

ATIVIDADE BACTERICIDA DE FILMES DE AMIDO CONTENDO ALBUMINA, COLÁGENO E MEMBRANA DA CASCA DE OVO

Jéssica F. da Silva*¹, Renan Luiz Romano Gon¹, Angela Kwiatkowski², Regiane da Silva¹.

1-Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Campus Campo Mourão.

2-Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia de Mato Grosso do Sul, Campus Coxim.

Resumo: A necessidade de se obter materiais resistentes a ação de bactérias tanto na indústria de alimentos como na farmacêutica tem levado ao aumento de pesquisas no campo de biomateriais, principalmente no que diz respeito à obtenção de materiais de baixo custo. Neste estudo foram utilizados filmes de amido, que podem ser obtidos com facilidade favorecendo a aplicação dos mesmos como biomateriais para estudo da atividade bactericida frente à *Salmonella typhimurium*, *Escherichia coli* e *Staphylococcus aureus*. Os resultados obtidos demonstraram que estes filmes são capazes de liberar cerca de 6 mmols de óxido nítrico (NO) por grama de filme e que os mesmos apresentaram potencial de ação antibacteriana para *S. typhimurium* e *S. aureus*, não apresentando resultados significativos frente à *E. coli*. Estes resultados indicam que o NO apresenta ação antibacteriana e que os filmes de amido contendo membrana de casca de ovo, albumina e colágeno podem ser utilizados como materiais de embalagens que estejam em contato com alimentos ou compostos que devam ser preservados da ação de bactérias.

Palavras-chave: Filmes; Nitrosotiol; Antimicrobiana.

Bactericidal activity of starch films containing albumin, collagen and eggshell membrane: The need for materials resistant to bacterial action has led to increases in biomaterials field research in food and pharmaceutical industry, particularly with regard to obtaining low cost materials. In this study, starch films easily obtained were used. The application is favorable to their application as biomaterials and studying the bactericidal activity against *Salmonella typhimurium*, *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus*. The results showed that the films were capable to release about 6 mmols of nitric oxide (NO) per gram of film and that they had potential antibacterial action against *S. typhimurium* and *S. aureus*, showing no significant results against *E. coli*. These results indicate that nitric oxide has bactericidal action and the starch films containing eggshell membrane, collagen and albumin can be used as packaging materials in contact with food or compounds which must be preserved from the bacterial action.

Keywords: Films; Nitrosothiol; Antimicrobial.

1 Introdução

O amido é um polímero natural, polissacarídeo, encontrado nos vegetais como milho, batata e mandioca, entre outros. O amido apresenta-se na forma de grânulos, semicristalino, cujo grau de cristalinidade pode variar entre 20 a 45% (YOUNG, 1984). Basicamente, o amido é composto por dois tipos de glicosídeos, um linear, amilose, e outro ramificado, amilopectina. A amilose é um polímero composto por

unidades de D-glicose ligadas por ligações α -(1→4), com grau de polimerização dependente da fonte de amido, podendo variar entre 200 a 3000. A amilopectina é um polímero com unidades de D-glicose ligadas por meio de ligações α -(1→4) e ramificações em α -(1→6) (ELLIS *et al.*, 1998). Quanto maior o grau de ramificações, mais difícil é a formação de um gel de amido.

Comercialmente, os amidos são modificados para obter propriedades distintas deste material, resultando em uma diversidade de aplicações, principalmente na indústria alimentícia, apresentando propriedades como condicionadores de massas, ligantes de recheios, emulsificantes, produtos com redução de calorias,

* E-mail: jessicasilva.fer@hotmail.com

substitutos de gordura, bebidas lácteas, sucos, balas duras, encapsulador de aromas, entre outros (GUILBOT; MERCIER, 1985; CEREDA, 2002). Na indústria química pode ser utilizado para produção de papel e celulose (SILVA *et al.*, 2006). A produção de filmes a partir de amido se baseia nas propriedades físico-químicas e funcionais da amilose para formação de géis. A linearidade da amilose possibilita as moléculas se orientarem paralelamente e distantes de uma ligação de hidrogênio entre as hidroxilas de polímeros adjacentes, formando cristalitos. Estes cristais reduzem a afinidade do polímero em água levando a formação de pastas opacas e filmes resistentes (WURZBURG, 1986).

Apesar da criação de embalagens que possam substituir os derivados de petróleo ainda ser um desafio, diversos pesquisadores tem estudado a utilização de biopolímeros como o amido, principalmente o extraído de mandioca, denominado fécula (ABAM, 2006). O crescente uso de amidos em embalagens estimulou o interesse nas pesquisas nesta área, onde se visa aumentar a resistência com maior flexibilidade para que a embalagem possa adaptar-se a deformações sem se romper (SOBRAL, 2000). As propriedades mecânicas dos filmes de amido são dependentes dos teores de amilose, amilopectina, solventes, plastificantes e ajustadores de pH presentes, bem como do processo de obtenção do filme. Filmes de amido produzidos sem adição de plastificantes apresentam-se resistentes e elásticos (MALI *et al.*, 2004, MALI *et al.*, 2005). Dentre os processos de obtenção de materiais a partir de amido, pode-se citar a obtenção de filmes por meio da formação de uma solução aquosa sob aquecimento com subsequente evaporação do solvente (ZACARIAS *et al.*, 2007), e, a síntese de redes poliméricas de amido por meio de sua gelatinização em água à 100 °C seguido de congelamento por 24 horas e descongelamento de duas horas (SILVA *et al.*, 2011).

A utilização de albumina de ovo em filmes de amido confere barreira ao O₂ e CO₂ em ambientes com baixa umidade relativa, e tem sido investigada sua utilização a fim de melhorar as características de permeabilidade, resistência mecânica, flexibilidade e valor nutricional (AMARANTE; BANKS, 2001).

Segunda Maia, Porte e Souza (2000), o colágeno é uma proteína fibrosa encontrada no tecido animal, sendo um material para filmes comestíveis de proteína mais usado comercialmente, pois tem sido empregado como invólucro substituto da tripa natural em salsichas, pois

apresentam a característica de barreira ao oxigênio a 0% de umidade relativa.

Oliveira, Benelli e Amante (2009) destaca que a membrana da casca de ovo apresenta vantagens químicas pouco pesquisadas e que não foram suficientes para que fossem convertidas de resíduos a novos materiais. Segundo Boron (2004), possui características químicas interessantes para uso em diversos materiais, pois são formadas por glicoproteínas, constituídas de colágenos tipo I, V e X, úteis na produção de vários cosméticos. Também apresentam em sua composição sulfato de queratana e dermatana, que são glicosaminoglicanos úteis na produção de colágenos e síntese de outros produtos, como quitina. Contém também ácido siálico, um sialo-oligosacarídeo que possui propriedades terapêuticas, no desenvolvimento de fármacos, enzimas bacteriolíticas, como a lisozima e a beta-N-acetil glucosaminidase, que alteram a resistência térmica bacteriana.

O objetivo deste trabalho foi elaborar filmes de amido, com colágeno, albumina, membrana de casca de ovo e avaliar sua atividade antibacteriana a fim de aplicação para embalagens de alimentos.

2 Material e Métodos

2.1 Material

Os materiais utilizados no desenvolvimento dos filmes foram: Anilina PA (puríssima) (Vetec), ácido clorídrico PA (36,5%) (Isofar), antibiótico cefalexina 500 mg, água deionizada, amido de milho USP (Casa das Essências), cloreto de sódio PA (99%) (Vetec), meio de cultura Mueller Hinton (Himedia), nitrito de sódio (99%) (Nuclear), peptona bacteriológica (Isofar), membrana da casca de ovo de granja branco, sulfanilamida PA (Vetec), colágeno bovino, albumina de ovo, papel celulose.

2.2 Preparo dos filmes de amido

Para elaboração dos filmes preparou-se uma solução de amido 4%, uma solução de albumina 5% e uma solu-

Tabela 1 - Preparação dos filmes de Amido.

Placa	Solução de Amido 4% (mL)	Solução de Colágeno 5% (mL)	Solução de Albumina 5% (mL)	Membrana da casca de ovo (g)	H ₂ O (mL)
1	25,00	--	--	--	--
2	18,75	--	--	0,06	6,25
3	18,75	--	--	0,30	6,25
4	18,75	--	--	0,60	6,25
5	18,75	--	0,75	--	5,50
6	18,75	--	0,75	0,30	5,50
7	18,75	0,75	--	0,30	5,50
8	18,75	0,75	0,75	0,30	5,50
9	18,75	0,75	0,75	--	4,75

ção de colágeno 5%, membrana de casca de ovo triturado e água deionizada. Em seguida, prepararam-se nove amostras de filmes em placas de petri com as seguintes misturas (Tabela 1) totalizando um volume de 25 mL.

Após a obtenção das misturas, as mesmas foram congeladas por 24 horas e depois descongeladas e, então colocadas em embrulhos de papel alumínio os quais foram levados a uma estufa à 40 °C por 48 horas.

2.3 Preparo da solução padrão de detecção de óxido nítrico (NO).

A solução padrão foi preparada a partir da dissolução de anilina, sulfanilamida e solução de HCl 4,0 M, formando uma solução $1,0 \times 10^{-2}$ mol.L⁻¹ capaz de reagir com NO formando um composto de absorvância máxima em 262 e 490 nm, que substituiu a solução padrão normalmente utilizada de Griess, sendo esta formulação similar a essa solução padrão composta por sulfanilidamida e N-(1-naftil)-etilenediamina dihidroclorato (NEED), comumente utilizada para detecção de NO (SEABRA *et al.*, 2010), de absorvância máxima da solução em 540 nm.

A partir da solução preparada, uma curva de calibração foi construída para detecção do teor de NO em solução utilizando nitrito de sódio.

Foram preparadas a partir de uma solução 74,0 mmol.L⁻¹ diferentes soluções de nitrito com concentrações 0,0616 mmol.L⁻¹; 0,0493 mmol.L⁻¹; 0,0435 mmol.L⁻¹; 0,011 mmol.L⁻¹ e 0,0352 mmol.L⁻¹.

2.4 Nitrosação

Pedaços de massa e área conhecidas dos filmes foram adicionados em uma solução de nitrito de sódio de concentração 0,14 mol.L⁻¹ em HCl 1,0 mol.L⁻¹, e deixados nitrosar por 5 minutos.

Este processo consiste no ataque nucleofílico do cátion nitrosônio (NO⁺) ao átomo de enxofre do grupo tiol (SH), formando assim o grupo SNO, que posteriormente é capaz de liberar NO.

2.5 Acompanhamento da cinética de liberação

Após a nitrosação foi realizada a lavagens dos filmes com água deionizada para a determinação do teor de NO liberado por decomposição.

Na sequência, os filmes foram imersos em solução padrão $1,0 \times 10^{-2}$ (anilina, sulfanilamida, HCl 4,0 M) e realizada a leitura da solução em espectrofotômetro UV/Vis (PG Instruments, T80+) no período de cinco e 15 minutos, em varredura entre 200-600 nm, a partir de uma solução preparada pela mistura de 0,5 mL de solução padrão e 4,5 mL de água deionizada.

2.6 Avaliação do potencial antibacteriano

A avaliação do potencial antibacteriano foi realizada pelo método de difusão em disco, conforme Bauer *et al.* (1966) com algumas modificações (BARRY, 1991; JORGENSEN; TURNIDGE; WASHINGTON, 1999). O princípio do método fundamenta-se na difusão, através de gel de ágar, de um antimicrobiano impregnado em um disco de papel-filtro. A difusão do antimicrobiano leva à formação de um halo de inibição do crescimento bacteriano, cujo diâmetro é inversamente proporcional à concentração inibitória mínima (MIC) (BARRY, 1991; JORGENSEN; TURNIDGE; WASHINGTON, 1999). Foram utilizadas as bactérias *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* e *Salmonella typhimurium*, provenientes do Laboratório de Microbiologia de Alimentos, da Universidade Tecnológica Federal do Paraná, UTFPR, Campus Campo Mourão. As bactérias foram incubadas em caldo nutriente a 37 °C por 24 horas. Após o crescimento em caldo as culturas foram diluídas até 10^{-3} bactérias por mililitro de solução salina peptonada 0,1%. Padronizou-se o inóculo de bactérias, comparando-o com o tubo 5 da escala de McFarland (0,5 mL de cloreto de bário a 1,0% + 9,5 mL de ácido sulfúrico a 1,0%) por meio da verificação espectrofotométrica das absorvâncias em 625nm, obtendo-se 1500×10^6 UFC.mL⁻¹.

As bactérias foram semeadas em placas de Petri com auxílio de alça de Drikalski (200 µL) no meio ágar Mueller Hinton. Foram aplicados sobre a placa com as bactérias os discos de filmes de amido, com diâmetro de 7 mm. Os discos foram aplicados em cada quadrante das placas contendo as respectivas bactérias. O experimento foi realizado em triplicata para cada cultura bacteriana. As placas foram incubadas a 37 °C por 48 horas em estufa microbiológica. A leitura do tamanho dos halos foi feita com auxílio de paquímetro. O padrão antibacteriano foi realizado com antibiótico cefalexina 500 mg diluída à concentração de 0,005 mg.mL⁻¹ em solução água salina peptonada a 0,1% e aplicado sobre o disco de filme de amido controle n.1.

3 Resultados e Discussão

Os filmes poliméricos de amido contendo colágeno, albumina e membrana da casca de ovo apresentaram-se flexíveis e opacos, conforme pode ser observado na Figura 1A. Após a nitrosação dos filmes pode-se observar que a membrana da casca do ovo apresenta coloração amarelada (Figura 1B) resultante do processo de S-nitrosação dos grupos SH presentes nas proteínas que compõem a membrana.

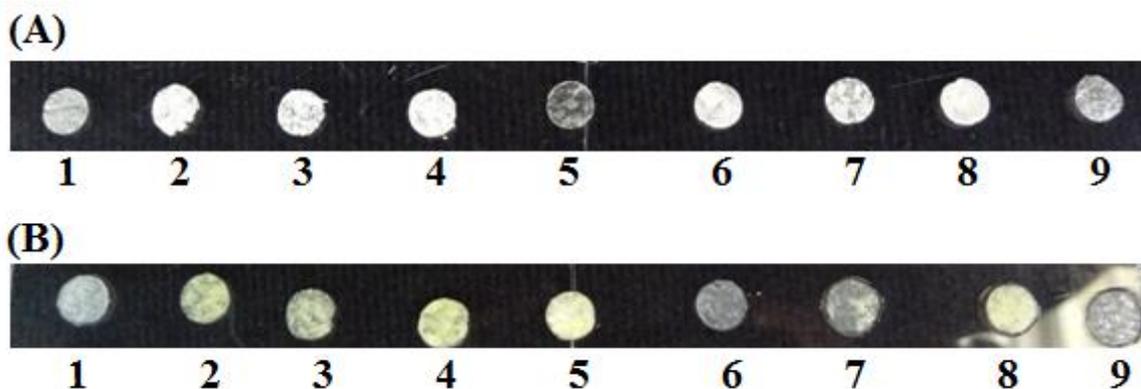
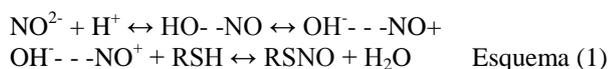


Figura 1- (A) Imagens dos filmes de amido contendo colágeno, albumina e membrana da casca de ovo. (B) Imagens dos filmes de amido contendo colágeno, albumina e membrana da casca de ovo, após processo de S-nitrosação.

A reação de S-nitrosação pode ser expressa conforme o Esquema 1. Inicialmente o nitrito (NO^{2-}) origina o ácido nitroso através de hidrólise, que é um poderoso agente de nitrosação e, que apresenta uma estrutura de separação de cargas (OH^- - $-\text{NO}^+$). Em seguida os grupos SH, neste caso, destacamos os presentes na membrana da casca do ovo, os quais sofrem S-nitrosação através do ataque nucleofílico do cátion nitrosônio (NO^+) ao átomo de enxofre do grupo tiol (SH), formando assim o grupo SNO com liberação de uma molécula de água. No esquema, R representa as moléculas que contenham o grupo SH.



Após a nitrosação, os filmes poliméricos continuaram opacos, não sendo possível obter a quantificação dos grupos SH efetivamente nitrosados, diretamente pela análise espectrofotométrica dos filmes, pois estes apresentaram aspectos irregulares na sua formação, sendo utilizada a parte com maior homogeneização dos componentes. A concentração de grupos SNO presente pode ser caracterizado por meio da adaptação do método de Griess, que é um método espectrofotométrico padrão para detecção de nitrito, amplamente utilizado para quantificar S-nitrosotióis (RSNOs). No processo, soluções contendo sulfanilamida e anilina quando expostas a grupos RSNOs ou solução aquosa de nitrito, apresentam bandas de absorção em 262 e 490 nm, atribuídas à formação do composto azo (grupo funcional $-\text{N}=\text{N}-$) (Nims *et al.*, 1995; Cook *et al.* 1996). A adição de NO em solução ou de um doador de NO leva a N-nitrosação da sulfanilamida pelos intermediários gerados na reação entre NO/O_2 , originando uma arilnitrosoamina primária que rapidamente se decompõe ao íon diazônio, que na sequência reage com a anilina formando o composto azo que pode ser quantificado em solução por espectrofotometria. As Figuras 2A e 3A apresentam a variação espectral devido à formação do composto azo formado através de reação com solução de concentração conhecida de nitrito.

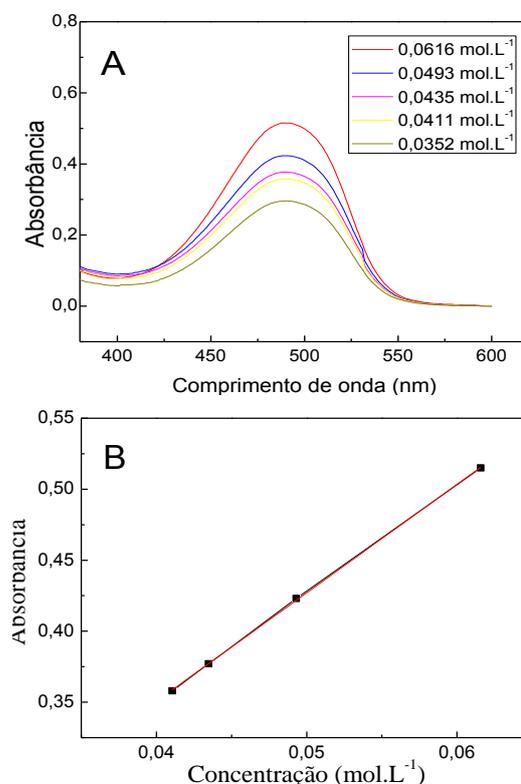


Figura 2- (A) Espectros resultantes da reação de S-nitrosação do composto azo formado entre anilina e sulfonilamida, mostrando as bandas de absorção em 490 nm, (B) curva de calibração referente ao cromóforo S-NO obtida em 490 nm.

As curvas obtidas foram utilizadas para construção da curva de calibração, apresentadas nas Figuras 2B e 3B, que foram utilizadas para quantificação da concentração de grupos NO liberados pelos filmes após o processo de nitrosação.

A quantificação do número de mols de NO que os filmes de amido liberaram após o processo de nitrosação pode ser obtida através da formação do composto azo. Pode-se observar na Figura 4, que a maioria dos filmes libera menos de 6,0 mmol de NO após 15 minutos de nitrosação, com exceção do filme número 9 que libera o dobro. Este filme apesar de não conter membrana de casca de ovo consegue liberar um

grande número de moléculas de NO, o que pode ser associado ao fato da albumina ou colágeno conter em sua estrutura o grupo SH que pode ser nitrosado. O filme 5 apresenta o menor teor de NO liberado o que indica que a presença de albumina não contribui para a liberação de NO, quando comparado aos demais filmes.

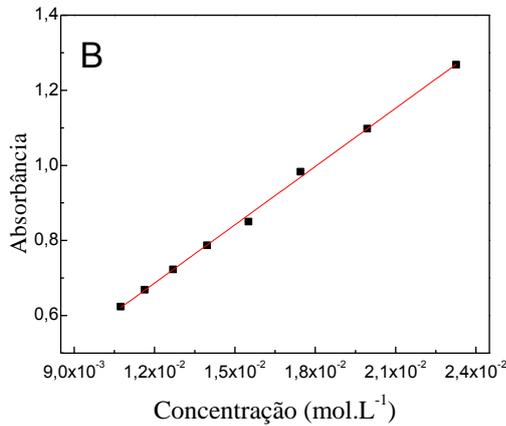
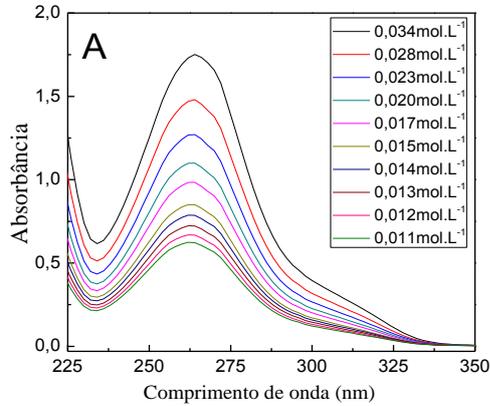


Figura 3- (A) Espectros resultantes da reação de S-nitrosação do composto azo formado entre anilina e sulfonilamida, mostrando as bandas de absorção em 262 nm, (B) curva de calibração referente ao cromóforo S-NO obtida em 262 nm.

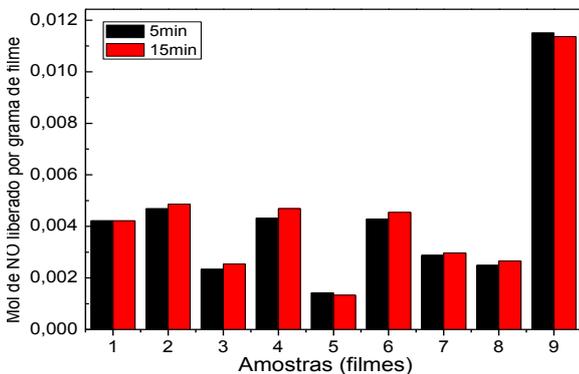


Figura 4- Número de mols de NO liberado por grama de filme de amido.

A propriedade antimicrobiana avaliada através do método de disco-difusão originário de Bauer et al. (1966), é um dos métodos mais utilizados nos laboratórios de microbiologia no Brasil desde a sua descoberta em 1966 (BARRY, 1991; JORGENSEN,

1999). Os resultados da medida do tamanho dos halos obtidos pelo método de disco-difusão frente à *S. typhimurium*, *E. coli* e *S. aureus* estão apresentados respectivamente na Tabela 2. Os valores representam a medida total (diâmetro do filme + halo sem crescimento da bactéria), sendo a medida do diâmetro de cada filme de 7 mm.

Tabela 2- Médias dos halos para atividade antibacteriana de filmes de amido.

Filme	Tamanho do halo (mm)		
	<i>S. typhimurium</i>	<i>E. coli</i>	<i>S. aureus</i>
1	9,0	9,0	11,0
2	11,0	-	10,0
3	11,0	-	11,7
4	11,5	-	11,0
5	11,5	-	9,0
6	9,5	-	10,5
7	9,5	-	11,5
8	8,5	-	13,0
9	10,7	9,0	11,5

(-) Não houve inibição.

Os resultados da Tabela 2, para atividade antimicrobiana frente à *S. typhimurium* mostraram que os filmes 1, 6, 7 e 8 apresentaram as menores respostas de ação bactericida, valores menores que 10 mm. Os detalhes do teste antibacteriano pode ser observado na Figura 5.



Figura 5- Placas de petri com filmes de amido frente à *Salmonella typhimurium*.

Não houve atividade antibacteriana para os filmes frente a *E. coli* (Figura 6), com exceção dos filmes controle (apenas com amido) e o filme de amido com albumina e colágeno, o que pode ser associado a necessidade de altas doses de NO ou então a alta resistência da bactéria em relação aos grupos NO que os filmes liberam.

Para a bactéria *S. aureus* (Figura 7) pode ser observado que apenas o filme 5 composto por amido e albumina não apresentaram significativa ação bactericida frente a *S. aureus*. Trabalhos anteriores mostraram que a bactéria, pode ser morta por ação do NO para filmes que liberam altas doses de NO, apesar da mesma apresentar resistência a ação do NO (SEABRA *et al.*, 2010).



Figura 6- Placas de petri com filmes de amido frente à *Escherichia coli*.

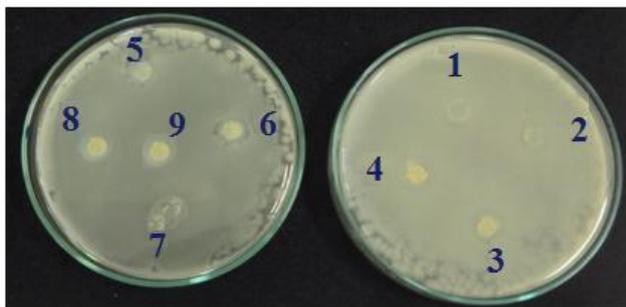


Figura 7- Placas de petri com filmes de amido frente à *Staphylococcus aureus*

Os filmes que apresentaram melhor ação bactericida foram os continham membrana da casca de ovo (2, 3, 4, 6, 7, 8) em maior concentração.

4 Conclusão

Filmes de amido contendo colágeno, albumina e membrana da casca de ovo mostram ser capazes de liberar cerca de 6,0 mmols de óxido nítrico (NO) por grama de filme. A ação bactericida dos filmes foi verificada frente a *S. typhimurium*, *E. coli* e *S. aureus* e verificou-se que não houve atividade bactericida para todos os filmes frente a *E. coli*. Os resultados de ação antibacteriana dos filmes de amido com utilização de óxido nítrico (NO) com ou sem membrana de casca de ovo, albumina e colágeno podem ser utilizados como superfícies de revestimento de embalagens que estejam em contato com alimentos ou compostos que devam ser preservados da ação de bactérias principalmente *S. typhimurium* e *S. aureus*.

5 Referências

ABAM. Biopolímeros: amido substitui petróleo na produção de embalagens biodegradáveis. **Associação Brasileira dos Produtores de Amido de Mandioca**, v. 2, n. 14, 2006.

AMARANTE, C.; BANKS, N. H. Postharvest physiology and quality of coated fruits and vegetables. **Journal Horticultural Reviews**, v. 26, p. 161-238, 2001.

BAUER, A. W.; KIRBY, W. M., SHERRIS J. C.; TURCK, M. Antibiotic susceptibility testing by standardized single disk method. **American Journal Clinical Pathology**, v. 45, n. 4, p. 493-496, 1966.

BARRY, A. L. **Procedures and theoretical considerations for testing antimicrobial agents in agar media**. In: Lorian, Antibiotics in Laboratory Medicine. 3. ed. Baltimore: The Williams & Wilkins Co., Md, 1991.

BORON, L. **Citrato de cálcio da casca do ovo: biodisponibilidade e uso como suplemento alimentar**. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia dos Alimentos). Departamento de Ciência e Tecnologia de Alimentos - Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2004.

CEREDA, M. P. **Propriedades gerais do amido**. São Paulo (SP): Fundação Cargill, 2002. V. 1.

COOK, J. A.; KIM, S.Y.; TEAGUE, D.; KRISHNA, M. C.; PACELLI, R.; MITCHELL, J. B.; VODOVOTZ, Y.; NIMS, R. W.; CHRISTODOULOU, D.; MILES, A. M.; GRISHAM, M. B.; WINK, D. A. Convenient colorimetric and fluorimetric assays for s-nitrosothiols. **Analytical Biochemistry**, v. 238, n. 2, p. 150-158, 1996.

ELLIS, R. P.; COCHRANE, M. P.; DALE, M. F. B.; DUFFUS, C. M.; LYNN, A.; MORRISON, I. M.; PRENTICE, R. D. M.; SWANSTON, J. S.; TILLER, S. A. Starch production and industrial use. **Journal of Science Food and Agriculture**, v. 77, n. 3, p. 289-426, 1998.

GUILBOT, A.; MERCIER, C. STARCH. In: The polysaccharides, v. 3, p 209-273, 1985.

JORGENSEN, J. H.; TURNIDGE, J. D.; WASHINGTON, J.A. **Antimicrobial susceptibility tests: dilution and disk diffusion methods**. In: MURRAY, R. P. et al. Manual of Clinical Microbiology. 7. ed. American Society for Microbiology, Washington DC, 1999, p.1526- 1543

MALI, S.; GROSSMANN, M. V. E.; GARCÍA, M. A., MARTINO, M. M.; ZARITZKY, N. E. Barrier, mechanical and optical properties of plasticized yam starch films. **Carbohydrate Polymers**, v. 56, n. 2, p. 129-135, 2004.

MALI, S.; GROSSMANN, M. V. E.; GARCÍA, M. A.; MARTINO, M. M.; ZARITZKY, N. E. Mechanical and thermal properties of yam starch films. **Food Hydrocolloids**, v. 19, n.1, p. 157-164, 2005.

NIMS, R. W.; DARBYSHIRE, J. F.; SAAVEDRA, J. E.; CHRISTODOULOU, D.; HANBAUER I., COX, G. W.; GRISHAM, M. B.; LAVAL, F.; COOK, J. A.; KRISHNA, M. C.; WINK, D. A. Colorimetric methods for the determination of nitric oxide concentration in neutral aqueous solution. **Methods: a companion to methods in Enzymology**, v. 7, p. 48-54, 1995.

OLIVEIRA, D. A.; BENELLI, P.; AMANTE, E.R. Valorização de resíduos sólidos: casca de ovos como matéria-prima no desenvolvimento de novos produtos. In: **II International Workshop Advances in Cleaner Production**. São Paulo, Brasil: Anais, p. 1-11, 2009.

SEABRA, A. B.; MARTINS, D.; SILVA, R. S.; BROCCCHI, M., OLIVEIRA, M. G. Antibacterial nitric oxide-releasing polyester for the coating of blood-contacting

artificial materials. **Artif Organs**, v. 34, n. 7, p. 204-214, 2010.

SILVA, G. O.; TAKIZAWA, F. F.; PEDROSO, R. A.; LANDI, C. M.; LEONEL, M.; SARMENTO, S. B. S.; DEMIATE, I. M. Características físico-químicas de amidos modificados de grau alimentício comercializados no Brasil. **Ciência e Tecnologia em Alimentos**, v. 1, n. 26, p. 188-197, 2006.

SILVA, J. F.; BORNHAUSEN, K.; DOMICIANO, M. G.; GON, R. L. R.; GONÇALVES, O. H.; SILVA, R. Estudo da capacidade de hidratação de solo por hidrogéis. In: III Simpósio de Tecnologia e Engenharia de Alimentos UTFPR, Campo Mourão, 2011.

SOBRAL, P. J. A. Influência da espessura de biofilmesfeitos à base de proteínas miofibrilares sobre suas propriedades funcionais. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 35, n. 6, p. 1251-1259, 2000.

WURZBURG, O. B. **Cross-linked starches**. In: WURZBURG, O. B. (ed.) *Modified starches: properties and uses*. Boca Raton: CRC Press, 1986. Cap. 3, p. 41-53.

YOUNG, H. **Fractionation of starch**. In: WHISTLER, R. L.; BeMILLER, J. N.; PASCHALL, E. F. (Ed). *Starch chemistry and technology*. 2.ed. Orlando: Academic Press, 1984. p.249-283.

ZACARIAS, F. M.; SILVA, D. B.; ZOLIN, L. G.; FERRAREZI, J. G.; DRAGUNSKI, D. C.; FERRAREZI, A. D. M.; FERREIRA, J.; GIROTTO, E. M. Obtenção de filmes poliméricos a partir de amido e lignina. **30ª Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química**, 2007.