Shimadzu 1600, Portland, EUA).

2.4.7. Análise de Termogravimetria

Os perfis de degradação térmica das amostras foram obtidos em um TGA Q500 (TA Instruments, Delaware, EUA) com a taxa de aquecimento a $10\text{ }^{\circ}\text{C min}^{-1}$ e faixa de aquecimento entre 10 e $600\text{ }^{\circ}\text{C}$. O fluxo do nitrogênio e de ar sintético foi mantido em 40 mL min^{-1} e 60 mL min^{-1} , respectivamente. A perda de massa (%) e a massa derivada ($\%/^{\circ}\text{C}$) versus a temperatura dos filmes foram obtidos.

2.4.8. Espectroscopia no Infravermelho com Transformada de Fourier (FTIR)

As medições de espectroscopia no infravermelho por transformada de Fourier (FTIR) foram obtidas usando um espectrofotômetro Agilent Cary 630 FTIR. Os espectros foram registrados de $4000\text{ a }400\text{ cm}^{-1}$ na taxa de 32 varreduras e na resolução espectral de 4 cm^{-1} usando um módulo de refletância total atenuada (ATR).

2.4.10. Teor de compostos fenólicos totais

O conteúdo fenólico total foi determinado com base na redução do reagente de Folin Ciocalteu (Ruiz-Navajas, Viuda-Martos, Sendra, Pérez-Alvarez e Fernández-López, 2013). A amostra de filme (25 mg) foi imersa em 3 mL de água destilada para obter o extrato. Adicionou-se um volume de 0,3 mL de extrato de filme a 2,5 mL de reagente de Folin Ciocalteu (10% v/v) seguido por 2 mL de solução de carbonato de sódio a 7,5% (p/v). A mistura foi incubada a $50\text{ }^{\circ}\text{C}$ durante 5 min antes da medição da absorbância a 760 nm. Foram utilizadas soluções de ácido gálico (0-1000 ppm) para obter a curva padrão. O resultado foi expresso como o equivalente de ácido gálico de microgramas por grama de película ($\mu\text{g de EAG/g de filme}$).

2.4.11. Determinação do teor de ácido ascórbico

O teor de vitamina C foi analisado pelo método 967.21 da *Association of Official Analytical Chemist* (AOAC, 2016), onde a solução de extração padrão (solução de ácido metafosfórico) foi substituída por solução de ácido oxálico (Benassi e Antunes, 1988). Resumidamente, 5 g da amostra foi homogeneizada em 50 mL de ácido oxálico 2% e filtrado através de papel de filtro Whatman No. 4. Um total de 10 mL de alíquotas foram tituladas com 0,2% de diclorofenol-indofenol. Os resultados foram expressos como miligramas de ácido ascórbico reduzido por 100 g de amostra.

2.4.12. Carotenoides totais

O teor de carotenoides foi determinado de acordo com o método de Talcott e Howard (1999). Cerca de 2 g de amostras foram pesadas e adicionadas de 25 mL de uma solução acetona:etanol (PA, 1:1, v/v) e 250 µL de BHT (2,6-ditert-butil-4-metil fenol), diluído a uma mistura dos solventes a uma concentração 20 mg/L. A mistura foi homogeneizada e filtrada em papel filtro. O procedimento foi repetido até obter a descoloração do resíduo da polpa. O volume do extrato foi completado com o solvente acetona:etanol até 100 mL e foi realizada a leitura em espectrofotômetro a 470 nm. O teor de carotenoides totais foi calculado pela equação de Gross (1991) – Eq 8:

$$\text{Carotenoides totais } (\mu\text{g/g}) = (A_{470} \times V \times 10^6) / (A_{1\%} \times 100 \times g) \quad \text{Eq. (8)}$$

Onde A_{470} é a absorbância medida a 470nm, V é o volume total do extrato (100mL), $A_{1\%}$ é o coeficiente de extinção para a mistura de solventes (2500) e g é o peso da amostra em gramas.

2.5. Atividade antioxidante

2.5.1. Ensaio de eliminação de radicais DPPH

A atividade antioxidante dos filmes foi avaliada utilizando o ensaio de eliminação de radicais livres DPPH (2,2-difenil-1-picrilidrazilo) de acordo com Siripatrawan & Harte (2010) com modificação. O filme (25 mg) foi imerso em 3 mL de água destilada para obter o extrato. Foi adicionado um volume de 3 mL de extrato de filme a 1 mL de solução metanólica de DPPH 0,1 mM. Após 30 min de incubação no escuro a temperatura ambiente, a absorbância foi medida a 517 nm. A atividade de eliminação de radicais DPPH foi medida utilizando a Equação 9:

$$\text{Eliminação do radical DPPH (\%)} = \frac{\text{Absorbância}_{\text{controle}} - \text{Absorbância}_{\text{amostra}}}{\text{Absorbância}_{\text{controle}}} * 100 \text{ Eq. (10)}$$

2.5.2. Ensaio de eliminação radical ABTS

O teste de eliminação radical ABTS foi feito conforme descrito em Moreno, Atarés & Chiralt (2015). O ABTS foi dissolvido em água para atingir a concentração de 7 mM. Em seguida, 5 mL da solução estoque de ABTS foi misturado com 88 µL da solução de persulfato de potássio, durante 16 h. A solução foi então diluída com etanol até atingir a absorbância de $0,70 \pm 0,02$ a 734 nm. Um volume de 40 µL de extrato de filme foi adicionado a 3960 µL da solução diluída. Após 6 min de incubação no escuro à temperatura ambiente, a absorbância foi medida a 734 nm. Foram utilizadas soluções de Trolox (0-1000 ppm) para obter a curva padrão. Os resultados foram expressos como equivalente a µM de trolox por grama de filme (µM de ET/g de filme).

2.5.3. Teste de poder antioxidante de redução férrica (FRAP)

O teste de FRAP foi realizado como descrito em Tongnuanchan, Benjakul & Prodpran (2012), com modificações. As amostras de filme (25 mg) foram imersas em 3 mL de água destilada para obter o extrato. O reagente FRAP foi preparado misturando 10 volumes de tampão acetato 0,3 M (pH 3,6), 1 volume de TPTZ 0,01 M (2,4,6-tripiridil-S-triazina) dissolvido em HCl 0,01 M e 1 volume de FeCl₃ 0,02 M. A solução de FRAP foi incubada durante 30 min a 37 °C em banho de água. Um volume de 150 µL de extrato de filme foi adicionado a 2850 µL de solução de FRAP e foi submetido à vortex. Em seguida, incubou-se em ambiente escuro à temperatura ambiente durante 30 min. A absorbância foi medida a 593 nm. Foram utilizadas soluções de sulfato ferroso (FeSO₄) (0-2000 µM) para obter a curva padrão. Os resultados foram expressos como equivalente a µM de sulfato ferroso por grama de filme (µM de ESF/g de filme).

2.6. Viabilidade da levedura probiótica nos filmes durante o armazenamento

A viabilidade dos probióticos nos filmes foi estudada a 4 °C (por 45 dias) e 25 °C (por 21 dias). Os filmes contendo probióticos (200 mg) foi transferidos para 1,8 mL de solução estéril de NaCl a 0,85% (p / v) e agitados numa incubadora a 37 °C durante 1 h. As soluções foram diluídas em série com NaCl 0,85% (p/v), plaqueadas em meio ágar

batata dextrose, e incubadas (37 °C por 48 h). As contagens microbiológicas foram medidas como unidades formadoras de colônias UFC/mL e os dados médios resultantes serão transformados para log UFC/ mL (Khodaei et al., 2020).

2.7. Análise estatística

Análise de variância (ANOVA) e comparações parciais de Tukey foram realizadas com um nível de confiança de 95% ($\alpha=0,05$). Os experimentos foram realizados em triplicata e os dados foram relatados como média $\pm$ desvio padrão.

3.Resultados e discussão

3.1. Propriedades relacionadas à água

Filmes comestíveis com boas propriedades de barreira à água são interessantes para aplicações como material embalagem de alimentos com intermediária ou alta umidade (Galus & Kadzi, 2016). A Tabela 1 apresenta os resultados das propriedades relacionadas à água dos filmes comestíveis bioativos. A incorporação da levedura *S. boulardii* não afetou significativamente as propriedades relacionadas à água dos filmes. Entretanto, a adição da PM reduziu significativamente o teor de umidade, solubilidade em água e permeabilidade ao vapor de água (PVA) dos filmes à base de alginato (Tabela 1) em 2,36-4,96%, 9,96-29,68% e 7,58-11,45%, respectivamente. Esse resultado pode estar relacionado com a natureza hidrofílica das fibras e dos compostos fenólicos presentes na polpa dos frutos que podem interagir com grupos hidroxila do alginato e reduzir a interação da matriz com moléculas de água (Dantas et al., 2014). Comportamento similar ao observado nesse estudo foi relatado por Odoni et al. (2020) para filmes de pectina com polpa de manga.

A menor hidrofobicidade dos filmes devido a adição da PM foi confirmada na análise de ângulo de contato dos filmes (Tabela 1). O ângulo de contato dos filmes aumentou com a adição de PM de 35,42°-35,46° para 62,35°-62,38°. De acordo Hosseini et al. (2016) valores de ângulo de contato acima de 60° indicam uma superfície mais hidrofóbica

Tabela 1. Propriedades relacionadas à água de filmes à base de alginato (A) com cultura probiótica (*S. boulardii*) (CP) e suplementados com polpa de mangaba (PM) em concentrações de 10% (MP10), 20% (MP20) ou 40% (MP40)

Filme	Teor de umidade (%)	Solubilidade (%)	PVA (10^{-7} g H ₂ O/m h Pa)	Ângulo de contato (°)
A	24.97±0.59 ^c	100 ^c	6,20±0,22 ^c	35.46±1.10 ^a
A/CP	24.09±0.36 ^c	100 ^c	6,17±0,18 ^c	35.42±3.51 ^a
A/CP/PM10	22.61±1.67 ^b	100 ^c	6,11±0,19 ^c	62.35±1.87 ^b
A/CP/PM20	20.01±2.65 ^a	90.04±1.32 ^b	5,73±0,10 ^b	63.68±1.72 ^b
A/CP/PM40	20.68±1.83 ^a	70.32±2.21 ^a	5,49±0,14 ^a	68.52±2.25 ^c

Valores na mesma coluna seguidos de pelo menos uma letra comum (ou não seguidos de nenhuma letra) não são significativamente diferentes pelo teste de Tukey ($p < 0,05$).

3.2. Propriedades físico-mecânicas

Espessura

A espessura dos filmes é apresentada na Tabela 2. Observou-se que os valores de espessura para os filmes variaram de 0,154 a 0,171 mm. A adição da levedura probiótica *S. boulardii* não aumentou significativamente a espessura dos filmes (Tabela 2). Comportamento similar foi relatado por Khodaei, Hamidi-Esfahani & Lacroix (2020) para filmes de gelatina e pectina de baixa metoxilação adicionado de *S. boulardii*. Outros autores também relataram que a adição de probióticos não afetou a espessura de filmes biopoliméricos (Kanmani & Lim, 2013; Pereira et al., 2016; Soukoulis et al., 2017).

A adição de PM a partir da concentração de 20% aumentou significativamente a espessura dos filmes (Tabela 2). Comportamento similar foi relatado por Susmitha et al. (2021) para filmes de amido de milho/gelatina incorporados com polpa de manga. O aumento da espessura dos filmes, pode estar relacionado a algumas mudanças conformacionais nas cadeias de alginato ocorridas pela adição da polpa de mangaba.

A resistência à tração e o alongamento na ruptura desempenham um papel significativo na manutenção da integridade estrutural dos filmes. Filmes comestíveis com tolerância normal ao estresse são capazes de manter sua integridade e propriedades de barreira durante a aplicação, manuseio e transporte dos produtos alimentícios (Souza et

al., 2020) As propriedades mecânicas para os diferentes tipos de filmes bioativos são apresentadas na Tabela 2.

Tabela 2. Propriedades de tensão de filmes à base de alginato (A) com cultura probiótica (*S. boulardii*) (CP) e suplementados com polpa de mangaba (PM) em concentrações de 10% (MP10), 20% (MP20) ou 40% (MP40)

Film	Espessura (mm)	Resistência à tração (MPa)	Alongamento na ruptura (%)
A	0.170±0.03 ^a	17.51±1.19 ^b	26.44±5.18 ^a
A/CP	0.171±0.04 ^a	14.98±2.93 ^a	25.16±3.21 ^a
A/CP/PM10	0.170±0.05 ^a	15.37±1.38 ^a	32.28±1.89 ^b
A/CP/PM20	0.178±0.01 ^b	17.58±1.01 ^b	35.11±2.10 ^c
A/CP/PM40	0.179±0.03 ^b	20.16±1.40 ^c	36.89±1.73 ^c

Valores na mesma coluna seguidos de pelo menos uma letra comum (ou não seguidos de nenhuma letra) não são significativamente diferentes pelo teste de Tukey ($p < 0,05$).

A resistência a tração dos filmes diminuiu e o alongamento na ruptura aumentou com a incorporação da levedura *S. boulardii* aos filmes. Comportamento similar foi relatado por Khodaei, Hamidi-Esfahani & Lacroix (2020) para filmes de gelatina e pectina de baixa metoxilação adicionado de *S. boulardii* e por Kanmani & Lim, 2013 para filmes de pululano/amido resistente com *Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus reuteri* and *Lactobacillus acidophilus*. Os probióticos podem interferir na interação das moléculas na matriz do filme e resultar em uma rede não uniforme que diminui a resistência dos filmes (Khodaei, Hamidi-Esfahani & Lacroix, 2020). O alongamento na ruptura dos filmes de alginato não foi influenciado pela presença da levedura *S. boulardii*.

A incorporação de PM a partir da concentração de 20% aumentou significativamente a resistência a tração dos filmes A/CP (Tabela 3). Esse comportamento pode ter ocorrido devido a presença de fibras na polpa de mangaba que podem exercer um efeito de reforço nas matrizes poliméricas. Filmes carregados com fibras apresentam boas propriedades mecânicas, que estão relacionadas à boa adesão na interface polímero-

fibra, que promove uma efetiva transferência de tensão da matriz polimérica para a fibra (Kuciel, Mazur, & Jakubowska, 2019). O aumento da resistência à tração com o aumento do teor de fibra de filmes à base de purê de frutas foi relatado em outros estudos que utilizaram polpa de manga e abacaxi (Oldoni et al., 2021; Susmitha et al., 2021).

O alongamento na ruptura dos filmes aumentou com a adição de PM, e esse aumento foi maior à medida que a concentração de polpa aumentou, apresentando valores máximos de 36,89% (Tabela 3). Esse comportamento pode ser explicado pelo efeito plastificante dos açúcares presentes na PM (como glicose, frutose e sacarose) que atuaram como plastificantes aumentando a flexibilidade dos filmes (Neog et al., 2022). Esse comportamento já foi relatado em outros estudos quando a polpa de mamão e fruta indiana *Ziziphus mauritiana* em filmes comestíveis (Otoni et al., 2014; Neog et al., 2022).

De maneira geral, a adição da PM melhorou as propriedades de tensão dos filmes de A e A/CP aumentando a resistência a tração e o alongamento na ruptura.

3.3. Propriedades ópticas

As propriedades ópticas são parâmetros importantes dos materiais de embalagem de alimentos, pois se relacionam com a aceitação do produto alimentício pelos consumidores (Song, Zuo, & Chen, 2018). A adição de *S. bouldardii* não afetou significativamente a luminosidade e o ângulo matiz dos filmes. Entretanto, os valores de C^* dos filmes aumentaram significativamente com a adição de *S. bouldardii* de 6,49 para 8,10. Comportamento similar foi relatado por Khodaei, Hamidi-Esfahani & Lacroix (2020) para filmes de gelatina e pectina de baixa metoxilação adicionado de *S. bouldardii*.

Com a incorporação da PM aos filmes, os valores de L^* diminuíram significativamente (Tabela 3), e esse aumento foi maior à medida que a concentração aumentou, indicando que os filmes se tornaram mais escuros. Os valores de h° , que definem vermelho a 0° , amarelo a 90° , verde a 180° e azul a 270° , diminuíram significativamente de 95,01-95,15 para 89,34-95,55 com a adição de PM tornando-se mais amarelos (Tabela 3). Os valores de C^* dos filmes aumentou significativamente com a adição da PM, apresentando valor máximo de 30,63 na concentração de 40% de polpa de mangaba, indicando uma maior intensidade na coloração dos filmes. As alterações na coloração dos filmes devido a adição de PM podem ser atribuídas à composição química da polpa, principalmente pela presença de pigmentos como carotenoides (Oliveira et al. 2005).

A diferença de cor total (ΔE^*) também aumentou significativamente com a adição da PM demonstrando que os filmes apresentaram cores diferentes distinguíveis a olho nu. Assim, os filmes bioativos adicionados da polpa de mangaba nas concentrações de 10, 20 e 40 % ficaram escuros (valor L^* mais distante de 100), com tons amarelos (h° próximo de 90) e mais saturados (C^* mais distante de zero). Comportamento similar foi descrito por Oldoni et al. (2021) quando a polpa de manga foi adicionada a filmes de pectina, onde os filmes apresentaram valores de h° próximos de 90 e aumento nos valores de C^* .

Tabela 3. Atributos de cor e opacidade de filmes à base de alginato (A) com cultura probiótica (*S. boulardii*) (CP) e suplementados com polpa de mangaba (PM) em concentrações de 10% (PM10), 20% (PM20) ou 40% (PM40)

Filme	L^*	h°	C^*	ΔE	Opacidade
A	89.39±0.18 ^d	95.15±0.49 ^d	6.49±0.30 ^a	11.08±0.30 ^a	0.66±0.01 ^a
A/CP	89.32±1.19 ^d	95.01±0.59 ^d	8.10±0.96 ^b	12.12±1.16 ^a	1.27±0.03 ^b
A/CP/PM10	83.55±1.45 ^c	93.55±0.87 ^c	17.02±2.38 ^c	21.72±2.71 ^b	2.01±0.02 ^c
A/CP/PM20	81.34±0.93 ^b	90.11±0.46 ^b	20.25±1.42 ^d	26.31±1.68 ^c	3.47±0.02 ^d
A/CP/PM40	77.65±1.16 ^a	89.34±0.19 ^a	30.63±1.10 ^e	36.77±1.48 ^d	4.04±0.01 ^e

Valores na mesma coluna seguidos de pelo menos uma letra comum (ou não seguidos de nenhuma letra) não são significativamente diferentes pelo teste de Tukey ($p < 0,05$).

A opacidade desempenha um papel importante no controle da incidência de luz sobre o alimento (Gangakhedkar, 2010). A opacidade dos filmes foi significativamente afetada pela incorporação da levedura probiótica *S. boulardii* (Tabela 3). Esse comportamento pode estar relacionado ao maior tamanho celular das leveduras que provocou a dispersão da luz (Khodaei, Hamidi-Esfahani, & Lacroix, 2020). Orozco-Parra et al. (2020) também relataram que a presença de probióticos (*L. casei*) aumentou a opacidade de filmes baseados em amido de mandioca e inulina. Khodaei, Hamidi-Esfahani, & Lacroix (2020) também relataram aumento na opacidade quando *S. boulardii* foi incorporada em filmes de gelatina e carboximetilcelulose.

A incorporação da PM também aumentou significativamente a opacidade dos filmes (Tabela 3), e esse aumento foi maior à medida que a concentração de mangaba

aumentou, apresentando os maiores valores de opacidade (4.04) na concentração de 40% de PM. O aumento nos valores de opacidade pode ser devido à adição de polifenóis, e carotenoides presentes na PM. O aumento da opacidade de filmes pela adição de polpa de frutas também foi relatado por Oldoni et al. (2021) para filmes de pectina incorporados com polpa de manga e por Aliyath Susmitha et al. (2021) para filmes de amido/gelatina adicionados de polpa de manga e abacaxi.

As propriedades de barreira à luz são propriedades importantes dos filmes de embalagem em termos de proteção dos alimentos contra a deterioração causada pela luz ultravioleta e visível, uma vez que os alimentos fotossensíveis podem sofrer oxidação, perda de nutrientes e desenvolver sabores desagradáveis (Oliveira Filho et al., 2019).

A taxa de transmissão de luz Uv/vis dos filmes é apresentada na Figura 1. A incorporação da levedura *S. boulardii* reduziu a taxa de transmissão de luz ultravioleta (200-350 nm) dos filmes. Com a incorporação da PM, as taxas de transmissão de luz na região ultravioleta (200-350 nm) foram ainda menores, chegando a valores próximos de 0% para os filmes elaborados com 40% de PM. Esse resultado provavelmente está associado a presença de compostos fenólicos na polpa de mangaba. De acordo com Li et al. (2014) o grupo -OH em compostos polifenólicos reduz a transmissão da luz ultravioleta.

Na região visível (380-780 nm), a taxa de transmissão de luz dos filmes controle diminuiu de 75,44-89,97% para 52,85-65,78% com a adição da levedura *S. boulardii*. A adição da PM também reduziu a taxa de transmissão de luz visível dos filmes em comparação com os filmes A e A/CP. Isso demonstra que o melhor desempenho de barreira à luz foi observado para filmes com CP e PM na maior concentração (40%), o que está relacionado ao aumento da opacidade relatado na Tabela 3. Segundo Yuan et al. (2015) filmes muito opacos reduzem sua exposição à luz UV-vis e controlam a deterioração oxidativa que pode apresentar descoloração e sabores estranhos nos alimentos.

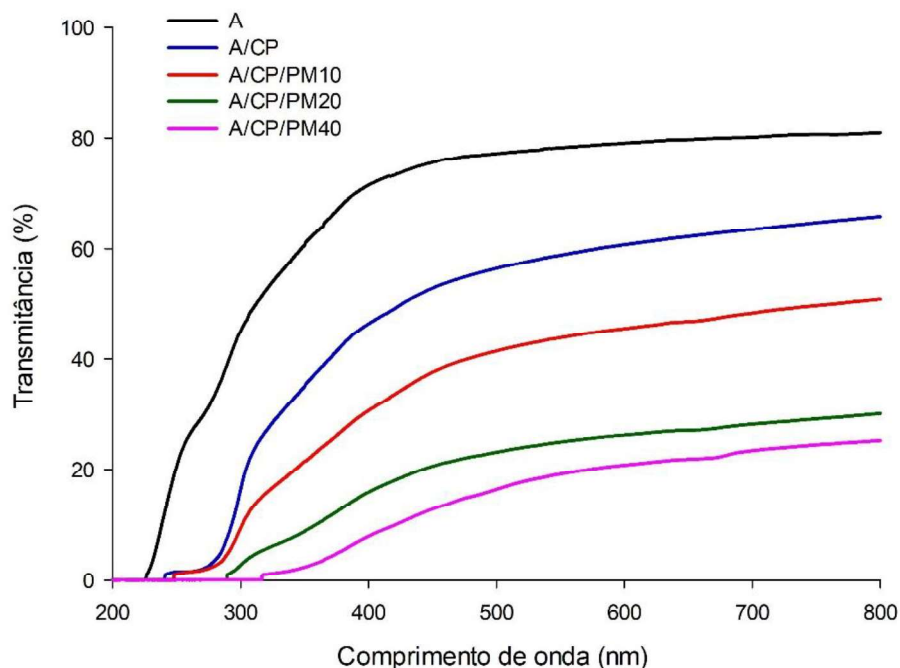


Figura 1. Taxa de transmissão de luz dos filmes. Os códigos de formulação referem-se aos principais componentes, a saber: A: alginato; CP: cultura probiótica (*S. boulardii*); PM10: polpa de mangaba a 10%; PM20: polpa de mangaba a 20%; PM40: polpa de mangaba a 40%.

3.4. FTIR e propriedades térmicas

A Figura 2 mostra os espectros de FTIR obtidos para os filmes deste estudo, a fim de avaliar a interação entre seus componentes (alginato, probiótico e polpa de mangaba). O filme controle, contendo apenas alginato, apresentou duas bandas vizinhas em 1606 e 1411 cm^{-1} , que são atribuídas ao estiramento antisimétrico e simétrico de seus grupos carboxilato (CO_2^-), respectivamente. Em 1032 cm^{-1} , uma banda mais intensa pode ser atribuída às ligações C-O-C da estrutura do alginato. A banda sutil em 2930 cm^{-1} está relacionada ao alongamento das ligações C-H, enquanto a banda larga em 3250 cm^{-1} é atribuída ao alongamento O-H (Lawrie et al., 2007; Derkach et al., 2020).

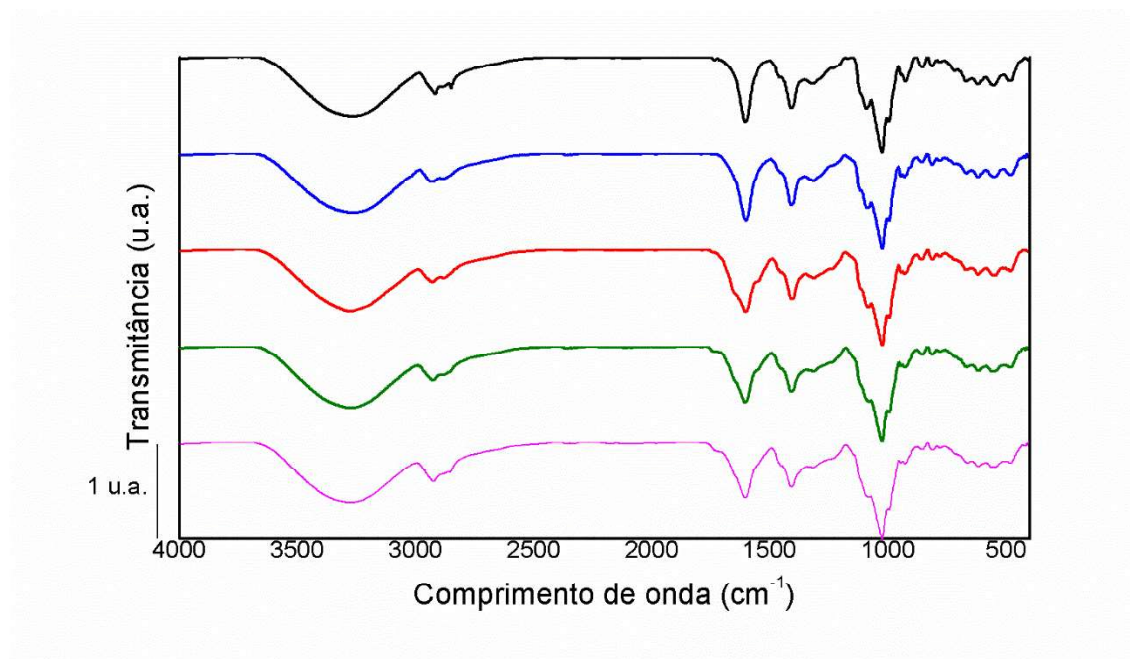


Figure 2. Espectros de FTIR para: (—) A, (—) A/CP, (—) A/CP/PM10, (—) A/CP/PM20, and (—) A/CP/PM40. Os códigos de formulação referem-se aos principais componentes, a saber: A: alginato; CP: cultura probiótica (*S. boulardii*); PM10: polpa de mangaba a 10%; PM20: polpa de mangaba a 20%; PM40: polpa de mangaba a 40%.

A inclusão do probiótico no filme A/PC causou apenas um sutil alargamento da banda referente às ligações O-H (3250 cm^{-1}); a adição de polpa de mangaba em A/CP/PM10, A/CP/PM 20 e A/CP/PM 40, por sua vez, levou a um notável alargamento da banda característica do alginato, em 1606 cm^{-1} , o que indica a formação de pontes de hidrogênio entre os grupos OH das fibras e dos compostos fenólicos da polpa de mangaba (ácido gálico, ácido clorogênico, catequina, entre outros) com os grupos carboxilato do alginato (Çaykara & Demirci, 2006; de Lima et al., 2015). Assim, os resultados de FTIR são uma primeira indicação das interações que estão ocorrendo entre os componentes dos filmes, o que pode afetar suas propriedades térmicas, mecânicas e físico-químicas.

A Figura 3 mostra as curvas de perda de peso (a) e derivada de perda de peso (b) obtidas por TGA para filmes de alginato, probiótico e polpa de mangaba. O primeiro estágio de perda de massa, relacionado ao pico da primeira derivada antes de 100°C , pode ser atribuído à perda de água absorvida na matriz polimérica. A perda de massa máxima é encontrada para todas as amostras entre 200 e 230°C , região típica de decomposição térmica máxima do alginato (Çaykara & Demirci, 2006).

O filme controle (A), sem probiótico ou polpa de mangaba, apresentou maior decomposição nesta região, devido à intensidade de seu pico derivado. A inclusão da polpa de mangaba e o aumento de sua concentração levaram a uma menor decomposição, o que novamente sugere a interação entre o alginato e os compostos da polpa, que diminuem a mobilidade das cadeias poliméricas e consequentemente aumentam a estabilidade térmica. Liu, Li & Li (2017) relataram resultados semelhantes na melhoria da estabilidade térmica de filmes de alginato, mas no seu caso com a adição de nanocargas contendo óxido de grafeno, amônia e sílica funcionalizada. Em nosso estudo, os resultados de aumento da estabilidade com a inclusão de compostos naturais não prejudiciais à saúde humana são fundamentais, uma vez que se pretende a aplicação dos filmes em matrizes alimentícias.

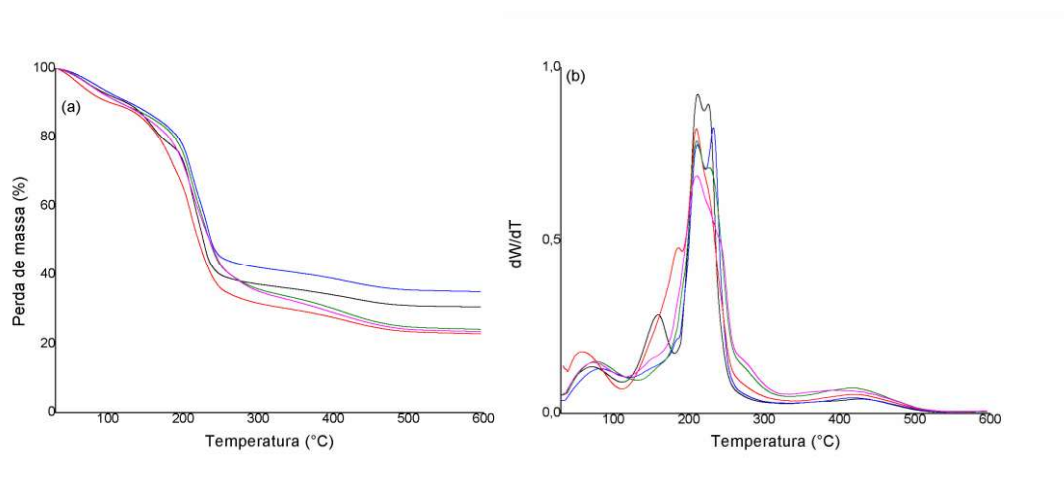


Figura 3. (a) Curvas de TGA e (b) DTG para (—) A, (—) A/CP, (—) A/CP/PM10, (—) A/CP/PM20, and (—) A/CP/PM40. Os códigos de formulação referem-se aos principais componentes, a saber: A: alginato; CP: cultura probiótica (*S. boulardii*); PM10: polpa de mangaba a 10%; PM20: polpa de mangaba a 20%; PM40: polpa de mangaba a 40%.

3.5. Propriedades bioativas e antioxidantes

O conteúdo de carotenoides totais (Figura 4A) dos filmes de alginato aumentou significativamente com a incorporação da PM, e os valores variaram de 8,59 a 9,25 µg/g filmes. O filme A/CP/PM40 com a maior concentração de PM apresentou o maior conteúdo de carotenoides 9,25 µg/g filmes. O teor de carotenoides totais nos filmes pode ser explicado pela presença de carotenoides na PM (Almeida et al. 2011). De acordo com

Cardoso et al. (2014) a polpa de manga apresenta em sua composição os carotenoides com atividade pró-vitáminica A b-caroteno e b-criptoxantina.

Vários efeitos benéficos à saúde têm sido associados com a ingestão de carotenoides como proteção da pele contra a luz UV (Melendez-Martinez et al., 2019), controle do câncer de próstata (Applegate et al., 2019), controle do câncer gástrico (Kim et al., 2018), redução da pressão arterial (Wolak et al., 2019) e outros.

O conteúdo de vitamina C dos filmes (Figura 4B) também aumentou com a incorporação da PM, apresentando valor de 56,27, 136 e 230 µg de ácido ascórbico/g filme para os filmes A/CP/PM10, A/CP/PM20 e A/CP/PM40, respectivamente. Comportamento similar foi descrito por Neog et al. (2022) para filmes de pectina quando a polpa da fruta indiana *Ziziphus mauritiana* Lamk foi adicionado aos filmes.

A PM é reconhecida como uma fonte de vitamina C (Rufino et al. 2010; Almeida et al., 2011), apresentando valores superiores aos encontrados em frutas como laranja (De Ancos et al. 2020). A vitamina C (ácido ascórbico) é um nutriente necessário para uma variedade de funções biológicas. O consumo de vitamina C é essencial para prevenir o escorbuto, doença causada pela deficiência de vitamina C, e manter a saúde geral (Traber et al., 2011). Também já foi relatado efeito da vitamina C na quimioprevenção do câncer (Gann, 2009) e no tratamento de câncer (Padayatty et al., 2009) e doenças neurodegenerativas (Bowman et al., 2009).

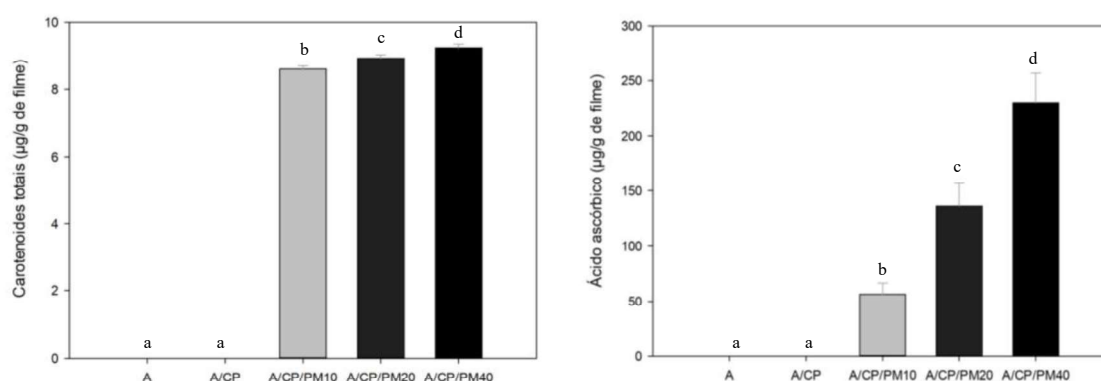


Figura 4. Carotenoides totais (A) e vitamina C (ácido ascórbico) nos filmes de alginato. Os códigos de formulação referem-se aos principais componentes, a saber: A: alginato; CP: cultura probiótica (*S. boulardii*); PM10: polpa de mangaba a 10%; PM20: polpa de mangaba a 20%; PM40: polpa de mangaba a 40%. Letras diferentes apresentam diferenças significativas ($p < 0,05$) pelo teste de Tukey.

A Figura 5 mostra os resultados de compostos fenólicos totais e as atividades antioxidantes dos filmes. O conteúdo fenólico total dos filmes de alginato aumentou significativamente com o aumento da concentração de PM (Figura 5A), e os valores variaram de 186,83 a 224,95 μg EAG/g filmes. O teor de fenólicos totais dos filmes pode ser explicado pela presença de compostos fenólicos (ácidos fenólicos e flavonóides) na PM (Almeida et al. 2011), e a presença desses compostos fenólicos também pode contribuir para a atividade antioxidante dos filmes.

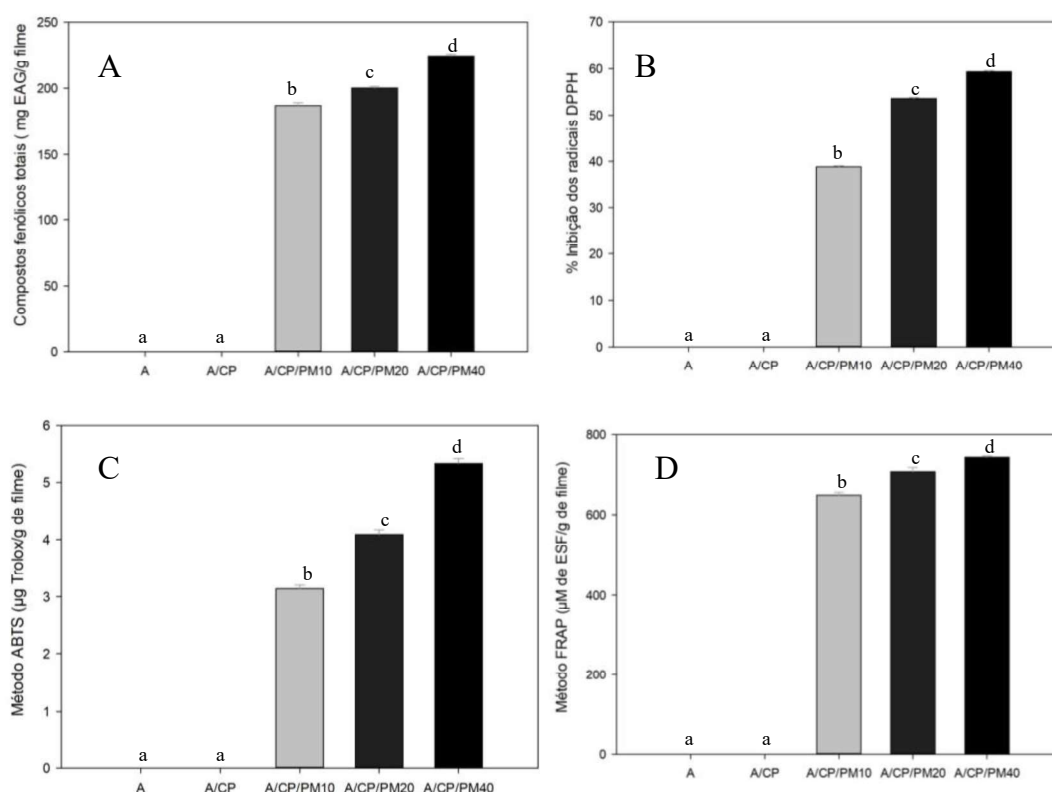


Figura 5. Compostos fenólicos totais (A) e atividade antioxidante nos filmes de alginato avaliados pelos métodos DPPH (B), ABTS (C) e FRAP (D). Os códigos de formulação referem-se aos principais componentes, a saber: A: alginato; CP: cultura probiótica (*S. boulardii*); PM10: polpa de mangaba a 10%; PM20: polpa de mangaba a 20%; PM40: polpa de mangaba a 40%. Letras diferentes apresentam diferenças significativas ($p < 0,05$) pelo teste de Tukey.

A PM tem sido reconhecida por sua atividade antioxidante devido ao seu alto conteúdo de vitamina C, compostos fenólicos e carotenoides (Rufino et al. 2010). Os ensaios de sequestro de radicais DPPH• (Figura 5B) e ABTS + (Figura 5C) e o ensaio de

redução de íons de ferro (Figura 5D) foram realizados para avaliar a atividade antioxidante dos filmes.

A atividade sequestrante do radical DPPH• dos filmes de alginato aumentou significativamente com o aumento da concentração de PM. Uma maior atividade sequestrante do radical DPPH de 59,31% foi encontrada nos filmes com 40% de polpa de mangaba (PM40), enquanto os filmes PM10 e PM10 apresentaram valores de 53,63% e 38,76%, respectivamente.

O radical catiônico ABTS•+ (3-etilbenzotiazolina-6-sulfonato) apresenta coloração esverdeada quando em meio contendo compostos antioxidantes, e essa combinação diminui o valor de absorbância (Alam, Bristi, & Rafiquzzaman, 2013). A capacidade de eliminação do radical ABTS•+ aumentou significativamente com o aumento das concentrações de polpa de mangaba nos filmes (Figura 5C). Os filmes de PM40 mostraram um valor de eliminação de radicais ABTS•+ de 5,76 μ M TE/g de filme. Este resultado foi 41,09% maior do que nos filmes PM10 e 23,26% maior do que nos filmes PM20 (Figura 5C).

O método FRAP demonstra a capacidade dos antioxidantes em reduzir o complexo férrico tripiridiltiazina Fe (III)-TPTZ no complexo ferroso azul da amostra. Os filmes com PMs incorporados foram capazes de reduzir significativamente os íons férricos a íons ferrosos ($p < 0,05$), mesmo em baixas concentrações de PM (filmes com 10% de PM) (Figura 5D).

O poder redutor dos filmes aumentou significativamente com o aumento das concentrações de PM, e os maiores valores foram observados nos filmes de PM40. Os filmes de PM40 mostraram uma atividade antioxidante de 744,59 μ M FSE/g de filme, que foi 4,56% maior que a dos filmes de PM20 e 12,95% maior que a dos filmes de PM10 (Figura 5D).

Em geral, a capacidade antioxidante dos filmes A aumentou com o aumento das adições de PM, independentemente do método de teste de atividade antioxidante (métodos DPPH•, ABTS • + e FRAP). Assim, o potencial antioxidante dos filmes parece estar relacionado à bioatividade dos compostos presentes na PM, que comprovaram seu efeito antioxidante como doadores de elétrons e agentes quelantes. Nogueira et al. (2019) demonstraram que a incorporação de porcentagens crescentes polpa de amora em filmes de amido de araruta aumentou a atividade antioxidante dos filmes, medida pela capacidade de redução de ferro (método FRAP). Esse mesmo comportamento foi

demonstrado por Souza et al. (2011) quando filmes de amido de mandioca desenvolvidos com polpa de manga e acerola mostraram capacidade de eliminação de radicais ABTS•+.

De maneira geral, a adição da PM aos filmes melhorou suas propriedades funcionais enriquecendo sua composição com os compostos bioativos presentes na PM como carotenoides, vitamina C e compostos fenólicos, além de atividade antioxidante. Desta forma, os filmes desenvolvidos podem ser considerados fontes de compostos bioativos, podendo contribuir com efeitos benéficos para saúde humana.

3.6. Viabilidade da cepa probiótica durante o armazenamento

A Figura 6A mostra a porcentagem de viabilidade das células probióticas durante a formação dos filmes. O número de células probióticas viáveis diminuiu durante a secagem das soluções filmogênicas (Figura 6A). No entanto, os filmes foram capazes de proteger as células probióticas durante a formação do filme. Os filmes com PM em sua composição proporcionaram maior proteção do que os filmes A/CP por permitir a maior retenção do número inicial (viabilidade >90%) de *S. boulardi* durante a fase de secagem. Esse efeito provavelmente ocorreu devido aos compostos presentes na polpa da mangaba como açúcares, fibras, proteínas (que são essenciais para o crescimento de leveduras), aumentaram a capacidade das células probióticas de suportar o efeito subletal da pressão osmótica com menor atividade de água. Soukoulis et al. (2016) relataram que um filme à base de amido protegeu as células de *L. rhamnosus* contra os estresses osmóticos e térmicos durante a etapa de secagem dos filmes.

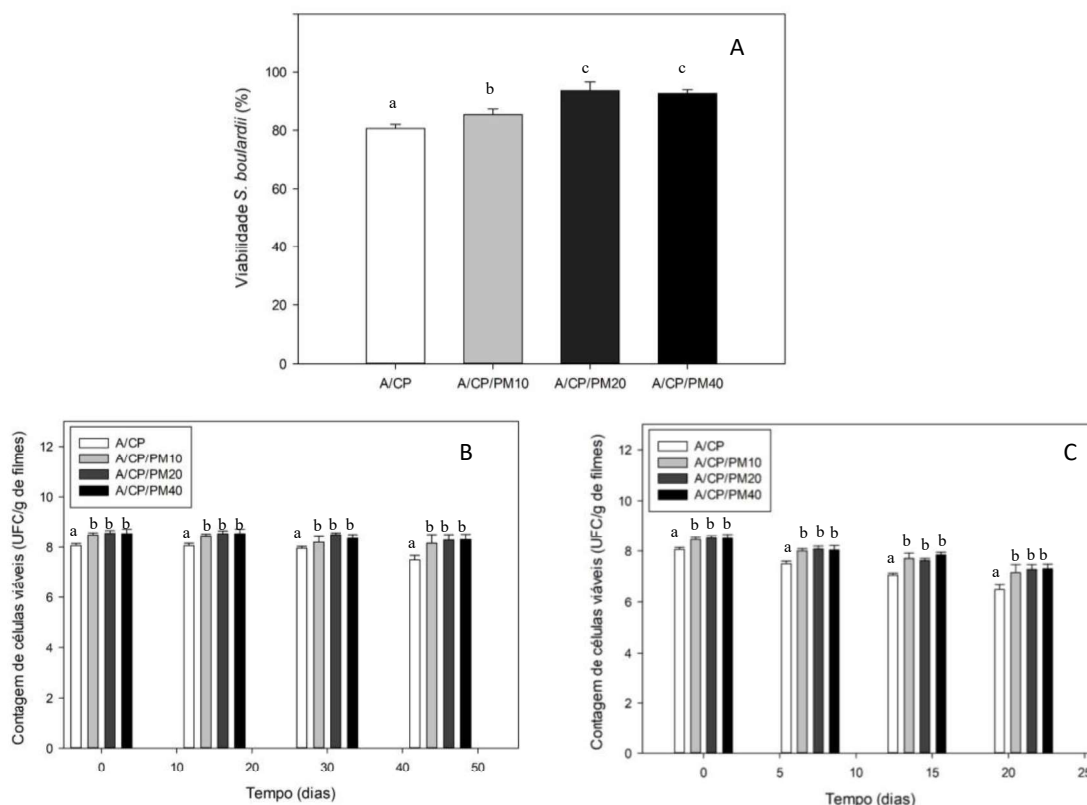


Figura 6. Viabilidade celular de *S. boulardii* após secagem dos filmes (A) e números de células viáveis de *S. boulardii* durante o tempo de armazenamento a 4 °C (B) e a 25 °C (C). Os códigos de formulação referem-se aos principais componentes, a saber: A: alginato; CP: cultura probiótica (*S. boulardii*); PM10: polpa de mangaba a 10%; PM20: polpa de mangaba a 20%; PM40: polpa de mangaba a 40%. Letras diferentes apresentam diferenças significativas ($p < 0,05$) pelo teste de Tukey.

O aprisionamento de probióticos em filmes comestíveis ajuda a manter sua viabilidade durante o processamento e armazenamento, enquanto os protege no trato gastrointestinal, permitindo a liberação controlada no intestino (Quirós-Sauceda et al., 2014). Diferentes fatores como a espécie probiótica, tempo de armazenamento, temperatura, atividade de água, presença de carreadores protetores, oxigênio e transições de estado físico podem influenciar a viabilidade das células vivas durante o armazenamento (Fu & Chen, 2011).

As Figuras 6B e C mostram os números de células viáveis para levedura *S. boulardii* nos filmes durante o tempo de armazenamento. Durante o armazenamento a 4 °C (Figura 6B), os filmes adicionados de PM apresentaram viabilidade superior a 8 log

UFC/g de filmes durante todos os 45 dias de armazenamento. Os filmes controle apresentaram uma maior redução da viabilidade da levedura *S. boulardii* durante os 45 dias de armazenamento, apresentando viabilidade de 7,05 log UFC/g de filme no 45º dia. Na temperatura de 25 °C (Figura 6C) os filmes apresentaram uma maior redução da viabilidade em todos os tratamentos. Entretanto, os filmes elaborados com PM foram os mais eficientes em manter a estabilidade da levedura *S. boulardii* durante os 21 dias de armazenamento apresentando valores superiores a 7 log UFC/g de filme.

A maior viabilidade probiótica nos filmes adicionados de PM provavelmente ocorreu devido a um possível efeito protetor dos compostos como proteínas, fibras e compostos bioativos presentes na polpa de mangaba. Abedinia et al. (2021) relataram que a cepa *L. casei* apresentou maior viabilidade em filmes baseados em gelatina quando compostos prebióticos foram adicionados a matriz.

A temperatura de armazenamento foi um importante fator que afetou a viabilidade da levedura *S. boulardii* nos filmes. A falta de blindagem celular, a maior área de superfície das células de levedura em comparação com as bactérias são os fatores que causam a maior diminuição da viabilidade de *S. boulardii* durante o tempo de armazenamento (Heenan, Adams, Hosken, & Fleet, 2004). Comportamento similar ao descrito neste estudo foi relatado por Khodaei et al. (2021) que observou uma maior viabilidade da levedura *S. boulardii* em filmes de gelatina e pectina quando eles foram armazenados à 4 °C. Em outro estudo Kanmani e Lim (2013) que relataram uma retenção de 70-80% de células probióticas viáveis após 2 meses de armazenamento a 4 °C. Temperaturas mais baixas próximas de 0 °C, reduzindo a mobilidade celular, podem melhorar a taxa de viabilidade (Nag, 2011). Portanto, é preferível armazenar os filmes probióticos em temperaturas de 4 °C.

4. Conclusão

Filmes comestíveis bioativos baseados em alginato, polpa de mangaba e na levedura probiótica *S. boulardii* foram desenvolvidos pela técnica de *casting*. A adição da polpa de mangaba melhorou as propriedades relacionadas a água dos filmes que apresentaram menor conteúdo de umidade, solubilidade em água e permeabilidade ao vapor de água. A incorporação da polpa de mangaba também melhorou as propriedades térmicas dos filmes e de tensão dos filmes aumentando sua estabilidade térmica e resistência a tração e alongamento na ruptura. O aumento da concentração de polpa de mangaba na solução filmogênica tornou os filmes mais escuros, com tons amarelos e mais

saturados, o que pode ser atrativo para a preparação de embalagens de alimentos. A adição da levedura probiótica e/ou polpa de mangaba tornou os filmes mais opacos e melhorou suas propriedades de barreira a luz ultravioleta e visível. A incorporação da polpa de mangaba na suspensão filmogênica incorporou compostos bioativos e capacidade antioxidante aos filmes resultantes. As matrizes biopoliméricas foram capazes de proteger as células probióticas durante a formação do filme, e durante o armazenamento àqueles filmes elaborados com polpa de mangaba e armazenados à 4°C apresentaram a maior viabilidade da levedura probiótica. No geral, os filmes compostos por alginato, polpa de mangaba, e levedura probiótica *S. boulardii* foram excelentes barreiras contra PVA, luz UV/vis e capazes de manter a viabilidade de *S. boulardii* durante armazenamento. Assim, esses filmes representam novos materiais bioativos com potencial aplicação como materiais de embalagem de alimentos.

5. Referências

- Abedinia, A., Alimohammadi, F., Teymori, F., Razgardani, N., Saeidi Asl, M. R., Ariffin, F., ... & Roslan, J. (2021). Characterization and Cell Viability of Probiotic/Prebiotics Film Based on Duck Feet Gelatin: A Novel Poultry Gelatin as a Suitable Matrix for Probiotics. *Foods*, 10(8), 1761.
- AOAC (2016), "Official Methods of Analysis", Association of Official Analytical Chemist, 20th ed., AOAC, International, Rockville, MD.
- Apple Neog, B., Das, J. K., Vijayakumar, A., & Badwaik, L. S. Development and characterization of edible films made with Indian jujube fruit puree and pectin. *Journal of Food Process Engineering*, e13977. gate C.C., Rowles J.L., 3rd, Erdman J.W., Jr. Can Lycopene Impact the Androgen Axis in Prostate Cancer? A Systematic Review of Cell Culture and Animal Studies. *Nutrients*. 2019;11:633. doi: 10.3390/nu11030633.
- Azeredo, H. M., Miranda, K. W., Ribeiro, H. L., Rosa, M. F., & Nascimento, D. M. (2012). Nanoreinforced alginate–acerola puree coatings on acerola fruits. *Journal of food engineering*, 113(4), 505-510.
- Benassi, M.T. and Antunes, A.J. (1988), "A comparison of metaphosphoric and oxalic acids as extractant solutions for the determination of vitamin C in selected vegetables", *Arquivos de Biologia e Tecnologia*, Vol. 31 No. 4, pp. 507-513.
- Bowman GL, Dodge H, Frei B, Calabrese C, Oken BS, Kaye JA, Quinn JF. Ascorbic acid and rates of cognitive decline in Alzheimer's disease. *J Alzheimers Dis*. 2009;16:93–98.

- Brand-Williams, W., Cuvelier, M. E., Berset, C. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. (1995). *LWT - Food Science and Technology*, 28(1), 25-30, 1995.
- Dantas, E. A., Costa, S. S., Cruz, L. S., Bramont, W. B., Costa, A. S., Padilha, F. F., ... & Machado, B. A. S. (2015). Caracterização e avaliação das propriedades antioxidantes de filmes biodegradáveis incorporados com polpas de frutas tropicais. *Ciência Rural*, 45, 142-148.
- de Moraes Cardoso, L., de Lazzari Reis, B., da Silva Oliveira, D., & Pinheiro-Sant'Ana, H. M. (2014). Mangaba (*Hancornia speciosa* Gomes) from the Brazilian Cerrado: nutritional value, carotenoids and antioxidant vitamins. *Fruits*, 69(2), 89-99.
- Dewanto, V.; Wu, X.; Adom, K. K.; Liu, A. R. H. Thermal Processing Enhances the Nutritional Value of Tomatoes by Increasing Total Antioxidant Activity. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, v. 50, n. 10, p. 3010–3014, 2002.
- Espitia PJ, Batista RA, Azeredo HM, Otoni CG: Probiotics and their potential applications in active edible films and coatings. *Food Research International* 2016, 90:42-52.
- Espitia, P. J., Batista, R. A., Azeredo, H. M., & Otoni, C. G. (2016). Probiotics and their potential applications in active edible films and coatings. *Food Research International*, 90, 42-52.
- Fu, N., & Chen, X. D. (2011). Towards a maximal cell survival in convective thermal drying processes. *Food Research International*, 44(5), 1127-1149.
- Galus, S., & Kadzińska, J. (2016). Moisture sensitivity, optical, mechanical and structural properties of whey protein-based edible films incorporated with rapeseed oil. *Food technology and biotechnology*, 54(1), 78-89.
- Gangakhedkar, N. S. (2010). Colour measurement of paint films and coatings. In *Colour Measurement* (pp. 279-311). Woodhead Publishing.
- Gann, P. H. (2009). Randomized trials of antioxidant supplementation for cancer prevention: first bias, now chance—next, cause. *Jama*, 301(1), 102-103.
- Gwen Lawrie, Imelda Keen, Barry Drew, Adrienne Chandler-Temple, Llewellyn Rintoul, Peter Fredericks, and Lisbeth Grøndahl. Interactions between Alginate and Chitosan Biopolymers Characterized Using FTIR and XPS. *Biomacromolecules* 2007, 8, 2533-2541.
- Horwitz, W. *Official Methods of Analysis*, 3rd ed.; Association of Official Analytical Chemists: Gaithersburg, MD, USA, 1997

- Juliana Pinto de Lima, Luciana Azevedo, Nádia Janaina de Souza, Elisangela Elena Nunes, Eduardo Valério de Barros Vilas Boas. First evaluation of the antimutagenic effect of mangaba fruit in vivo and its phenolic profile identification. *Food Research International* 75 (2015) 216–224.
- Kanmani, P., & Lim, S. T. (2013). Development and characterization of novel probiotic-residing pullulan/starch edible films. *Food chemistry*, 141(2), 1041-1049.
- Kavoosi, G., Rahmatollahi, A., Dadfar, S. M. M., & Purfard, A. M. (2014). Effects of essential oil on the water binding capacity, physico-mechanical properties, antioxidant and antibacterial activity of gelatin films. *LWT-Food Science and Technology*, 57(2), 556-561.
- Khodaei, D., Hamidi-Esfahani, Z., & Lacroix, M. (2020). Gelatin and low methoxyl pectin films containing probiotics: Film characterization and cell viability. *Food Bioscience*, 36, 100660.
- Khodaei, D., Hamidi-Esfahani, Z., & Lacroix, M. (2020). Orozco-Parra, J., Mejía, C. M., & Villa, C. C. (2020). Development of a bioactive synbiotic edible film based on cassava starch, inulin, and *Lactobacillus casei*. *Food Hydrocolloids*, 104, 105754.
- Kim J.H., Lee J., Choi I.J., Kim Y.I., Kwon O., Kim H., Kim J. Dietary Carotenoids Intake and the Risk of Gastric Cancer: A Case-Control Study in Korea. *Nutrients*. 2018;10:1031. doi: 10.3390/nu10081031
- Kuciel, S., Mazur, K., & Jakubowska, P. (2019). Novel biorenewable composites based on poly (3-hydroxybutyrate-co-3-hydroxyvalerate) with natural fillers. *Journal of Polymers and the Environment*, 27(4), 803-815.
- Larrauri, J. A., Rupérez, P., Saura-Calixto, F. Effect of drying temperature on the stability of polyphenols and antioxidant activity of red grape pomace peels (1997). *Journal Agriculture and Food Chemistry*, 45, 1390-1393.
- Martin-Belloso, and T. H. McHugh. 2006. Mechanical, barrier, and antimicrobial properties of apple puree edible films containing
- Melendez-Martinez A.J., Stinco C.M., Mapelli-Brahm P. Skin Carotenoids in Public Health and Nutricosmetics: The Emerging Roles and Applications of the UV Radiation-Absorbing Colourless Carotenoids Phytoene and Phytofluene. *Nutrients*. 2019;11:1093. doi: 10.3390/nu11051093
- Nag, A., Han, K. S., & Singh, H. (2011). Microencapsulation of probiotic bacteria using pH-induced gelation of sodium caseinate and gellan gum. *International Dairy Journal*, 21(4), 247-253.

- Nogueira, G. F., Soares, C. T., Cavasini, R., Fakhouri, F. M., & de Oliveira, R. A. (2019). Bioactive films of arrowroot starch and blackberry pulp: Physical, mechanical and barrier properties and stability to pH and sterilization. *Food chemistry*, 275, 417-425.
- Oliveira, A. L. D., Silva, M. G. F. D., Sobral, P. J. D. A., Oliveira, C. A. F. D., & Habitante, A. M. Q. B. (2005). Propriedades físicas de misturas para sherbet de mangaba. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, 40, 581-586.
- Oliveira, D., and C. Rocha. 2008. Sustainable Alternatives for school lunches with the use of plants of the savanna, Promote environmental education. *REMEA-Revista Eletrônica do Mestrado em Educação Ambiental* 21.
- Otoni, C. G., Avena-Bustillos, R. J., Azeredo, H. M., Lorevice, M. V., Moura, M. R., Mattoso, L. H., & McHugh, T. H. (2017). Recent advances on edible films based on fruits and vegetables - a review. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 16 (5), 1151-1169.
- Otoni, C. G., M. R. D. Moura, F. A. Aouada, G. P. Camilloto, R. S. Cruz, M. V. Lorevice, N. D. F. F. Soares, and L. H. C. Mattoso. 2014. Antimicrobial and physical-mechanical properties of pectin/papaya puree/cinnamaldehyde nanoemulsion edible composite films. *Food Hydrocolloids* 41:188–94. doi: 10.1016/j.foodhyd.2014.04.013
- Padayatty SJ, Sun AY, Chen Q, Espey MG, Drisko J, Levine M. Vitamin C: intravenous use by complementary and alternative medicine practitioners and adverse effects. *PLoS One*. 2010;5:e11414
- Pereira, J. O., Soares, J., Sousa, S., Madureira, A. R., Gomes, A., & Pintado, M. (2016). Edible films as carrier for lactic acid bacteria. *LWT*, 73, 543-550.
- Quirós-Sauceda, A. E., Ayala-Zavala, J. F., Olivas, G. I., & González-Aguilar, G. A. (2014). Edible coatings as encapsulating matrices for bioactive compounds: a review. *Journal of Food Science and Technology*, 51(9), 1674-1685.
- Rangel-Marrón, M., Mani-López, E., Palou, E., & López-Malo, A. (2019). Effects of alginate-glycerol-citric acid concentrations on selected physical, mechanical, and barrier properties of papaya puree-based edible films and coatings, as evaluated by response surface methodology. *Lwt*, 101, 83-91.
- Rojas-Graü, M. A., Avena-Bustillos, R. J., Friedman, M., Henika, P. R., Martín-Belloso, O., & McHugh, T. H. (2006). Mechanical, barrier, and antimicrobial properties of apple puree edible films containing plant essential oils. *Journal of agricultural and food chemistry*, 54(24), 9262-9267.

- Rufino, M. S. M.; Alves, R. E.; Brito, E. S.; Pérez-Jiménez, J.; Sauracalixto, F.; Mancini-Filho, J. Bioactive compounds and antioxidant capacities of 18 non-traditional tropical fruits from Brazil. *Food Chemistry*, v. 121, pp. 996-1002, 2010.
- Ruiz-Navajas, Y., Viuda-Martos, M., Sendra, E., Perez-Alvarez, J. A., & FernándezLópez, J. (2013). In vitro antibacterial and antioxidant properties of chitosan edible films incorporated with *Thymus moroderi* or *Thymus piperella* essential oils. *Food Control*, 30(2), 386-392.
- Sijun Liu, Yong Li, Lin Li. Enhanced stability and mechanical strength of sodium alginate composite films. *Carbohydrate Polymers* 160 (2017) 62–70.
- Siripatrawan, U., & Harte, B. R. (2010). Physical properties and antioxidant activity of an active film from chitosan incorporated with green tea extract. *Food Hydrocolloids*, 24(8), 770-775.
- Soukoulis, C., Behboudi-Jobbehdar, S., Macnaughtan, W., Parmenter, C., & Fisk, I. D. (2017). Stability of *Lactobacillus rhamnosus* GG incorporated in edible films: Impact of anionic biopolymers and whey protein concentrate. *Food hydrocolloids*, 70, 345-355.
- Souza, C. O., Silva, L. T., Silva, J. R., López, J. A., Veiga-Santos, P., & Druzian, J. I. (2011). Mango and acerola pulps as antioxidant additives in cassava starch bio-based film. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 59(6), 2248-2254.
- Souza, V. G. L., Mello, I. P., Khalid, O., Pires, J. R. A., Rodrigues, C., Alves, M. M., ... & Coelho, I. (2022). Strategies to Improve the Barrier and Mechanical Properties of Pectin Films for Food Packaging: Comparing Nanocomposites with Bilayers. *Coatings*, 12(2), 108.
- Susmitha, A., Sasikumar, K., Rajan, D., & Nampoothiri, K. M. (2021). Development and characterization of corn starch-gelatin based edible films incorporated with mango and pineapple for active packaging. *Food Bioscience*, 41, 100977.
- Susmitha, A., Sasikumar, K., Rajan, D., & Nampoothiri, K. M. (2021). Development and characterization of corn starch-gelatin based edible films incorporated with mango and pineapple for active packaging. *Food Bioscience*, 41, 100977.
- Svetlana R. Derkach, Nikolay G. Voron'ko, Nina I. Sokolan, Daria S. Kolotova, and Yulia A. Kuchina. Interactions between gelatin and sodium alginate: UV and FTIR studies. *Journal of Dispersion Science and Technology*, 2020, Vol. 41, N. 5, 690–698.
- Talcott, T.S.; Howard, R.L. Phenolic autoxidation is responsible for color degradation in processed carrot puree. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*. v.47, p.2109-2115, 1999.

Tomičić, Z. M., Čolović, R. R., Čabarkapa, I. S., Vukmirović, Đ. M., Đuragić, O. M., & Tomićić, R. M. (2016). Beneficial properties of probiotic yeast *Saccharomyces boulardii*. *Food and Feed Research*, 43(2), 103-110.

Tuncer Çaykara & Serkan Demirci (2006) Preparation and Characterization of Blend Films of Poly(Vinyl Alcohol) and Sodium Alginate, *Journal of Macromolecular Science, Part A*, 43:7, 1113-1121.

Venugopalan, V., Shriner, K. A., & Wong-Beringer, A. (2010). Regulatory oversight and safety of probiotic use. *Emerging infectious diseases*, 16(11), 1661.

Viana, R. M., Sá, N. M. S. M., Barros, M. O., Borges, M. de F., & Azeredo, H. M. C. (2018). Nanofibrillated bacterial cellulose and pectin edible films added with fruit purees. *Carbohydrate Polymers*, 196, 27–32.

Vinderola G, Gueimonde M, Gomez-Gallego C, Delfederico L, Salminen S. Correlation between in vitro and in vivo assays in selection of probiotics from traditional species of bacteria. *Trends in Food Science & Technology*. 2017;68:83-90.

Wolak T., Sharoni Y., Levy J., Linnewiel-Hermoni K., Stepensky D., Paran E. Effect of Tomato Nutrient Complex on Blood Pressure: A Double Blind, Randomized Dose()Response Study. *Nutrients*. 2019;11:950. doi: 10.3390/nu11050950.

3. CONCLUSÃO GERAL

Filmes comestíveis bioativos baseados em alginato, polpa de mangaba e na levedura probiótica *S. boulardii* foram desenvolvidos pela técnica de *casting*. A adição da polpa de mangaba melhorou as propriedades relacionadas a água dos filmes que apresentaram menor conteúdo de umidade, solubilidade em água e permeabilidade ao vapor de água. A incorporação da polpa de mangaba também melhorou as propriedades térmicas dos filmes e de tensão dos filmes aumentando sua estabilidade térmica e resistência a tração e alongamento na ruptura. O aumento da concentração de polpa de mangaba na solução filmogênica tornou os filmes mais escuros, com tons amarelos e mais saturados, o que pode ser atrativo para a preparação de embalagens de alimentos. A adição da levedura probiótica e/ou polpa de mangaba tornou os filmes mais opacos e melhorou suas propriedades de barreira a luz ultravioleta e visível. A incorporação da polpa de mangaba na suspensão filmogênica incorporou compostos bioativos e capacidade antioxidante aos filmes resultantes. Os filmes foram capazes de proteger as células probióticas durante a formação do filme, e durante o armazenamento aqueles filmes elaborados com polpa de mangaba e armazenados à 4°C apresentaram a maior viabilidade da levedura probiótica. No geral, os filmes compostos por alginato, polpa de mangaba, e levedura probiótica *S. boulardii* foram excelentes barreiras contra PVA, luz UV/vis e capazes de manter a viabilidade de *S. boulardii* durante armazenamento. Assim, esses filmes representam novos materiais bioativos com potencial aplicação como materiais de embalagem de alimentos.