



UNIVERSIDADE  
ESTADUAL DE LONDRINA

---

MARIANA MORAES GÓES

**PRODUÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DE FILMES  
BIODEGRADÁVEIS BASEADOS EM AMIDO E  
EXTRATOS NATURAIS**

Londrina  
2023

MARIANA MORAES GÓES

**PRODUÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DE FILMES  
BIODEGRADÁVEIS BASEADOS EM AMIDO E  
EXTRATOS NATURAIS**

Defesa de Doutorado apresentada ao Departamento de Química da Universidade Estadual de Londrina, como requisito parcial à obtenção do título de doutora em Química.

Orientador: Profa. Dra. Gizilene Maria de Carvalho

---

Londrina  
2023

Ficha de identificação da obra elaborada pelo autor, através do Programa de Geração Automática do Sistema de Bibliotecas da UEL

Góes, Mariana Moraes .

Produção e caracterização de filmes biodegradáveis baseados em amido e extratos naturais / Mariana Moraes Góes. - Londrina, 2023.

137 f. : il.

Orientador: Gizilene Maria de Carvalho .

Tese (Doutorado em Química) - Universidade Estadual de Londrina, Centro de Ciências Exatas, Programa de Pós-Graduação em Química, 2023.

Inclui bibliografia.

1. Embalagem inteligente - Tese. 2. Antocianina - Tese. 3. Antioxidantes - Tese. 4. Embalagem ativa - Tese. I. Carvalho , Gizilene Maria de . II. Universidade Estadual de Londrina. Centro de Ciências Exatas. Programa de Pós-Graduação em Química. III. Título

CDU 54

MARIANA MORAES GÓES

**PRODUÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DE FILMES  
BIODEGRADÁVEIS BASEADOS EM AMIDO E  
EXTRATOS NATURAIS**

Defesa de Doutorado apresentada ao Departamento de Química da Universidade Estadual de Londrina, como requisito parcial à obtenção do título de doutora em Química.

**BANCA EXAMINADORA**

---

Orientadora: Profa. Dra. Gizilene Maria de  
Carvalho  
Universidade Estadual de Londrina - UEL

---

Prof. Dr. Fabio Yamashita  
Universidade Estadual de Londrina - UEL

---

Profa. Dra. Marianne Ayumi Shirai  
Universidade Tecnológica Federal do Paraná -  
UTFPR

---

Prof. Dr. Oscar de Oliveira Santos Junior  
Universidade Estadual de Maringá – UEM

---

Profa. Dra. Marcela Maria Baracat  
Universidade Estadual de Londrina - UEL

Londrina, 31 de março de 2023.

## **AGRADECIMENTOS**

À minha orientadora, professora Dra Gizilene Maria de Carvalho que, esteve presente em todos os momentos durante esses anos, me aconselhando e oferecendo sua ajuda, por sua amizade e dedicação na condução deste trabalho.

Aos professores da banca que, abdicaram do seu tempo para estarem contribuindo com essa pesquisa.

Aos professores e técnicos do Departamento de Química, que contribuíram efetivamente para minha formação, auxiliando diretamente ou indiretamente na conclusão desta pesquisa científica.

Aos laboratórios ESPEC, LMEM e LARX da Universidade Estadual de Londrina e Central Analítica Multiusuário de Medianeira da Universidade Tecnológica Federal do Paraná pelas análises realizadas.

Ao grupo de pesquisa em Polímeros e compósitos (GPol) que, foram fundamentais nestes anos. Obrigada pela colaboração e companhia durante a pesquisa experimental, mas principalmente pelas palavras de conforto, motivação e amizade.

Aos órgãos de fomento, Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES), Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) e Fundação Araucária que, tornaram essa pesquisa possível.

Aos meus pais, Silvana e Marcos e irmãos, Natália e Leonardo por estarem sempre ao meu lado, e por me incentivarem nos estudos.

Ao meu marido, Murilo, obrigada por sempre acreditar no meu potencial e por me fazer ser sempre melhor.

Agradeço especialmente à Deus, pelo dom da vida e pelos conhecimentos que me concedeu para a realização deste trabalho.

## RESUMO

GÓES, Mariana Moraes. **Produção e caracterização de filmes biodegradáveis baseados em amido e Extratos naturais**. 2023. 137. Tese de doutorado (Doutorado em Química) – Centro de Ciências Exatas, Universidade Estadual de Londrina, Londrina, 2023.

O uso de embalagens é indispensável em nosso cotidiano, porém o descarte desses materiais torna-se uma preocupante fonte de poluição, principalmente por serem majoritariamente provenientes de polímeros de origem fóssil e não biodegradáveis. O uso de polímeros biodegradáveis é uma alternativa promissora para diminuir o impacto ambiental causado por esses materiais. Com o intuito de agregar propriedades às embalagens biodegradáveis para atender as novas exigências do mercado e aumentar a segurança alimentar, este trabalho propõe a produção de um sensor de frescor de peixe e de um filme de amido/PBAT com propriedades antioxidantes para a utilização como embalagem ativa e inteligente. Inicialmente foram produzidos filmes de amido, plastificantes: glicerol e isomalte, sendo este último a inovação deste filme e antocianinas para serem usados como indicador de frescor de peixe. O efeito dos plastificantes e da antocianina nos filmes de amido foram estudados em relação as propriedades físico-químicas, mecânicas, térmicas e cinética de sorção de água, verificando-se que o tipo e quantidade de plastificante altera as propriedades do material. Os resultados de teor de bases voláteis mostraram que o filme produzido é responsivo em uma ampla faixa de pH, sendo um excelente candidato como indicador para monitoramento do frescor do pescado. Para a produção das embalagens ativas antioxidante foram produzidas inicialmente partículas de quitosana com Tripolifosfato de sódio e um novo reticulante o Trimetafosfato de sódio, em que não há resultados do seu uso na literatura e diferentes proporções de quitosana:óleo essencial de orégano. As análises de infravermelho e intumescimento comprovaram a reticulação da quitosana e indicaram que o intumescimento é influenciado pelo tipo de reticulante e a maneira em que ocorre a interação destas substâncias com a quitosana. Análises termogravimétrica demonstraram que as partículas com óleo encapsulado apresentam maior estabilidade térmica que o óleo puro, servindo como proteção térmica à substância ativa. Pela técnica de espalhamento dinâmico de luz verificou-se que as partículas produzidas com Tripolifosfato de sódio apresentam menores tamanhos o que

influenciou na liberação de óleo essencial de orégano. Para as diferentes partículas, a liberação de óleo é descrito por um mecanismo de liberação quasi fickiano. Filmes multicamadas em diferentes formulações de amido/Poli(Butileno Adipato-co-Tereftalato) com as partículas de quitosana pura e encapsuladas com óleo essencial de orégano e com o óleo livre na matriz polimérica foram produzidos por extrusão. Os resultados demonstram que a presença de partículas de quitosana e óleo essencial de orégano atuam como reforço ou carga nos filmes e o óleo como plastificante, aumentando os valores de permeabilidade ao vapor de água, a taxa de sorção de água e os valores de alongamento à ruptura e Módulo de Young comparados ao FC. O estudo cinético de liberação de óleo indicou uma difusão anômala, descrevendo uma combinação da difusão e relaxação das cadeias, com predominância do processo de difusão comprovado pelo parâmetro  $R/F < 0$  e modelo de Weibull. Maiores valores de compostos fenólicos e atividade antioxidante foram obtidos para as formulações com partículas de quitosana encapsuladas com óleo essencial de orégano (F1:1-TMFS e F1:1-TPFS), comprovando o efeito protetor da substância ativa pela encapsulação, além de servirem para mascarar o odor característico do óleo nos filmes. Os estudos realizados indicam que filmes de amido/ Poli(Butileno Adipato-co-Tereftalato) e partículas de quitosana encapsuladas com óleo essencial de orégano apresentam potencial para serem utilizados em embalagens ativas.

**Palavras-chave:** Embalagem inteligente; antocianina; antioxidantes; embalagem ativa; óleo essencial de orégano.

## ABSTRACT

GÓES, Mariana Moraes. **Production and characterization of biodegradable films based on starch and natural extracts**. 2023. 137. Tese de doutorado (Doutorado em Química) – Centro de Ciências Exatas, Universidade Estadual de Londrina, Londrina, 2023.

The use of packaging is indispensable in our daily routine, but the inappropriate discard of these materials is a consider pollution source, especially for being proceeding from polymer of fossil origin and non-biodegradable. The utility of biodegradable polymers to obtain packages is an alternative to reduce the environmental impact of these materials. Tied to the new market demands, the biodegradable packaging is an option with its active and intelligent properties. In this work were produced starch films, plasticizers, and anthocyanin to be used as a fresh indicator of fish for intelligent packaging. The plasticizers effect and anthocyanin in the starch films were studied related with its physical chemical, mechanical and thermal properties and its kinetic capacity of water sorption, checking what type and quantity of plasticizers modifies the material properties. Furthermore, was estimated the pH influence in the color of the film containing anthocyanin, as its indicator activity and total volatile basic nitrogen. The results demonstrated that the film is effective over a broad pH range, being an excellent option to indicate and monitor the fish freshness. To produce active antioxidant packaging, chitosan particles were initially produced with sodium trimetaphosphate and sodium tripolyphosphate crosslinkers and different proportions of chitosan:oregano essential oil. Infrared with Fourier transform and swelling analyzes confirmed the crosslinking of chitosan and indicated that swelling is influenced by the type of crosslinker and the way in which these substances interact with chitosan. Thermogravimetric analysis demonstrated that particles with encapsulated oil have greater thermal stability than pure oil, serving as thermal protection for the active substance. By Dynamic Light Scattering it was verified that the particles produced with sodium tripolyphosphate have smaller sizes, which influenced the release of oregano essential oil. For the different particles, the oil release is described by a quasi-Fickian release mechanism. Were produced multilayer films by extrusion process in different formulations of starch/poly(butylene adipate-co-terephthalate) with oil-free and encapsulated chitosan particles containing oregano essential oil and non-polymeric

matrix oil. The results show that the presence of chitosan and essential oil particles act as reinforcement or as filler at the films while the oil act as a plasticizer increasing the amount of water vapor permeability. This fact also increases the water sorption and the values related of elongation at break and Young's modulus comparing to FC. The kinetics study of the oil demonstrated an anomalous release described by a combination of diffusion and relaxation of the chain's prevalence the process of diffusion (proved by  $R/F < 0$  parameters and Weibull model). In case of the formulations containing chitosan particles and oregano essential oil (F1:1-TMFS e F1:1-TPFS) were observed a bigger number of phenolic compounds and antioxidant activity confirming the active substance protective effect when encapsulated in addition to has the potential of disguise the typical essential oil odor. The studies indicate that starch /Poly(Butylene Adipate-co-Terephthalate) films and chitosan particles encapsulated with oregano essential oil have the potential to be used in active packaging.

**Key-words:** Intelligent packaging; anthocyanin; antioxidants; active packaging; Oregano essential oil.

## LISTA DE FIGURAS

### FUNDAMENTOS TEÓRICOS E REVISÃO DA LITERATURA

<b>Figura 1.</b> Estrutura básica de um cátion flavilium .....	255
<b>Figura 2.</b> Principais antocianinas conhecidas.....	26
<b>Figura 3.</b> Possíveis mudanças estruturais das antocianinas em meio aquoso em função do pH .....	27
<b>Figura 4.</b> Estrutura química da quitosana .....	33
<b>Figura 5.</b> Estrutura química da (a) amilose e (b) amilopectina .....	35
<b>Figura 6.</b> Estrutura química do $\alpha$ -D-glicopiranosil-1,6-D-sorbitol (GPS; isomaltitol), $\alpha$ -D-glicopiranosil-1,1- D-manitol (GPM) e isomalte .....	38
<b>Figura 7.</b> (a) Imagem e (b) ilustração esquemática da coextrusora piloto de três camadas e do (c) filme .....	40
<b>Figura 8.</b> Estrutura química do PBAT .....	41

### ARTIGO 1

<b>Figura 1.</b> Imagem digital de filmes de amido/IM/Gly/GSE em diferentes pH (superior) e escala de cores Pantone® (inferior).....	63
<b>Figura 2.</b> Transformações estruturais de antocianinas em meio aquoso ácido para alcalino .....	64
<b>Figura 3.</b> Propriedades mecânicas dos filmes de amido/IM/Gly e amido/IM/Gly/GSE a .....	65
<b>Figura 4.</b> (a) Espectro infravermelho para filmes com e sem GSE, (b) Difratoograma de Raios X para amido de mandioca, (c) Difratoograma de Raios X para filmes sem GSE (d) Difratoograma de Raios X para filmes com GSE .....	67
<b>Figura 5.</b> Curvas cinéticas de sorção para filmes com diferentes razões IM/Gly com e sem GSE .....	70
<b>Figura 6.</b> Imagens e gráficos RGB para os filmes SIG50/50-GSE, SIG60/40-GSE e SIG70/30-GSE.....	75
<b>Figura 7.</b> Estudo da reversibilidade e sensibilidade da mudança de cor de filmes de amido com GSE (SIG70/30-GSE) em condições ácidas (HCl) e básicas (NH <sub>4</sub> OH).....	76
<b>Figura 8.</b> Imagem digital do SIG70/30 GSE (a) anexado a embalagens de pescado (b) controle .....	77

## ARTIGO 2

<b>Figura 1.</b> Imagens de MEV com aumento de 15000x para as partículas de quitosana .....	91
<b>Figura 2.</b> Distribuição e tamanho médio das partículas por DLS .....	92
<b>Figura 3.</b> Esquema da interação entre a quitosana e os reticulantes .....	95
<b>Figura 4.</b> Espectro de infravermelho (a) quitosana pura e partículas de quitosana produzidas com TMFS e TPFS (b) OEO puro e incorporado em diferentes proporções em partículas de quitosana produzidas com TMFS e TPFS..	96
<b>Figura 5.</b> Cinética da liberação de OEO (a) TMFS e (b) TPFS.....	97
<b>Figura 6.</b> (a) TG e (b) DTG do OEO puro, partículas de quitosana e partículas de quitosana incorporadas com OEO .....	100
<b>Figura 7.</b> DSC das amostras de quitosana produzidas em diferentes reticulantes com e sem OEO.....	101

## ARTIGO 3

<b>Figura 1.</b> Imagem esquemática dos filmes produzidos.....	111
<b>Figura 2.</b> Imagem digital dos filmes produzidos.....	116
<b>Figura 3.</b> Imagens de Microscopia Eletrônica de Varredura da criofratura (f-esquerda) e superfície (s-direita) das amostras de filmes .....	117
<b>Figura 4.</b> Curvas cinéticas de sorção para filmes de amido/PBAT, amido/PBAT na presença de partículas de quitosana puras, partículas de quitosana encapsuladas com OEO e OEO livre .....	120
<b>Figura 5.</b> Difratoograma de Raios X para filmes de amido/PBAT e os valores de IC .....	123
<b>Figura 6.</b> Propriedades mecânicas dos filmes de amido/PBAT em diferentes formulações.....	124
<b>Figura 7.</b> (a) Curvas de TG e (b) DTG para os filmes de amido/PBAT.....	125
<b>Figura 8.</b> Cinética de liberação do OEO nos filmes de amido/PBAT com OEO encapsulado em partículas de quitosana e OEO livre.....	127
<b>Figura 9.</b> Compostos fenólicos e capacidade antioxidante dos filmes amido/PBAT em meio simulado (água).....	129
<b>Figura 10.</b> Compostos fenólicos e capacidade antioxidante dos filmes amido/PBAT em meio simulado (solução alcoólica).....	129

## LISTA DE TABELAS

### ARTIGO 1

- Tabela 1** – Expressões algébricas de  $g(a)$  para os modelos cinéticos utilizados.....61
- Tabela 2** – Solubilidade, teor de umidade, PVA e intumescimento obtidos para filmes com diferentes razões IM/Gly com e sem GSE .....69
- Tabela 3** – Parâmetros cinéticos obtidos pelo modelo de Peleg para filmes com diferentes razões IM/Gly com e sem GSE em diferentes UR.....72
- Tabela 4** – Dados de  $T_{max}$ ,  $T_{onset}$ ,  $R_{m800}$  e  $E_a$  para filmes de amido com e sem GSE em diferentes proporções de IM/Gly .....73

### ARTIGO 2

- Tabela 1** – Eficiência de encapsulamento de óleo nas partículas de quitosana .....90
- Tabela 2** – Valores de %Q (porcentagem de Intumescimento) das partículas de quitosana produzidas com TMFS e TPFS.....94
- Tabela 3** – Parâmetros obtidos a partir do ajuste dos dados experimentais nos modelos cinéticos.....98

### ARTIGO 3

- Tabela 1** – Composição em massa (g) dos filmes produzidos em diferentes camadas.....111
- Tabela 2** – Solubilidade e PVA obtido para os filmes de amido/PBAT com diferentes formulações.....119
- Tabela 3** – Parâmetros cinéticos obtidos pelo modelo de Peleg para filmes de amido/PBAT em diferentes formulações.....121
- Tabela 4** – Dados de  $T_{max}$ ,  $T_{90}$  e  $R_{m500}$  para filmes de amido/PBAT.....126
- Tabela 5** – Modelos cinéticos usados para estudar o mecanismo de liberação do OEO .....127
- Tabela 6** – Parâmetros obtidos a partir do ajuste dos dados experimentais nos modelos cinéticos.....128

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

TGA	Análise Termogravimétrica
E	Alongamento à ruptura
BVT-N	Base volátil total
DSC	Calorimetria Exploratória Diferencial
DRX	Difração de Raio X
EE	Eficiência de Encapsulamento
$E_a$	Energia de ativação
DLS	Espalhamento Dinâmico de Luz
FTIR	Espectroscopia com transformada de Fourier
GSE	Extrato de Casca de Uva
Gly	Glicerol
IC	Índice de Cristalinidade
IM	Isomalte
Rm 800	Massa residual a 800 °C
MEV	Microscopia Eletrônica de Varredura
MY	Módulo de Young
OEO	Óleo Essencial de Orégano
PVA	Permeabilidade ao vapor de água
PBAT	Poli(Butileno Adipato-co-Tereftalato)
%Q	Porcentagem de Intumescimento
TS	Resistência à tração
RPM	Rotação por minuto
$T_{onset}$	Temperatura de início de degradação
$T_{max}$	Temperatura máxima de degradação
$T_m$	Temperaturas de Fusão

Tg	Temperaturas de Transição Vítrea
T <sub>90</sub>	Temperatura em que as amostras mantém 90% da massa inicial
TMFS	Trimetafosfato de sódio
TPFS	Tripolifosfato de sódio
UR	Umidade relativa

## SUMÁRIO

<b>1</b>	<b>INTRODUÇÃO .....</b>	<b>18</b>
<b>2</b>	<b>OBJETIVOS .....</b>	<b>20</b>
2.1	GERAL .....	20
2.1	ESPECÍFICOS .....	20
<b>3</b>	<b>FUNDAMENTOS TEÓRICOS E REVISÃO DA LITERATURA.....</b>	<b>22</b>
3.1	EMBALAGENS .....	22
3.1.1	Embalagens Inteligentes .....	23
3.1.1.1	Antocianinas .....	25
3.1.2	Embalagens Ativas .....	28
3.1.2.1	Antioxidantes e antimicrobianos .....	29
3.1.2.1.1	<i>Óleo essencial de orégano</i> .....	30
3.1.2.1.2	<i>Encapsulação</i> .....	32
3.2	QUITOSANA .....	33
3.3	AMIDO .....	33
3.4	PLASTIFICANTES .....	37
3.4.1	Isomalte .....	38
3.5	EXTRUSÃO TERMOPLÁSTICA E COEXTRUSÃO MULTICAMADAS.....	39
3.5.1	PBAT .....	40
	<b>REFERÊNCIAS.....</b>	<b>42</b>
<b>4</b>	<b>ARTIGO 1: Efeito de plastificantes em filme indicador de pH à base de amido e extrato de casca de uva vermelha para monitoramento do frescor de peixes .....</b>	<b>52</b>
<b>4.1</b>	<b>INTRODUÇÃO .....</b>	<b>53</b>
<b>4.2</b>	<b>MATERIAIS E MÉTODOS .....</b>	<b>55</b>
4.2.1	MATERIAIS.....	55
4.2.2	MÉTODOS.....	55
4.2.2.1	Extração da antocianina .....	55
4.2.2.2	Produção dos filmes de amido .....	55
4.2.2.3	Espectro de infravermelho .....	56
4.2.2.4	Análise termogravimétrica.....	56
4.2.2.5	Difração de Raios X .....	56
4.2.2.6	Propriedades Físico-Químicas .....	57
4.2.2.7	Teste mecânico .....	59
4.2.2.8	Cinética de decomposição.....	59
4.2.2.9	Influência do pH na cor dos filmes com GSE .....	61
4.2.2.10	Reversibilidade e sensibilidade de cor dos filmes.....	61
4.2.2.11	Avaliação da atividade indicadora de pH de filmes GSE.....	62
<b>4.3</b>	<b>RESULTADOS E DISCUSSÃO .....</b>	<b>63</b>

4.3.1	CARACTERIZAÇÃO DE GSE E RESPOSTAS DE COR DE FILMES DE AMIDO CONTENDO GSE À MUDANÇAS DE PH .....	63
4.3.2	PROPRIEDADES MECÂNICAS.....	64
4.3.3	CARACTERIZAÇÃO ESTRUTURAL DE FILMES.....	66
4.3.4	PROPRIEDADES FÍSICO-QUÍMICAS.....	68
4.3.5	CINÉTICA DE SORÇÃO DE UMIDADE .....	70
4.3.6	ANÁLISE TERMOGRAVIMÉTRICA E CINÉTICA DA DECOMPOSIÇÃO TÉRMICA DE FILMES.....	72
4.3.7	RESPOSTA DE COR DE FILMES INDICADORES DE PH.....	75
4.3.8	APLICAÇÃO DE FILMES INDICADORES DE PH COMO O FRESCOR DO PEIXE.....	76
<b>4.4</b>	<b>CONCLUSÃO .....</b>	<b>79</b>
	<b>REFERÊNCIAS.....</b>	<b>80</b>
<b>5</b>	<b>ARTIGO 2: Produção e caracterização de partículas de quitosana incorporadas com Óleo Essencial de Orégano para serem usadas em embalagens ativas .....</b>	<b>84</b>
<b>5.1</b>	<b>INTRODUÇÃO .....</b>	<b>85</b>
<b>5.2</b>	<b>MATERIAIS E MÉTODOS .....</b>	<b>86</b>
5.2.1	MATERIAIS.....	87
5.2.2	MÉTODOS .....	87
5.2.2.1	Produção das partículas.....	87
5.2.2.2	Caracterizações.....	88
5.2.2.3	Eficiência de encapsulamento .....	88
5.2.2.4	Intumescimento.....	89
5.2.2.5	Liberação do OEO.....	89
<b>5.3</b>	<b>RESULTADOS E DISCUSSÃO .....</b>	<b>90</b>
<b>5.4</b>	<b>CONCLUSÃO .....</b>	<b>103</b>
	<b>REFERÊNCIAS.....</b>	<b>104</b>
<b>6</b>	<b>ARTIGO 3: Efeito da incorporação de partículas e OEO em filmes de AMIDO/PBAT .....</b>	<b>107</b>
<b>6.1</b>	<b>INTRODUÇÃO .....</b>	<b>108</b>
<b>6.2</b>	<b>MATERIAIS E MÉTODOS .....</b>	<b>110</b>
6.2.1	MATERIAIS.....	110
6.2.2	MÉTODOS.....	110
6.2.2.1	Produção dos filmes de amido/PBAT.....	110

6.2.2.2	Caracterizações.....	111
6.2.2.3	Propriedades Físico-Químicas.....	112
6.2.2.4	Teste mecânico.....	113
6.2.2.5	Quantificação dos compostos fenólicos e antioxidantes.....	114
6.2.2.5.1	<i>Teor de compostos fenólicos totais</i> .....	114
6.2.2.5.2	<i>Atividades antioxidante total pela captura do radical livre DPPH</i> .....	115
6.2.2.5.3	<i>Atividade antioxidante total pelo método de redução do ferro (FRAP)</i> .....	115
6.2.2.6	Cinética de liberação de OEO em meio simulado.....	115
<b>6.3</b>	<b>RESULTADOS E DISCUSSÃO .....</b>	<b>116</b>
6.3.1	ASPECTO SENSORIAL E MORFOLÓGICO DOS FILMES PRODUZIDOS.....	116
6.3.2	ENSAIO DE SOLUBILIDADE, PVA E SORÇÃO DE ÁGUA.....	119
6.3.3	ANÁLISE DE DIFRAÇÃO DE RAIOS X.....	122
6.3.4	PROPRIEDADES MECÂNICAS.....	123
6.3.5	ANÁLISE TERMOGRAVIMÉTRICA.....	125
6.3.6	CINÉTICA DE LIBERAÇÃO DE OEO.....	126
6.3.7	QUANTIFICAÇÃO DE COMPOSTOS FENÓLICOS TOTAIS E ATIVIDADE ANTIOXIDANTE.....	129
<b>6.4</b>	<b>CONCLUSÃO .....</b>	<b>131</b>
	<b>REFERÊNCIAS.....</b>	<b>132</b>
<b>7</b>	<b>CONSIDERAÇÕES FINAIS .....</b>	<b>136</b>

## 1 INTRODUÇÃO

No Brasil, 240 a 300 mil toneladas de resíduos sólidos urbanos são produzidos diariamente (ABRELPE, 2021) sendo estes, em grande parte, destinados a aterros sanitários ou descartados no ambiente, impulsionados pela falta de políticas rígidas que controlem o descarte de resíduos domésticos. Cerca de 18% do total de resíduos sólidos são materiais plásticos usados como embalagens (ABRELPE, 2021). O descarte desses materiais causa um elevado impacto ambiental, principalmente por serem provenientes de polímeros de origem fóssil e não biodegradáveis.

O desenvolvimento de uma embalagem ativa e inteligente utilizando matriz biodegradável e substâncias naturais oferece ao mercado e ao consumidor uma embalagem que, além de exercer suas funções tecnológicas, atende às demandas atuais de proteção ao ambiente e segurança ao consumidor.

O amido é um biopolímero de grande interesse industrial por ser uma matéria-prima abundante, não tóxica, biodegradável, de baixo custo de comercialização e disponível em todo o mundo). Entretanto, o desenvolvimento de embalagens biodegradáveis ativas e inteligentes baseadas em amido utilizando substâncias naturais encontra algumas dificuldades: contornar as limitações do amido devido propriedades mecânicas e hidrofobicidade inadequadas para a produção de embalagens e redução de odor e prevenção da degradação das substâncias naturais durante o processo de produção por extrusão.

Com o intuito de contornar essas limitações, tornando os filmes de amido menos susceptíveis às variações de umidade e mecanicamente mais resistentes, o uso de plastificantes, fibras naturais, nanopartículas ou blendas tem sido proposto (TEODORO et al., 2015; GÓES et al., 2021).

Neste trabalho, propõe-se contribuir com este tema produzindo um indicador de frescor de peixe em embalagens inteligentes baseado em amido, utilizando diferentes tipos e proporções de plastificantes e extrato da casa de uva e um filme biodegradável de blenda de amido e Poli(Butileno Adipato-co-Tereftalato) (PBAT), por extrusão, incorporado com óleo essencial de orégano (OEO), para ser utilizado na preparação de embalagens ativas.

Visando reduzir o odor e preservar as substâncias ativas, propomos

o encapsulamento do OEO em partículas de quitosana para então serem dispersas nas blendas produzidas por extrusão e o estudo da liberação do OEO a partir das partículas e dos filmes, avaliar as suas propriedades físicas, químicas e capacidade antioxidante.

Espera-se que a combinação do indicador de frescor com os filmes incorporados com OEO resulte em uma embalagem “smart”, ou seja, uma embalagem total que apresente os benefícios decorrentes da tecnologia ativa e inteligente, apresentando potencial para melhorar a segurança e qualidade dos produtos alimentícios, além de sua conveniência para os consumidores.

## 2 OBJETIVOS

### 2.1 GERAL:

Produzir filmes biodegradáveis ativos e inteligentes utilizando substâncias naturais.

### 2.2 ESPECÍFICOS:

- ✓ Produzir e estudar o comportamento de filmes de amido com diferentes tipos e proporções de plastificante (isomalte e glicerol) e antocianina. Estudar a influência dos plastificantes e antocianina nos filmes de amido e avaliar seu uso como indicador de pH para frescor de peixe.
  - Caracterizar os filmes de amido obtidos por casting por Espectroscopia com transformada de Fourier (FTIR), Permeabilidade ao vapor de água (PVA), ensaio de intumescimento, solubilidade, teor de umidade, ensaio mecânico, cinética de sorção de água e difração de raio-X (DRX).
- ✓ Produzir por gelificação iônica, partículas de quitosana com diferentes reticulantes trimetafosfato de sódio (TMFS) e tripolifosfato de sódio (TPFS) incorporadas com OEO em diferentes proporções. Estudar a influência dos reticulantes nas propriedades das partículas de quitosana pura e com óleo, a estabilidade térmica e o mecanismo de liberação de óleo.
  - Caracterizar as partículas de quitosana com e sem OEO por FTIR, Análise Termogravimétrica (TGA), Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV), Espalhamento Dinâmico de Luz (DLS), Calorimetria Diferencial Exploratória (DSC), Eficiência de Encapsulamento (EE), ensaio de intumescimento e estudar a liberação de OEO.
- ✓ Produzir por extrusão filmes de amido e PBAT sem e com partículas de quitosana incorporadas com OEO e avaliar seu uso como embalagem ativa.

- Caracterizar os filmes de amido e PBAT obtidos por extrusão por TGA, MEV, PVA, solubilidade, ensaio mecânico, cinética de sorção de água, cinética de liberação do OEO em meio simulado-água e quantificação de compostos fenólicos e capacidade antioxidante em meio simulado água e solução alcoólica.

### 3 FUNDAMENTOS TEÓRICOS E REVISÃO DA LITERATURA

#### 3.1 EMBALAGENS

De acordo com a Associação Brasileira de Embalagens (ABRE, 2022) a embalagem é um recipiente ou envoltura que armazena produtos temporariamente, individualmente ou agrupando unidades, tendo como principal função proteger e estender o prazo de vida do seu produto, além de viabilizar a distribuição, a identificação e o consumo do produto.

O uso de embalagens é indispensável em nosso cotidiano, podendo ser constituída de diversos tipos de materiais, formatos e tamanhos. Podem ser empregadas para acondicionar produtos alimentícios, farmacêuticos, bebidas, utilitários domésticos, cosméticos e outros (BRAGA e SILVA, 2017).

A origem das primeiras embalagens se deu pela necessidade da sociedade em transportar e conservar os alimentos em ocasiões de escassez, assim, houve a criação de recipientes simples, feitos de escamas, folhas de plantas, peças ocas de madeira, louças de barro e pele de animais (CASTRO e POUZADA, 2003).

Com o passar dos anos surgiram novos materiais para a fabricação das embalagens, tais como, vidro, papel, metais e plásticos. Conseqüentemente, novos processos tecnológicos foram desenvolvidos com o objetivo de melhorar o desempenho desses materiais em relação ao acondicionamento, proteção dos alimentos contra agentes externos, evitando alterações e contaminações do produto até o seu destino (LUCHESE, 2017).

Atualmente, com as novas exigências dos consumidores e ampla competitividade nas vendas de produtos alimentícios, as embalagens que antes tinham como função conter e proteger o produto, passaram a adquirir novas funções: comunicar (informar através de símbolos, impressões, cor, entre outros), conveniência (atender as necessidades do consumidor como, quantidade adequada, facilidade de abertura, entre outros), manter a qualidade, o frescor, a segurança do produto embalado, monitorar e indicar as propriedades do alimento. Como forma de preencher estes requisitos, novos sistemas de embalagens vêm sendo desenvolvidas, as

chamadas “embalagens ativas e as embalagens inteligentes” (YAN, HSIEH e RICACHO, 2022).

### 3.1.1 Embalagens Inteligentes

As embalagens inteligentes são sistemas de embalagens capazes de realizar funções que indicam a condição dos alimentos embalados ou do ambiente ao redor dos alimentos. Seu objetivo é monitorar o produto e transmitir as informações aos consumidores (GHAANI et al., 2016).

Em resumo, em vez de se imprimir uma data de validade em um produto que está sujeito às ações físicas, químicas e microbiológicas diferentes, uma embalagem inteligente, informará a validade real do alimento e não a validade baseada em parâmetros numéricos e estatísticos, pois tal produto pode ter sido exposto a diversas condições adversas e desfavoráveis, que não se encontram na data de validade usual (PASCHOA, 2016).

Em geral, existem três tecnologias principais usadas para sistemas de embalagens inteligentes, sendo eles: portadores de dados, sensores e indicadores (MULLER e SCHMID, 2019).

Os portadores de dados ajudam a tornar mais eficiente o fluxo de informações na cadeia de suprimentos, com a função de garantir a rastreabilidade, automação, proteção contra roubo ou proteção contra falsificação. Para garantir isso, os portadores de dados armazenam e transmitem informações sobre armazenamento, distribuição e outros parâmetros. Os portadores de dados mais usados são: etiquetas de código de barras, QR-Codes e identificação por radiofrequência (MULLER e SCHMID, 2019).

Os sensores químicos são dispositivos capazes de fornecer continuamente informação química ou física do sistema, convertendo-a em sinal elétrico (TREVISAN e POPPI, 2006). Os sensores de gás de CO<sub>2</sub>, são um exemplo dessa categoria, em sua maioria são sensores infravermelhos não dispersivos (NDIR), sensores espectroscópicos que medem o conteúdo de CO<sub>2</sub> por absorção de gás em um determinado comprimento de onda (PANDEY e KIM, 2007).

Outro tipo de sensores são os biossensores, por exemplo, biossensor (Toxin Guard<sup>®</sup> da Toxin Alert) cujo sistema funcional é baseado em anticorpos, que

são integrados em embalagens de plástico e assim o tornam possível detectar patógenos como Salmonella, E. coli, Listeria e Campylobacter (BODENHAMER, JACKOWSKI e DAVIES, 2004). Comparados aos sensores químicos, eles têm um receptor feito de materiais biológicos, como enzimas, antígenos, hormônios ou ácidos nucléicos (MULLER e SCHMID, 2019).

Por fim, os indicadores são substâncias que indicam a presença ou a ausência de algum composto ou o grau de reação entre duas ou mais substâncias através de mudanças nas características do indicador. Existem categorias de indicadores bem conhecidas, os indicadores de tempo-temperatura, de gás e de frescor.

Os indicadores de tempo-temperatura são dispositivos simples e baratos com a finalidade de mostrar mudanças na temperatura, fornecendo informações sobre a qualidade e a segurança microbiana do produto (JHUANG et al., 2020).

Os indicadores de gás indicam a condição de qualidade dos alimentos, dependendo da atmosfera interna. A maioria deles monitora a concentração de oxigênio e o dióxido de carbono (MENG et al., 2014), mas também vapor de água, etanol, sulfeto de hidrogênio e outros gases são verificados (FANG et al., 2017).

Indicadores de frescor supervisionam a qualidade dos produtos alimentícios durante o armazenamento e o transporte, eles indicam informações sobre crescimento microbológico, presença de metabólitos microbiológicos ou alterações químicas dos produtos (KERRY e BUTLER, 2008; KUSWANDI et al., 2013), produzindo um sinal como resposta a mudanças nas condições iniciais e informando sobre a qualidade dos produtos embalados.

Dentre os indicadores que podem ser incorporados às embalagens, os indicadores colorimétricos podem informar sobre o frescor dos alimentos visualmente. A deterioração de alimentos geralmente é acompanhada por mudança de pH. Um dispositivo que tem sua cor alterada em função do pH do ambiente, permite ao consumidor avaliar a qualidade do alimento no próprio local de compra, independente do prazo de validade impresso.

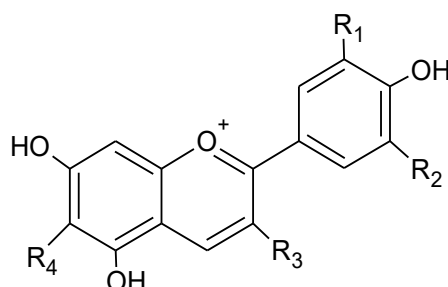
Indicadores colorimétricos podem ser produzidos com corantes naturais, como as antocianinas, que são não tóxicos, solúveis em água e bastante sensíveis a mudanças de pH.

### 3.1.1.1 Antocianinas

As antocianinas são flavonoides, isso é, compostos bioativos do grupo dos polifenóis, são encontradas largamente distribuídos na natureza e são responsáveis pela maioria das cores azul, violeta e todas as tonalidades de vermelho que aparecem em flores, frutos, algumas folhas, caules e raízes de plantas (MALACRIDA e MOTA, 2005).

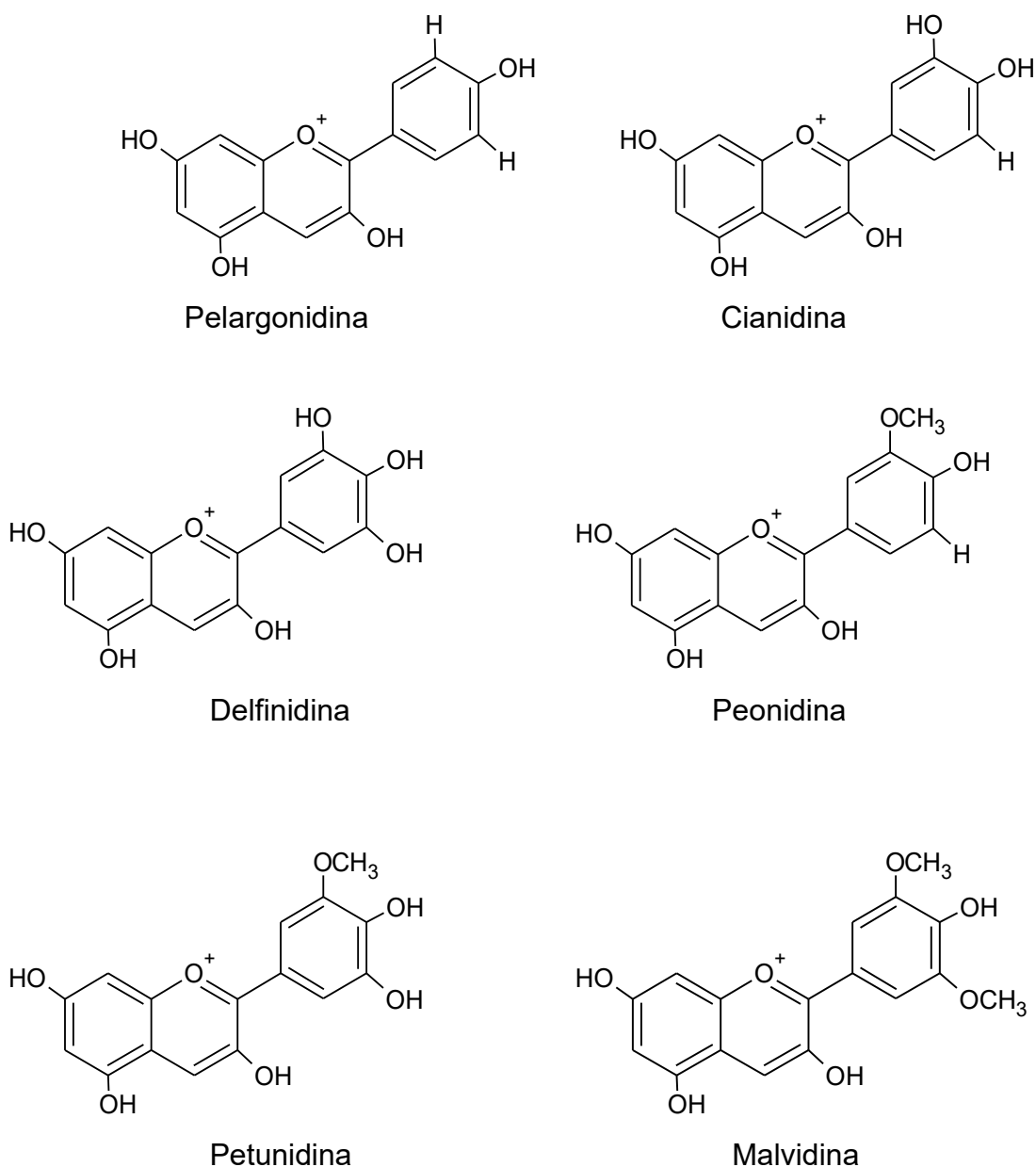
Todas as antocianinas são derivadas da estrutura básica de um cátion flavilium (Figura 1), como possuem deficiência em um elétron, são muito reativas (GUIMARÃES, ALVES e ANTONIOSE, 2012).

**Figura 1.** Estrutura básica de um cátion flavilium



**Fonte:** O próprio autor.

De acordo com o tipo de substituintes  $R_1$  e  $R_2$  da estrutura básica (Figura 1), surgem diferentes tipos de antocianinas. Atualmente se conhece cerca de 20 antocianinas, sendo seis delas as mais encontradas: pelargonidina, cianidina, delphinidina, peonidina, petunidina e a malvidina (Figura 2).

**Figura 2.** Principais antocianinas conhecidas

**Fonte:** O próprio autor.

A antocianina proporciona resposta confiável de cor às variações de pH (ZHAG et al., 2020). Em condição ácida (pH 1,0) ocorre predomínio de formas estruturais de intensa coloração avermelhada (cátion flavílico); em pH 3-5 há formação de estruturas incolores (carbinol), em condição básica (pH > 7) ocorre formação de bases quinoidais de coloração azulada/esverdeada a amarela em meios fortemente básicos. As mudanças estruturais que ocorrem nas antocianinas com a variação do



Na literatura são reportadas algumas pesquisas de embalagens ativas e inteligentes com antocianina. QIN e colaboradores (2019) desenvolveram uma embalagem utilizando a metodologia de casting para obter os filmes a base de amido de mandioca e antocianinas extraídos de goji berry, estes filmes foram aplicados para monitorar o frescor da carne de porco, apresentando resultados promissores.

SILVA et al., (2020) desenvolveu um biofilme ativo por casting à base de soro de leite e extrato de casca de jabuticaba como indicador de pH para monitorar a qualidade do queijo prato, indicando a vida útil do produto. Os biofilmes não apresentaram resultado satisfatório para uso como embalagem primária de queijos prato, porém podem ser utilizados na forma de fita indicadora de mudança de cor para uso na avaliação da qualidade de queijos e/ou produtos secos.

### 3.1.2 Embalagens Ativas

A embalagem ativa pode ser definida como embalagens em que ela, o produto e o ambiente interagem para prolongar a vida útil ou aumentar as propriedades sensoriais ou de segurança, mantendo a qualidade do produto, através da incorporação de aditivos em sua estrutura (SUPPAKUL et al., 2003).

Os componentes usados em sistemas de embalagens ativas podem atuar absorvendo ou liberando substâncias do/ou para o produto embalado ou para o ambiente envolvido (VANDERROOST et al., 2014). Esses componentes incluem absorvedor de oxigênio (KORDJAZI e ABDELLAH, 2021), absorvedor etileno (GAIKWAD, SINGH e AJJI, 2019), etanol (KRUIJF et al., 2002) e agentes antimicrobianos e antioxidantes (SHAEFER e CHEUNG, 2018; BRAGA e SILVA, 2017).

O controle oxidativo e do crescimento de microrganismo se faz necessário para que os alimentos alcancem um alto nível de qualidade, aumentando assim a vida de prateleira do produto e a rentabilidade da indústria, desta forma, as embalagens ativas antioxidantes e/ou antimicrobianas são de grande relevância industrial e comercial (FILHO MORAES et al., 2007).

Nas embalagens antioxidantes, as substâncias serão liberadas para proteger os alimentos da degradação oxidativa, inibindo as reações de oxidação ao reagirem com radicais livres e peróxidos (VERMEIREN et al., 1999; BRODY et al.,

2001; MIN e KROCHTA, 2007).

Por sua vez, a tecnologia de embalagens antimicrobianas baseia-se no fato de que, na maioria dos alimentos sólidos e semi-sólidos, o crescimento microbiano é superficial, desta forma, o contato entre o produto embalado e o agente antimicrobiano, tende a controlar o crescimento de microrganismos (FILHO MORAES et al., 2007).

Uma vantagem da utilização de embalagens antioxidantes e antimicrobianas é que elas conferem a liberação de compostos ativos para o alimento à taxas controladas, de modo que uma concentração pré-determinada do composto ativo é mantida no alimento durante o armazenamento e distribuição, quando comparada com a adição direta dessas substâncias nos alimentos, compensando a sua contínua utilização durante a armazenagem (LICCIARDELLO et al., 2015).

Muitos trabalhos avaliam o uso de agentes antimicrobianos e/ou antioxidantes, sendo esses de fontes naturais ou sintéticas, no entanto, a utilização de resíduos ricos em compostos antimicrobianos e antioxidantes de origem natural, pode representar uma maneira mais fácil e barata de incorporação de ativos em embalagens, além de promover uma destinação correta a esses resíduos, tais como: óleos essenciais (GALINDO et al., 2019), lignina (RAI, DUTTA e MEHROTRA, 2017), antocianinas extraídas de pequi (RIBEIRO DA CRUZ et al., 2022), carvacrol (RÚA et al., 2019), resíduos de cenoura e de beterraba minimamente processadas (IAHNKE et al., 2016), resíduos de mirtilo – fibras e extrato etanólico (CRIZEL et al., 2016), casca da uva, entre outros.

### 3.1.2.1 Antioxidantes e antimicrobianos

Vários compostos naturais e sintéticos têm tido seu potencial antimicrobiano e antioxidantes analisado para o uso em embalagens ativas. O interesse em produtos naturais como agentes conservantes tem sido impulsionado principalmente pela grande aceitação dos consumidores, bem como pelos danos à saúde propiciados pelos aditivos sintéticos (ONGARATTO, VITAL e PRADO, 2022; VITAL et al., 2021).

Os conservantes naturais antimicrobianos são utilizados no intuito de inibir o crescimento de bactérias que provoquem algum tipo de deterioração

indesejada nos alimentos (ONGARATTO, VITAL e PRADO, 2022).

Os conservantes naturais antioxidantes, prolongam a vida de prateleira do alimento desejado, impedindo sua rancidez, degradação e mudança de cor, tendo como principal atuação o sequestro dos radicais livres. Dentro desses grupos há diversos compostos utilizados como conservantes naturais para inúmeros tipos de produtos alimentícios (HASSOUN e ÇOBAN, 2017).

Dentro do grupo dos agentes antioxidantes naturais, temos os de origem vegetal, que são encontrados em especiarias, polpa cítrica, casca e sementes oleaginosas (SARY et al., 2021).

Os agentes antimicrobianos naturais, podem ser divididos de acordo com sua fonte. Os de origem vegetal, como os óleos essenciais, que são sintetizados, armazenados e liberados por algumas plantas; os de origem animal, como a quitosana e os de origem microbiana como as bacteriocinas, estas são compostos proteicos microbianos ativos, produzidos a partir de bactérias ácido lácticas, como o *Lactobacillus acidophilus* e que podem ser utilizados contra o crescimento bacteriano indesejável em alimentos.

Entre os conservantes naturais, os óleos essenciais apresentam grande interesse comercial, por apresentarem propriedades conjuntas: antioxidantes e antimicrobianas, é o caso do orégano, alecrim, tomilho, sálvia, canela, cravo e manjerição, que vêm sendo usados em peixes e frutos do mar no intuito de preservá-los por maior tempo possível (JUNGES et al., 2022).

#### *3.1.2.1.1 Óleo essencial de orégano*

Óleos essenciais são produtos aromáticos de metabolismo secundário de plantas, normalmente produzidos por células secretoras ou grupos de células, são encontrados em diversas partes do vegetal, como folhas e talos. Os óleos essenciais são líquidos oleosos, voláteis e principalmente obtidos por um processo de destilação a vapor (SILVEIRA et al., 2021).

As propriedades antioxidantes desses óleos são principalmente devido à sua grande quantidade de compostos fenólicos. Os compostos fenólicos têm um ou mais grupos hidroxila, capazes de fornecer átomos de hidrogênio aos radicais livres, inibindo as reações oxidativas. Além disso, a presença de um par de elétrons

não compartilhados permite que eles se complexem com íons metálicos e oxigênio, responsáveis por induzir a oxidação lipídica (VASCONCELOS et al., 2021; GRAMZA, et al., 2006).

Alguns óleos essenciais tem sido estudados e apresentam elevado potencial para serem utilizados como antimicrobianos e antioxidantes, são eles: óleo de alecrim (VALKOVÁ et al., 2022), óleo de cravo-da-índia (ANSARIAN et al., 2022) e OEO (WU et al., 2021) entre outros.

O OEO encontra-se em evidência devido ao seu alto teor de compostos fenólicos, principalmente carvacrol, timol, terpineno e p-cimeno (JUNGES et al., 2022).

Diversos estudos relatam com sucesso a incorporação de óleos essenciais de orégano como antimicrobiano e antioxidante em filmes poliméricos. ZEILD (2019) produziu filme de ácido polilático incorporados com OEO e obteve um material com ação antioxidante de aproximadamente 80%. A adição do óleo essencial não afetou ( $p > 0,05$ ) as propriedades de permeação de oxigênio e água, mecânicas e migração de antioxidantes do filme.

HOSSEINI et al. (2015) verificaram que filmes de gelatina e quitosana contendo OEO apresentaram atividade antimicrobiana frente a microrganismos Gram positivos (*Staphylococcus aureus* e *Listeria monocytogenes*) e Gram negativos (*Salmonella Enteritidis* e *Escherichia Coli*).

BALAN (2020), produziu filmes de farinha de trigo e PBAT com microcápsulas de OEO por extrusão. Verificou que os filmes contendo óleo essencial quando aplicados na conservação de massa para pastel são efetivos no controle de bolores e leveduras durante 28 dias de armazenamento.

O OEO apresenta sabor e aroma intenso, desta forma, a adição direta em alimentos pode afetar as propriedades sensoriais do material. Seu uso é de grande interesse na produção de filmes biodegradáveis, e quando encapsulado, não afeta as propriedades sensoriais do filme e a substância ativa fica protegida pela mudança de temperatura durante a obtenção do filme (GALINDO et al., 2019).

### 3.1.2.1.2 Encapsulação

A encapsulação consiste no envolvimento de materiais através do revestimento por uma fina camada polimérica, originando uma partícula (TODD, 1970), possibilitando o isolamento e a manutenção das substâncias ativas no interior de uma microestrutura (GIBBS et al., 1999).

O objetivo desta técnica é proteger um composto de fatores externos, aumentando a liberação, a estabilidade e a eficiência das substâncias encapsuladas (PEANPARKDEE, IWAMOTO e YAMAUCHI, 2016).

O material a ser encapsulado pode ser denominado como: núcleo, ingrediente ativo ou fase interna. O material que forma o revestimento das partículas é chamado de material de parede, carreador, membrana, casca ou revestimento (CONSTANT, 2002). As partículas podem ter diâmetros variando entre unidades de micrômetros até milímetros e podem apresentar diversas formas, dependendo dos materiais e métodos usados para sua obtenção (SCHROOYEN et al., 2001).

A retenção de materiais ativos no interior das partículas é governada por fatores tais como: sua natureza química, incluindo a funcionalidade química, a relativa volatilidade e polaridade (SCHROOYEN et al., 2001).

Entre os vários métodos de encapsulações, a gelificação iônica é bastante utilizado. O processo consiste em gotejar a solução polimérica contendo o material do núcleo em uma solução iônica, ambos em concentrações adequadas. Este processo resulta na formação de partículas que encapsulam uma substância específica dentro de uma rede tridimensional (BALAN, 2020).

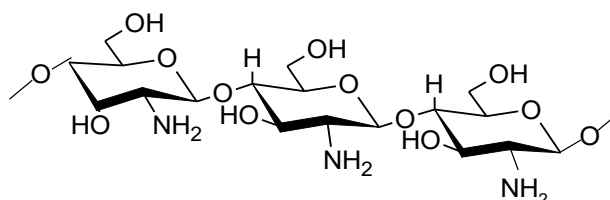
Nos estudos de encapsulação, os encapsulantes geralmente empregados são hidrocolóides de gomas vegetais, gelatina, amido modificado, dextrinas, lipídeos, emulsificantes, quitosana, alginato, entre outros (SHAHIDI e HAN, 1995).

Em função da sua estrutura química, a quitosana se torna uma excelente alternativa para ser utilizada como base na produção de partículas, encapsuladas, hidrogéis, embalagens e filmes biodegradáveis (RAVI-KUMAR, 2000; YUAN, CHEN e LI, 2016).

### 3.2 QUITOSANA

A quitosana (Figura 4) é um copolímero catiônico formado por unidades de 2-desoxi-N-acetil-D-glicosamina e 2-desoxi-D-glicosamina unidos por ligações glicosídicas  $\beta$ -1 $\rightarrow$ 4 (poli-N-acetil-2-amino-2-desoxi-D-glicopirranose) (THARANATHAN e KITTUR, 2003). Obtida a partir da desacetilação alcalina da quitina, principal componente da estrutura do exoesqueleto de crustáceos (CORRELO et al., 2005).

**Figura 4.** Estrutura química da quitosana



Fonte: O próprio autor.

A quitosana possui em sua cadeia polimérica três grupos funcionais reativos, o grupo amino, hidroxila primária e hidroxila secundária (KRAJEWSKA, 2004).

A natureza de sua configuração química e sua abundância, não toxicidade, hidrofílicidade, biodegradabilidade, biocompatibilidade e propriedades antibacterianas e antioxidante, torna-a de grande interesse na preparação de filmes, géis e esferas, para aplicações em diferentes áreas, tais como: agricultura, tratamento de água, indústria alimentícia e médica (HOSSEINI et al., 2013; OLADZADABBASABADI et al., 2022).

### 3.3 AMIDO

Embora tenha havido um grande avanço na indústria de embalagens, novas preocupações surgiram acerca deste ramo, isso porque, o uso de plásticos de fontes não renováveis e não biodegradáveis acarretam elevado impacto ambiental.

De acordo com a Associação Brasileira da Indústria de Plástico (ABIPLAST, 2021), foram consumidos 25,13 milhões de toneladas de materiais

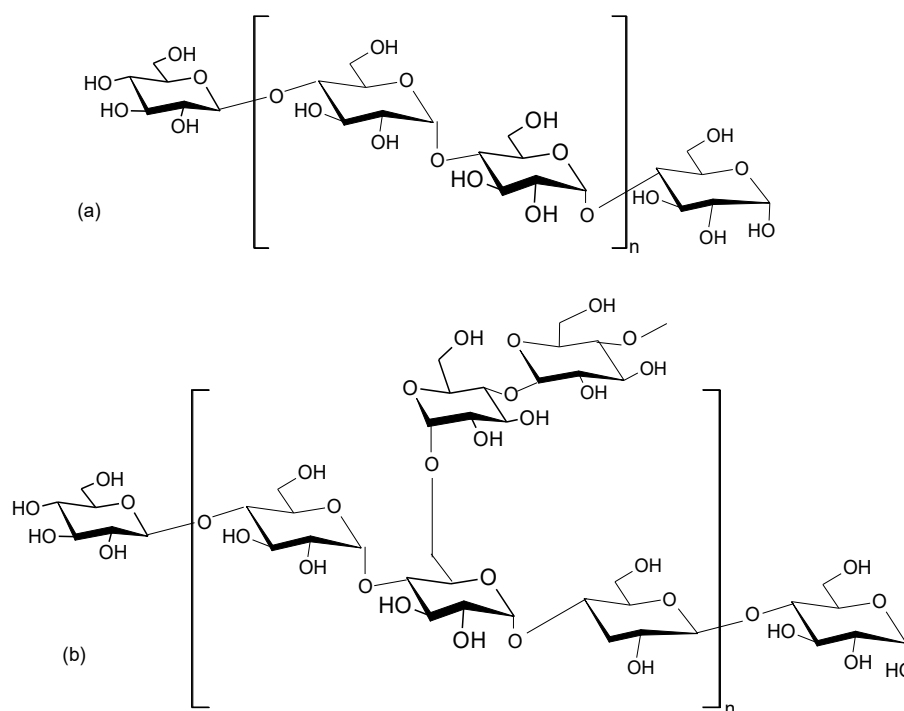
plásticos no Brasil em 2021. Dados estatísticos importantes mostram que o plástico representa, aproximadamente, 20% dos resíduos produzidos no Brasil. Atualmente 73% das cidades brasileiras possuem algum tipo de coleta seletiva, sendo municipais ou privadas; no entanto, ela ainda não cobre a totalidade dos municípios e ocorre de forma incipiente, pode-se concluir que a maior parte do resíduo plástico gerado não é reciclado e acaba sendo descartado incorretamente, principalmente no ambiente (ABRELPE, 2021). Para contornar esses problemas, algumas alternativas como a substituição dos plásticos convencionais provenientes de fontes fósseis por polímeros biodegradáveis de fontes renováveis estão sendo estudadas (FEIL, 1995).

O amido é uma matéria prima renovável, biodegradável, não tóxica, cuja extração pode ser através das raízes e dos tubérculos, como a mandioca e a batata, bem como de cereais, trigo, milho e o arroz.

Este polímero semicristalino de elevada massa molar é formado por moléculas de glicose unidas entre si por ligações glicosídicas  $\alpha(1,4)$  que lhe fornecem uma conformação linear, a amilose (Figura 5a) e polímero ramificado com ligações  $\alpha(1,4)$  e  $\alpha(1,6)$  com maior peso molar, a amilopectina (Figura 5b).

A amilose e amilopectina são os principais compostos, com as frações de massa constituindo 98 a 99%, em base seca. Os componentes químicos restantes são lipídios, minerais e fósforo.

**Figura 5.** Estrutura química da (a) amilose e (b) amilopectina



**Fonte:** O próprio autor.

A estrutura tridimensional que corresponde às regiões de dupla hélices da amilopectina são responsáveis pelo caráter parcialmente cristalino do amido. A amilose, embora linear, não é responsável pela cristalinidade do amido, provavelmente devido ao fato de se conformar na forma de hélice, o que dificulta sua associação regular com outras cadeias (BLANSHARD, 1987).

A razão entre a amilose e a amilopectina pode variar de acordo com a fonte botânica do amido, afetando suas propriedades físico-químicas. Nesta pesquisa trataremos especificamente do amido de mandioca, que apresenta um teor de 16 a 20% de amilose.

Grande parte do amido produzido no mundo é proveniente da mandioca, ficando atrás apenas do amido de milho. A mandioca é uma cultura muito importante do sistema agrícola tropical, sendo uma das principais fontes de energia alimentar, possui em média de 25 a 35% de amido e apresenta facilidade de adaptação a diversas condições climáticas (CAMARGO et al., 1988).

Os grânulos de amido são insolúveis em água fria, devido às ligações de hidrogênio formadas entre suas cadeias, mas com aquecimento e excesso de

água, ocorre o processo de gelatinização, responsável pela perda da cristalinidade e da ordem molecular do grânulo por meio ao rompimento das ligações de hidrogênio que, inicialmente, mantinham a integridade deste. As moléculas de água formam ligações de hidrogênio com a amilose e amilopectina, expondo seus grupos hidroxil, o que causa um aumento no inchamento e na solubilidade do grânulo. Esse poder de inchamento e solubilidade varia de acordo com a fonte do amido, fornecendo evidências da interação entre as cadeias de amido dentro dos domínios amorfos e cristalinos (SINGH et al., 2003).

Após a gelatinização, as moléculas de amido podem começar a se reassociar por ligações de hidrogênio, favorecendo a formação de uma estrutura mais ordenada, que pode levar a uma estrutura novamente cristalina, a este processo dá-se o nome de retrogradação ou recristalização.

O amido pode ser empregado para diversas finalidades, tanto na indústria alimentícia quanto no setor industrial. No setor alimentício, o amido é utilizado para alterar ou controlar características como textura, aparência, umidade e consistência, podendo ser usado como agente gelificante, espessante, entre outros. O amido também é utilizado nas indústrias de papel e papelão, indústrias têxteis, plásticos, adesivos e cosméticos. Nos setores farmacêuticos e biomédicos o amido é amplamente utilizado como excipiente para a manipulação de cápsulas e comprimidos. Além disso, o amido tem sido estudado como matéria prima para o transporte de fármacos para liberação controlada (FARRAG et al., 2018; MEDINA-JARAMILLO et al., 2017).

Pelo seu caráter biodegradável os filmes de amido tem sido investigado como embalagem para alimentos em substituição aos plásticos convencionais, seu uso com antimicrobiano está ganhando popularidade no mercado, pois protegem os produtos alimentícios da contaminação microbiana, atuando como barreira para gases e compostos voláteis, mantêm a qualidade dos produtos alimentícios para comercialização e possuem, diversas vantagens, como o baixo custo, abundância desta matéria prima e biodegradação (ALI et al., 2019).

No entanto, os filmes de embalagem de amido não têm sido amplamente utilizados na indústria de embalagens, principalmente por exibir propriedades mecânicas e de barreira inadequadas e sofrer degradação térmica

durante o processamento por extrusão. Para contornar este problema os filmes à base de amido são frequentemente preparados misturando-se com outros polímeros, plastificantes, partículas ou cargas (HU et al., 2019).

### 3.4 PLASTIFICANTES

Os plastificantes geralmente são moléculas pequenas e pouco voláteis, que são adicionados aos polímeros com o objetivo primário de aumentar sua flexibilidade e melhorar as condições de processamento ou abaixar seu ponto de fusão durante o processamento (MATHEW e DUFRESNE, 2002).

Quando um plastificante é adicionado ao polímero, as moléculas do plastificante penetram na matriz polimérica, modificando seu arranjo. Se o plastificante for compatível com a matriz, ele se difunde entre a macromolécula do polímero e, como consequência, aumenta a mobilidade entre as cadeias. Além disso, o plastificante altera a propriedade mecânica de um polímero, assim como as temperaturas de transição vítrea ( $T_g$ ) e de fusão ( $T_m$ ), pois reduz as forças de interação intermolecular (RABELLO, 2000).

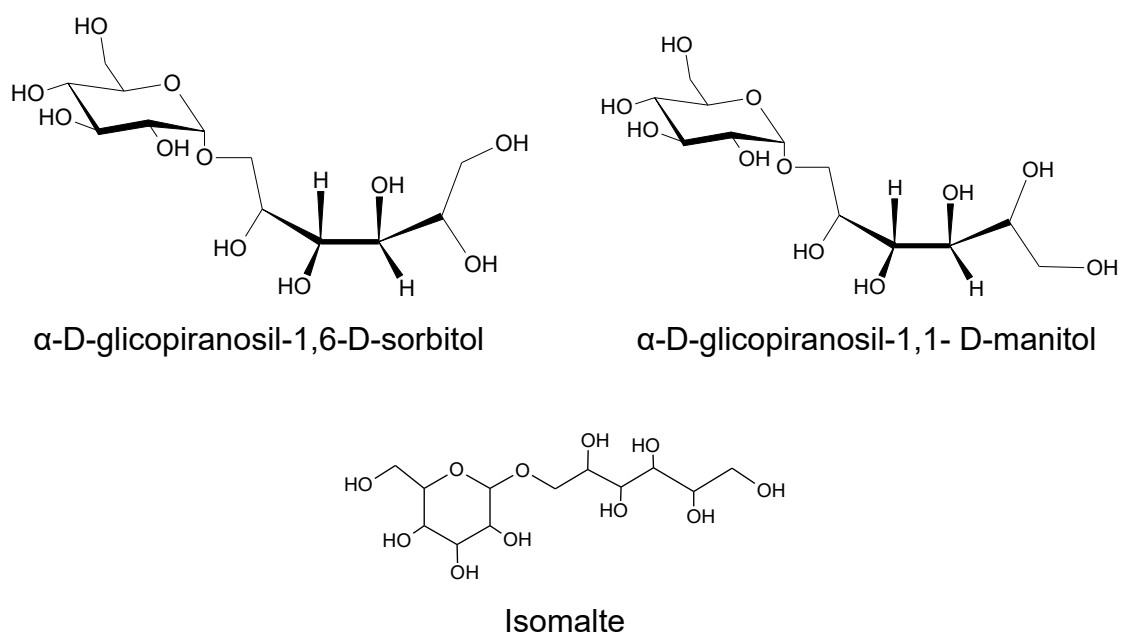
Dependendo da concentração em que são empregados, os plastificantes podem causar um efeito chamado antiplastificante, isto é, ao invés de aumentar a flexibilidade e hidrofiliabilidade, podem causar um efeito contrário (GAUDIN et al., 2000). Geralmente, isto ocorre quando são empregadas em pequenas concentrações (abaixo 20g /100 amido), então o plastificante interage com a matriz polimérica, mas não em quantidade suficiente para aumentar a mobilidade molecular, apenas aumenta o grau de interações e a rigidez da matriz (MALI et al., 2005; SHIMAZU, MALI e GROSSMANN, 2007; CHANG, KARIM e SEOW, 2006).

Para os filmes a base de amido, os plastificantes mais empregados são os polióis: glicerol e sorbitol, e seus efeitos estão bem descritos na literatura (MALI, GROSSMANN e YAMASHITA, 2010; MALI et al., 2005; GÓES et al., 2021). Diante disso, neste trabalho, será estudado o uso de outro poliól, o isomalte, como plastificante em filmes de amido.

### 3.4.1 Isomalte

O principal derivado da isomaltulose é o isomalte (Figura 6), uma mistura equimolar de dois dissacarídeos hidrogenados, o  $\alpha$ -D-glicopiranosil-1,6-D-sorbitol (GPS; isomaltitol) e o  $\alpha$ -D-glicopiranosil-1,1- D-manitol (GPM), como pode ser verificado na Figura 6.

**Figura 6.** Estrutura química do  $\alpha$ -D-glicopiranosil-1,6-D-sorbitol (GPS; isomaltitol),  $\alpha$ -D-glicopiranosil-1,1- D-manitol (GPM) e isomalte



**Fonte:** O próprio autor.

O processo de produção do isomalte consiste essencialmente de duas etapas. A primeira envolve um rearranjo da ligação glicosídica 1,2 da sacarose para ligação 1,6, por bactérias ou enzimas imobilizadas (*Protaminobacter rubrum*), obtendo-se a isomaltulose ( $\alpha$ -D-glicopiranosil1,6-D-sorbitol). Faz-se a purificação do produto por cristalização e, na segunda etapa, através de hidrogenação catalítica da frutose da isomaltulose em manitol e sorbitol, obtém-se a mistura conhecida como isomalte. Essa substância tem atraído a atenção de pesquisadores devido a sua aplicação industrial como substituto da sacarose em processamento de alimentos, como adoçante dietético, não cariogênico e em formulações farmacêuticas (KAWAGUTI e SATO, 2008).

As propriedades físicas e químicas do isomalte são semelhantes às da sacarose e, em alguns aspectos, no que se refere ao menor valor calórico (2 kcal/g) e estabilidade, superiores às do açúcar. Apresenta alta estabilidade química, térmica, enzimática e microbiológica. É de 10 a 15 vezes mais resistente a hidrólise ácida e enzimática do que a sacarose. A estabilidade microbiológica é resultante da ligação 1,6, a qual é resistente as enzimas do trato digestivo e a maioria dos microrganismos deteriorantes. O seu ponto de fusão é entre 145°C a 150°C. É pouco solúvel em água (25 g/100 g H<sub>2</sub>O a 20°C) (STRÄTER, 1985).

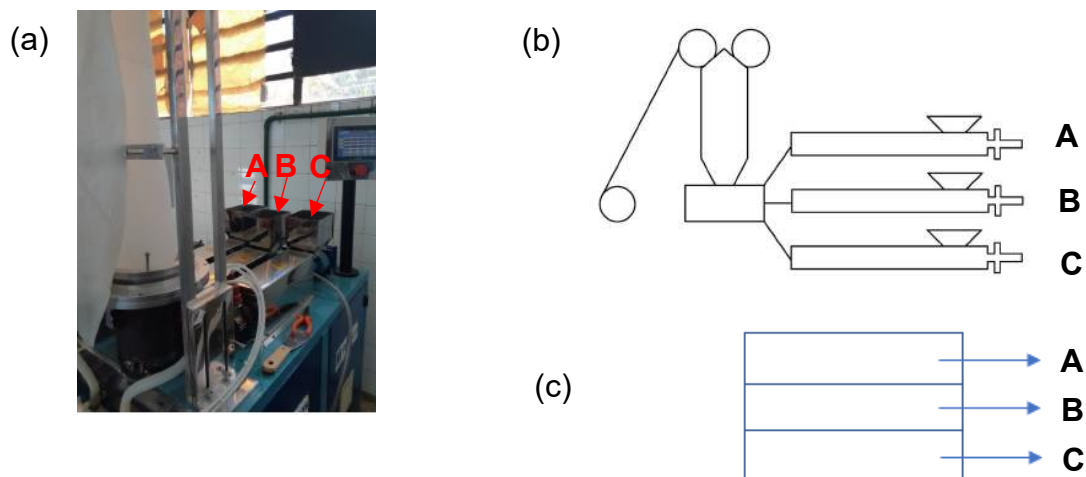
Em comparação com os polióis monossacarídicos, o isomalte apresenta menor higroscopicidade o que o torna promissor como plastificante em filmes de amido.

### 3.5 EXTRUSÃO TERMOPLÁSTICA E COEXTRUSÃO MULTICAMADAS

A extrusão termoplástica é um processo contínuo e térmico, que por uma combinação de temperatura e cisalhamento, modifica as matérias-primas, dando-lhes novas formas, estruturas e características funcionais. Neste processo o material é introduzido em um cilindro aquecido, e o material amolecido é forçado por um parafuso rotativo a entrar através de uma abertura em uma matriz, para a obtenção de formas contínuas (PAULI et al., 2011).

Filmes poliméricos obtidos por extrusão estão bem difundidos na literatura (BALAN et al., 2020; ALBERTI et al., 2015; DE MEDEIROS et al., 2019), mas pouco se tem sobre os filmes multicamadas obtidos em coextrusoras de três camadas (Figura 7), sendo o diferencial deste trabalho. A vantagem desse equipamento é a possibilidade de utilização de diferentes camadas em um mesmo filme.

**Figura 7.** (a) Imagem e (b) ilustração esquemática da coextrusora piloto de três camadas e do (c) filme



Fonte: O próprio autor.

A partir deste esquema (Figura 7), observa-se a disposição das camadas do filme multicamada durante o processamento, sendo as camadas externas representadas por A e C e a camada interna B.

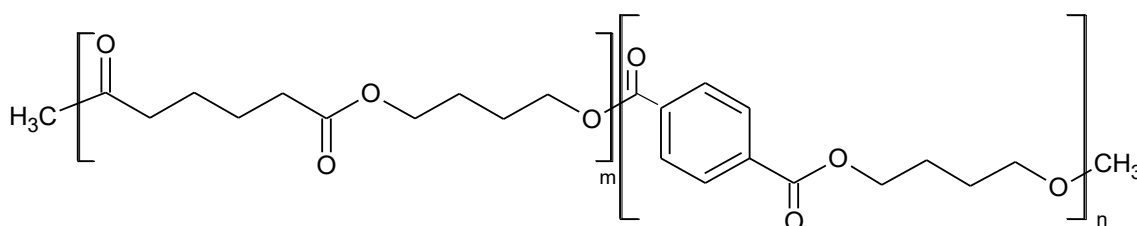
O processo de extrusão por sopro pode ser usado para produzir filmes de amido. Durante a extrusão há o rompimento dos grânulos de amido, destruindo a sua estrutura organizada e cristalina. Quando o amido é expandido por balão, forma filmes rígidos, sendo necessária a adição de plastificantes em sua composição, com objetivo de aumentar a flexibilidade dos filmes, no entanto, ainda resultando em filmes frágeis (BRANDELERO et al., 2011).

Neste sentido, muitos trabalhos têm estudado a produção de filmes biodegradáveis por extrusão a partir de blendas de amidos com diferentes polímeros, como PBAT (GAO et al., 2022; BALAN et al., 2020), PLA (ALBERTI et al., 2015; SHIRAI et al., 2013), polietileno (BONA, 2007), entre outros.

### 3.5.1 PBAT

O PBAT é um copoliéster alifático aromático, obtido pela combinação de 1,4 butanodiol, ácido adípico e ácido tereftálico (BASF, 2023). Sua estrutura está apresentada na Figura 8.

**Figura 8.** Estrutura química do PBAT



**Fonte:** O próprio autor.

O PBAT é um polímero sintético e biodegradável comercializado pela BASF, comercialmente conhecido como Ecoflex®. Tem despertado grande interesse como um potencial substituto do polietileno de alta densidade, especialmente para materiais de embalagem, como sacos de lixo, recipientes para alimentos ou filme wraps, entre outros (VROMAN e TIGHZERT, 2009).

Além de sua biodegradabilidade, o PBAT oferece propriedades físicas atraentes, entre elas alta flexibilidade, boa resistência ao rasgo, e aprovado para aplicações de contato com alimentos (FEREIRA et al., 2019; MOUSTAFA et al., 2019; DE SOUZA et al., 2022). Porém, seu uso ainda é limitado devido seu alto custo em comparação com os plásticos convencionais. No entanto, por ser compatível com vários polímeros renováveis, pode ser utilizado na forma de blendas com biopolímeros de baixo custo, como o amido, que apresenta filmes com propriedades inadequadas para ser utilizados sozinho em embalagens, desta forma o uso de blendas de amido e PBAT tornam-se viável economicamente e comercialmente (IVANIČ et al., 2019).

Na literatura diversos trabalhos foram produzidos com filmes a base de blendas de PBAT e biopolímeros por extrusão (BALAN et al., 2020; MEDEIROS et al., 2019; MÜCKE et al., 2021; PAULO et al., 2022). Os resultados obtidos viabilizam a aplicação do PBAT e amido na produção de embalagens ativas com a incorporação de compostos bioativos com funções antioxidantes e antimicrobianas (CAMPOS et al., 2019).

## REFERÊNCIAS

ABIPLAST, Associação Brasileira da Indústria do Plástico. **Perfil 2021**. São Paulo: Abiplast; 2021.

ABRE, Associação Brasileira de Embalagens. **Embalagens 2022**. São Paulo: ABRE, 2022.

ABRELPE, Associação Brasileira de Empresas de Limpeza Pública e Resíduos Especiais. **Panorama de Resíduos Sólidos no Brasil 2021**. São Paulo: Abrelpe; 2021.

ALBERTI, M. L.; DE SOUZA, S. J.; GONÇALVES, H.; YAMASHITA, F.; SHIRAI, M. A. Effect of chitosan addition in starch and poly(lactic acid) sheets produced by extrusion. **Revista Brasileira de Pesquisa em Alimentos**, v. 6, n. 1, p. 80, 2015.

ALI, A.; CHEN, Y.; LIU, H.; YU, L.; BALOCH, Z.; KHALID, S.; ZHU, J.; CHEN, L. Starch-based antimicrobial films functionalized by pomegranate peel. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 129, p. 1120–1126, 2019.

ANSARIAN, E.; AMINZARE, M.; HASSANZAD AZAR, H.; MEHRASBI, M. R.; BIMAKR, M. Nanoemulsion-based basil seed gum edible film containing resveratrol and clove essential oil: In vitro antioxidant properties and its effect on oxidative stability and sensory characteristic of camel meat during refrigeration storage. **Meat Science**, v. 185, n. November 2021, p. 108716, 2022.

BALAN, G. C. **Desenvolvimento de filmes extrusados com micropartículas de óleo essencial de orégano e aplicação na conservação de massa fresca**. 81 f. Dissertação (Mestrado Profissional em Tecnologia de Alimentos) - Universidade Tecnológica Federal do Paraná. Londrina, 2020.

BALAN, G. C.; YAMASHITA, F.; SAKANAKA, L. S.; SHIRAI, M. A. Elaboração e caracterização de filmes extrusados a partir de blendas de poli (adipato-co-tereftalato de butileno) e farinha de trigo com diferentes Falling number. **Brazilian Journal of Development**, v. 6, n. 6, p. 41426-41438, 2020.

BASF. Ecoflex. Disponível em: <<https://products.basf.com/en/ecoflex.html>>. Acesso em 19 jan 2023.

BASTIOLI, C. Properties and applications of Mater-Bi starch based materials. **Polymer Degradation and Stability**, v. 59, p. 263-272, 1998.

BLANSHARD, J. M. V. Starch granule structure and function: a physicochemical approach. *In*: GALLIARD, T. **Starch**: Properties and Potentials. Chichester: John Wiley, 1987. p. 16- 54.

BODENHAMER, W.T.; JACKOWSKI, G.; DAVIES, E. Surface Binding of an Immunoglobulin to a Flexible Polymer Using a Water Soluble Varnish Matrix.

**6,692,973, U.S. Patent**, 2004.

BONA, J. C. **Preparação e Caracterização De Filmes Biodegradáveis a Partir De Blendas De Amido Com Polietileno**. 99 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia de Alimentos) - Universidade Federal De Santa Catarina Centro Tecnológico. Florianópolis, 2007.

BRANDELERO, R. P. M.; GROSSMANN, M. V. E.; YAMASHITA, F. Effect os the method of production of the blend on mechanical and structures proprieties of biodegradable starch films produced by blow extrusion. **Carbohydrate Polymers**, v. 86, p. 1834-1390, 2011.

BRAGA, L. R.; SILVA, F. M. Embalagens ativas: uma nova abordagem para embalagens alimentícias. **Brazilian Journal of Food Research**, v. 8, n. 4, p. 170, 2017.

BRODY, A. L.; STRUPINSKY, E. R.; KLINE, L. R. **Odor removers**. In: Brody AL, Strupinsky ER, Kline, LR, (ed) Active Packaging for Food Applications. Technomic Publishing Company Inc, Lancaster, PA, p. 107–117, 2001.

BROUILLARD, R.; IACOBUCCI, G.A.; SWEENEY, J.G. Chemistry of anthocyanin pigments. Chapter 9. UV-visible spectrophotometric determination of the acidity constants of apigeninidin and three related 3-deoxyflavylium salts. **Journal of the American Chemical Society**, v. 104, n. 26, p. 7585-7590, 1982.

CAMARGO, C.; COLONNA, P.; BULEON, A.; MOLARD, D. R. Functional properties of sour cassava (*Manihot utilissima*) starch: polvilho azedo. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 45, n. 3, p. 273-289, 1988.

CAMPOS, S. S.; OLIVEIRA, A.; MOREIRA, T. F. M.; DA SILVA, T. B. V.; DA SILVA, M. V.; PINTO, J. A.; BICK, A. P.; GONÇALVES, O. H.; FERNANDES, P. I.; BARREIRO, M. F.; YAMASHITA, F.; VALDERRAMA, P.; SHIRAI, M. A.; LEIMANN, M. V. TPCS/PBAT blown extruded films added with curcumin as a technological approach for active packaging materials. **Food Packaging and Shelf Life**, v. 22, 2019.

CASTRO, A. G.; POUZADA, A. S. Embalagens para indústria alimentar. Lisboa: Instituto Piaget, Portugal, 2003.

CHANG, Y. P.; KARIM, A. A.; SEOW, C. C. Interactive plasticizing-antiplasticizing effects of water and glycerol on the tensile properties on tapioca starch films. **Food Hydrocolloids** , v. 20, n. 1, p.1-8, 2006.

CONSTANT, P. B. L.; STRINGHETA, P. C., Microencapsulação de ingredientes alimentícios. **Boletim SBCTA**, v. 36, n. 1, p. 12-18, 2002.

CORRELO, V. M.; BOESEL, L. F.; BHATTACHARYA, M.; MANO, J. F.; NEVES, N. M.; REIS, R. L.; Properties of melt processed chitosan and aliphatic polyester blends. **Materials Science and Engineering A**, v. 403, p. 57–68, 2005.

CRIZEL, T. M.; HERMES, V. S.; DE OLIVEIRA RIOS, A.; FLÔRES, S. H. Evaluation of bioactive compounds, chemical and technological properties of fruits byproducts powder. **Journal of Food Science and Technology**, v. 53, n. 11, p. 4067–4075, 2016.

CRUZ, J. E. R.; RIBEIRO, P. S.; FARISCO, F.; GOMES, M. DE S.; MORAIS, E. R. Composição de fenólicos, flavonoides, antocianinas, determinação da atividade antioxidante e comparação de métodos extrativos da folha e da casca de Caryocar brasiliense. **Revista de Ciências médicas e Biológicas**, v. 21, n. 1, 18–24, 2022.

DE MEDEIROS, J. A. S.; BLICK, A. P.; GALINDO, M. V.; ALVIM I. D.; YAMASHITA, F.; UENO, C. T.; SHIRAI, M. A.; GROSSO, C. R. F.; CORRADINI, E.; SATANALA, L. S. Incorporation of Oregano Essential Oil Microcapsules in Starch-Poly (Butylene Adipate Co-Terephthalate) (PBAT) Films. **Macromolecular Symposia**, v. 383, n. 1, p. 1–7, 2019.

FANG, Z.; ZHAO, Y.; WARNER, R.D.; JOHNSON, S.K. Active and intelligent packaging in meat industry, **Trends Food Sci. Technol.**, v. 61, p. 60–71. 2017.

FARRAG, Y.; IDE, W.; MONTERO, B.; RICO, M.; RODRÍGUEZLLAMAZARES, S.; BARRAL, L.; BOUZA, R. Preparation of starch nanoparticles loaded with quercetin using nanoprecipitation technique. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 114, p. 426–433, 2018.

FEIL, H. Biodegradable plastics from vegetable raw materials. **Agro-Food-Industry Hi-Tech**, p. 25-32, 1995.

FEREIRA, F.V.; CIVIDANES, L.S.; GOUVEIA, R.F.; LONA, L.M.F. An overview on properties and applications of poly(butylene adipate-co-terephthalate)–PBAT based composites (review). **Polymer Eng. Science**. v. 59, p. 7–15, 2019.

FILHO MORAES, A. R.; GOUVEIA, L. E. R.; SOARES, N. D. F. F.; SANTOS, M. M. D. S.; GONÇALVES, J. C. M. P. Development and evaluation of antimicrobial film on butter conservation. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 27, n. SUPPL.1, p. 33–36, 2007.

FRANCIS, F.J.; MARKAKIS; P.C. Food colorants: Anthocyanins. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v. 28, n. 4, p. 273-314, 1989.

GAIKWAD, K. K.; SINGH, S.; AJJI, A. Moisture absorbers for food packaging applications. **Environmental Chemistry Letters**, v. 17, n. 2, p. 609–628, 2019.

GALINDO, M. V.; PAGLIONE, I. DOS S.; BALAN, G. C.; SAKANAKA, L. S.; SHIRAI, M. A. Atividade antimicrobiana e antioxidante de filmes comestíveis de gelatina e quitosana adicionados de óleos essenciais. **Segurança Alimentar e Nutricional**, v. 26, p. e019008, 2019.

GAO, S.; ZHANG, Y.; WANG, J.; JIANG, J.; ZHAI, X.; WANG, W.; HOU, H. Influence of starch content on the physicochemical and antimicrobial properties of

starch/PBAT/ $\epsilon$ -polylysine hydrochloride blown films. **Food Packaging and Shelf Life**, v. 34, n. November, p. 101005, 2022.

GAUDIN, S.; LOURDIN, D.; FORSELL, P. M.; COLONNA, P. Antiplasticization and oxygen permeability of starch-sorbitol films. **Carbohydrate Polymers**, v. 43, n. 1, p. 33–37, 2000.

GHAANI M., C.A.; COZZOLINO, G.; CASTELLI, S.; FARRIS. An overview of the intelligent packaging technologies in the food sector, **Trends Food Sci. Technol.**, v. 51, p. 1–11, 2016.

GIBBS, B. F.; KERMASHA, S.; ALLI, I.; MULLIGAN, C. N. Encapsulation in the food industry: a review. **International Journal of Food Sciences and Nutrition**, v. 50, p. 213-224, 1999.

GÓES, M. M.; MERCI, A.; ANDRELLO, A. C.; YAMASHITA, F.; DE CARVALHO, G. M. Design and Application of Multi-layer Starch-Latex Blends as Phosphorous Delivery System. **Journal of Polymers and the Environment**, v. 29, n. 6, p. 2000–2012, 2021.

GRAMZA, A.; KHOKHAR, S.; GLISZCZYNSKA-SWIGLO, A.; HES, M.; KORCZAK, J. Antioxidant activity of tea extracts in lipids and correlation with polyphenol content. **European Journal Lipid Science and Technology**, v. 108, p. 351–362, 2006.

GUIMARÃES, W.; ALVES, M.I.R.; ANTONIOSI-FILHO, N.R. Antocianinas em extratos vegetais: Aplicação em titulação ácido-base e identificação via cromatografia líquida/espectrometria de massas. **Química Nova**, v. 35, p. 1673–1679, 2012.

HASSOUN, A.; EMIR ÇOBAN, Ö. Essential oils for antimicrobial and antioxidant applications in fish and other seafood products. **Trends in Food Science and Technology**, v. 68, p. 26–36, 2017.

HOSSEINI, S.F.; REZAEI, M.; ZANDI, M.; FARAHMANDGHAVI, F. Fabrication of bio-nanocomposite films based on fish gelatin reinforced with chitosan nanoparticles. **Food Hydrocoll**, v. 44, p. 172–182, 2015.

HU, X.; JIA, X.; ZHI, C.; JIN, Z.; MIAO, M. Improving the properties of starch-based antimicrobial composite films using ZnO-chitosan nanoparticles. **Carbohydrate Polymers**, v. 210, n. October, p. 204–209, 2019.

IAHNKE, A. O. S.; COSTA, T. M. H.; RIOS, A. O.; FLÔRES, S. H. Antioxidant films based on gelatin capsules and minimally processed beet root (*Beta vulgaris* L. var. Conditiva) residues. **Journal of Applied Polymer Science**, v. 43094, p. 1-10, 2016.

IVANIČ, F.; KOVÁČOVÁ, M.; CHODÁK, I. The effect of plasticizer selection on properties of blends poly(butylene adipate-co-terephthalate) with thermoplastic starch. **European Polymer Journal**, v. 116, n. March, p. 99–105, 2019.

JHUANG, J. R.; LOU, S. N.; LIN, S.B.; CHEN, S.H.; CHEN, L.C. Immobilizing laccase

on electrospun chitosan fiber to prepare time-temperature indicator for food quality monitoring. **Innovative Food Science and Emerging Technologies**, v. 63, n. February, p. 102370, 2020.

JUNGES, A.; DENTI, A. F.; BERNARDI, J. L.; et al. Aplicação da nanotecnologia na engenharia de alimentos: uma revisão. **Research, Society and Development**, v. 11, n. 2, p. e3611225389, 2022.

KAWAGUTI, H. Y.; SATO, H. H. Produção de isomaltulose, um substituto da sacarose, utilizando glicosiltransferase microbiana. **Química Nova**, v. 31, n. 1, p. 134–143, 2008.

KERRY J.; P. BUTLER. **Smart Packaging Technologies for Fast Moving Consumer Goods**. John Wiley & Sons; Hoboken, NJ, USA. 2008.

KORDJAZI, Z.; AJJI, A. Development of TiO<sub>2</sub> catalyzed HTPB based oxygen scavenging films for food packaging applications. **Food Control**, v. 121, p. 107639, 2021.

KRAJEWSKA, B. Application of chitin- and chitosan-based materials for enzyme immobilizations: a review, **Enzyme and Microbial Technology**, v. 35, 126– 139, 2004.

KRUIJF, N.; VAN BEEST, M.; RIJK, R.; SIPILÄINEN-MALM, T.; LOSADA, P.P.; DE MEULENAER, B. Active and intelligent packaging: applications and regulatory aspects. **Food Additives and Contaminants**, v. 19, n. 1, p. 144- 162, 2002.

KUSWANDI, B.; MARYSKA, C.; ABDULLAH, A.; HENG, L.Y. Real time on-package freshness indicator for guavas packaging. **J. Food Meas. Charact.**, v. 7, p. 29–39. 2013.

LICCIARDELLO, F.; WITTENAUER, J.; SAENGERLAUB, S.; REINELT, M.; STRAMM, C. Rapid assessment of the effectiveness of antioxidant active packaging— Study with grape pomace and olive leaf extracts . **Food Packaging and Shelf Life**, v. 6, p. 16, 2015.

LUCHESE, C. L.; SPEROTTO, N.; SPADA, J. C.; TESSARO, I. C. Effect of blueberry agro-industrial waste addition to corn starch-based films for the production of a pH-indicator film. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 104, p. 11– 18, 2017.

MALACRIDA, C.R.; DA MOTTA, S. Compostos fenólicos totais e antocianinas em suco de uva. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v.25, n.4, p. 659-664, 2005.

MALI, S.; GROSSMANN, M. V. E.; YAMASHITA, F. Filmes de amido: produção, propriedades e potencial de utilização Starch films: production, properties and potential of utilization. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 31, n. 1, p. 137-156, 2010.

MALI, S.; SAKANAKA, L.; YAMASHITA, F.; GROSSMAN, M. V. E. Water sorption and

mechanical properties of cassava starch films and their relation to plasticizing effect. **Carbohydrate Polymer**, v. 60, p. 283- 289, 2005.

MATHEW, A. P.; DUFRESNE, A. Plasticized waxy maize starch: effect of polyols and relative humidity on material properties. **Biomacromolecules**, v. 3, n. 5, p. 1101-1108, 2002.

MEDINA-JARAMILLO, C.; OCHOA-YEPES, O.; BERNAL, C.; FAMÁ, L. Active and smart biodegradable packaging based on starch and natural extratos. **Carbohydrate Polymers**, v.176, n.1, p.187-194, 2017.

MENG, X.; KIM, S.; PULIGUNDLA, P.; KO, S. Carbon dioxide and oxygen gas sensors-possible application for monitoring quality, freshness, and safety of agricultural and food products with emphasis on importance of analytical signals and their transformation. **J. Korean Soc. Appl. Biol. Chem.**, v. 57, p. 723–733, 2014.

MIN, S.; KROCHTA, J. M. Ascorbic acid-containing whey protein film coatings for control of oxidation. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 55, n. 8, p. 2964± 2969, 2007.

MOUSTAFA, H.; YOUSSEF, A.M.; DARWISH, N.A.; ABOU-KANDIL, A. Eco-friendly polymer composites for green packaging: future vision and challenges. **Composites Part B Engineering**. v. 172, p. 16–25, 2019.

MÜCKE, N.; DA SILVA, T. B. V.; DE OLIVEIRA, A. THAYSA FERNANDES MOYA MOREIRA, T. F. M.; VENANCIO, C. D. S.; MARQUES, L. L. M.; VALDERRAMA, P.; GONÇALVES, O. H.; DA SILVA-BUZANELLO, R. A.; YAMASHITA, F.; SHIRAI, M. A.; GENENA, A. K. Use of Water-Soluble Curcumin in TPS/PBAT Packaging Material: Interference on Reactive Extrusion and Oxidative Stability of Chia Oil. **Food Bioprocess Technology**, v. 14, p. 471-482, 2021.

MÜLLER, P.; SCHMID, M. Intelligent packaging in the food sector: A brief overview. **Foods**, v. 8, n. 1, 2019.

OLADZADABBASABADI, N.; NAFCHI, A. M.; ARIFFIN, F.; WIJEKONN, M. M. O.; AL-HASSAN, A. A.; DHEYAB, M. A.; GHASEMLOU, M. Recent advances in extraction, modification, and application of chitosan in packaging industry. **Carbohydrate Polymers**, v. 277, n. November 2021, p. 118876, 2022.

ONGARATTO, G. C.; VITAL, A. C. P.; PRADO, I. N. DO. Embalagens ativas e inteligentes para proteção da carne e seus derivados: Revisão. **Pubvet**, v. 16, n. 4, p. 1–11, 2022.

PANDEY, S.K.; KIM, K.H. The Relative Performance of NDIR-based Sensors in the Near Real- time Analysis of CO<sub>2</sub> in Air. **Sensors (Basel)**, v.7, n.9, p. 1683- 1696, 2007.

PAULI, R. B. et al. Production and characterization of oxidized cassava starch (Manihot esculenta Crantz) biodegradable films. **Starch/Stärke**, v. 63, p. 595-603, 2011.

PAULO, A. F. S.; BALAN, G. C.; STRÖHER, G. R.; YAMASHITA, F.; BITTENCOURT, P. R. S.; SAKANAKA, L. S.; KATSUDA, M. S.; SHIRAI, M. A Influence of free and microencapsulated oregano oil on starch and poly (butylene co-terephthalate adipate) active film properties). **Polymer Bulletin**, v. 79, p. 4859-4877, 2022.

PASCHOA, Anderson dos Santos. **Sensor orgânico, tipo embalagem colorimétrica, para monitoramento de pH de alimentos**. 2016. 93 f. Dissertação (Mestrado em Ciências – Física de Materiais) – Instituto de Ciências Exatas e Biológicas, Universidade Federal de Ouro Preto, Ouro Preto, 2016.

PEANPARKDEE, M.; IWAMOTO, S.; YAMAUCHI, R. Microencapsulation: a review of applications in the food and pharmaceutical industries. **Rev Agric Sci.**, v. 4, p. 56–60, 2016.

QIN, Y.; LIU, Y.; YONG, H.; LIU, J.; ZHANG, X.; LIU, J. Preparation and characterization of active and intelligent packaging films based on cassava starch and anthocyanins from *Lycium ruthenicum* Murr. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 134, p. 80–90, 2019.

RABELLO, M. **Aditivação de polímeros**. São Paulo: Editora Artlibler, 2000. p. 242.  
RAI, S; DUTTA, P. K.; MEHROTRA, G. K. Lignin incorporated antimicrobial chitosan film for food packaging application. **Journal of Polymer Materials**, v. 34, n. 1, p. 171, 2017.

RAVI KUMAR, M. N. A review of chitin and chitosan applications. *Reactive and Functional Polymers*, v. 46, n. 1. 2000.

RÚA, J.; DEL VALLE, P.; DE ARRIAGA, D.; FERNÁNDEZ-ÁLVAREZ, L.; GARCÍA-ARMESTO, M. R. Combination of Carvacrol and Thymol: Antimicrobial Activity Against *Staphylococcus aureus* and Antioxidant Activity. **Foodborne Pathogens and Disease**, v. 16, n. 9, p. 622–629, 2019.

SARY, C.; CARBONERA, F.; VITAL, A. C. P.; GUERRERO, A.; LEWANDOWSKI, V.; VISENTAINER, J. V.; PRADO, I. N.; RIBEIRO, R. P. Clove (*Eugenia caryophyllus*) essential oil in diets for Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) improves fillet quality. **Food Science and Technology**, v. 41, p. 1–7. 2021.

SCHAEFER, D.; CHEUNG, W. M. Smart Packaging: Opportunities and Challenges. **Procedia CIRP**, v. 72, p. 1022–1027, 2018.

SCHROOYEN, P. M. M.; MEER, R. V. D.; KRUIF, C. G. Microencapsulation: its application in nutrition. **Proceedings of the Nutrition Society**, v. 60, p. 475-479, 2001.

SHAHIDI, F.; HAN, X. Q. Encapsulation of Food Ingredients. **Food Science and Nutrition**, v. 33, n. 6, p. 501-547, 1995.

SHIMAZU, A. A.; MALI, S.; GROSSMANN, M. V. E. Efeito plastificante e

antiplastificante do glicerol e do sorbitol em filmes biodegradáveis de amido de mandioca. **Ciências Agrárias**, v. 28, n.1, p. 79-88, 2007.

SHIRAI, M. A. GROSSMANN, M. V. E.; MALI, S.; YAMASHITA, F.; GARCIA, P. S.; MÜLLER, C. M. O. Development of biodegradable flexible films of starch and poly(lactic acid) plasticized with adipate or citrate esters. **Carbohydrate polymers**, v. 92, n. 1, p. 19–22, 30, 2013.

SILVA, N. M.; SANDRE, M. F. B.; SOUZA, D. G.; FERREIRA, S.V.; SILVA, J.A.G. Adição de extrato de casca de jaticaba no desenvolvimento de embalagem inteligente para queijo prato. **Brazilian Journal of Development**, v. 6, n. 4, p. 19512–19532, 2020.

SILVEIRA, R. M.; CARVALHO, A. F. U.; BÜNGER, M. DE O.; DA COSTA, I. R. Diversidade da composição química dos óleos essenciais de Eugenia – Myrtaceae: uma revisão. **Brazilian Journal of Development**, Curitiba, v. 7, n. 3, p. 33276-33303, 2021.

SINGH, N.; SINGH, J.; KAUR, L.; SODHI, N. S.; GILL, B. S.; Morphological, thermal and rheological properties of starches from different botanical sources. **Food Chemistry**, v.81, n.219-231, 2003.

SOUZA, R.R.O de .; SILVA, G.A da.; AVELLAR, J. G. M de; PALHA, M. L. A. P. F; VINHAS, G. M. Estudo da biodegradação de Poli(butileno adipato co-tereftalato) (PBAT) com óleo essencial de manjerição exótico em lodo anaeróbio. **Pesquisa, Sociedade e Desenvolvimento** , v. 11, n. 9, p. e12811931682, 2022.

STRÄTER, P. J. **Alternative Sweeteners**. In NABORS, L. O.; GEKARDI, R. C., eds.; Marcel Dekker: New York, 1985, cap. 11.

SUPPAKUL, P.; MILTZ, J.; SONNEVELD, K.; BIGGER, S.W. Active packaging technologies with an emphasis on antimicrobial packaging and its applications. **Journal Food Science**, v. 68, p. 408–420, 2003.

TEODORO, A. P.; MALI, S.; ROMERO, N.; DE CARVALHO, G. M. Cassava starch films containing acetylated starch nanoparticles as reinforcement: Physical and mechanical characterization. **Carbohydrate Polymers**, v. 126, p. 9–16, 2015.

THARANATHAN, R.N.; KITTUR, F.S. Chiti the undisputed biomolecule of great potential. **Crit Rev Food Science Nutrition**, v. 43, n. 1, p. 61-87, 2003.

TIMBERLAKE, C. F.; BRIDLE, P. (1975). **The Flavonoids**, 2ed.; Academic Press: New York, p. 223, 1975.

TOOD, R.D. Microencapsulation and the flavor industry. **Flavor Industry**, v.1, p.768, 1970.

TREVISAN, M.G.; POPPI, R.J. Química Analítica de Processos. **Química Nova**, v. 29,

no5, p. 1065-1071, 2006.

VALKOVÁ, V.; ĎÚRANOVÁ, H.; GALOVIČOVÁ, L.; VUKOVIC, NL; VUKIC, M.; KAČÁNIOVÁ, M. Atividade antimicrobiana in vitro de óleos essenciais de lavanda, hortelã e alecrim e o efeito de seus vapores no crescimento de *Penicillium* spp. em um sistema de modelo de pão. **Moléculas**, v. 26 , p. 3859, 2022.

VANDERROOST, M.; RAGAERT, P.; DEVLIEGHERE, F.; MEULENAER, B.D. Intelligent foodpackaging: The nextgeneration. **Trends Food Science Technology**, v. 39, p. 47–62, 2014.

VASCONCELOS, SC.; RÉGIS, LA.; MENEZES FILHO, ACP de .; CAZAL, C. de M.; PEREIRA, PS; CHRISTOFOLI, M. Composição química, atividade bactericida e antioxidante dos óleos essenciais das folhas de *Ocimum basilicum* e *Ocimum gratissimum* (Lamiaceae). **Pesquisa, Sociedade e Desenvolvimento** , v. 10, n. 8, p. e51810817109, 2021.

VERMEIREN, L.; DEVLIEGHERE, F.; VAN BEEST, M.; DE KRUIJF, N.; DEBEVERE, J. Developments in the active packaging of foods. **Trends Food Science Techology**, v. 10, p. 77–86, 1999.

VITAL, A. C. P.; GUERRERO, A.; GUARNIDO, P.; SEVERINO, I. C.; OLLETA, J. L.; BLASCO, M.; PRADO, I. N.; MAGGI, F.; DEL MAR CAMPO, M. Effect of active-edible coating and essential oils on lamb patties oxidation during display. **Foods**, v. 10, n. 2, p. 1–18, 2021.

VROMAN, I.; TIGHZERT, L. Biodegradable polymers. **Materials**, v. 2, n. 2, p. 307–344, 2009.

WU, M.; ZHOU, Z.; YANG, J.; ZHANG, M.; CAI, F.; LU, P. ZnO nanoparticles stabilized oregano essential oil Pickering emulsion for functional cellulose nanofibrils packaging films with antimicrobial and antioxidant activity. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 190, n. August, p. 433–440, 2021.

YAN, M. R.; HSIEH, S.; RICACHO, N. Innovative Food Packaging, Food Quality and Safety, and Consumer Perspectives. **Processes**, v. 10, n. 4, 2022.

YUAN, G.; CHEN, X.; LI, D. Chitosan films and coatings containing essential oils: The antioxidant and antimicrobial activity, and application in food systems. **Food Research International**, v. 89, p. 117–128, 2016.

ZEHETMEYER, GISLENE; MEIRA, S.M.M.; SCHEIBEL, J.M.; OLIVEIRA, R.V.B.; BRANDELLI, A.; SOARES, R.M.D. Influence of melt processing on biodegradable nisin-PBAT films intended for active food packaging applications. **Journal of Applied Polymer Science**, v. 133, p. 1-10, 2015.

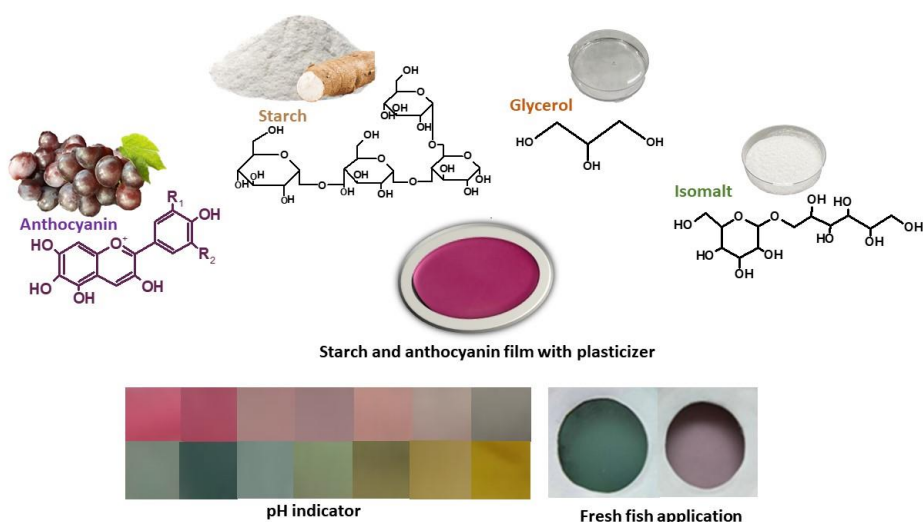
ZEID, A.; KARABAGIAS, I. K.; NASSIF, M.; KONTOMINAS, M. G. Preparation and evaluation of antioxidant packaging films made of polylactic acid containing thyme,

rosemary, and oregano essential oils. **Journal of Food Processing and Preservation**, v. 43, n. 10, 2019.

## 4. ARTIGO 1

## Efeito de plastificantes em filme indicador de pH à base de amido e extrato de casca de uva vermelha para monitoramento do frescor de peixes

### Graphical Abstract



### Resumo

O objetivo deste trabalho foi preparar e caracterizar um indicador de pH à base de amido, extrato de casca de uva (GSE), isomalte e glicerol como plastificantes para ser utilizado como indicador de frescor de pescado. Os plastificantes foram utilizados em uma concentração de 33% (relação a massa de amido) em cinco proporções: 100/0, 70/30, 60/40, 50/50 e 0/100 (%m/m isomalte/glicerol). As análises de cor, FTIR, DRX e RGB mostraram distribuição homogênea de GSE na matriz de amido. A presença de GSE reduz a estabilidade térmica, valor de  $k_1$ , solubilidade, valores de intumescimento e alongamento à ruptura e aumenta a resistência à tração, revelando seu potencial de ação plastificante na presença de isomalte. A influência do pH nas cores do filme contendo GSE e sua atividade indicadora foram avaliadas. Os resultados mostraram que o filme produzido opera em uma ampla faixa de pH (1-14), sendo um excelente candidato como indicador para monitoramento do frescor do pescado.

**Palavras-chave:** Isomalte; glicerol; antocianinas; degradação térmica.

## 4. 1 INTRODUÇÃO

A embalagem desempenha um papel essencial para manter a qualidade, segurança e prolongar a vida útil dos alimentos, sendo também responsável por possibilitar a distribuição, identificação e consumo do produto.

Com as novas demandas dos consumidores, ampla competitividade nas vendas de produtos alimentícios e desenvolvimento tecnológico, as embalagens inteligentes ganharam espaço no mercado. A embalagem inteligente tem a função de conter, proteger, comunicar e proporcionar comodidade durante as etapas de armazenamento e distribuição, monitorando e indicando a condição do alimento (IOAN et al., 2020).

A embalagem inteligente baseada em indicadores de pH tem chamado a atenção do setor produtivo e de pesquisadores para o monitoramento das condições de armazenamento dos alimentos embalados, avaliando com precisão a qualidade dos produtos em tempo real. Esses sistemas podem fornecer informações imediatas sobre os alimentos por meio de alterações visuais (cor ou intensidade de cor), permitindo que o consumidor decida sobre a qualidade do alimento (SIDDIQUI et al., 2022).

Muitos dos indicadores baseados em pH são produzidos a partir de corantes sintéticos e polímeros à base de petróleo (PACQUIT et al., 2007; CROWLEY et al., 2005; WEIGL e WOLFBEIS, 1995). Tendo em vista às expectativas dos consumidores quanto à segurança alimentar, alimentos mais saudáveis e cuidado com o meio ambiente, o uso de corantes naturais e biopolímeros tem se destacado (ONGARATTO, VITAL e PRADO, 2022).

O desenvolvimento de indicadores para embalagens inteligentes utilizando amido e pigmentos naturais, como antocianinas, tem potencial para substituir petroquímicos e corantes sintéticos (HOFFMANN et al., 2022; SILVA et al., 2020; VEDOVE, MANIGLIA e TADINI, 2021; CHEN et al, 2020). No entanto, o uso de filmes de amido com antocianina para produção de indicadores de pH apresenta restrições devido às suas propriedades mecânicas, obtenção de filmes quebradiços e natureza hidrofílica. Para superar essa limitação, várias estratégias, como: associação com uma substância hidrofóbica e resistente à umidade de fontes renováveis,

modificação por reticulação ou reforço com cargas e combinação de diferentes plastificantes, têm sido estudadas (JIMÉNEZ et al., 2012).

Neste estudo, foi produzido um novo filme biodegradável com extratos de uva, como fonte indicadora de pH (antocianina), incorporados a uma matriz de amido de mandioca e plastificantes. Foi avaliado o efeito de dois plastificantes – isomalte (IM) e glicerol (Gly) – em diferentes proporções, nas propriedades mecânicas, barreira ao vapor d'água e microestrutura dos filmes, bem como a mudança de cor em diferentes pH's e a aplicabilidade dos filmes para detectar o frescor do pescado. Além disso, a interação de plastificantes e amido na presença de GSE foi investigada e hipotetizamos que GSE interfere na capacidade plastificante tanto do Gly quanto do IM.

## 4.2 MATERIAIS E MÉTODOS

### 4.2.1 MATERIAIS

Na obtenção dos filmes foi utilizado amido de mandioca comercial (Yoki, Brasil), isomalte comercial (GranChef, Brasil) e glicerol (PA - Cinética, Brasil) como plastificantes dos filmes. A antocianina utilizada foi obtida por extração da casca de uva doado pela Cooperativa Agroindustrial dos Viticultores Caviti (Marialva, Brasil).

### 4.2.2 MÉTODOS

#### 4.2.2.1 Extração da antocianina

As cascas de uvas inicialmente foram separadas manualmente das sementes. Em seguida adicionou-se 50 g de casca de uva ao solvente extrator composto de 250 mL de solução hidroetanólica 50 % (v/v) acidificada com HCl 0,1% (v/v) até o pH igual a 4. Essa mistura foi mantida em agitação a 200 RPM por 1h em temperatura ambiente e em seguida o extrato foi filtrado. Posteriormente, o extrato foi mantido por 24 h em estufa à 50 °C e concentrados até metade do seu volume (SILVA, 2020) para obtenção do GSE – Extrato da casca da uva. O conteúdo total de antocianinas foi determinado pelo método diferencial de pH para determinar antocianinas monoméricas (LEE, DURST e WROLSTAD, 2005).

#### 4.2.2.2 Produção dos filmes de amido

Os filmes foram preparados pela técnica de casting (MALI, GROSSMANN e YAMASHITA, 2010) utilizando solução filmogênica contendo 3% (m/V) de fécula de mandioca comercial (Yoki, Brasil). Plastificantes (IM, Gly e mistura de 70/30, 60/40 e 50/50% m/m de IM/Gly) foram adicionados ao nível de 33 g/g de amido (base seca). Esta mistura foi mantida sob agitação mecânica à temperatura de 70°C por 15 minutos. Após esse período, as misturas foram vertidas em placas de acrílico e colocadas em estufa à temperatura de 40 °C por 24 horas. Os filmes secos foram retirados das placas e condicionados por 48 h a uma umidade relativa de 58%

e temperatura de 25 °C. Esses filmes foram denominados SIGX/Y, sendo X e Y a proporção de IM e Gly, respectivamente. Os filmes contendo GSE foram preparados adicionando 10 mL de GSE à mistura amido/plastificante antes do aquecimento. Esses filmes foram nomeados SIGX/Y-GSE.

#### 4.2.2.3 Espectro de infravermelho

Os espectros de infravermelho foram obtidos usando pastilhas de KBr de transmitância em equipamento Shimadzu modelo IR Prestige-21 realizando 100 varreduras na faixa de 4000 a 400  $\text{cm}^{-1}$ , resolução de 4,0  $\text{cm}^{-1}$ . A análise foi realizada no laboratório de espectroscopia (ESPEC) da Universidade Estadual de Londrina.

#### 4.2.2.4 Análise termogravimétrica

A TGA foi realizada em aparelho Shimadzu TGA 50 sob fluxo de nitrogênio de 20  $\text{cm}^3 \text{min}^{-1}$ . A massa de cada amostra foi de aproximadamente 15 mg. As medições foram realizadas aquecendo a amostra de 30 a 800 °C a uma taxa de 20 °C  $\text{min}^{-1}$ . A análise foi realizada no laboratório de espectroscopia (ESPEC) da Universidade Estadual de Londrina.

#### 4.2.2.5 Difração de Raios X

As medidas de DRX foram realizadas em difratômetro (PANalytical-X'Pert PRO MPD) com detector de pixels e radiação  $\text{CuK}\alpha$ , na técnica conhecida como  $\theta$ - $2\theta$ , geometria de Bragg-Brentano. A tensão e a corrente utilizadas foram, respectivamente, 40 KV e 30 mA. O intervalo de varredura  $2\theta$  utilizado variou de 5 a 40° com passo angular de 0,05°. O tempo de contagem por ponto foi de 2 s. A análise foi realizada no laboratório de análise por Raio X (LARX) da Universidade Estadual de Londrina.

O índice de cristalinidade (IC) das amostras foi calculado como a razão entre a área cristalina e a área total do padrão DRX de acordo com RULAND (1961). O pacote de software Origin 2018 (Origin Lab Corporation, MA, EUA) foi usado para

calcular as áreas.

#### 4.2.2.6 Propriedades Físico-Químicas

(a) Intumescimento: As amostras dos filmes (20 mm x 20 mm) foram mantidas por 7 dias em dessecador contendo solução saturada de brometo de sódio com umidade relativa de 58% e 20°C. Após esse período, a massa inicial foi determinada ( $m_0$ ) e a amostra foi imersa em água destilada (ASTM, 1996). Após 24 h a amostra foi retirada da água, seca superficialmente e novamente pesada ( $m_t$ ). O grau de intumescimento foi calculado usando a Eq. (1):

$$\text{Intumescimento (\%)} = \frac{m_t - m_0}{m_0} \times 100 \quad (1)$$

(b) Teor de umidade: As amostras dos filmes (20 mm x 20 mm) foram acondicionadas por 7 dias em dessecador contendo solução saturada de brometo de sódio com umidade relativa de 58% e 20°C. Após este período foi determinada a massa inicial ( $m_0$ ). Em seguida, as amostras foram secas em estufa a 105 °C por 24 h e sua massa foi novamente determinada ( $m_s$ ) (AOAC, 1990). O teor de água foi obtido pela Eq. (2):

$$\text{Teor de umidade (\%)} = \frac{m_0 - m_s}{m_s} \times 100 \quad (2)$$

(c) Solubilidade em água: As amostras (20 mm x 20 mm) foram secas por 24 h em estufa a 105 °C e sua massa determinada (massa total de sólidos). Posteriormente as amostras foram imersas em 50,0 mL de água destilada por 24 h. Após esse tempo, as amostras foram removidas e secas a 105 °C por 24 h, e a massa da amostra foi determinada (massa final de sólidos). A solubilidade em água foi determinada a partir da massa de sólidos solúveis (massa de sólidos totais – massa de sólidos final) em relação à massa de sólidos totais conforme mostrado na Eq. (3).

$$\text{Solubilidade (\%)} = \frac{(\text{massa total de sólidos} - \text{massa final de sólidos})}{\text{massa de sólidos totais}} \times 100 \quad (3)$$

(d) Permeabilidade ao Vapor de água: A PVA foi determinada segundo o método oficial ASTM - E96-95. Para essa análise foram cortadas amostras circulares com 7,0 cm de diâmetro, essas foram presas em celas metálicas contendo  $\text{CaCl}_2$  anidro em quantidades suficientes para cobrir toda a cela metálica. As celas contendo amostras foram colocadas no dessecador previamente saturado com NaCl (Umidade relativa = 75%). As massas foram determinadas em intervalos de 2 horas durante 8 h e a cada 24 h até completar 144 h. A permeabilidade ao vapor de água foi calculada de acordo com a Equação (4).

$$\text{PVA} \text{ (g m}^{-1} \text{ s}^{-1} \text{ Pa}^{-1}) = \frac{G \cdot e}{t \cdot A \cdot \Delta P} \quad (4)$$

Em que  $G/t$  representa o coeficiente angular da reta obtida por regressão linear do gráfico de ganho de massa (g) *versus* tempo de acondicionamento (s),  $A$  é área de permeação de cada corpo-de-prova,  $e$  é a espessura de cada corpo-de-prova e  $\Delta P$  é a diferença de pressão entre o ambiente contendo cloreto de cálcio e o ambiente saturado com NaCl, um valor de 2375,4 Pa.

(e) Cinética de sorção de umidade: Amostras de filmes (20 mm x 20 mm) foram pré-secas por 7 dias em um dessecador com sílica e, em seguida, foram colocadas a 25 °C em soluções salinas saturadas em dessecadores separados com umidade relativa desejada (7, 33, 43, 58, 75 e 86% UR) (ROCKLAND, 1960). Os pesos das amostras de filmes foram medidos em função do tempo. O teor de umidade das amostras foi determinado gravimetricamente. O teor de umidade em base seca foi usado nos cálculos e os dados foram ajustados de acordo com um modelo matemático sugerido por Peleg (Eq. 5) (PELEG, 1988).

$$M_{(t)} = M_0 + \frac{t}{k_1 + k_2 t} \quad (5)$$

Onde  $M_{(t)}$  é a umidade após o tempo de teste,  $M_0$  é o teor de umidade inicial,  $t$  é o tempo medido em h,  $k_1$  é a constante de velocidade de Peleg (h/(g água/g sólidos) e  $k_2$  é a constante de capacidade de Peleg (g de sólidos/g de água) Os parâmetros do

modelo de Peleg foram determinados por regressão não linear. Todos os testes foram realizados em triplicata.

#### 4.2.2.7 Teste mecânico

As propriedades de tração foram determinadas usando um analisador de textura TA.TX2i Stable Micro Systems (Surrey) de acordo com ASTM D-882-91 (ASTM, 1996). Dez amostras de 10,0 cm × 1,0 cm de cada formulação foram condicionadas em umidade relativa de 58% e temperatura de 20°C por 7 dias. As amostras foram fixadas entre garras pneumáticas de um texturômetro e a força (N) e a deformação (mm) foram registradas durante a extensão a uma taxa de 2 mm s<sup>-1</sup> e com uma distância inicial entre as garras de 80,0 mm. Os parâmetros determinados foram resistência à tração, TS (MPa) e alongamento à ruptura, E (%). A análise foi realizada no laboratório do Programa de Pós-graduação em Ciência de alimentos da Universidade Estadual de Londrina.

#### 4.2.2.8 Cinética de decomposição

Para determinar a cinética de decomposição dos filmes, foram utilizados os dados TG/DTG. Para uma reação no estado sólido, o grau de conversão ( $\alpha$ ) pode ser obtido a partir de um experimento não isotérmico e expresso pela Eq. 6 (HATAKEYAMA e QUINN, 1999):

$$\alpha = \frac{(m_i - m_t)}{(m_i - m_f)} \quad (6)$$

Onde  $m_t$  é a massa em cada instante a uma temperatura T (Kelvin),  $m_i$  é a massa inicial e  $m_f$  é a massa final do experimento. A taxa de conversão pode ser representada pela seguinte Eq. 7 (ATANASSOV et al., 2010):

$$\frac{d\alpha}{dt} = k(T) f(\alpha) = A \exp \frac{-E_a}{RT} f(\alpha) \quad (7)$$

Onde  $k(T)$  é a taxa constante de reação,  $f(\alpha)$  é a função diferencial que descreve o modelo de reação,  $E_a$  é a energia de ativação aparente;  $A$  o fator pré-exponencial;  $R$  é a constante do gás e  $T$  é a temperatura absoluta. Integrando a Eq. 7 sob condições não isotérmicas, obtemos a Eq. 8 (HATAKEYAMA e QUINN, 1999):

$$g(\alpha) = \int \left( \frac{d\alpha}{f(\alpha)} \right) = \left( \frac{A}{\beta} \right) \int \exp \left( \frac{-E_a}{RT} \right) dT \quad (8)$$

Onde a taxa de aquecimento  $\beta = dT/dt$  do experimento termogravimétrico é constante. As formas integrais de  $g(\alpha)$  para as reações de estado sólido são fornecidas na Tabela 1. Para análise não isotérmica, vários métodos analíticos foram propostos e empregados para estimar os parâmetros cinéticos (HOUSE, 2017). O método de Coats-Redfern (COATS e REDFERN, 1964) é um método integral, que usa uma aproximação assintótica para a resolução da Eq. (8):

$$\ln \frac{g(\alpha)}{T^2} = \ln \frac{AR}{\beta E_a} - \frac{E_a}{RT} \quad (9)$$

Para avaliar o mecanismo de reação de degradação não isotérmica de amidos, as equações propostas na Tabela 1 foram testadas e o modelo que forneceu o melhor ajuste ( $R^2 \rightarrow 1$ ) do modelo de Coats-Redfern ( $\ln(g(\alpha)/T^2)$  versus  $1/T$ ) foi selecionado como o mecanismo de degradação (COATS e REDFERN, 1964). Assim, conhecendo a função  $g(\alpha)$ , podemos determinar o mecanismo do processo de degradação, o valor de  $A$  e  $E_a$ , determinando o tripleto cinético do processo de degradação térmica. Neste trabalho foram avaliados os mecanismos apresentados na Tabela 1.

**Tabela 1.** Expressões algébricas de  $g(\alpha)$  para os modelos cinéticos utilizados

Mecanismo	$g(\alpha)$
A, Nucleação aleatória, Avrami Erofeev Equação	$[-\ln(1 - \alpha)]^{1/2}$
A <sub>3</sub> , Nucleação aleatória, Avrami Erofeev Equação	$[-\ln(1 - \alpha)]^{1/3}$
A, Nucleação aleatória, Avrami Erofeev Equação	$[-\ln(1 - \alpha)]^{1/4}$
R, Contração unidimensional	$\alpha$
R, Limite de fase cilíndrica	$[1 - (1 - \alpha)]^{1/2}$
R, Limite de fase esférica	$[1 - (1 - \alpha)]^{1/3}$
D, Difusão unidimensional	$\alpha^2$
D, Difusão bidimensional (Valensi Equação)	$(1 - \alpha) \ln(1 - \alpha) + \alpha$
D, Difusão tridimensional (Jander Equação)	$[1 - (1 - \alpha)^{1/3}]^2$
D, Difusão tridimensional (Ginstling-Brounshtein Equação)	$[1 - (2/3)\alpha] - (1 - \alpha)^{2/3}$
F, Primeira ordem	$-\ln(1 - \alpha)$
F, Segunda ordem	$1/(1 - \alpha)$
F, Terceira ordem	$1/(1 - \alpha)^2$

Fonte: Adaptado de HOUSE, 2017

#### 4.2.2.9 Influência do pH na cor dos filmes com GSE

Amostras de filmes de 20 mm x 20 mm com espessura menor que 1,00 mm com GSE foram imersas em soluções de pH de 1 a 14 por 30 minutos. A escala de cores Pantone® foi utilizada para classificar as cores dos filmes.

#### 4.2.2.10 Reversibilidade e sensibilidade de cor dos filmes

Amostras de filmes de 10 mm x 40 mm foram inicialmente expostas à atmosfera gasosa gerada por 20 mL de soluções de hidróxido de amônio (NH<sub>4</sub>OH) em diferentes concentrações (20-100% v/v). Após a mudança de cor, os filmes foram expostos à atmosfera gasosa gerada por 20 mL de soluções de ácido clorídrico (HCl) em concentrações (20-100% v/v). O tempo necessário para a mudança de cor após a exposição a cada atmosfera foi anotado. Este processo foi repetido até que o filme não apresentasse mais alteração de cor.

#### 4.2.2.11 Avaliação da atividade indicadora de pH de filmes GSE

Porções de tilápia fresca e crua (10 g) foram colocadas em recipientes de vidro após aproximadamente 2h do abate e mantidas refrigeradas até o momento da análise. Os filmes foram colocados a 7 cm da amostra e os frascos foram fechados com tampa com furo no centro. Os recipientes foram acondicionados à temperatura ambiente (25 °C) e sob refrigeração (5 °C). Para comparação, recipientes vazios cobertos com o filme foram usados como controle.

A determinação de Base Volátil Total (BVT-N) foi obtida de acordo com a norma 95/149/CE. A amostra de 10 g de peixe que estava no frasco foi triturada e misturada com 90,0 mL de solução de ácido perclórico (6% m/v), homogeneizada por 2 minutos e filtrada. Em um dispositivo de destilação por arrastamento de vapor, foi adicionado 50,0 mL do filtrado, 6,5 mL de solução de hidróxido de sódio (20% m/v), a alcalinização do extrato foi verificada mediante a adição solução de fenolftaleína, procedida de algumas gotas de agente antiespuma à base de silicone, e iniciou-se a destilação. O tubo de saída foi imerso em recipiente com 100 mL de solução de ácido bórico (3% m/v), à qual foram adicionados três a cinco gotas de solução indicadora mista de Tashiro. A destilação foi concluída após 10 minutos. O teor de BVT-N contidas na solução receptora foi determinado por titulação com solução padrão de ácido clorídrico (0,05 mol/L). O pH no ponto final foi de 5,0. Foi efetuado ensaio em branco, utilizando 50 mL de solução de ácido perclórico (6% m/v). O valor de BVT-N foi calculado pela Equação 10:

$$BVT - N \text{ (mg/100 g)} = \frac{(V_1 - V_0) \times 0,14 \times 2 \times 100}{M} \quad (10)$$

Em que  $V_1$  é o volume de ácido clorídrico utilizado na titulação da amostra (mL),  $V_0$  é o volume de ácido clorídrico utilizado no ensaio em branco (mL).  $M$  é a massa de amostra (g).

### 4.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

#### 4.3.1 CARACTERIZAÇÃO DE GSE E RESPOSTAS DE COR DE FILMES DE AMIDO CONTENDO GSE À MUDANÇAS DE PH

As respostas de cor dos filmes de amido/IM/GLY/GSE em diferentes soluções tampão de pH 1 a 14 estão mostradas na Figura. 1. A classificação das cores que os filmes apresentaram foi feita usando a escala de cores Pantone®, tornando possível identificar as cores dos filmes via código. A Figura 1 ilustra os resultados para o filme com composição SIG70/30 - GSE e para as demais composições estudadas (resultados não apresentados), foi observado comportamento semelhante.

**Figura 1.** Imagem digital do filme SIG70/30 – GSE em diferentes pH (superior) e escala de cores Pantone® (inferior)

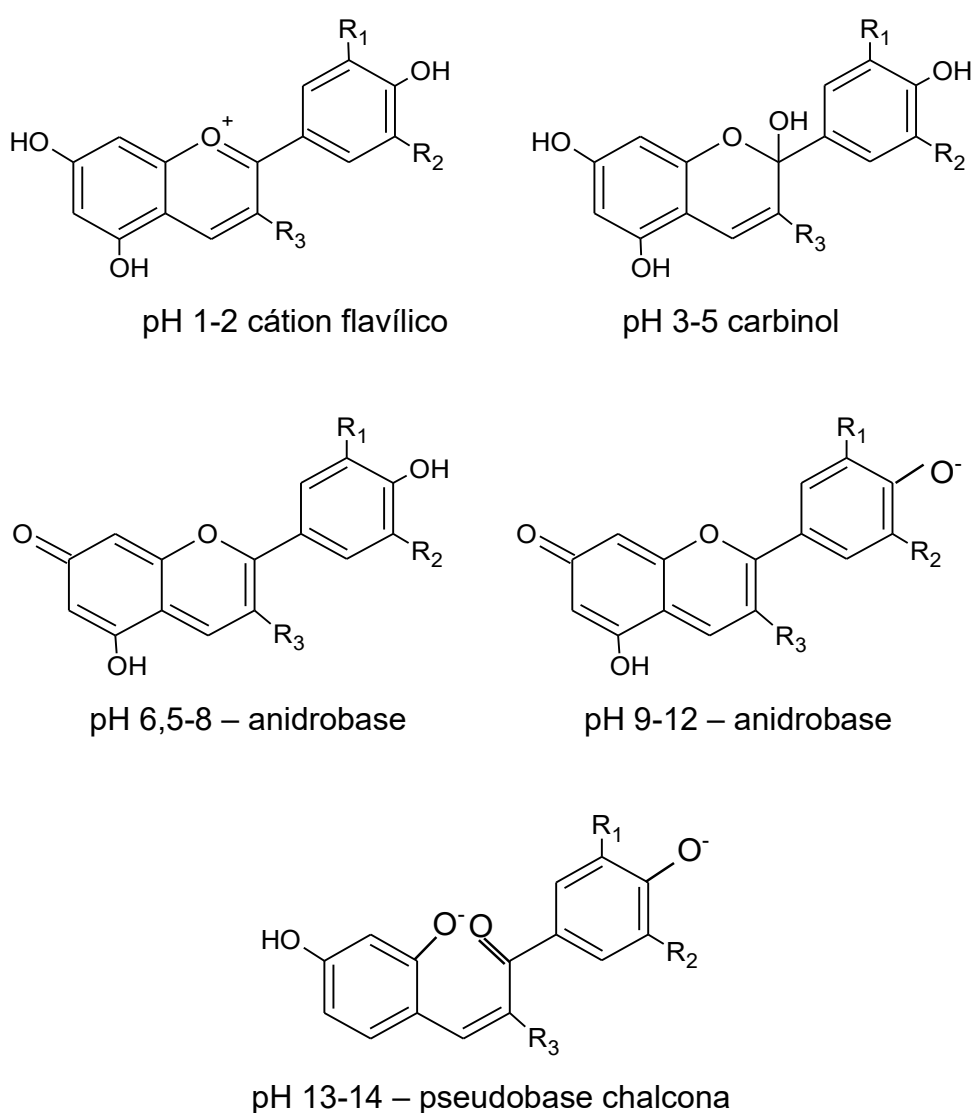


Fonte: O próprio autor.

A antocianina pertence a um grupo de polifenóis que tem a propriedade de um indicador ácido-base. A mudança de cor do GSE em diferentes soluções tampão foi atribuída a mudanças estruturais do pigmento antocianina e

dependem diretamente do número de grupos hidroxila presentes na molécula (Figura 2) (TERCI e ROSSI, 2002). O conteúdo total de antocianinas (TAC) determinado no extrato GSE foi de 82mg/L.

**Figura 2.** Transformações estruturais de antocianinas em meio aquoso ácido para alcalino



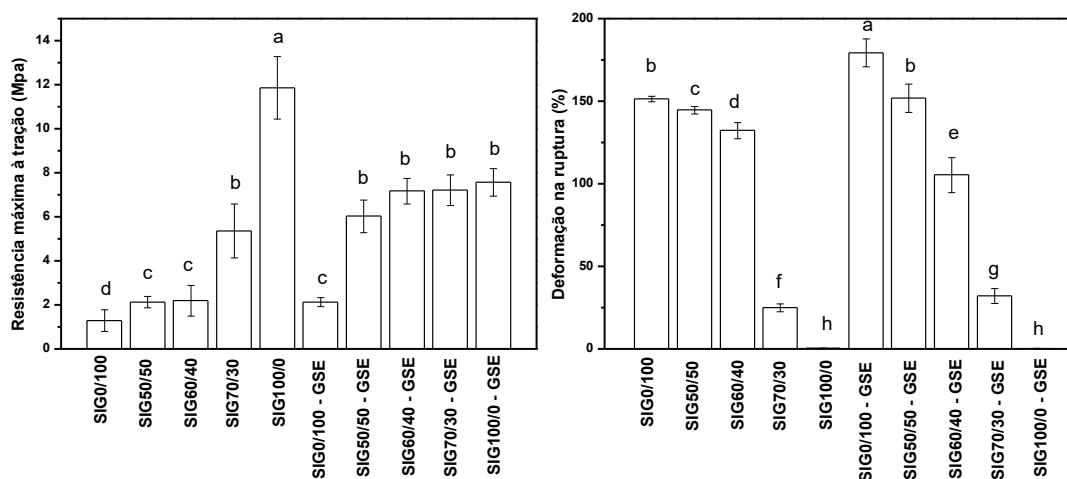
**Fonte:** Adaptado de TERCI e ROSSI, 2002.

#### 4.3.2 PROPRIEDADES MECÂNICAS

O efeito do tipo de plastificante e a presença de GSE na TS e E são

mostrados na Figura 3.

**Figura 3.** Propriedades mecânicas dos filmes de amido/IM/Gly e amido/IM/Gly/ GSE



**Fonte:** O próprio autor.

Filmes contendo apenas IM como plastificante apresentam alto valor de TS e menores valores de E. Esse comportamento se deve ao efeito antiplastificante do IM, que faz com que as interações intermoleculares amido-amido predominem sobre as interações amido-plastificante, resultando em filmes mais resistentes à ruptura do que os filmes plastificados com Gly e com a mistura Gly/IM.

O efeito antiplastificante do IM se deve à sua alta massa molar e ao maior número de hidroxilas presentes em sua molécula, em relação ao Gly.

A adição de GSE a filmes contendo apenas IM reduz o valor de TS e o E permanece baixo. Os compostos polifenólicos presentes no GSE interagem com o amido, atuando como plastificante e reduzindo as interações entre as moléculas do amido. Neste caso os filmes são menos resistentes à ruptura do que os filmes sem a presença do GSE.

Para as amostras contendo a mistura plastificante, o valor de TS aumenta e o valor de E diminui com o aumento da quantidade de IM, indicando que o efeito antiplastificante do IM predomina sobre o efeito plastificante do Gly.

Quando Gly e IM estão presentes, o valor de TS dos filmes aumenta com a adição de GSE. Pode-se supor que os compostos polifenólicos do GSE

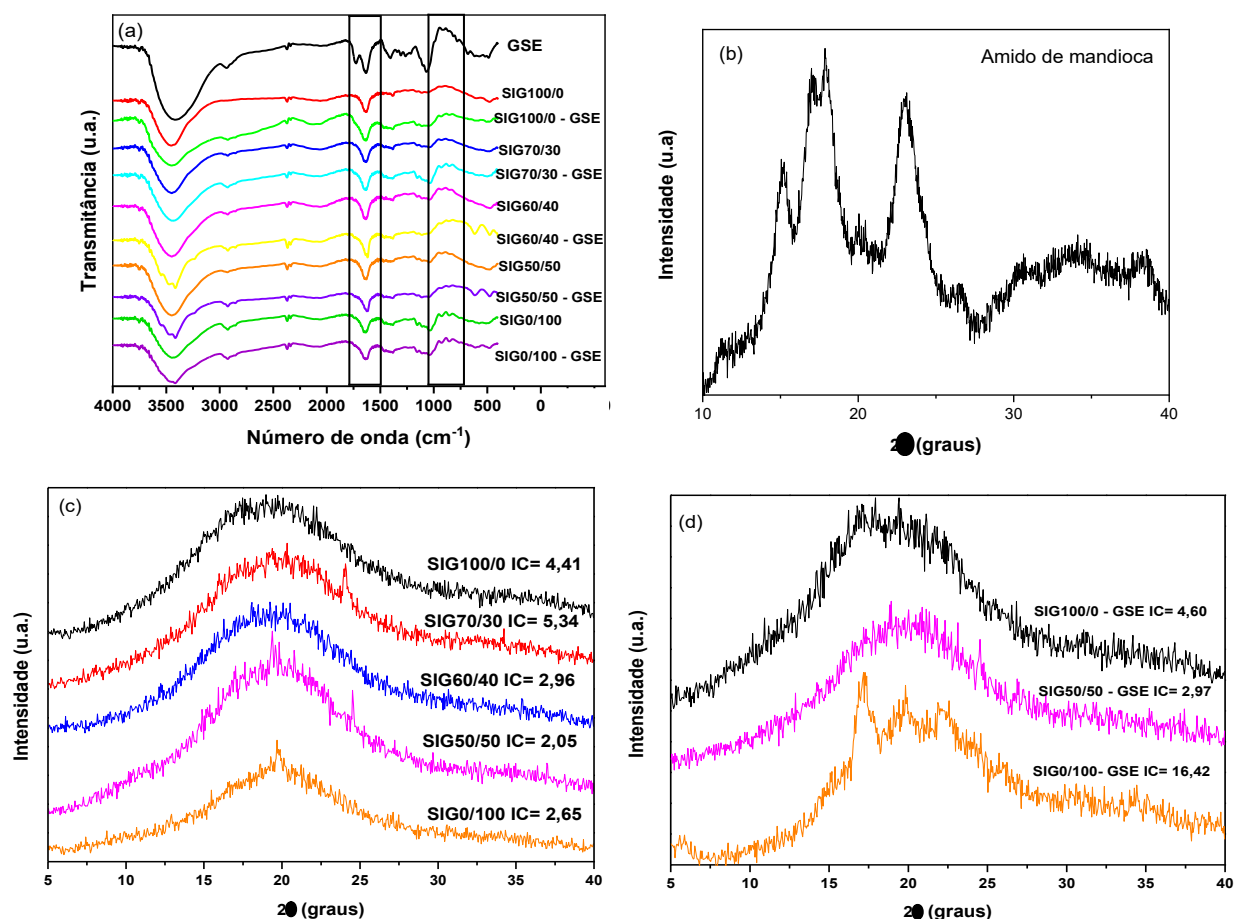
competem com o Gly pelas interações com o amido, reduzindo seu efeito plastificante. Como a eficiência do Gly na plastificação do amido é maior que a do GSE, os filmes apresentam uma TS um pouco maior e um E menor.

Quando apenas Gly está presente como plastificante, os filmes de amido apresentam valores de TS menores e valores de E ligeiramente maiores, indicando que Gly é um plastificante mais eficiente que IM. A adição de GSE nestes filmes não altera o valor de TS e aumenta ligeiramente o valor de E, indicando que devido a sua menor massa molar e sua maior hidrofiliçidade (SHIMAZU, MALI e GROSSMANN, 2007), Gly é mais eficiente em diminuir a forte atração intramolecular entre as cadeias de amido e promovendo a formação de ligações de hidrogênio com as moléculas de amido.

#### 4.3.3 CARACTERIZAÇÃO ESTRUTURAL DE FILMES

As análises de FTIR e DRX foram realizada para entender melhor os efeitos de IM, Gly e GSE na estrutura dos filmes de amido. A Figura 4 mostra os resultados FTIR e DRX para filmes de amido/IM/Gly e amido/IM/Gly/GSE.

**Figura 4.** (a) Espectro infravermelho para filmes com e sem GSE, (b) Difratoograma de Raios X para amido de mandioca, (c) Difratoograma de Raios X para filmes sem GSE (d) Difratoograma de Raios X para filmes com GSE



**Fonte:** O próprio autor.

Os espectros de FTIR de filmes à base de amido (Figura 4(a)), independente da proporção do plastificante e da presença de GSE, apresentaram as bandas características de amido em aproximadamente  $3400\text{ cm}^{-1}$  (estiramento O-H),  $2930\text{ cm}^{-1}$  (estiramento C-H dos grupos alquil),  $1380\text{ cm}^{-1}$  (estiramento C-OH),  $1100\text{-}1150\text{ cm}^{-1}$  (estiramento C-O, C-C e C-O-H) e  $1100\text{-}900\text{ cm}^{-1}$  (estiramento C-O-H). A absorção em torno de  $1640\text{ cm}^{-1}$  é uma banda típica que corresponde ao amido e seus derivados, relacionados à água fortemente ligada (SELIGRA et al., 2016; YU, CHANG e MA, 2010; ZHANG, WANG et al., 2012). Considerando os espectros de filmes sem GSE em comparação com os espectros de filmes com GSE (Figura 4(a)), alterações estiveram presentes na região entre  $854\text{ cm}^{-1}$  a  $1062\text{ cm}^{-1}$  com deslocamento,

indicando a presença de anéis aromáticos substituídos (MACIEL, YOSHIDA e FRANCO, 2015) e um alargamento e deslocamento para menores números de onda da banda em  $1634\text{ cm}^{-1}$ , o que indica mudança dos anéis aromáticos das substâncias presentes no GSE, indicando interações entre essas substâncias e o amido. Esses resultados mostraram que os GSE estão incorporados aos filmes.

O amido, dependendo de sua fonte, pode apresentar diferentes cristalinidades e estruturas cristalinas (HULLEMAN et al., 1999). O amido utilizado neste trabalho é proveniente do amido de mandioca (Figura 4 (b)), apresenta cristalinidade tipo A (VAN SOEST e VIEGENTHART, 1997). As amostras da Figura 4 (c) e (d) apresentaram uma estrutura semicristalina com predominância da região amorfa e menor IC (IC de 1,97 a 16,42%) que o amido de mandioca nativo (IC = 31%) (MERICI et al., 2022). A presença de um padrão difuso e amplo nos difratogramas deve-se ao processo de gelatinização do amido, característico de materiais processados a temperaturas inferiores a  $180\text{ }^{\circ}\text{C}$  e com teores de umidade superiores a 10% (DE OLIVEIRA FARIA, VERCELHEZE e MALI, 2012). Não foram observados picos nítidos de difração correspondentes aos pigmentos de antocianina e plastificantes (IM e Gly).

Quando GSE foi adicionado na presença IM, a estrutura amorfa do filme de amido permaneceu quase inalterada, indicando que o GSE estava bem disperso na matriz do filme. A estrutura amorfa do amido favorece a dispersão do GSE, gerando filmes mais homogêneos. Novos picos cristalinos podem ser observados em torno  $\theta = 17,3^{\circ}$ ,  $2\theta = 19,8^{\circ}$  e  $22,1^{\circ}$  quando GSE foi incorporado ao filme de amido contendo apenas Gly (SIG0/100 – GSE) (ZULLO e IANNACE, 2009). Esses resultados sugerem que a cristalinidade dos filmes à base de GSE-amido foi afetada pelo tipo de plastificante utilizado e pode ser explicado pelo efeito plastificante adicional do GSE devido à ligação de hidrogênio formada entre os compostos polifenólicos e a matriz do filme, aumentando a mobilidade das cadeias de amido e favorecendo o processo de recristalização (YUN et al., 2019).

#### 4.3.4 PROPRIEDADES FÍSICO-QUÍMICAS

A Tabela 2 mostra os resultados de solubilidade, teor de umidade, PVA e intumescimento dos filmes de amido com e sem GSE.

**Tabela 2.** Solubilidade, teor de umidade, PVA e intumescimento obtidos para filmes com diferentes razões IM/Gly com e sem GSE

Amostras	Solubilidade (%)	Teor de umidade (%)	PVA10 <sup>-10</sup> (g m <sup>-1</sup> s <sup>-1</sup> Pa <sup>-1</sup> )	Intumescimento (%) 24h
<b>SIG100/0</b>	48,62 <sup>a</sup> ± 0,82	14,70 <sup>c,d</sup> ± 0,52	0,65 <sup>a,b</sup> ± 0,09	644,08 <sup>a</sup> ± 0,10
<b>SIG70/30</b>	47,14 <sup>a</sup> ± 0,11	13,45 <sup>d</sup> ± 0,06	0,45 <sup>a,b</sup> ± 0,01	570,62 <sup>a,b</sup> ± 0,11
<b>SIG60/40</b>	46,54 <sup>a,b,c</sup> ± 0,73	13,81 <sup>d</sup> ± 0,34	0,45 <sup>a,b</sup> ± 0,01	607,78 <sup>a,b</sup> ± 0,09
<b>SIG50/50</b>	28,28 <sup>e,f,g</sup> ± 0,99	21,75 <sup>a</sup> ± 0,17	0,44 <sup>a,b</sup> ± 0,01	561,30 <sup>b</sup> ± 0,14
<b>SIG0/100</b>	17,91 <sup>g</sup> ± 0,47	23,09 <sup>a</sup> ± 1,25	0,42 <sup>a,b</sup> ± 0,01	433,89 <sup>c</sup> ± 0,06
<b>SIG100/0 - GSE</b>	34,25 <sup>c,d,e</sup> ± 0,48	13,13 <sup>d</sup> ± 0,16	1,42 <sup>a</sup> ± 0,66	422,12 <sup>c</sup> ± 0,11
<b>SIG70/30 - GSE</b>	34,16 <sup>d,e</sup> ± 0,61	16,67 <sup>b,c</sup> ± 0,37	0,51 <sup>a,b</sup> ± 0,01	304,96 <sup>d</sup> ± 0,11
<b>SIG60/40 - GSE</b>	31,60 <sup>e,f</sup> ± 0,63	17,26 <sup>b,c</sup> ± 0,06	0,61 <sup>a,b</sup> ± 0,01	276,08 <sup>d</sup> ± 0,20
<b>SIG50/50 - GSE</b>	28,32 <sup>e,f,g</sup> ± 0,35	18,53 <sup>b</sup> ± 0,42	0,67 <sup>b</sup> ± 0,03	268,44 <sup>d</sup> ± 0,04
<b>SIG0/100 - GSE</b>	21,30 <sup>f,g</sup> ± 0,44	21,44 <sup>a</sup> ± 1,50	1,26 <sup>a</sup> ± 0,01	153,65 <sup>e</sup> ± 0,20

Os resultados são apresentados como média ± desvio padrão. Cada resultado é uma média de três experimentos. Médias com letras diferentes são estatisticamente diferentes entre si pelo teste de Tukey ( $p < 0,05$ )

A presença e a quantidade de IM contribuem para o aumento da solubilidade e intumescimento dos filmes e não afetam a PVA, independente da presença de GSE.

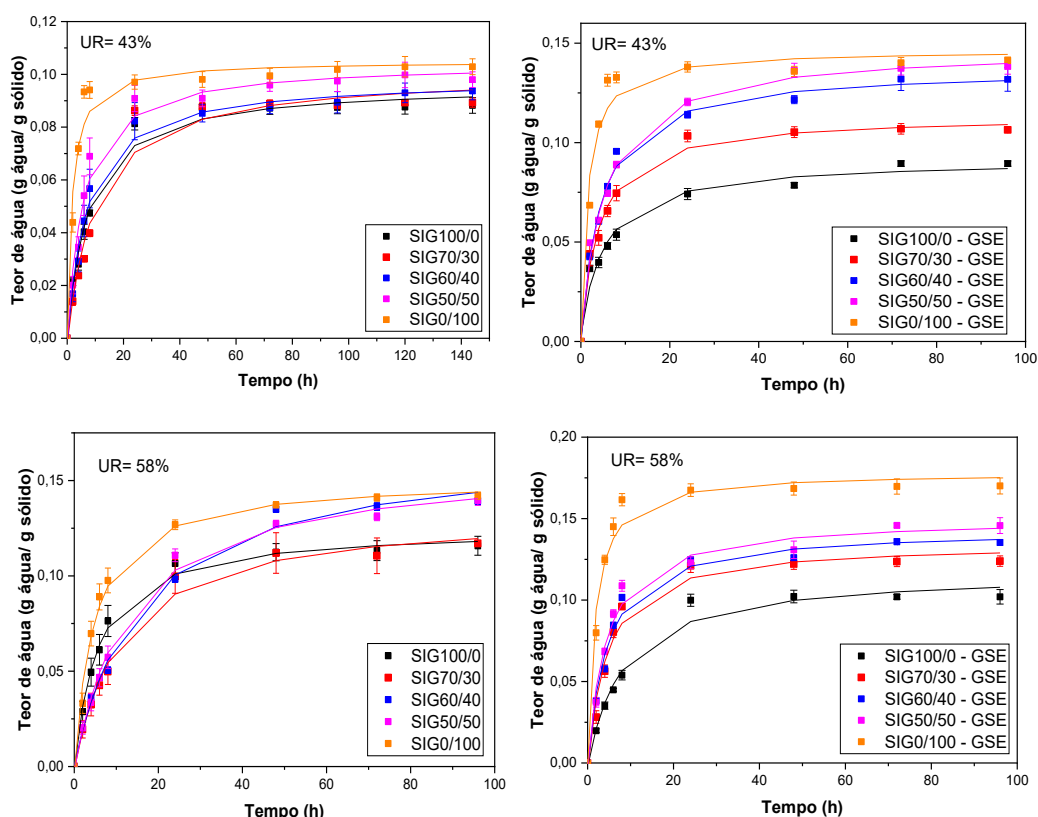
Apesar da maior hidrofiliidade do glicerol, o maior número de hidroxilas presentes na molécula IM (dissacarídeo formado por duas moléculas de glicose), favorece a interação com a água, aumentando a solubilidade. Este fato, somado ao tamanho da molécula do IM, favorece sua ação antiplastificante, pois a absorção de água pelo IM a tornaria indisponível para se ligar com a matriz polimérica, que interage mais fortemente, aumentando o intumescimento dos filmes.

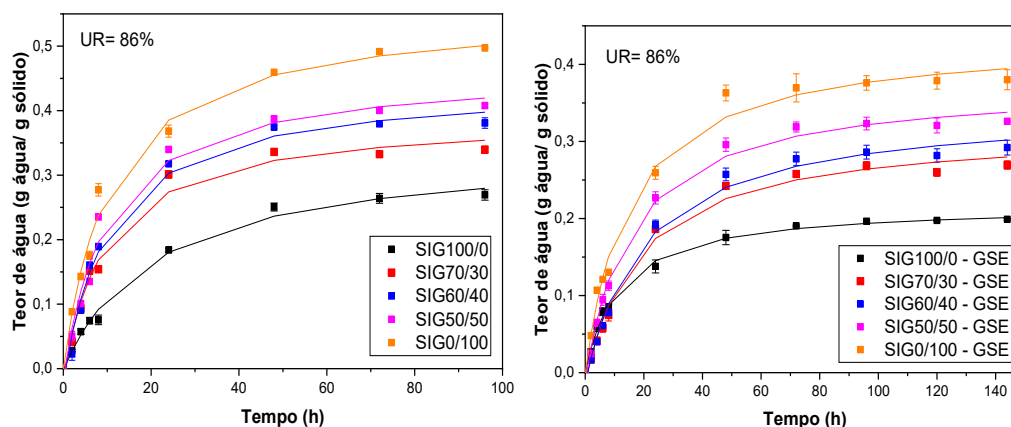
Na presença de GSE, a solubilidade e o intumescimento de todos os filmes apresentam valores mais baixos e PVA permanece inalterado. Nestas amostras as interações covalentes e de hidrogênio entre o amido e os compostos polifenólicos GSE reduzem a disponibilidade dos grupos hidrofílicos criando uma rede mais densa e compacta e, posteriormente, levam a uma diminuição da afinidade do filme de amido com as moléculas de água. Resultados semelhantes foram observados por ZHONG e LI, 2014.

#### 4.3.5 CINÉTICA DE SORÇÃO DE UMIDADE

As curvas de cinética de sorção de umidade dos filmes de amido em diferentes valores de umidade relativa (43, 58 e 86%) são mostradas na Figura 5. Os dados experimentais foram ajustados ao modelo de Peleg ( $R > 0,970$ ) e os parâmetros  $k_1$  e  $k_2$  obtidos são mostrados na Tabela 3. A constante  $k_1$  está relacionada à transferência de massa, quanto menor  $k_1$ , maior a taxa inicial de sorção de água;  $k_2$  é uma constante relacionada à capacidade máxima de sorção de água e quanto menor o  $k_2$ , maior a capacidade de sorção. Para todos os filmes, em todas as UR analisadas, o maior ganho de massa (Figura 5) foi observado nas primeiras 24 h de teste e após 24 h de análise, uma tendência ao equilíbrio foi observada (MALI et al., 2005).

**Figura 5.** Curvas cinéticas de sorção para filmes com diferentes razões IM/Gly com e sem GSE





Fonte: O próprio autor.

O Gly teve um efeito positivo importante no teor de água de equilíbrio à medida que sua concentração aumentou, na faixa de concentração investigada (0-33%). Além disso, Gly diminuiu o valor de  $k_1$  e  $k_2$ , indicando maior taxa de sorção de umidade inicial e maior capacidade de sorção (GALDEANO et al., 2014). Essa maior taxa de sorção de água nesses filmes pode ser atribuída à capacidade do Gly de plastificar a matriz polimérica em relação ao IM, aumentando a mobilidade das cadeias, devido à sua menor massa molar (LOURDIN et al., 1997), o que corrobora os valores de solubilidade e intumescimento encontrados para esses filmes, atribuídos à ação antiplastificante do IM.

O efeito plastificante adicional do GSE diminuiu o valor de  $k_1$  nos filmes que apresentam mistura de plastificantes, em comparação aos filmes sem GSE, de acordo com os dados de DRX e propriedades mecânicas, onde foi verificado que o GSE possui efeito plastificante adicional. Para filmes plastificados apenas com IM, os valores de  $k_1$  e  $k_2$  são maiores do que para filmes que contêm mistura de plastificantes, indicando que a quantidade de água disponível para sorção afeta a taxa de transferência de massa e a capacidade máxima de sorção de água dos filmes, corroborando a efeito antiplastificante do IM.

**Tabela 3.** Parâmetros cinéticos obtidos pelo modelo de Peleg para filmes com diferentes razões IM/Gly com e sem GSE em diferentes UR

Amostra	UR = 43%			UR = 58%			UR = 86%		
	k <sub>1</sub>	k <sub>2</sub>	R	k <sub>1</sub>	k <sub>2</sub>	R	k <sub>1</sub>	k <sub>2</sub>	R
<b>SIG100/0</b>	78,288	10,312	0,987	44,345	7,884	0,993	54,919	4,600	0,996
<b>SIG70/30</b>	97,087	9,706	0,970	83,495	7,372	0,986	55,389	3,027	0,988
<b>SIG60/40</b>	70,016	9,993	0,990	97,109	5,975	0,992	54,891	2,785	0,991
<b>SIG50/50</b>	56,201	9,397	0,983	80,285	6,78	0,994	40,217	2,585	0,994
<b>SIG0/100</b>	16,555	9,245	0,973	29,840	5,481	0,990	34,263	2,289	0,988
<b>SIG100/0 - GSE</b>	59,945	11,336	0,971	68,178	8,346	0,974	61,553	2,905	0,991
<b>SIG70/30 - GSE</b>	36,374	8,886	0,987	31,204	7,160	0,969	24,355	2,472	0,981
<b>SIG60/40 - GSE</b>	37,082	7,264	0,992	30,390	6,832	0,981	22,147	2,152	0,982
<b>SIG50/50 - GSE</b>	37,380	6,889	0,992	27,495	6,511	0,978	20,966	2,075	0,977
<b>SIG0/100 - GSE</b>	9,951	6,471	0,977	9,660	5,539	0,972	19,034	1,791	0,988

Resultados semelhantes a estes foram relatados com diferentes plastificantes (MALI et al., 2005) em que filmes plastificados com glicerol apresentaram maior velocidade e capacidade de sorção de água do que filmes plastificados com sorbitol e sacarose.

#### 4.3.6 ANÁLISE TERMOGRAVIMÉTRICA E CINÉTICA DA DECOMPOSIÇÃO TÉRMICA DE FILMES

A Tabela 4 mostra os parâmetros de  $T_{max}$  (temperatura máxima de degradação),  $T_{onset}$  (Temperatura de início de degradação) e Rm 800 (massa residual à 800 °C) obtidos a partir da análise termogravimétrica dos filmes.

**Tabela 4.** Dados de  $T_{max}$ ,  $T_{onset}$ , Rm800 e  $E_a$  para filmes de amido com e sem GSE em diferentes proporções de IM/Gly

Filme	$T_{max}$ (°C)	$T_{onset}$ (°C)	Rm 800 (%)	$E_a$ (kJ · mol <sup>-1</sup> )
<b>SIG100/0</b>	347	323	7,38	323,50
<b>SIG70/30</b>	347	320	8,09	285,29
<b>SIG60/40</b>	347	314	7,50	308,16
<b>SIG50/50</b>	347	306	7,58	298,67
<b>SIG0/100</b>	347	300	5,33	195,84
<b>SIG100/0 - GSE</b>	345	300	10,31	253,19
<b>SIG70/30 - GSE</b>	345	301	10,39	206,79
<b>SIG60/40 - GSE</b>	341	302	9,48	197,39
<b>SIG50/50 - GSE</b>	337	304	9,01	211,84
<b>SIG0/100 - GSE</b>	339	297	8,66	214,53

Todos os filmes apresentaram perda de massa na faixa de temperatura de 30°C a 118°C, correspondendo à liberação de substâncias voláteis (água, glicerol) presentes nas amostras. A perda de massa entre 260 °C e 377 °C (80%) corresponde à decomposição térmica do amido e IM ( $T_{max}$  340°C). O fato de os filmes de amido/IM/Gly não apresentarem deslocamento  $T_{max}$  sugere a ausência de qualquer interação entre amido e IM, o que evidencia o efeito antiplastificante do IM. O aumento da estabilidade térmica dos filmes ( $T_{onset}$ ) com o aumento da quantidade de IM e a redução da estabilidade após a adição de GSE podem estar relacionados ao efeito antiplastificante do IM e ao efeito plastificante do GSE (FINI, CAVALLARI e OSPITALI, 2009).

A adição de GSE reduz a temperatura máxima de degradação dos filmes, de 347 para 339 °C, este resultado pode estar relacionado com a menor  $E_a$  dos filmes, indicando que a presença de GSE torna essas ligações mais fracas, além disso, essa redução no valor de  $T_{max}$  pode ser atribuída à ligação de hidrogênio formada entre os compostos polifenólicos presentes no GSE com o amido, contribuindo para a plastificação da matriz polimérica.

A Rm 800 °C é de aproximadamente 8% para filmes sem GSE e 10% para filmes com GSE (Tabela 3), valores que concordam com os obtidos para filmes de amido de diferentes plantas (SUEIRO et al., 2016).

O estudo da cinética de degradação térmica dos filmes a partir dos dados de TGA foi realizado aplicando-se a equação proposta por Coats-Redfern, Equação (9), para determinação do mecanismo de reação (Tabela 1). Aplicou-se o método de ajuste do modelo e o  $R^2$  e RMSE foram determinados (HOUSE, 2007). Avaliando os modelos de ajuste utilizados, os mecanismos que apresentaram os melhores  $R^2$  e RMSE foram A2, A3 e F1.

Considerando que a degradação do amido ocorre em um estágio, o mecanismo de primeira ordem (F1) foi escolhido para calcular a  $E_a$  e o fator pré-exponencial (A). Neste mecanismo considera-se que a nucleação instantânea e o crescimento unidimensional controlam o processo de degradação (MERCURI et al., 2019). Resultados semelhantes foram encontrados por PIGWOSKA (2020) e MERCURI e colaboradores (2019) no estudo da estabilidade térmica do amido. Todas as composições apresentaram valores de  $E_a$  superiores a  $60 \text{ kJ mol}^{-1}$ , indicando que a taxa de decomposição depende fortemente da temperatura (ATKINS e JONES, 2012).

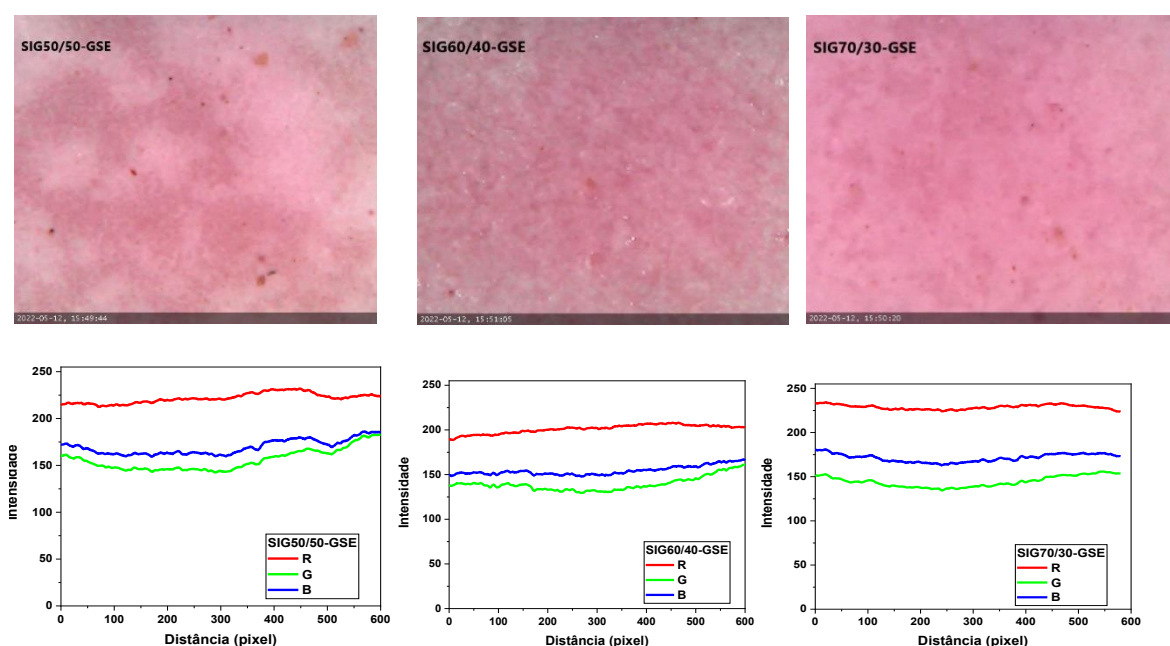
A Tabela 3 mostra que  $E_a$  aumenta com a proporção de IM, sugerindo uma interação amido-amido mais forte em comparação com a interação amido-Gly. Na presença de GSE os filmes apresentam menores valores de  $E_a$ , indicando que o processo de degradação é facilitado, confirmando que os compostos polifenólicos presentes no GSE possuem efeito plastificante. Esses resultados corroboram o que foi observado em análises anteriores, sugerindo uma interação mais forte entre amido-amido na presença de IM em comparação com a interação amido-amido na presença de Gly, que apresentou menores valores de  $E_a$ .

Todas as análises apresentadas indicam que, além de sua função primordial de servir como indicador de frescor do pescado através da mudança de cor em função do pH, o GSE tem efeito plastificante. A proporção de IM e Gly afeta as características físicas e estruturais de filmes com e sem adição de GSE.

Neste trabalho foram produzidos cinco filmes com diferentes proporções de IM e Gly, com e sem GSE. Entre as amostras contendo a mistura de Gly e IM como plastificante, todas apresentaram propriedades adequadas para uso como indicador. Para selecionar uma amostra para teste como indicador de pH, foi realizada uma comparação de cores das imagens digitais (Figura 6) de cada amostra. A cor de cada amostra foi analisada em padrões RGB com o auxílio do software

ImageJ. A Figura 6 mostra os gráficos RGB de cada amostra. A imagem da amostra SIG70/30 - GSE possui maiores valores do parâmetro R e maior a diferença dos parâmetros G e B, indicando que a cor vermelha é mais homogênea e mais intensa nesta amostra.

**Figura 6.** Imagens e gráficos RGB para os filmes SIG50/50-GSE, SIG60/40-GSE e SIG70/30-GSE



Fonte: O próprio autor.

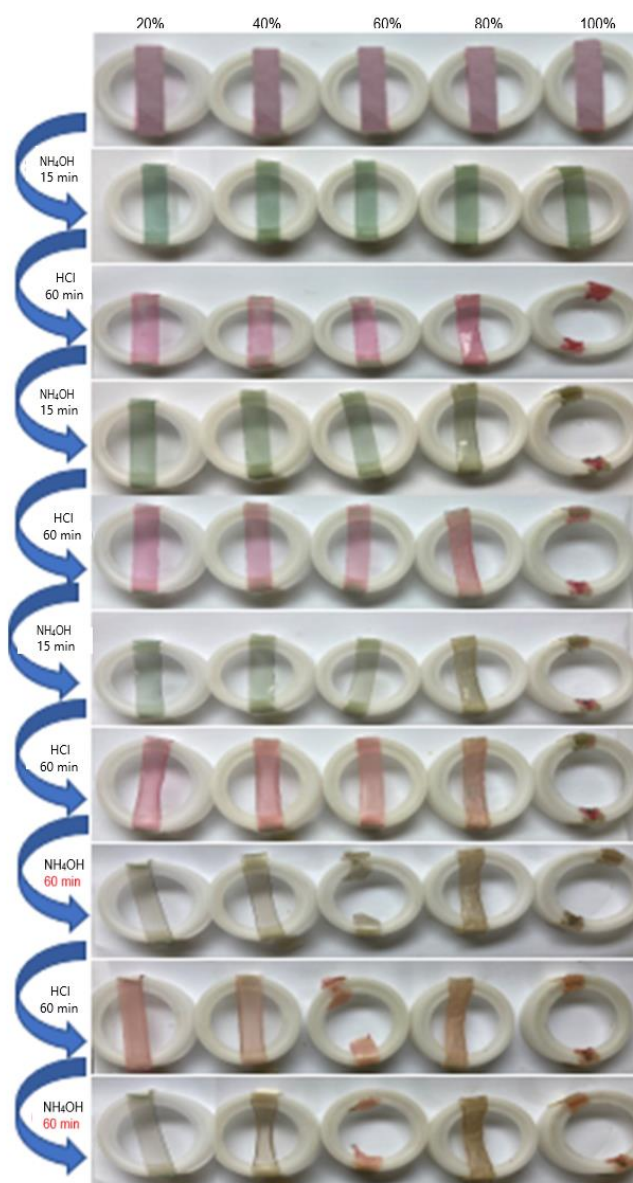
#### 4.3.7 RESPOSTA DE COR DE FILMES INDICADORES DE PH

A reversibilidade e a sensibilidade da mudança de cor em função do pH e do tempo foram avaliadas expondo os filmes a atmosferas de hidróxido de amônio e ácido clorídrico em diferentes concentrações (20-100%) (Figura 7).

Inicialmente os filmes possuem cor lilás (Pantone® 2475C). Quando exposto a condições básicas, ocorre a mudança de cor para verde (Pantone® P153-12U) em 15 minutos para todas as concentrações de  $\text{NH}_4\text{OH}$ . Quando exposto à atmosfera ácida a cor muda para rosa (Pantone® 7636U) após 60 minutos, para todos os filmes. Verificou-se que a mudança de cor é reversível e tem uma reversibilidade máxima de 5 ciclos em atmosfera ácida ou básica a 20%. À medida que o número de ciclos aumenta, a cor do filme perde intensidade, mas ainda é possível ver a mudança

de cor.

**Figura 7.** Estudo da reversibilidade e sensibilidade da mudança de cor de filmes de amido com GSE (SIG70/30-GSE) em condições ácidas (HCl) e básicas (NH<sub>4</sub>OH)



**Legenda:** Os filmes foram expostos a diferentes concentrações de atmosferas ácidas e básicas, as concentrações correspondentes a cada amostra estão indicadas na parte superior da imagem. No lado esquerdo da imagem estão indicados os tempos e reagentes utilizados para alterar a cor dos filmes.

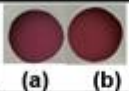
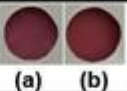
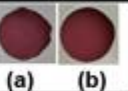

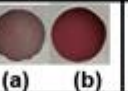
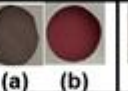
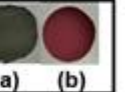
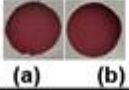
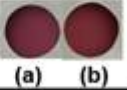
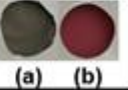

**Fonte:** O próprio autor.

#### 4.3.8 APLICAÇÃO DE FILMES INDICADORES DE PH COMO O FRESCOR DO PEIXE

Para avaliar o potencial do filme SIG70/30-GSE como indicador de

mudança de pH, amostras de peixes foram armazenadas em frascos de vidro cobertos com o filme em temperatura ambiente (25 °C) e refrigerados (5 °C). Na Figura 8, são exibidas as imagens dos filmes capturadas a cada 24 h de análise.

**Figura 8.** Imagem digital do SIG70/30 GSE (a) anexado a embalagens de pescado (b) controle

Temperatura	Tempo						
	0h	24h	48h	72h	96h	120h	144h
5 °C							
BVT-N (mg/100 g)	0,53 ± 0,15	0,96 ± 0,14	6,42 ± 0,44	7,42 ± 0,68	10,59 ± 0,12	14,21 ± 0,17	35,28 ± 0,97
25 °C							
BVT-N (mg/100 g)	0,53 ± 0,15	3,88 ± 0,08	21,77 ± 0,48	69,22 ± 1,72			

Fonte: O próprio autor.

Depois de passar por sua fase inicial de frescor, o peixe deteriorado libera uma variedade de aminas voláteis básicas, como trimetilamina, amônia e dimetilamina. Essas substâncias são detectadas pelas antocianinas contidas no GSE e, em resposta, ocorre a mudança de cor do filme. Essa mudança de cor pode ser vista na Figura 8. Para amostras armazenadas em temperatura ambiente, os filmes mudaram de rosa (Pantone® 7636U) para verde (Pantone® P 153-12U) após 72 h (3 dias). Para os filmes armazenados sob refrigeração, a mudança de cor ocorreu após 144 h (6 dias), indicando que em baixas temperaturas o frescor do pescado é mantido por mais tempo. Em ambas as condições os filmes permaneceram intactos durante a análise.

A legislação brasileira considera que peixes impróprios para consumo apresentam BVT-N superiores a 30 mg/100 g de amostra (BRASIL, 1997), desta forma, considerou-se que BVT-N entre 0-10 mg/ 100 g de amostra representa peixes frescos de 10 a 30 mg/ 100 g de amostra tem-se peixes meio fresco e acima de 30 mg/ 100 g de amostra peixes impróprios para o consumo (CHEN et al., 2020).

Para as amostras analisadas sob refrigeração verificou-se que até 96 h os filmes ainda estão frescos, em 120 h o filme apresenta-se meio fresco e em 144h

o filme torna-se impróprio para consumo, em que se observou uma mudança mais acentuada na coloração do indicador.

Para as amostras em temperatura ambiente verifica-se que em até 24 h os peixes estão frescos, em 48 h temos um peixe meio fresco e em 72h o peixe está impróprio para consumo (BRASIL, 1997).

#### 4.4 CONCLUSÃO

Filmes de amido foram produzidos com diferentes proporções de isomalte e glicerol. O estudo demonstrou que o tipo e a proporção de mistura de plastificantes altera as propriedades físico-químicas, térmicas e mecânicas dos filmes de amido, de forma diferente na presença e ausência de GSE.

Os resultados indicaram que o GSE pode atuar como plastificante, reduzindo o efeito antiplastificante do isomalte ou competindo com o glicerol pelas interações com o amido. Desta forma, a quantidade de plastificantes pode ser modulada para obter propriedades adequadas para diferentes aplicações.

O filme SGI70/30 - GSE apresentou sensibilidade em diferentes condições de pH, com cores visualmente distinguíveis na escala de cores Pantone®. A avaliação da atividade indicadora de pH dos filmes com GSE para determinar o frescor do pescado mostrou que os filmes permanecem intactos mesmo com a alta umidade do refrigerador e eficientes na mudança de cor.

Os filmes produzidos mostraram-se excelentes candidatos a serem utilizados como indicadores para monitoramento do frescor do pescado.

## REFERÊNCIAS

A.O.A.C. **Official Methods of Analysis**. 15th Edition, Association of Official Analytical Chemist, Washington DC, 1990.

AMERICAN SOCIETY FOR TESTING AND MATERIALS – ASTM. **Standard test method for water vapor transmission of material – E96–95**. Annual book of ASTM, Philadelphia, 1995.

AMERICAN SOCIETY FOR TESTING AND MATERIALS – ASTM. **Standard test methods for tensile properties of thin plastic sheeting, D882- 91**. Annual book of ASTM, Philadelphia, 1996.

ATANASSOV, A.; GENIEVA, S.; VLAEV, L. Study of the thermooxidative degradation kinetics of tetrafluoroethylene-ethylene copolymer filled with rice husks ash. **Polymer-Plastics Technology and Engineering**, v. 49, n. 6, p. 541–554, 2010.

ATKINS, P., JONES, L. **Chemical Principles**. 5 ed. W.H. Freeman and Company Chapter 14, 2012.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Secretaria de Defesa Agropecuária. Portaria nº 185, de 13 de Maio de 1997**. Aprova o Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade de Peixe Fresco. Diário Oficial da União, Poder Executivo, Brasília, DF, 19 Maio 1997.

CHEN, H. Z.; ZHANG, M.; BHANDARI, B.; YANG, C.H. Novel pH-sensitive films containing curcumin and anthocyanins to monitor fish freshness. **Food Hydrocolloids**, v. 100, p. 105438, 2020.

COATS, A. W.; REDFERN, J. P. Kinetic parameters from thermogravimetric data. **Nature**, v. 201, p. 68–69, 1964.

CROWLEY, K.; PACQUIT, A.; HAYES, J.; LAU, T. R.; DIAMOND, D. A gas-phase colorimetric sensor for the detection of amine spoilage products in packaged fish, **Sensors IEEE**, 2005.

DE OLIVEIRA FARIA, F.; VERCELHEZE, A. E. S.; MALI, S. Physical properties of biodegradable films based on cassava starch, polyvinyl alcohol and montmorillonite. **Química Nova**, v. 35, n. 3, p. 487–492, 2012.

FINI, A., CAVALLARI, C.; OSPITALI, F. Effect of Ultrasound on the Compaction of Ibuprofen/Isomalt Systems. **Pharmaceutics**, v. 1, p. 3-19, 2009.

GALDEANO, M. C., WILHELM, A. E., GROSSMANN, M. V. E., & MALI, S. Effect of Processing and Environmental Conditions in the Properties of Oat Starch Biodegradable Materials. **Polímeros**, v. 24, n. 1, p. 80-87, 2014.

HATAKEYAMA, T.; QUINN, F. X. Thermal analysis. *In: Fundamentals and Applications to Polymer Science*. John Wiley & Sons, Chichester, England, 1994. p. 65–105.

HOFFMANN, T. G.; ANGIOLETTI, B. L.; BERTOLI, S. L.; SOUZA, C. K. Intelligent pH-sensing film based on jaboticaba peels extract incorporated on a biopolymeric matrix. **Journal of Food Science and Technology**, v. 59, p. 1001–1010, 2022.

HOUSE, J. E. **Principles of Chemical Kinetics**. 2. ed. [s.l.] Academic Press is an imprint of Elsevier, 2007.

HULLEMAN, S.H.D.; KALISVAART, M.G.; JANSSEN, F.H.P.; FEIL, H.; Vliegenthart, J.F.G. Origins of by-type crystallinity in glycerol-plasticised, compression-moulded potato starches. **Carbohydrate Polymers**, v. 39, n. 4, 1999.

IOAN, B.; ODAGIU, A.; BALINT, C.; MĂLINAȘ, C.; ȘTEFAN, D. O.; OROIAN, D. The traits of smart packaging. **Proenvironment/Promediu**, v. 13, n. 44, p. 152–159, 2020.

JIMÉNEZ, A.; FABRA, M.J.; TALENS, P.; CHIRALT, A. Edible and Biodegradable Starch Films: A Review. **Food and Bioprocess Technology**, v. 5, p. 2058–2076, 2012.

LEE, J.; DURST, R. W.; WROLSTAD, R. E. Determination of total monomeric anthocyanin pigment content in fruit juices, beverages, natural colorants, and wines by the pH differential method: Collaborative study. **Journal of AOAC International**, v. 88, n. 5, p. 1269, 2005.

LOURDIN, D.; COIGNARD, L.; BIZOT, H.; COLONNA, P. Influence of equilibrium relative humidity and plasticizer concentration on the water content and glass transition of starch materials. **Polymer**, v. 38, n. 21, p. 5401–5406, 1997.

MACIEL, V. B. V.; YOSHIDA, C. M. P.; FRANCO, T. T. Chitosan/pectin polyelectrolyte complex as a pH indicator. **Carbohydrate Polymers**, v. 132, p. 537–545, 2015.

MALI, S.; GROSSMANN, M. V. E.; YAMASHITA, F. Filmes de amido: produção, propriedades e potencial de utilização. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 31, n. 1, p. 137, 2010.

MALI, S.; SAKANAKA, L.S.; YAMASHITA, F.; GROSSMANN, M.V.E. Water sorption and mechanical properties of cassava starch films and their relation to plasticizing effect. **Carbohydrate Polymers**, v. 60, p. 283–289, 2005.

MERCI, A.; GÓES, M. M.; MALI, S.; YAMASHITA, F.; CARVALHO, G. M. Physical and Mechanical Properties of Starch Films – The role of the crosslinking mechanism through iodine binding capacity. **Revista Principia**. 2022.

MERCI, A.; MARIM, R. G.; URBANO, A.; MALI, S. Films based on cassava starch reinforced with soybean hulls or microcrystalline cellulose from soybean hulls. **Food**

**Packaging and Shelf Life**, v. 20(November 2018), p. 100321, 2019.

ONGARATTO, G. C.; VITAL, A. C. P.; PRADO, I. N. DO. Embalagens ativas e inteligentes para proteção da carne e seus derivados: Revisão. **Pubvet**, v. 16, n. 4, p. 1–11, 2022.

PACQUIT, A.; FRISBY, J.; DIAMOND, D.; LAU, K. T.; FARRELL, A.; QUILTY, B.; DIAMOND, D. Development of a smart packaging for the monitoring of fish spoilage. **Food Chemistry**, v. 102, n. 2, p. 466-470, 2007.

PELEG, M. An empirical model for the description of moisture sorption curves. *Journal of Food Science*, v. 53, p. 1216–1217, 1988.

PIGŁOWSKA, M.; KURC, B.; RYMANIAK, Ł.; LIJEWSKI, P.; FUĆ, P. Kinetics and thermodynamics of thermal degradation of different starches and estimation the OH group and H<sub>2</sub>O content on the surface by TG/DTG-DTA. **Polymers**, v. 12, n. 2, 2020.

ROCKLAND, L. B. Saturated Salt Solutions for Static Control of Relative Humidity between 5° and 40° C. **Analytical Chemistry**, v. 32, n. 10, p. 1375–137, 1960.

RULAND, W. X-Ray Determination of Crystallinity and Diffuse Disorder Scattering. **Acta Cryst.**, v. 14, p. 1180, 1961.

SELIGRA, P. G.; MEDINA JARAMILLO, C.; FAMÁ, L.; GOYANES, S. Biodegradable and non-retrogradable eco-films based on starch-glycerol with citric acid as crosslinking agent. **Carbohydrate Polymers**, v. 138, p. 66–74, 2016.

SHIMAZU, A. A.; MALI, S.; GROSSMANN, M. V. E. Plasticizing and antiplasticizing effects of glycerol and sorbitol on biodegradable cassava starch films. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 28, n. 1, p. 79, 2007.

SIDDIQUI, J.; TAHERI, M.; ALAM, A. U.; DEEN, M. J. Nanomaterials in Smart Packaging Applications: A Review. **Nano Micro Small**, v.18, n. 1, p. 2101171, 2022.

SILVA, N. M.; SANDRE, M. F. B.; SUZA, D. G.; FERREIRA, S. V.; SILVA, J. A. G., MESQUITA, A. A.; EGEA, M. B.; SILVA, M. A. P. Addition of jaboticaba skin extract in the development of smart packaging for cheese. **Brazilian Journal of Development**, v. 6, n. 4, p. 19512–19532, 2020.

SUEIRO, A. C.; FARIA-TISCHER, P. C. S.; LONNI, A. A. S. G.; MALI, S. Biodegradable films of cassava starch, pullulan and bacterial cellulose. **Química Nova**, v. 39, n. 9, p. 1059–1064, 2016.

TERCI, D. B. L.; ROSSI, A. V. Natural pH indicators: using paper or solution? **Química Nova**, v. 25, n. 4, p. 684–688, 2002.

VAN SOEST, J. J. G.; VLIEGENTHART, J. F. G. Crystallinity in starch plastics: Consequence for materials properties. **Trends in Biotechnology**, v. 15, p. 208–213,

1997.

VEDOVE, T. M. A. R. D.; MANIGLIA, B. C.; TADINI, C. C. Production of sustainable smart packaging based on cassava starch and anthocyanin by an extrusion process. **Journal of Food Engineering**, v. 289, p. 110274, 2021.

WEIGL, B. H.; WOLFBEIS, O. S. Sensitivity studies on optical carbon dioxide sensors based on ion pairing. **Sensors and Actuators B**, v. 28, p. 151-156, 1995.

YU, J.; CHANG, P. R.; M. A. X. The preparation and properties of dialdehyde starch and thermoplastic dialdehyde starch. **Carbohydrate Polymers**, v. 79, n. 2, 296–300, 2010.

YUN, D.; CAI, H.; LIU, Y.; XIAO, L.; SONG, J.; LIU, J. Development of active and intelligent films based on cassava starch and Chinese bayberry (*Myrica rubra* Sieb. et Zucc.) anthocyanins. **RSC Advances**, v. 9, n. 53, p. 30905–30916, 2019.

ZHANG, Y. R.; WANG, X. L.; ZHAO, G. M.; WANG, Y. Z. Preparation and properties of oxidized starch with high degree of oxidation. **Carbohydrate Polymers**, v. 87, n. 4, p. 2554–2562, 2012.

ZHONG, Y.; LI, Y. Effects of glycerol and storage relative humidity on the properties of kudzu starch-based edible films. **Starch**, v. 66, p. 524-532, 2014.

ZULLO, R.; IANNACE, S. The effects of different starch sources and plasticizers on film blowing of thermoplastic starch: Correlation among process, elongational properties and macromolecular structure. **Carbohydrate Polymers**, v. 77, p. 376, 2009.

95/149/CE: **Decisão da Comissão, de 8 de Março de 1995, que fixa os valores-limite de azoto básico volátil total (ABVT) para as categorias de produtos da pesca e os métodos de análise a usar** OJ L 97 29.04 .1995, p. 84. Acesso em 31 de Outubro, 2022. Disponível em: <http://data.europa.eu/eli/dec/1995/149/oj>

## 5 ARTIGO 2

### **Produção e caracterização de partículas de quitosana incorporadas com Óleo Essencial de Orégano para serem usadas em embalagens ativas**

#### **Resumo**

Óleos essenciais são substâncias que podem ser usadas em sistemas de embalagem ativas com grande aceitação dos consumidores. Entretanto, para a sua utilização em processos industriais de produção de embalagens é necessário prever a proteção dos compostos voláteis contra a evaporação, oxidação, degradação térmica e a redução do odor. Neste trabalho foram produzidas e caracterizadas partículas de quitosana por gelificação iônica, utilizando os reticulantes trimetafosfato de sódio e tripolifosfato de sódio, com diferentes proporções de óleo essencial de orégano (OEO) (quitosana:OEO 1:1, 1:0,5 e 1:0,25) com o objetivo de avaliar o seu potencial para uso em embalagens ativas. As análises de FTIR e intumescimento comprovaram a reticulação da quitosana e indicaram que o intumescimento é influenciado pelo tipo de reticulante. Análises de TGA demonstraram que as partículas com OEO encapsulado apresentam maior estabilidade térmica que o OEO puro. Por DLS verificou-se que as partículas produzidas com TPFs apresentam menores tamanhos o que influenciou na liberação de OEO. A liberação do OEO é descrita por um mecanismo de liberação *quasi fickiano* para as diferentes partículas. Os resultados mostraram que as partículas produzidas apresentam estabilidade térmica suficiente para serem utilizadas no processo de extrusão até a temperatura de 120 °C protegendo a substância ativa, além de mascararem o forte odor do OEO, tornando-as adequadas para serem utilizadas em embalagens ativas.

**Palavras-chave:** Antioxidante; degradação térmica; quitosana; reticulantes.

## 5.1 INTRODUÇÃO

A embalagem ativa tem ganhado visibilidade por sua interação química e biológica com o conteúdo embalado, sua capacidade de aumentar a vida útil dos produtos alimentícios, atrelada ao uso de agente antioxidantes não convencionais (KAMKAR, et al., 2021).

As propriedades antioxidantes e antimicrobianas de vários óleos essenciais têm sido de grande interesse devido ao seu potencial como aditivos naturais para a prevenção de oxidação e controle de microrganismos e boa aceitação dos consumidores, uma vez que estes procuram cada vez mais consumir produtos saudáveis e naturais (YOUSELFI et al., 2022; BAGHERI, ARIALL e MOTAMEDZADEGAN, 2021; PAVLÁTKOVÁ et al., 2022). Neste sentido, a utilização de óleo essencial de orégano (OEO), se torna viável como substituinte para conservantes e antioxidantes sintéticos amplamente utilizados na indústria de embalagens de alimentos e que podem ser danosos à saúde (PAVLÁTKOVÁ et al., 2022).

O uso de óleos essenciais como aditivos para embalagens ativas apresentam desvantagens como a volatilidade dos compostos presentes nessas substâncias responsável pelo odor e possível oxidação e degradação térmica durante o processamento ou armazenamento (KAMKAR et al., 2021). Uma alternativa eficaz para proteger os compostos voláteis contra a evaporação, oxidação, e degradação térmica durante processamento e armazenamento é a encapsulação

A tecnologia de encapsulamento consiste em aprisionar substâncias específicas dentro de uma matriz polimérica. O material polimérico atua como uma proteção, isolando o núcleo e fornecendo proteção sobre exposição (BAGHERI, ARIALL e MOTAMEDZADEGAN, 2021; KWON, CHANG e HAN, 2017).

O uso da quitosana é incentivado no encapsulamento de substâncias, por se tratar de um polímero natural, biocompatível, biodegradável e não tóxico (PAVLÁTKOVÁ et al., 2022). Na literatura, a quitosana mostrou sua capacidade de encapsulamento e entrega de óleos essenciais (KAMKAR et al., 2021); genes (ABDELHAMID et al., 2020);  $\beta$ -caroteno (FANG, et al., 2019); geraniol (OLIVEIRA et al., 2018); fármacos (TRAPANI et al., 2011), entre outros.

O preparo de partículas de quitosana encapsuladas com óleo pode ser realizado por diferentes metodologias, sendo o processo de gelificação iônica atrativo por ser uma técnica que não utiliza solvente orgânico e não tóxico (JOGHATAEI et al., 2019).

Neste trabalho teve-se como objetivo produzir partículas de quitosana pela técnica de gelificação iônica utilizando diferentes reticulantes de baixa toxicidade e sem efeitos adversos aos seres humanos (GUI-JEI et al., 2006; FANG et al., 2008): trimetafosfato de sódio e tripolifosfato de sódio. Essas partículas foram incorporadas com OEO em três proporções quitosana/óleo e foram realizados estudos como o tipo de reticulante interfere nas propriedades das partículas, estabilidade térmica e liberação do OEO, e quanto a capacidade de serem usadas em embalagens ativas, a fim de proteger a substância ativa no processo de extrusão.

## 5.2 MATERIAIS E MÉTODOS

### 5.2.1 MATERIAIS:

Para a produção das partículas foi utilizado quitosana comercial pura (Catarinense- Brasil), trimetafosfato de sódio (PA - Aldich-China), tripolifosfato de sódio (PA - Dinâmica- Brasil) e óleo essencial de orégano puro (Quinarí-Brasil).

### 5.2.2 MÉTODOS:

#### 5.2.2.1 Produção das partículas

O encapsulamento do OEO em partículas de quitosana foi feito em um processo de duas etapas: emulsificação óleo-em-água e, em seguida, método de gelificação iônica descrito por KEAWCHAOON e YOKSAN (2011) com algumas modificações. Inicialmente foi preparada 50 mL de solução de quitosana em ácido acético 1% (v/v) e adicionado 80 mg de tween 80, esta mistura foi mantida em agitação a 50 °C durante 90 min para obter uma solução homogênea.

Diferentes quantidades de OEO foram adicionadas a esta mistura para obter várias proporções de quitosana:OEO (1:0,25, 1:0,5 e 1:1). O OEO foi adicionado constantemente em 50 mL de solução aquosa de quitosana com tween sob agitação por 10 min em banho de gelo com o objetivo de alcançar uma emulsão de óleo em água.

Por fim, 50 mL de TMFS 1,0% (m/v) ou TPFS 1,0% (m/v) foi adicionado na proporção 1:1 de quitosana a temperatura ambiente para induzir gelificação iônica da quitosana. A agitação foi feita continuamente por 40 min. As partículas formadas foram recolhidas por centrifugação e subsequentemente lavadas várias vezes com água destilada, o sobrenadante foi armazenado para análises posteriores. As suspensões foram secas por liofilização por 120 h.

As partículas de quitosana pura, foram produzidas como descrito anteriormente sem a etapa de adição do OEO.

As partículas obtidas foram denominadas como Q-TMFS (quitosana

produzida com Trimetafosfato de sódio), Q-TPFS (Quitosana produzida com Tripolifosfato de sódio), 1:1 TMFS, 1:0,5 TMFS e 1:0,25 TMFS (partículas de quitosana incorporadas com OEO em Trimetafosfato de sódio), 1:1 TPFS, 1:0,5 TPFS e 1:0,25 TPFS (partículas de quitosana incorporadas com OEO em tripolifosfato de sódio).

#### 5.2.2.2 Caracterizações

A morfologia das partículas foi avaliada no microscópio eletrônico de varredura (Philips FEI modelo Quanta 200). Cada amostra foi coberta por uma fina camada de ouro. A tensão de aceleração utilizada foi de 15,0 KV. A análise foi realizada no laboratório de microscopia Eletrônica e Microanálise (LMEM) da Universidade Estadual de Londrina. A distribuição dos diâmetros das nanopartículas foi obtida através da técnica de DLS utilizando um equipamento Microtrac MRB Nanotracs Wave. A formulação das partículas de quitosana com e sem OEO foram diluídas em água destilada em uma proporção de 1:100 (m/v). A análise foi realizada no laboratório da Pós Graduação em Química da Universidade Estadual de Londrina. Os espectros de FTIR foram obtidos utilizando pastilhas de KBr no modo transmitância no equipamento Shimadzu modelo IR Prestige-21 realizando 100 varreduras na faixa de 4000 a 400  $\text{cm}^{-1}$ . As análises de TGA foram realizadas na Universidade Tecnológica Federal do Paraná (Campus Medianeira) usando um aparelho Perkin Elmer TGA 4000 sob um fluxo de nitrogênio de 20  $\text{cm}^3 \text{min}^{-1}$ , com aquecimento desde a temperatura ambiente até 800°C a uma taxa de 20°C  $\text{min}^{-1}$ . As análises de DSC foram realizadas em equipamento Shimadzu DSC-60 sob atmosfera de nitrogênio com vazão de 50 mL/min. A massa de cada amostra foi de aproximadamente 2 mg e as leituras foram feitas na faixa de temperatura de 25 a 400 °C, com taxa de aquecimento de 10 °C/min. As análises de FTIR e DSC foram realizadas no laboratório de espectroscopia (ESPEC) da Universidade Estadual de Londrina.

#### 5.2.2.3 Eficiência de encapsulamento

A eficiência de encapsulamento do óleo essencial foi analisada por espectroscopia UV-Vis. Uma curva analítica foi previamente desenvolvida com diferentes concentrações do OEO em solução alcoólica. Para o cálculo da eficiência

de encapsulamento, as nanopartículas foram separadas por centrifugação (1000 RPM) por 10 min e o sobrenadante foi retirado e usado para determinar a quantidade de óleo essencial livre. A EE foi calculada usando a equação 1.

$$EE (\%) = \frac{[OEO_{inicial}] - [OEO_{livre}]}{[OEO_{inicial}]} \quad (1)$$

#### 5.2.2.4 Intumescimento

A porcentagem de intumescimento volumétrica, 'Q', foi determinada a partir dos volumes das partículas no estado inicial ( $V_0$ ) e após atingirem o estado de equilíbrio intumescido  $V_s$  (24 horas), utilizando a equação 2 (RICHBOURG et al., 2021).

$$Q (\%) = \frac{V_s}{V_0} \quad (2)$$

#### 5.2.2.5 Liberação de OEO

Estudos de liberação de óleo essencial in vitro foram realizados de acordo com HOSSEINI et al., (2013) utilizando-se 20 mg de partículas em 5 mL de solução salina de tampão fosfato a 60% (pH 7,4) + etanol a 40% à temperatura ambiente. Alíquotas de 2 mL foram retiradas em diferentes intervalos de tempo (0 a 24 h) e a concentração do OEO nesta alíquota foi medida por absorvância usando um espectrofotômetro UV-Vis no comprimento de onda de 273 nm (Shimadzu, modelo UV-2600). A quantidade de OEO liberada foi determinada através da curva analítica. Os experimentos foram realizados em triplicata.

A partir dos dados de liberação obtidos, foi realizada a análise dos mecanismos envolvidos no processo de liberação, utilizando os modelos Cinéticos de Ordem zero, primeira ordem, segunda ordem, Korsmeyer-Peppas e Peppas-Sahlin.

### 5.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Neste trabalho foram produzidas partículas de quitosana com TMFS e TPFS com três proporções de quitosana:óleo para cada reticulante (1:1, 1:0,5 e 1:0,25). A porcentagem de EE foi determinada e está apresentada na Tabela 1.

**Tabela 1.** Eficiência de encapsulamento de óleo nas partículas de quitosana

	1:1 TMFS	1:0,5 TMFS	1:0,25 TMFS	1:1 TPFS	1:0,5 TPFS	1:0,25 TPFS
EE (%)	69,0 <sup>a</sup> ±0,6	64,0 <sup>b,c</sup> ± 0,6	61,0 <sup>d</sup> ± 0,7	66,0 <sup>b</sup> ± 0,5	63,0 <sup>c,d</sup> ± 0,6	58,0 <sup>e</sup> ± 0,5

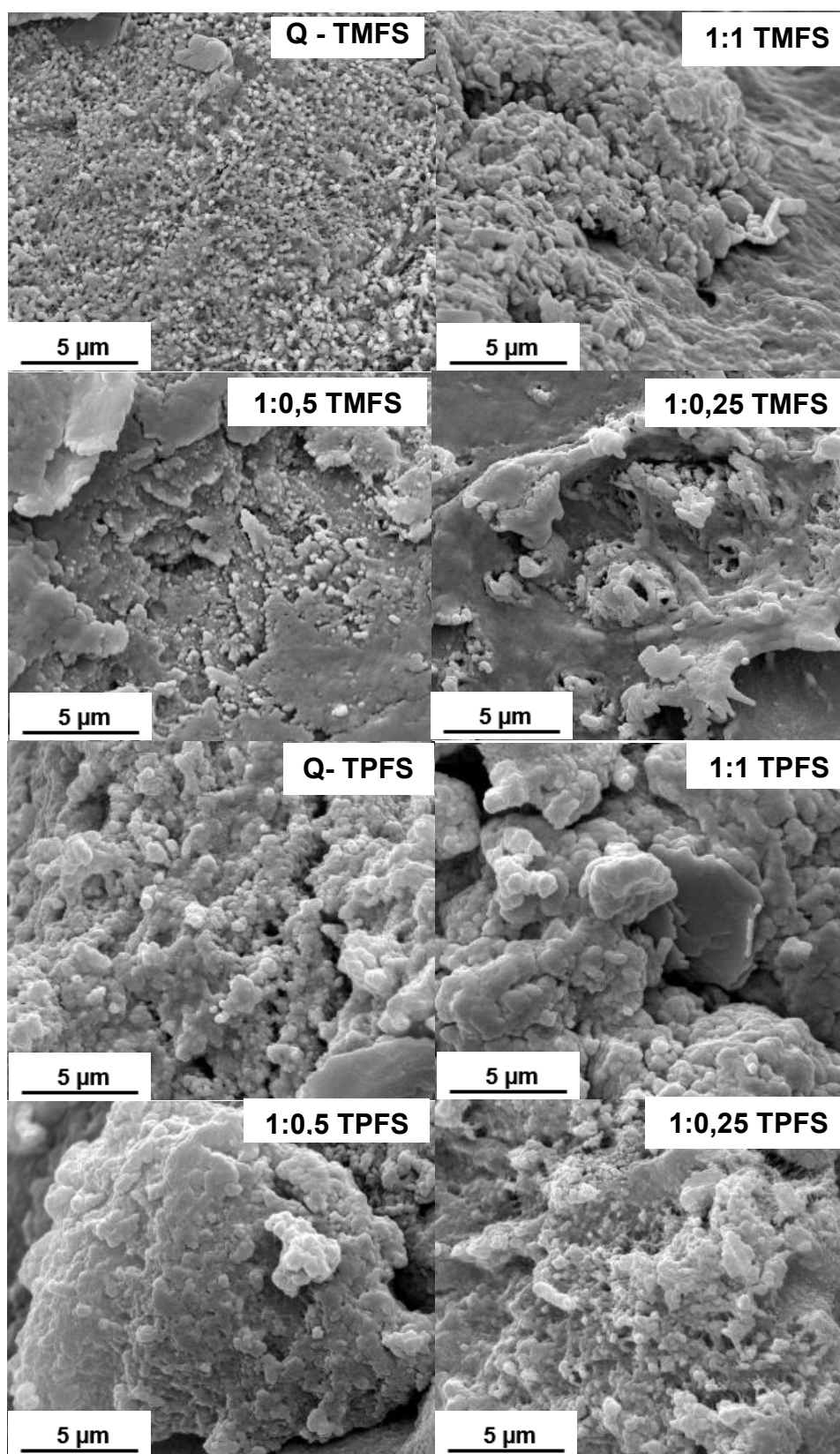
Os resultados são apresentados como média ± desvio padrão. Cada resultado é uma média de três experimentos. Médias com letras diferentes são estatisticamente diferentes entre si pelo teste de Tukey ( $p < 0,05$ )

A EE do OEO variou de 58 a 69%. Na literatura esses valores variam de 5 a 47% (KEAWCHAOON e YOKSAN, 2011; HOSSEINI et al., 2013; HERNÁNDEZ-NAVA et al., 2020), essa diferença pode estar atrelada a natureza e a concentração do óleo utilizado, assim como, a técnica utilizada para a encapsulação.

A EE apresentou um aumento conforme o maior teor inicial de óleo, o mesmo comportamento foi observado por KEAWCHAOON e YOKSAN (2011), isso pode ser explicado porquê até a proporção 1-1 não houve saturação da carga de OEO nas partículas de quitosana.

Nas imagens de MEV (Figura 1) das partículas de quitosana produzidas pode ser observado que todas as amostras se apresentam aglomeradas. As partículas produzidas com TMFS apresentam aglomerados mais compactos do que as partículas produzidas com TPFS.

**Figura 1.** Imagens de MEV com aumento de 15000x para as partículas de quitosana

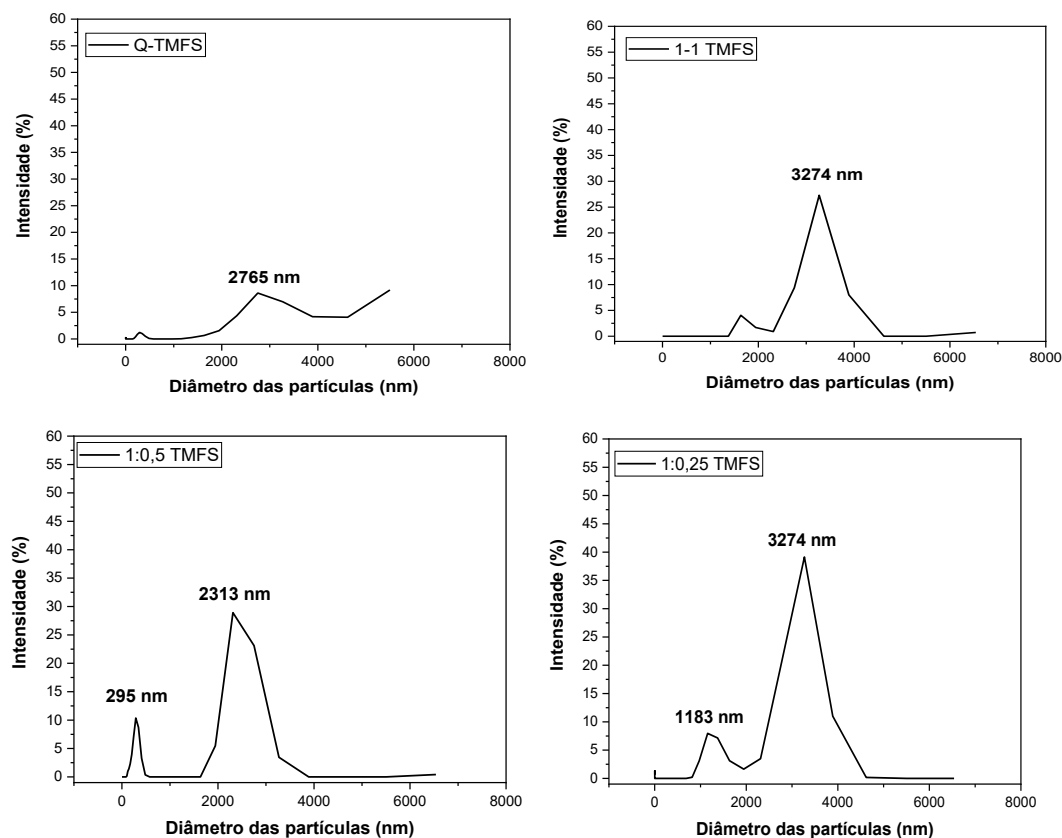


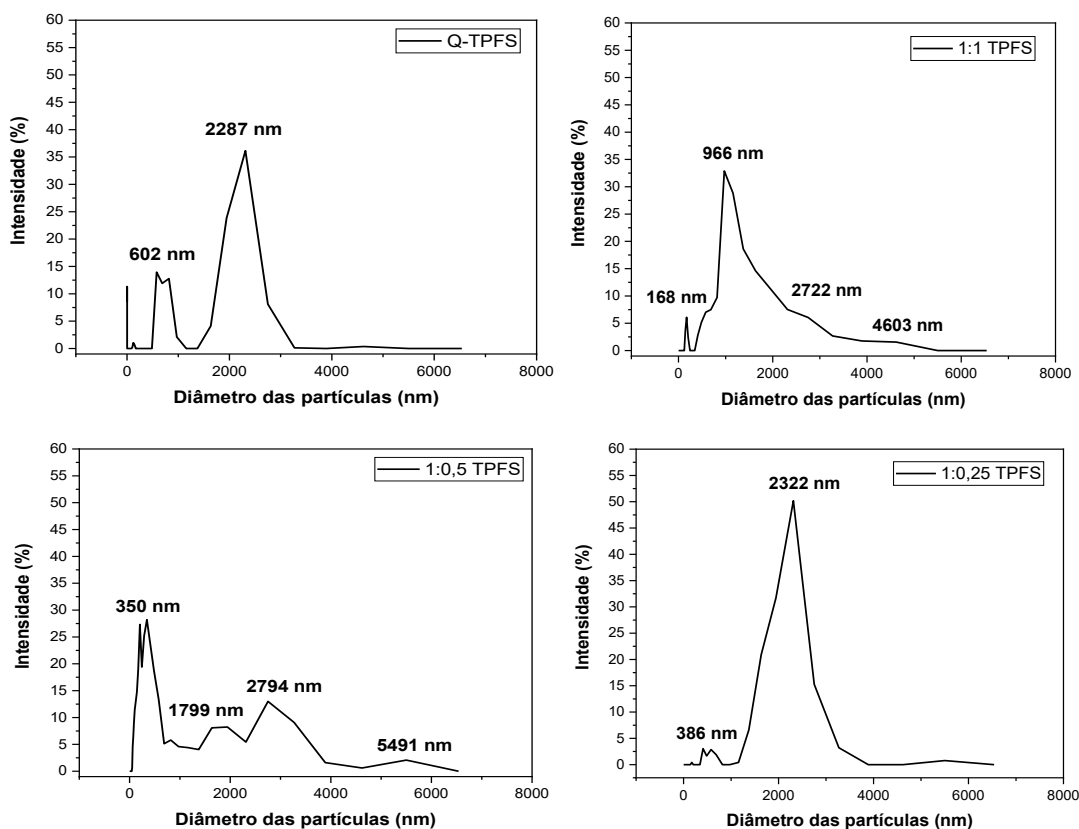
Fonte: O próprio autor.

Pela análise das curvas de DLS (Figura 2) observa-se que as partículas produzidas com TMFS apresentam distribuição de tamanhos bimodal, mais estreita e maior tamanho médio de partículas comparadas as partículas produzidas com TPFS.

As partículas produzidas com TPFS exibem distribuição de tamanho mais dispersa e larga, apresentando curvas bimodal ou trimodal e menores tamanhos médios de partícula. Observa-se que a amostra 1:0,5 TPFS apresenta partículas de tamanho maior, mas em menor quantidade.

**Figura 2.** Distribuição e tamanho médio das partículas por DLS





Fonte: O próprio autor.

O tamanho de partícula é um parâmetro importante porque tem uma relevância direta para a estabilidade da formulação. Partículas menores tendem a se agregar em maior extensão em comparação com partículas maiores. A determinação do tamanho de partícula por DLS possui vantagens como rapidez na realização das medidas, no entanto, como se baseia na medida do diâmetro hidrodinâmico, a camada de hidratação e efeito de intumescimento podem alterar a determinação do tamanho real das partículas, sendo na maioria das vezes os resultados obtidos por DLS superiores aos encontrados por MEV ou TEM (MAGENHEIM e BENITA, 1991).

Na Tabela 2 estão apresentados os dados de porcentagem de intumescimento (Q) das partículas.

**Tabela 2.** Valores de %Q (porcentagem de Intumescimento) das partículas de quitosana produzidas com TMFS e TPFS

Q (%)			
Partículas reticuladas com TMFS			
Q- TMFS	1:1 TMFS	1:0,5 TMFS	1:0,25 TMFS
160,0 <sup>b</sup> ± 0,9	120,0 <sup>d</sup> ± 2,7	120,0 <sup>d</sup> ± 2,0	120,0 <sup>d</sup> ± 1,3
Partículas reticuladas com TPFS			
Q- TPFS	1:1 TPFS	1:0,5 TPFS	1:0,25 TPFS
180,0 <sup>a</sup> ± 0,9	140,0 <sup>c</sup> ± 1,3	140,0 <sup>c</sup> ± 3,3	140,0 <sup>c</sup> ± 2,2

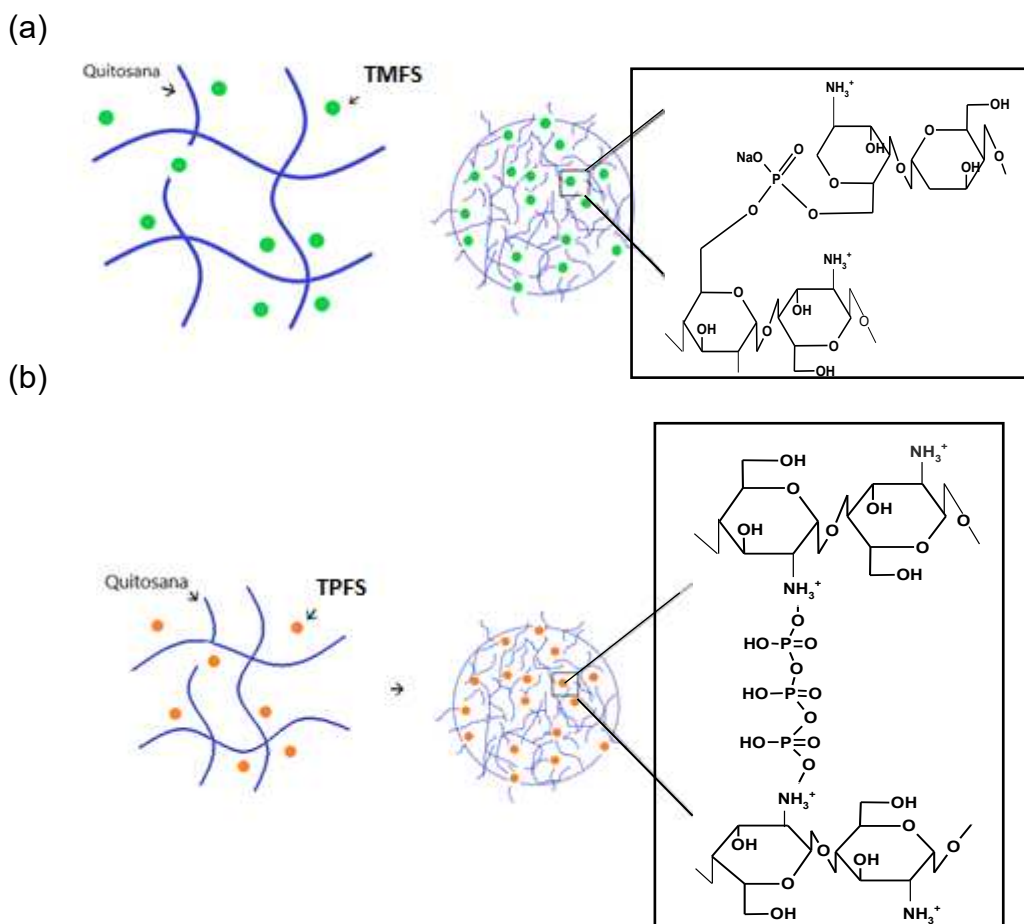
Os resultados são apresentados como média ± desvio padrão. Cada resultado é uma média de três experimentos. Médias com letras diferentes são estatisticamente diferentes entre si pelo teste de Tukey ( $p < 0,05$ )

Este resultado indica que embora não tenham sido observadas diferenças macroscópicas nas partículas com diferentes reticulantes, pode-se comprovar que a reticulação da quitosana foi efetiva para os diferentes reticulantes.

O maior valor de % Q observado para as partículas reticuladas com TPFS pode estar relacionado com a maneira em que ocorre a interação da quitosana com o reticulante.

Quando a partícula é produzida com TMFS a interação ocorre pela hidroxila da quitosana com os grupamentos fosfatos do reticulante, estabelecendo ligações cruzadas (Figura 3a) e na produção das partículas com TPFS (Figura 3b) ocorre interação eletrostática entre o grupo amina primário carregado positivamente da quitosana e os grupos de ânions carregados negativamente do TPFS, resultando em mais hidroxilas livres para interagir com a água.

**Figura 3.** Esquema da interação entre a quitosana e os reticulantes, (a) quitosana com TMFS, (b) quitosana com TPFS



Fonte: O próprio autor.

A Figura 4(a) mostra os espectros de FTIR da quitosana pura, partículas de quitosana produzidas com TMFS e TPFS. Observa-se picos característicos da quitosana em  $3472\text{ cm}^{-1}$  (estiramento de OH e  $\text{NH}_2$ ),  $2920\text{ cm}^{-1}$  (estiramento assimétrico C-H),  $1636\text{ cm}^{-1}$  (estiramento amida I, C-O),  $1088\text{ cm}^{-1}$  (estiramento C-O-C) e  $608\text{ cm}^{-1}$  (alongamento do anel piranosídeo vibração) (HOSSEINI et al., 2013).

Para as partículas de quitosana com TMFS novos picos apareceram em  $1268\text{ cm}^{-1}$  (alongamento C-O-C) e  $777\text{ cm}^{-1}$  relacionados a estiramento de P=O e P-O-P, confirmando assim a reticulação bem-sucedida entre a quitosana e TMFS.

Para as partículas produzidas com TPFS a banda em  $1537\text{ cm}^{-1}$  (dobramento de amida, N-H) implica na formação do complexo via interação eletrostática entre grupos  $\text{NH}_3^+$  de quitosana e grupos fosfato do TPFS (YOKSAN et

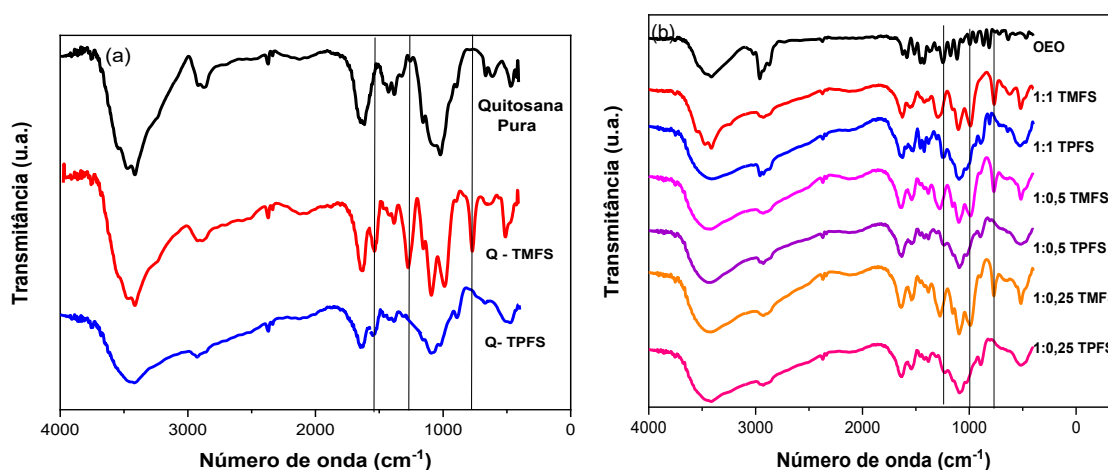
al., 2010; JINGOU et al., 2011).

Na Figura 4(b) estão apresentados os espectros de OEO puro e das partículas de quitosana incorporadas com OEO. Observa-se os picos característicos do OEO em  $2964\text{ cm}^{-1}$  (estiramento C-H),  $1583\text{ cm}^{-1}$  (dobramento N-H),  $1458\text{ cm}^{-1}$  (dobramento  $\text{CH}_2$ ),  $1254\text{ cm}^{-1}$  (alongamento C-O-C),  $1111\text{ cm}^{-1}$  (alongamento C-O-C) e  $942\text{ cm}^{-1}$  (C-H flexão). Todos os picos característicos acima aparecem nos espectros de partículas de quitosana carregadas com OEO.

No espectro das partículas de quitosana com OEO produzidas com TMFS e puras foi possível observar o aparecimento de bandas em  $988$  e  $764\text{ cm}^{-1}$  de estiramento P-O, comprovando a reticulação da quitosana.

Para as partículas produzidas com TPFS observa-se o surgimento de uma banda em  $1244\text{ cm}^{-1}$  que corresponde ao alongamento das vibrações anti-simétricas das pontes  $\text{PO}_2$  grupos de íons de fosfato ligados, confirmando que os grupos amino foram envolvidos em ligação cruzada com fosfato (GIERSZEWSKA e OSTROWSKA-CZUBENKO, 2016).

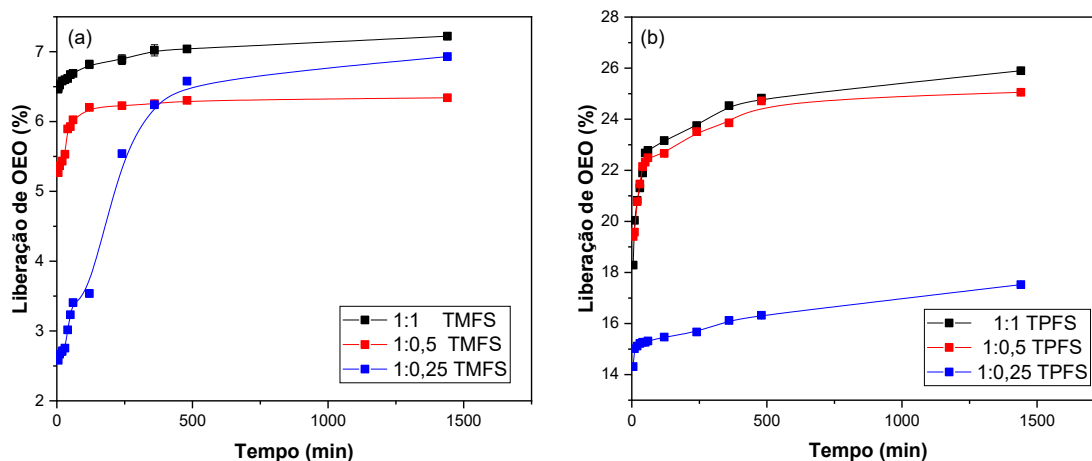
**Figura 4.** Espectro de infravermelho (a) quitosana pura e partículas de quitosana produzidas com TMFS e TPFS (b) OEO puro e incorporado em diferentes proporções em partículas de quitosana produzidas com TMFS e TPFS



Fonte: O próprio autor.

Os perfis de cinética de liberação de OEO das partículas de quitosana com diferentes concentrações de óleo foram investigados e os resultados estão mostrados na Figura 5.

**Figura 5.** Cinética da liberação de OEO (a) TMFS e (b) TPFS



Fonte: O próprio autor.

A liberação de óleo de nanopartículas e micropartículas pode ocorrer por vários mecanismos, incluindo erosão superficial, desintegração, difusão e dessorção (HARIHARAN et al., 2006). O perfil de liberação in vitro de OEO de partículas de quitosana pode ser descrito como um processo de duas etapas, sendo uma etapa de liberação inicial mais rápida, denominada efeito de explosão, seguida por uma segunda etapa onde ocorre uma liberação mais lenta subsequente.

A liberação inicial pode ser atribuída às moléculas de OEO sorvidas na superfície das partículas e ao óleo aprisionado próximo à superfície. Na Figura 5 verifica-se que o efeito de explosão ocorreu dentro de 60 minutos para as partículas com TPFS e TMFS, e as partículas obtidas com TPFS apresentam maior efeito de explosão. Este efeito pode ser atribuído ao tamanho das partículas. Partículas de quitosana com menor tamanho apresentam maior relação superfície-volume, portanto, podem resultar em liberação rápida de OEO adsorvido na superfície, corroborando com os valores de tamanho de partícula observados por DLS, em que partículas de TPFS apresentaram menores valores de diâmetro.

Na segunda fase, observa-se que a taxa de liberação foi relativamente lenta para as partículas com TPFS (mais lenta que na primeira fase e mais rápida comparada com a TMFS, que atingiu um patamar) e para as partículas obtidas com TMFS, pode-se dizer que a liberação de OEO atingiu um patamar nesta fase. Estes

comportamentos podem ser devido à difusão do OEO disperso na matriz polimérica como o mecanismo dominante. Este estágio tem uma taxa mais lenta e, portanto, resulta em quase nenhuma liberação adicional de OEO neste estágio.

Para estudar o mecanismo de liberação das partículas, os dados experimentais foram ajustados a modelos cinéticos e os parâmetros obtidos desses ajustes estão apresentados na Tabela 3.

Os dados experimentais de liberação de OEO foram melhores ajustados à equação de Korsmeyer-Peppas, com maiores valores de coeficiente de determinação ( $R^2$ ) em relação aos outros modelos cinéticos. Conseqüentemente, a análise de Korsmeyer-Peppas e Peppas e Sahlin foram conduzidas para confirmar que os mecanismos de difusão e relaxação das cadeias estão envolvidos na liberação do OEO da matriz polimérica, calculando os valores do expoente de liberação do OEO ( $n$ ).

O valor de ( $n$ ) é utilizado para indicar os comportamentos Fickianos e não Fickianos (anômalos). Para partículas esféricas,  $n < 0,43$  indica uma difusão *quasi* Fickiana (transporte caso I) indicando que o tempo de relaxação relativo do polímero é menor que o tempo de difusão característico do transporte de água que é controlado pelo gradiente de concentração. Para  $n = 0,85$  descreve um transporte caso II indicando o mecanismo de liberação controlado por relaxação das cadeias poliméricas. Valores intermediários de  $n$ ,  $0,43 < n < 0,85$ , indicam uma liberação não Fickiana, descrevendo uma combinação de mecanismos de liberação do OEO por difusão e relaxação das cadeias (RITGER e PEPPAS, 1987).

**Tabela 3.** Parâmetros obtidos a partir do ajuste dos dados experimentais nos modelos cinéticos

Modelo		TMFS			TPFS		
		1:1	1:0,5	1:0,25	1:1	1:0,5	1:0,25
Ordem 0	R	0,974	0,974	0,963	0,943	0,963	0,761
	Ko	$5,10 \cdot 10^{-4}$	0,002	0,002	0,003	0,002	$7,877 \cdot 10^{-4}$
	b	0,897	0,819	0,354	0,729	0,771	0,888
Primeira Ordem	R	0,978	0,952	0,994	0,992	0,942	0,978
	k	0,003	0,004	0,006	0,003	0,005	0,005
Korsmeyer Peppas	R	0,996	0,988	0,990	0,986	0,994	0,990
	k	0,880	0,797	0,353	0,650	0,652	0,879
	n	0,011	0,025	0,034	0,072	0,080	0,011
Peppas Sahlin	*R/F	-0,447	-1,549	-1,222	-0,140	-0,304	-0,214
Segunda ordem	R	0,902	0,538	0,886	0,706	0,669	0,975
	k	$-9,216 \cdot 10^{-4}$	-0,003	-0,047	$-6,749 \cdot 10^{-4}$	-0,001	-0,001

$$*(R/F) = (k_2/k_1) \times t^m$$

A partir dos resultados mostrados na Tabela 3, os valores de  $(n)$  apresentam-se abaixo de 0,43 para todas as partículas, indicando um comportamento de difusão quasi Fickiano em que a liberação ocorre por um quase equilíbrio do fenômeno de difusão Fickiana, controlado por difusão, isto também pode ser comprovado pelo parâmetro  $R/F < 0$  obtido pelo modelo de Peppas Sahlin. De acordo com o valor obtido para  $R/F$  pode-se prever a predominância dos mecanismos de difusão Fickiana e relaxação das cadeias poliméricas. Quando  $R/F < 0$  a difusão Fickiana prevalece, caso contrário  $R/F > 0$ , relaxação das cadeias prevalece (BAGGI e KILARU, 2016).

A partir dos resultados anteriores (EE e DLS) escolheu-se as partículas na proporção 1:1 (Quitosana:OEO) para dar continuidade no estudo de estabilidade térmica, dado sua maior EE e menores tamanhos médios de partículas com distribuição de tamanho menos dispersa.

A TGA é uma técnica útil para investigar a estabilidade térmica de uma amostra. A temperatura máxima de decomposição ( $T_{max}$ ) é a temperatura máxima correspondente à perda de massa, obtido a partir do gráfico de DTG.

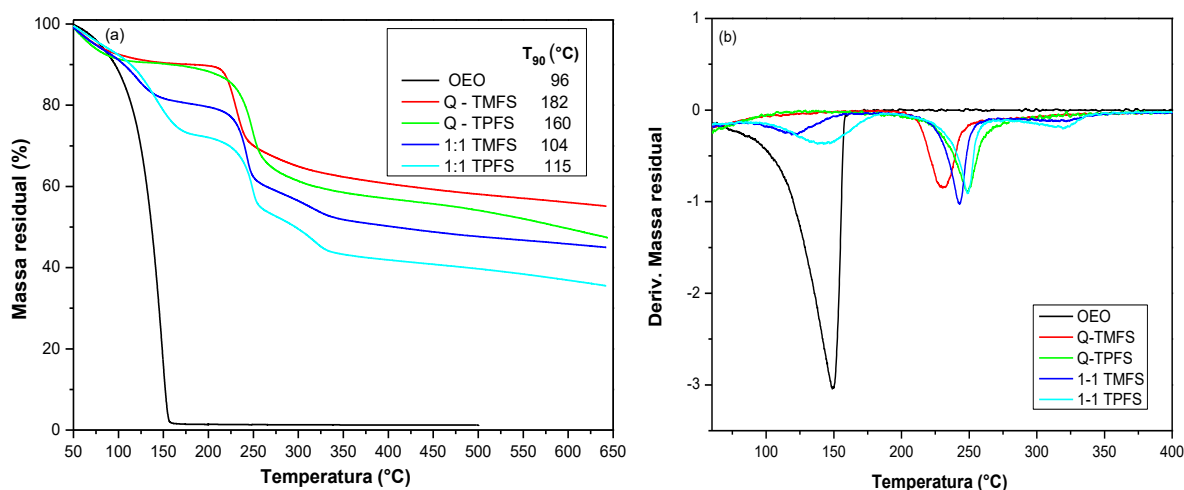
O OEO apresentou um evento de perda de massa em 150 °C (Figura 6). As partículas de quitosana exibiram perda de massa em três etapas, abaixo de 100 °C, em aproximadamente 230 °C para a partícula reticulada com TMFS e 248 °C para a partícula reticulada com TPFS, e por fim em aproximadamente 320 °C. Essas perdas de massa podem ser atribuídas à evaporação da umidade, à decomposição da quitosana livre e a decomposição da quitosana reticulada com TMFS e TPFS, respectivamente (Figura 6b) (HOSSEINI et al., 2013).

As partículas 1-1 TMFS apresentam eventos de perda de massa em 120 °C, 243 °C e 320 °C e as partículas 1:1 TPFS em 140 °C, 248 °C e 320°C, estas temperaturas de degradação podem ser atribuídas a decomposição de OEO adsorvido na superfície da partícula, a decomposição da quitosana e decomposição da quitosana reticulada com OEO encapsulado, respectivamente. Este resultado sugere a obtenção de partículas de quitosana encapsuladas com OEO (HOSSEINI et al., 2013; PELISSARI et al., 2009; KEAWCHAOON e YOKSAN, 2011).

Na Figura 6(a) verifica-se os valores de  $T_{90}$  (Temperatura em que as amostras mantêm 90% da massa inicial) para o OEO puro e para as partículas de

quitosana puras em diferentes reticulantes e encapsuladas com OEO. Os valores obtidos demonstram que a encapsulação do OEO em partículas de quitosana aumenta sua estabilidade térmica, auxiliando na proteção da substância ativa.

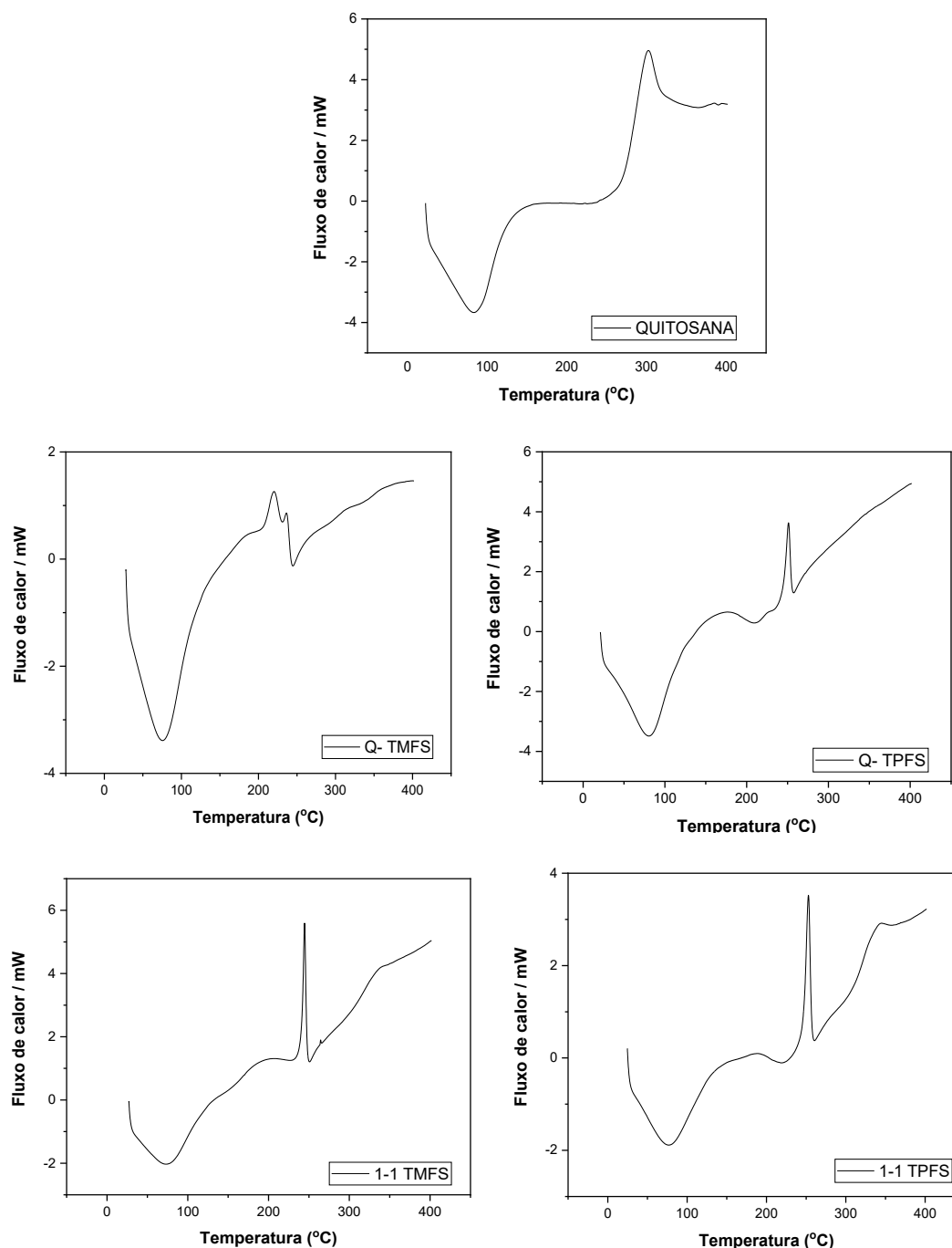
**Figura 6.** (a) TG e (b) DTG do OEO puro, partículas de quitosana e partículas de quitosana incorporadas com OEO



Fonte: O próprio autor.

A técnica de DSC pode ser empregada para confirmar a encapsulação de um composto ativo e indicar as interações que ocorreram entre diferentes compostos, pelo deslocamento ou modificações em picos de fusão, cristalização ou outras transições térmicas. Nas análises realizadas, não foram encontradas transições térmicas que pudessem confirmar as possíveis interações entre a quitosana e OEO, observou-se somente picos de degradação e de liberação de substâncias voláteis (Figura 7).

**Figura 7.** DSC das amostras de quitosana produzidas em diferentes reticulantes com e sem OEO



Fonte: O próprio autor.

As curvas de DSC de todas as partículas apresentaram dois eventos (Figura 7). Um pico endotérmico em aproximadamente 100 °C, relacionado a evaporação de substâncias voláteis, como água ligada a grupos hidroxila da quitosana, um pico exotérmico ( $T = 301^{\circ}\text{C}$ ) atribuído a decomposição estrutural

normalmente relacionada a degradação das unidades de glucosaminas na estrutura da quitosana (MARTINS et al., 2016). Para as partículas produzidas com TMFS e TPFS, verifica-se que este pico exotérmico cai para temperaturas mais baixas entre 244 a 252 °C. A mudança deste evento para temperaturas mais baixas indica a redução da estabilidade estrutural promovida pela produção das partículas. No entanto, não se verifica alteração na posição desse pico para as partículas de quitosanas incorporadas com OEO, indicando que não houve perda de estabilidade quando compara as partículas produzidas sem OEO.

Verifica-se em aproximadamente 350 °C um pico para as amostras 1:1 TMFS e 1:1 TPFS relacionado com a degradação da quitosana reticulada e o óleo incorporado a partícula, esses picos foram visualizados na mesma faixa de temperatura na Figura 6, DTG.

## 5.4 CONCLUSÃO

Foi possível produzir por gelificação iônica, partículas de quitosana com diferentes reticulantes, TMFS e TPFS. As partículas produzidas com TPFS apresentaram maiores valores de EE e intumescimento, menores tamanhos e maior dispersão de tamanho em uma mesma amostra do que as partículas produzidas com TMFS. Desta forma, verificou-se que os diferentes reticulantes conferem propriedades diferentes as partículas dadas a maneira em que ocorre a interação destes com a quitosana.

O OEO é liberado por um mecanismo de difusão *quasi fickiano*, indicando que o processo de difusão predomina sobre o processo de relaxação das cadeias como comprovado pelo parâmetro R/F.

As partículas incorporadas com OEO apresentaram maior estabilidade térmica em comparação ao OEO puro, podendo serem processadas por extrusão sem perda ou degradação do OEO até temperatura de 120 °C .

As propriedades conferidas à essas partículas as tornam promissoras para serem utilizadas em embalagens ativas, agindo como proteção à substância ativa, além de, mascarar o odor do OEO.

## REFERÊNCIAS

ABDEL-HAMID, M.; ROMEIH, E.; HUANG, Z.; ENOMOTO, T.; HUANG, L.; LI, L. Bioactive properties of probiotic set-yogurt supplemented with *Siraitia grosvenorii* fruit extract. **Food Chemistry**, v. 303, p. 125400, 2020.

BAGGI, R. B.; KILARU, N. B. Calculation of predominant drug release mechanism using Peppas-Sahlin model, Part-I (substitution method): A linear regression approach. **Asian Journal of Pharmacy and Technology**, v. 6, n. 4, p. 223, 2016.

BAGHERI, R.; ARIALI, P.; MOTAMEDZADEGAN, A. Characterization, antioxidant and antibacterial activities of chitosan nanoparticles loaded with nettle essential oil. **Journal of Food Measurement and Characterization**, v. 15, n. 2, p. 1395–1402, 2021.

DE OLIVEIRA, J. L.; CAMPOS, E. V. R.; PEREIRA, A. E. S.; NUNES, L.E.S.; DA SILVA, C.C.L.; PASQUOTO, T.; LIMA, R.; SMANIOTTO, G.; POLANCZYK, R.A.; FRACETO, L.F. Geraniol Encapsulated in Chitosan/Gum Arabic Nanoparticles: A Promising System for Pest Management in Sustainable Agriculture. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 66, n. 21, p. 5325–5334, 2018.

FANG, S.; ZHAO, X.; LIU, Y.; LIANG, X.; YANG, Y. Fabricating multilayer emulsions by using OSA starch and chitosan suitable for spray drying: Application in the encapsulation of  $\beta$ -carotene. **Food Hydrocolloids**, v. 93, n. May 2018, p. 102–110, 2019.

FANG, Y.; WANG, L.; LI, D.; LI, B. Z.; BHANDARI, B.; CHEN, X. D.; MAO, Z. H. Preparation of crosslinked starch microspheres and their drug loading and releasing properties. **Carbohydrate Polymers**. v. 74, p. 379-384, 2008.

GIERSZEWSKA, M.; OSTROWSKA-CZUBENKO, J. Chitosan-based membranes with different ionic crosslinking density for pharmaceutical and industrial applications. **Carbohydr Polym.**, v. Nov 20, n. 153, p. 501-511, 2016.

GUI-JIE, M.; PENG, W.; XIANG-SHENG, M.; XING, Z.; TONG, Z. Crosslinked of Corn starch with Sodium Trimetaphosphate in Solid State by Microwave Irradiation. **Journal of Applied Polymer Science**. v.102, p.5854-5860, 2006.

HARIHARAN, S.; BHARDWAJ, V.; BALA, I.; SITTERBERG, J.; BAKOWSKY, U.; RAVI KUMAR, M. N. Design of estradiol loaded PLGA nanoparticulate formulations: A potential oral delivery system for hormone therapy. **Pharmaceutical Research**, v. 23, p. 184–195, 2006.

HERNÁNDEZ-NAVA, R.; LÓPEZ-MALO, A.; PALOU, E.; RAMÍREZ-CORONA, Nelly; JIMÉNEZ-MUNGUÍA, María Teresa. Encapsulation of oregano essential oil (*Origanum vulgare*) by complex coacervation between gelatin and chia mucilage and its properties after spray drying. **Food Hydrocolloids**, v. 109, p. 106077, 2020.

HOSSEINI, S. F.; ZANDI, M.; REZAEI, M.; FARAHMANDGHAHI, F. Two-step method for encapsulation of oregano essential oil in chitosan nanoparticles: Preparation, characterization and in vitro release study. **Carbohydrate Polymers**, v. 95, n. 1, p. 50–56, 2013.

JINGOU, J.; SHILEI, H.; WEIQI, L.; DANJUN, W.; TENGFEI, W.; YI, X. Preparation characterization of hydrophilic and hydrophobic drug in combine loaded chitosan/cyclodextrin nanoparticles and in vitro release study. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, v. 83, p. 103–107, 2011.

JOGHATAEI, M.; HOSSEINI, S. F.; ARAB-TEHRANY, E. Cinnamaldehyde loaded chitosan/tripolyphosphate nanoassemblies: Fabrication, characterization, and in vitro evaluation of antioxidant activity. **Journal of Food Processing and Preservation**, v. 43, n. 7, p. 1–9, 2019.

KAMKAR, A.; MOLAEI-AGHAEI, E.; KHANJARI, A.; AKHONDZADEH-BASTI, A.; NOUDOOST, B.; SHARIATIFAR, N.; SANI, M.A.; SOLEIMANI, M. Nanocomposite active packaging based on chitosan biopolymer loaded with nano-liposomal essential oil: Its characterizations and effects on microbial, and chemical properties of refrigerated chicken breast fillet. **International Journal of Food Microbiology**, v. 342, n. Agosto 2020, p. 109071, 2021.

KEAWCHAOON, L.; YOKSAN, R. Preparation, characterization and in vitro release study of carvacrol-loaded chitosan nanoparticles. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, v. 84, n. 1, p. 163–171, 2011.

KWON, S. J.; CHANG, Y.; HAN, J. Oregano essential oil-based natural antimicrobial packaging film to inactivate *Salmonella enterica* and yeasts/molds in the atmosphere surrounding cherry tomatoes. **Food Microbiology**, v. 65, p. 114–121, 2017.

MAGENHEIM, B.; BENITA, S. Nanoparticles characterization: a comprehensive physicochemical approach. **STP Pharma Sciences**, v. 1, n. 4, p. 221-241, 1991.

MARTINS, C.S.; MORGADO, D.L.; ASSIS, O.B.G. Cashew gum-chitosan blended films: Spectral, mechanical and surface wetting evaluations. **Macromolecular Research**, v. 24 b, 8, p. 691-697, 2016.

PAVLÁTKOVÁ, L.; SEDLAŘÍKOVÁ, J.; PLEVA, P.; PEER, P.; UYSAL-UNALAN, I.; JANALIKOVÁ, M. Bioactive zein/chitosan systems loaded with essential oils for food-packaging applications. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, n. November 2021, 2022.

PELISSARI, F. M.; GROSSMANN, M. V. E.; YAMASHITA, F.; PINEDA, E. A. G. Antimicrobial, mechanical, and barrier properties of cassava starch-chitosan films incorporated with oregano essential oil. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 57, n. 16, p. 7499–7504, 2009.

RICHBOURG, N.R.; WANCURA, M.; GILCHRIST, A. E.; TOUBBEH, S.; HARLEY, B.

A. C.; COSGRIFF-HERNANDEZ, E.; PEPPAS, N. A. Precise control of synthetic hydrogel network structure via linear, independent synthesis-swelling relationships. **Science Advances**, v. 12, n.7, 2021.

RITGER, P.; PEPPAS, N.A.; A simple equation for description of solute release. II. Fickian and anomalous release from swellable devices. **Journal of Controlled Release**, v. 5, n. 1, p. 37-42, 1987.

TRAPANI, A.; DE GIGLIO, E.; CAFAGNA, D.; DENORA, N.; AGRIMI, G.; CASSANO, T.; GAETANI, S.; CUOMO, V.; TRAPANI, G. Characterization and evaluation of chitosan nanoparticles for dopamine brain delivery. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 419, p. 296–307, 2011.

YOKSAN, R.; JIRAWUTTHIWONGCHAI, J.; ARPO, K. Encapsulation of ascorbyl palmitate in chitosan nanoparticles by oil-in-water emulsion and ionic gelation processes. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, v. 76, p. 292–297, 2010.

YOUSEFI, M.; MOHAMMADI, V. G.; SHADNOUSH, M.; KHORSHIDIAN, N.; MORTAZAVIAN, A. M. Zingiber officinale essential oil-loaded chitosan-tripolyphosphate nanoparticles: Fabrication, characterization and in-vitro antioxidant and antibacterial activities. **Food Science and Technology International**, v. 28, n. 7, p. 592–602, 2022.

## 6 ARTIGO 3

### **Efeito da incorporação de partículas de quitosana e óleo essencial de orégano em filmes de AMIDO/PBAT**

#### **Resumo**

Embalagens biodegradáveis ativas/antioxidantes tem despertado grande interesse industrial, pois apresentam maior preservação do ambiente e do alimento, uma vez que, a oxidação é uma das principais reações de degradação que ocorre nos alimentos, limitando a sua conservação. Neste trabalho foram produzidos por extrusão filmes multicamadas de amido/PBAT com adição de partículas de quitosana obtidas com diferentes reticulantes, trimetafosfato de sódio e tripolifosfato de sódio puras e incorporadas com óleo essencial de orégano (OEO). O efeito das partículas e do OEO nas propriedades mecânicas, físico-químicas, térmica em filmes de amido/PBAT foi avaliado, além de quantificar compostos fenólicos totais e a ação antioxidante dos filmes a fim de avaliar seu potencial para uso como embalagens biodegradáveis ativas. Pelo ensaio sensorial verificou-se que a proteção da substância ativa utilizando partículas de quitosana foi eficiente para mascarar o odor do OEO. Obteve-se filmes de superfície lisa e homogênea em todas as formulações estudadas. As imagens de MEV revelaram a imiscibilidade da blenda amido/PBAT. As análises de solubilidade, intumescimento, sorção de água, TGA e ensaio mecânico demonstraram que a presença das partículas e do OEO afetam essas propriedades do filme, em que as partículas podem estar agindo como reforço ou carga nos filmes e o OEO como plastificante. As análises de DRX indicaram que a presença de partículas de quitosana não afetam a cristalinidade dos filmes, no entanto, demonstraram que a presença do OEO livre na matriz do filme aumenta ligeiramente o índice de cristalinidade (IC) este resultado pode estar relacionado com a capacidade do OEO agir como plastificantes em filmes de amido/PBAT. A liberação do OEO é descrita por um mecanismo de liberação *anômala* com predominância do processo de difusão, comprovado pelo parâmetro  $R/F < 0$  (Peppas-Sahlin) e  $\beta$  (Modelo de Weibull) para as diferentes formulações. Pela quantificação dos compostos fenólicos e atividade antioxidante verificou-se maiores valores para as formulações com partículas de quitosana encapsuladas com OEO, comprovando o efeito protetor da encapsulação. Os estudos realizados indicam que filmes de amido/PBAT e partículas de quitosana encapsuladas com OEO apresentam potencial para serem utilizados em embalagens ativas.

**Palavras-chave:** Antioxidante; óleos essenciais; compostos fenólicos; quitosana.

## 6.1 INTRODUÇÃO

Atualmente há uma necessidade crescente de substituir os plásticos derivados de petróleo, dada a preocupação ambiental, principalmente por não serem renováveis, apresentarem taxas de emissões de carbono significativa e baixa biodegradabilidade (SOUZA et al., 2021).

O amido é um dos biopolímeros naturais mais abundantes, de baixo custo e fácil manuseio. Sua utilização é uma alternativa promissora na área de embalagens de alimentos, permitindo a redução de resíduos plásticos.

Os filmes de amido misturados a outros polímeros como PBAT, possuem boas propriedades mecânicas e térmicas, biodegradabilidade e renovabilidade (ZHOU et al., 2019). Além disso, a incorporação de aditivos a esses filmes como agentes antioxidantes, é potencialmente interessante (BALDWIN et al., 1996), tornando a embalagem ativa.

A adição direta de agentes antioxidantes aos alimentos podem levar a problemas de segurança alimentar e um declínio na qualidade comestível, podendo também reagir com os componentes dos alimentos, tornando-se inativados durante o armazenamento a longo prazo (KATEKHONG et al., 2022; MARVDASHTI, YAVARMANESH e KOOCHKEKI, 2019). Incorporar essas substâncias ativas em embalagem é uma boa maneira de superar esses problemas (GAO et al., 2022).

A biodegradabilidade e o aumento da segurança alimentar são os principais benefícios das embalagens biodegradáveis ativas, pois contribuem para uma maior preservação do alimento e do meio ambiente.

Dentre os diversos tipos de embalagens ativas, as que exercem efeito antioxidante estão entre as mais importantes para a indústria alimentícia, uma vez que a oxidação é uma das principais reações de degradação que ocorre nos alimentos, limitando a sua conservação (FUKUMOTO e MAZZA, 2000; LOULI, RAGOUSSIS e MAGOULAS, 2004).

As substâncias naturais, tais quais, óleos essenciais, são promissoras para serem usadas em embalagens ativas, entre elas o óleo essencial de orégano, composto de carvacrol, timol, p-cimeno e, c-terpineno, sendo os dois primeiros responsáveis pela ação antioxidante, no entanto seu uso na preservação de alimentos

permanece limitado devido ao seu aroma intenso, degradação térmica no processamento e possíveis alterações nas propriedades sensoriais dos alimentos (SANCHEZ-GONZALEZ et al., 2011).

O uso de partículas de quitosana para proteger a substância ativa é de grande interesse, limitando sua volatilização, controlando a liberação do composto, mascarando o forte odor e reduzindo assim o impacto negativo dessas substâncias.

O objetivo deste trabalho foi produzir e estudar o efeito da adição de partículas de quitosana incorporadas com antioxidante – óleo essencial de orégano em filmes de amido/PBAT na estrutura, comportamento mecânico, térmico, permeabilidade ao vapor de água, cristalinidade e propriedades físico-químicas. Somado a isso, as propriedades antioxidantes e compostos fenólicos dos filmes foram quantificados para viabilizar seu uso como embalagem ativa.

## 6.2 MATERIAIS E MÉTODOS

### 6.2.1 MATERIAIS

Para a preparação dos filmes foi utilizado poli(adipato co-tereftalato de butileno) (PBAT) de nome comercial Ecoflex® (BASF, Brasil), fécula de mandioca comercial (Yoki, Brasil) e glicerol (Dinâmica, Brasil).

### 6.2.2 MÉTODOS

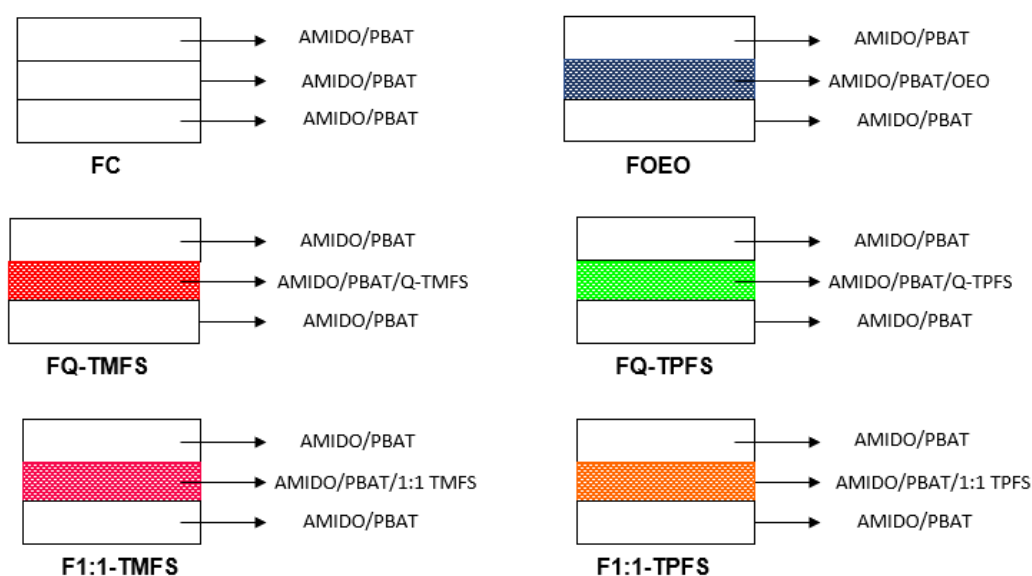
#### 6.2.2.1 Produção dos filmes de amido/PBAT

Os materiais de cada formulação (Tabela 1) foram misturados manualmente com proporção fixa de PBAT/amido/Gly (50, 35 e 15% respectivamente), utilizando como compatibilizante ácido cítrico. As misturas foram processadas inicialmente em uma extrusora piloto monorosca (BGM EL-25, Brasil), composta de rosca de 25 mm de diâmetro (D), comprimento de parafuso (L) de 750 mm ( $L/D = 30$ ) para produção dos perfis cilíndricos. A mistura foi alimentada a extrusora acoplada a uma matriz de seis orifícios de 2 mm, o perfil de temperatura foi definido em 115/120/120/90 °C com velocidade de parafuso de 40 RPM.

Em seguida, os perfis cilíndricos foram peletizados e em seguida extrusados em uma coextrusora piloto de três camadas (AX-116L/D26, Ax plásticos, Brasil) para produzir filmes de três camadas por sopro em balão. Este modelo de extrusora é composto por três extrusoras, cada uma delas possui um parafuso com 16 mm de diâmetro, comprimento do parafuso de 416 mm (razão  $L/D = 26$ ) e velocidade dos parafusos de 60 RPM. O perfil de temperatura usado foi 90/110/110/120 °C para as três extrusoras. Os filmes obtidos em multicamadas apresentam diferentes composições da camada interna, estão esquematizados na Figura 1.

**Tabela 1.** Composição em massa (g) dos filmes produzidos em diferentes camadas

FORMULAÇÃO	PBAT	AMIDO	Gly	Q-TMFS	Q-TPFS	1:1 TMFS	1:1 TPFS	OEO Livre
<b>FC</b>	50,00	35,00	15,00	-	-	-	-	-
<b>FQ-TMFS</b>	50,00	35,00	15,00	1,00	-	-	-	-
<b>FQ-TPFS</b>	50,00	35,00	15,00	-	1,00	-	-	-
<b>FOEO</b>	50,00	35,00	15,00	-	-	-	-	0,60
<b>F1:1-TMFS</b>	50,00	35,00	15,00	-	-	1,00	-	-
<b>F1:1-TPFS</b>	50,00	35,00	15,00	-	-	-	1,00	-

**Figura 1.** Imagem esquemática dos filmes produzidos

**Fonte:** O próprio autor.

### 6.2.2.2 Caracterizações

A morfologia dos filmes foi avaliada no microscópio eletrônico de varredura (Philips FEI modelo Quanta 200). Cada amostra foi coberta por uma fina camada de ouro. A tensão de aceleração utilizada foi de 15,0 Kv. A análise foi realizada no laboratório de microscopia Eletrônica e Microanálise (LMEM) da Universidade Estadual de Londrina. As análises de TGA foram realizadas na Universidade Tecnológica Federal do Paraná (Campus Medianeira) usando um aparelho Perkin Elmer TGA 4000 sob um fluxo de nitrogênio de  $20 \text{ cm}^3 \text{ min}^{-1}$ , com aquecimento desde a temperatura ambiente até  $800^\circ\text{C}$  a uma taxa de  $20^\circ\text{C min}^{-1}$ . As medidas de DRX foram realizadas no

laboratório de Análises por Raio X (LARX) da Universidade Estadual de Londrina em difratômetro (PANalytical-X'Pert PRO MPD) com detector de pixels e radiação  $\text{CuK}\alpha$ , na técnica conhecida como  $\theta$ - $2\theta$ , geometria de Bragg-Brentano. A tensão e a corrente utilizadas foram, respectivamente, 40 Kv e 30 mA. O intervalo de varredura  $2\theta$  utilizado variou de 5 a  $40^\circ$  com passo angular de  $0,05^\circ$ . O tempo de contagem por ponto foi de 2 s.

### 6.2.2.3 Propriedades Físico-Químicas

(a) Solubilidade em água: As amostras (20 mm x 20 mm) foram secas por 24 h em estufa a  $105^\circ\text{C}$  e sua massa determinada (massa total de sólidos). Posteriormente as amostras foram imersas em 50,0 mL de água destilada por 24 h. Após esse tempo, as amostras foram removidas e secas a  $105^\circ\text{C}$  por 24 h, e a massa da amostra foi determinada (massa final de sólidos). A solubilidade em água foi determinada a partir da massa de sólidos solúveis (massa de sólidos totais – massa de sólidos final) em relação à massa de sólidos totais conforme mostrado na Eq. (1).

$$\text{Solubilidade (\%)} = \frac{(\text{massa total de sólidos} - \text{massa final de sólidos})}{\text{massa de sólidos totais}} \times 100 \quad (1)$$

(b) Permeabilidade ao Vapor de água: A PVA foi determinada segundo o método oficial ASTM - E96-95. Para essa análise foram cortadas amostras circulares com 7,0 cm de diâmetro, essas foram presas em celas metálicas contendo  $\text{CaCl}_2$  anidro em quantidades suficientes para cobrir toda a cela metálica. As celas contendo amostras foram colocadas no dessecador previamente saturado com NaCl (Umidade relativa, UR = 75%). As massas foram determinadas em intervalos de 2 horas durante 8 h e a cada 24 h até completar 144 h. A permeabilidade ao vapor de água foi calculada de acordo com a Equação (2).

$$\text{PVA (g m}^{-1} \text{s}^{-1} \text{Pa}^{-1}) = \frac{G \cdot e}{t \cdot A \cdot \Delta P} \quad (2)$$

Em que G/t representa o coeficiente angular da reta obtida por regressão linear do gráfico de ganho de massa (g) versus tempo de acondicionamento (s), A é área de permeação de cada corpo-de-prova, e é a espessura de cada corpo-

de-prova ( $m^2$ ) e  $\Delta P$  é a diferença de pressão entre o ambiente contendo cloreto de cálcio e o ambiente saturado com NaCl, um valor de 2375,4 Pa.

(c) Cinética de sorção de umidade: Amostras de filmes (20 mm x 20 mm) foram pré-secas por 7 dias em um dessecador com sílica e, em seguida, foram colocadas a 25 °C em soluções salinas saturadas em dessecadores separados com UR desejada (7, 33, 43, 58, 75 e 83% UR) (ROCKLAND, 1960). As massas das amostras de filmes foram medidos em função do tempo. O teor de umidade das amostras foi determinado gravimetricamente. O teor de umidade em base seca foi usado nos cálculos e os dados foram ajustados de acordo com um modelo matemático sugerido por Peleg (Eq. 3) (PELEG, 1988).

$$M_{(t)} = M_0 + \frac{t}{k_1 + k_2 t} \quad (3)$$

Onde  $M_{(t)}$  é a umidade após o tempo de teste,  $M_0$  é o teor de umidade inicial,  $t$  é o tempo medido em h,  $k_1$  é a constante de velocidade de Peleg (h/(g água/g sólidos)) e  $k_2$  é a constante de capacidade de Peleg (g de sólidos/g de água) Os parâmetros do modelo de Peleg foram determinados por regressão não linear. Todos os testes foram realizados em triplicata.

#### 6.2.2.4 Teste mecânico

As propriedades de tração foram determinadas usando um analisador de textura TA.TX2i Stable Micro Systems (Surrey) de acordo com ASTM D-882-91 (ASTM, 1996). Dez amostras de 5,0 cm x 2,0 cm de cada formulação foram condicionadas em umidade relativa de 58% e temperatura de 20°C por 7 dias. As amostras foram fixadas entre garras pneumáticas de um texturômetro e a força (N) e a deformação (mm) foram registradas durante a extensão a uma taxa de 2 mm s<sup>-1</sup> e com uma distância inicial entre as garras de 80,0 mm. Os parâmetros determinados foram TS (MPa), E (%) e Módulo de Young (MY). A análise foi realizada no laboratório do Programa de Pós-graduação em Ciência de alimentos da Universidade Estadual de Londrina.

#### 6.2.2.5 Quantificação dos compostos fenólicos e antioxidantes

A quantificação dos compostos fenólicos e antioxidantes foram realizados a partir do meio simulado para alimentos aquosos não ácidos com pH > 4,5 (água), de acordo com a Resolução do Conselho Colegiado (RDC) nº 105/1999 (ANVISA, 1999) e meio simulado alcoólico para alimentos aquosos gordurosos pH > 4,5 (solução alcoólica 95% (v/v)).

Para o meio simulado alcoólico, 20 mL de etanol 95% (v/v) foi adicionado a 1 g de filme e a mistura foi homogeneizada em mesa agitadora (150 RPM) durante 20 horas a temperatura ambiente. Após, a mistura foi centrifugada e o sobrenadante foi utilizado nas análises de compostos fenólicos totais e capacidade antioxidante (SAMPAIO et al., 2022).

Para o meio simulado em água os testes foram realizados de acordo com a norma Europeia UE 2016/1416 (2011) por imersão total das amostras: 6 cm<sup>2</sup> de cada filme e 10 mL do simulante foram colocados em frascos de vidro; em seguida, esses frascos foram condicionados em um ambiente com temperatura controlada (20 °C), durante 10 dias.

##### 6.2.2.5.1 Teor de compostos fenólicos totais

O teor de fenólicos totais foi determinado pelo método Folin-Ciocalteu (SINGLETON e ROSSI, 1965). Em um tubo de ensaio foram misturados 400 µL de amostra, 2000 µL do reagente de Folin-Ciocalteu (10%, v/v) e 1600 µL de solução de carbonato de sódio (7,5%, m/v), esta mistura foi agitada e os tubos mantidos em ambiente escuro a temperatura ambiente por 2 horas. O branco foi preparado utilizando 400 µL de etanol 80% (v/v), como solução extratora, 2000 µL do reagente de Folin-Ciocalteu e 1600 µL de solução de carbonato de sódio. A leitura da absorbância foi realizada em 760 nm usando um espectrômetro UV-Vis (Shimadzu, modelo UV-2600). Para quantificação dos compostos fenólicos uma curva padrão de ácido gálico foi utilizada, os resultados foram expressos em mg de equivalente de ácido gálico por gramas de filme (mg EAG/g de filme).

#### 6.2.2.5.2 Atividades antioxidante total pela captura do radical livre (DPPH)

A capacidade antioxidante dos filmes foi avaliada pelo método de ensaio DPPH de acordo com Rufino et al. (2007). Em tubos de ensaio uma alíquota de 100  $\mu$ L de amostra foi misturado a 3,9 mL de solução de DPPH (0,06 mmol/L). Após 40 minutos, a absorvância foi medida em 515 nm em espectrofotômetro UV-VIS (Shimadzu, modelo UV-2600). Os resultados foram calculados utilizando-se uma curva padrão de Trolox e expressos em  $\mu$ M de Trolox equivalente/ g.

#### 6.2.2.5.3 Atividade antioxidante total pelo método de redução do ferro (FRAP)

A capacidade antioxidante dos filmes foi avaliada pelo método de redução do ferro de acordo com Rufino et al. (2006). Em ambiente escuro, uma alíquota de 100  $\mu$ L do extrato, 300  $\mu$ L de água destilada e 3 mL do reagente FRAP (10 mM de 2,4,6-Tris(2-piridil)-s-triazina) (TPTZ) em 40 mM HCl, 20 mM cloreto férrico e 300 mM de tampão acetato, pH 3,6, 1:1:10 v/v/v) foi adicionado a tubos de ensaio. Os tubos foram agitados e mantidos em banho-maria a 37 °C por 30 minutos para reação. A leitura foi realizada em 595 nm em espectrofotômetro UV-Vis (Shimadzu, modelo UV-2600). O reagente FRAP foi empregado como branco. Uma curva padrão de Trolox foi utilizada para quantificação da atividade antioxidante, expressos em  $\mu$ mol Trolox equivalente/g.

#### 6.2.2.6 Cinética de liberação de OEO em meio simulado

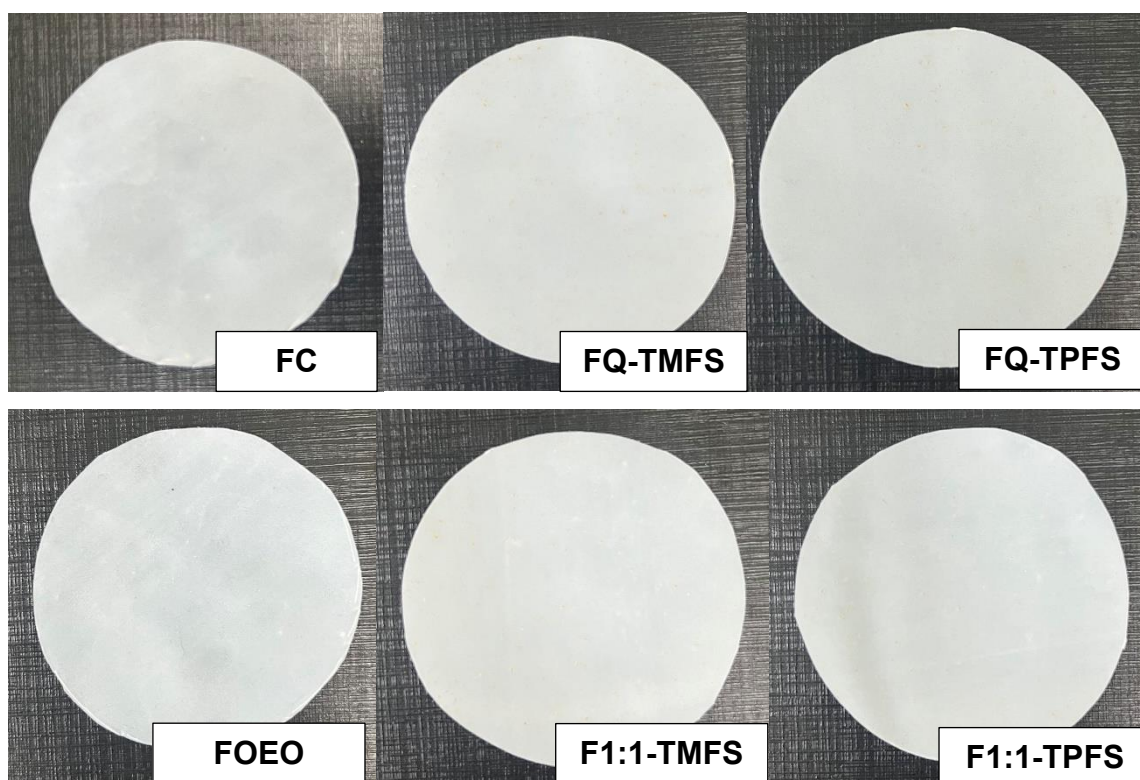
O estudo de migração de OEO foi realizado utilizando água como simulante aquoso e não ácido. Em um frasco, os filmes (60 mm  $\times$  75 mm) foram imersos em 50 mL de simulante e mantidos sob agitação a 150 RPM em mesa agitadora a temperatura ambiente. Em diferentes tempos (0 a 24 h), alíquotas da solução foi retirada e a concentração de OEO liberada foi quantificada por UV-Vis (Shimadzu, modelo UV-2600) no comprimento de onda de 273 nm.

## 6.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 6.3.1 ASPECTO SENSORIAL E MORFOLÓGICO DOS FILMES PRODUZIDOS

Os filmes produzidos apresentaram coloração branca para todas as formulações, superfície lisa e homogêneas, de fácil manuseio e sem bolhas ou rachaduras (Figura 2).

**Figura 2.** Imagem digital dos filmes produzidos

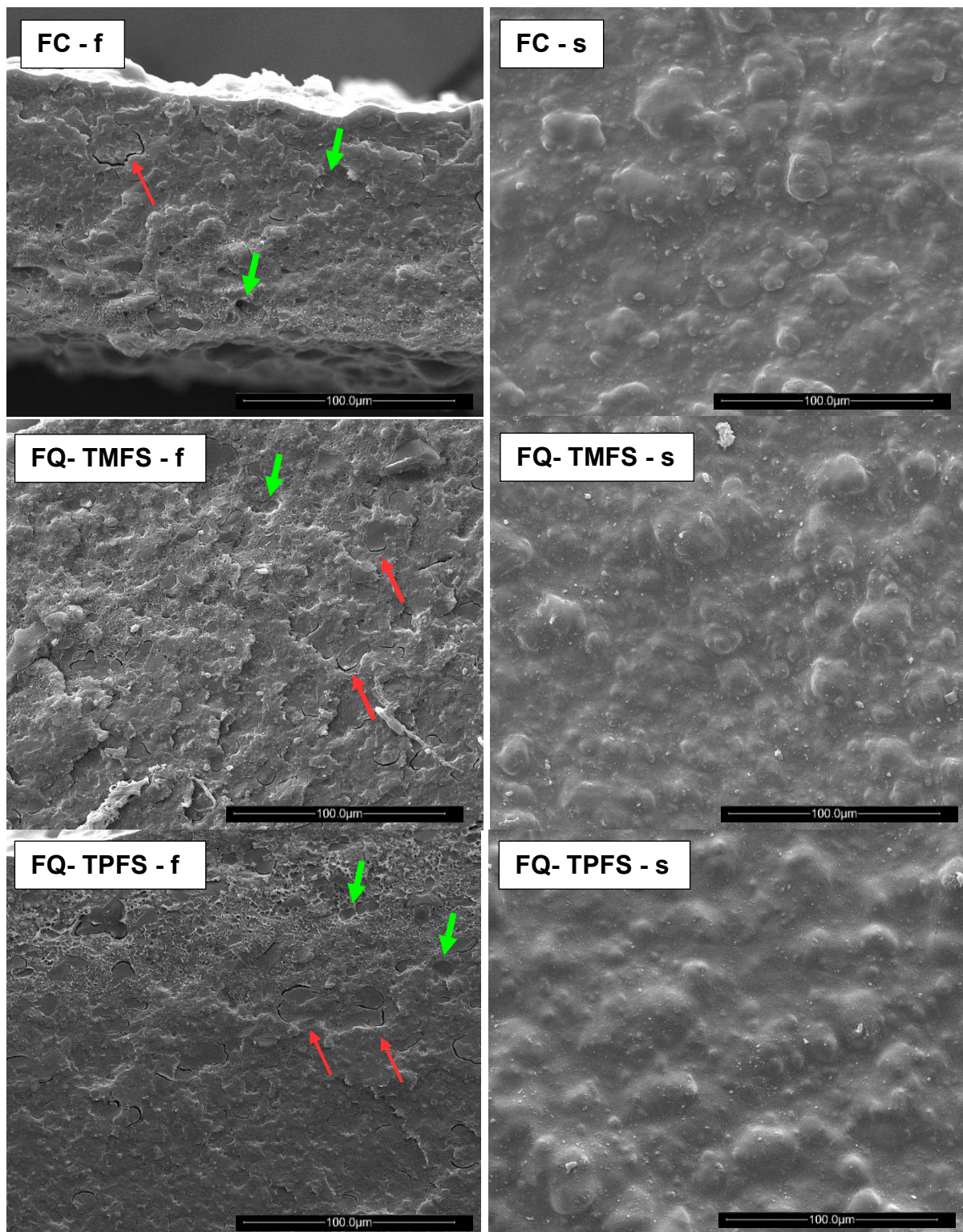


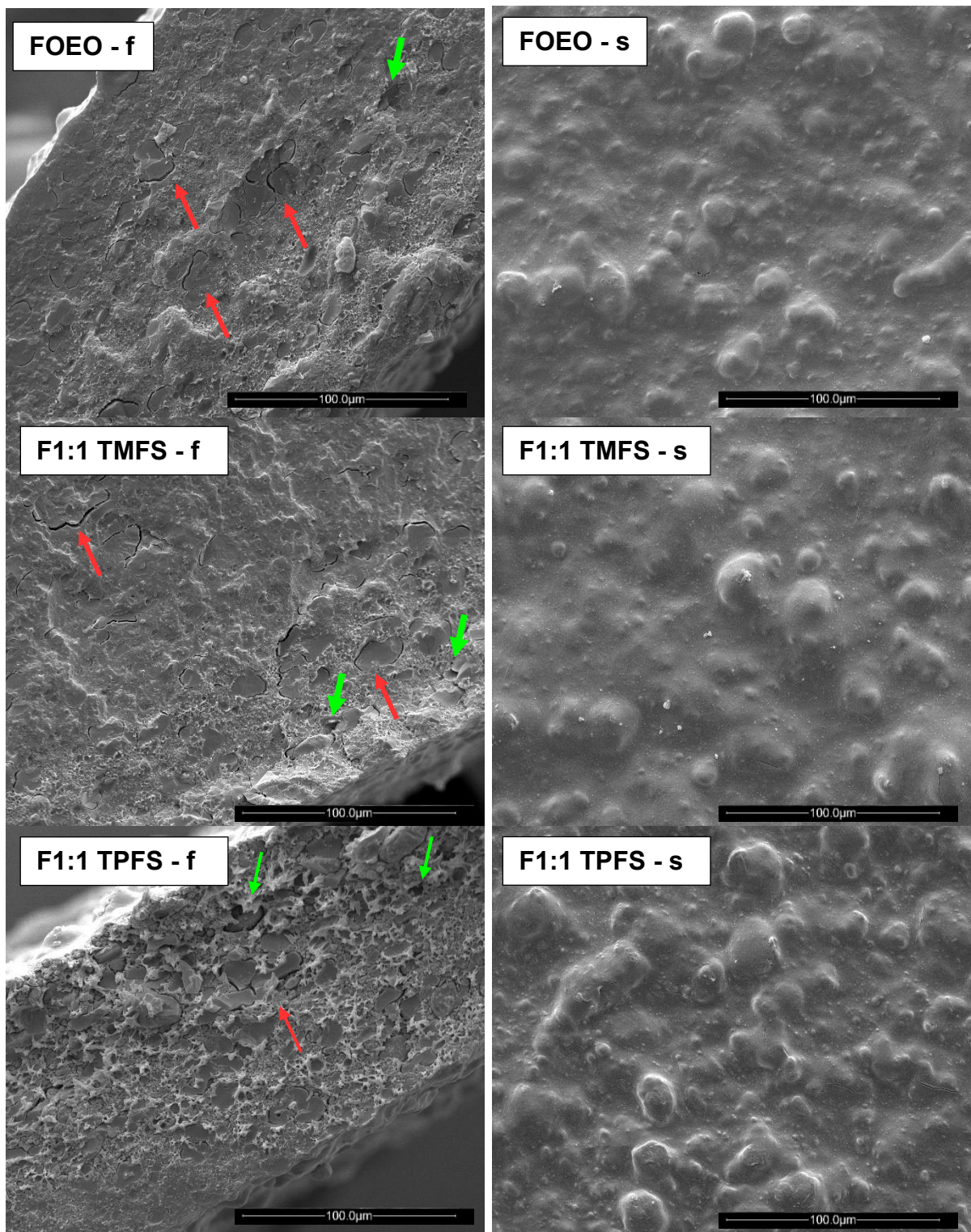
Fonte: O próprio autor.

O filme produzido com OEO livre disperso na matriz apresentou odor característico, porém, os filmes em que o OEO foi encapsulado o odor foi quase totalmente mascarado.

Na Figura 3 encontra-se as imagens de MEV da fratura e superfície dos filmes produzidos. Não foi possível verificar a presença das partículas de quitosana dispersa na matriz polimérica.

**Figura 3.** Imagens de Microscopia Eletrônica de Varredura da criofratura (f-esquerda) e superfície (s-direita) das amostras de filmes





Fonte: O próprio autor.

Todas as amostras apresentaram superfície rugosa e homogênea (Figura 3(s – direita)), uma vez que, as camadas externas de todas as amostras são iguais.

As imagens de fratura (Figura 3 (f – esquerda)) revelaram morfologia típica de sistemas imiscíveis, apresentando separações de fases nítidas entre o amido e PBAT. É possível observar cavidades nas regiões em que o PBAT apresenta descolamento da matriz com ausência de adesão interfacial (seta verde) e regiões em que o PBAT permaneceu aderido na matriz (seta vermelha) (COBO et al., 2021).

### 6.3.2 ENSAIO DE SOLUBILIDADE, PVA E SORÇÃO DE ÁGUA

Na Tabela 2 estão apresentados os valores de solubilidade e PVA para os filmes produzidos com amido e PBAT.

**Tabela 2.** Solubilidade e PVA obtido para os filmes de amido/PBAT com diferentes formulações

FORMULAÇÃO	SOLUBILIDADE (%)	PVA $10^{-10}$ (g m <sup>-1</sup> s <sup>-1</sup> Pa <sup>-1</sup> )
FC	3,202 <sup>b,c</sup> ± 0,460	1,27 <sup>b</sup> ± 0,05
FQ-TMFS	5,067 <sup>a</sup> ± 0,434	1,78 <sup>a</sup> ± 0,03
FQ-TPFS	5,453 <sup>a</sup> ± 0,740	1,79 <sup>a</sup> ± 0,03
FOEO	2,435 <sup>c</sup> ± 0,254	1,63 <sup>a,b</sup> ± 0,10
F 1:1-TMFS	4,180 <sup>a,b</sup> ± 0,589	1,83 <sup>a</sup> ± 0,23
F 1:1-TPFS	4,565 <sup>a,b</sup> ± 0,676	1,86 <sup>a</sup> ± 0,15

Os resultados são apresentados como média ± desvio padrão. Cada resultado é uma média de três experimentos. Médias com letras diferentes são estatisticamente diferentes entre si pelo teste de Tukey ( $p < 0,05$ )

Observa-se que filmes produzidos com partículas de quitosana em sua composição (FQ-TMFS, FQ-TPFS, F1:1-TMFS e F1:1-TPFS) apresentaram um aumento na solubilidade comparado ao filme controle, isso pode estar relacionado com os grupamentos hidroxilas presente na quitosana com capacidade de interagir com as moléculas de água mesmo na presença do OEO (RUBILAR et al., 2013).

Os filmes de amido/PBAT com OEO livre apresentou menor valor de solubilidade, isso porque filmes com OEO livre são menos hidrofílicos.

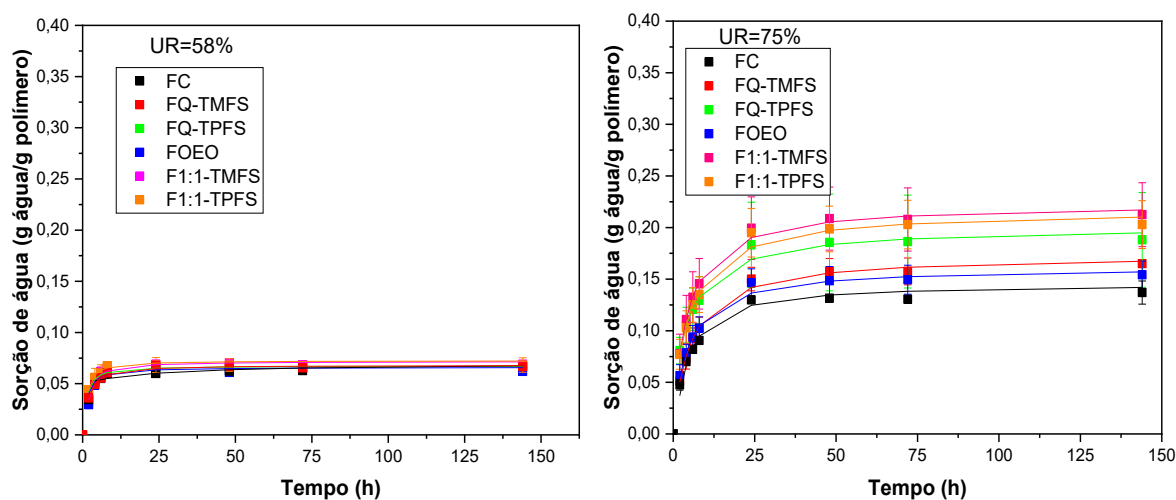
A PVA dos filmes foi analisada, os resultados estão apresentados na Tabela 2, pode-se observar que a presença de partículas de quitosana aumentam os valores de PVA comparados ao filme controle, dado seu caráter hidrofílico e hidroxilas

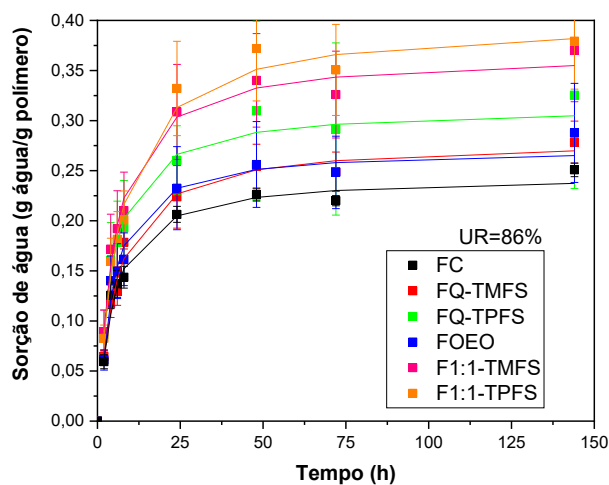
disponíveis para interagir com a água. Para filmes com OEO livre e encapsulado observa-se também o aumento nos valores de PVA dos filmes comparados ao filme controle, este resultado sugere que o OEO esteja agindo como plastificante nos filmes (SHIMAZU, MALI e GROSSMANN, 2007; MALI, GROSSMANN e YAMASHITA, 2010).

Comparando-se os filmes com partículas de quitosana-TMFS e quitosana-TPFS verifica-se menores valores para os filmes produzidos com quitosana-TMFS, este resultado pode ser explicado pela interação do reticulante com a partícula e a maior eficiência do TMFS em reticular as partículas de quitosana, em que, materiais mais reticulados apresentam menores valores de PVA.

Avaliando as curvas de sorção de umidade (Figura 4), verifica-se que a sorção de umidade foi mais rápida nas primeiras horas e quantidades menores de água foram sorvidas com o decorrer do tempo. Comportamento similar foi verificado por Mali et al. (2005) em filmes de amido de mandioca plastificado com glicerol ou sorbitol e por Góes et al. (2023) em filmes de amido de mandioca plastificado com isomalte e glicerol.

**Figura 4.** Curvas cinéticas de sorção para filmes de amido/PBAT, amido/PBAT na presença de partículas de quitosana puras, partículas de quitosana encapsuladas com OEO e OEO livre





Fonte: O próprio autor.

Os dados experimentais foram ajustados ao modelo de Peleg (Tabela 3) de forma satisfatória, apresentando coeficiente de determinação ( $R^2$ ) maior que 0,97 para todas as composições. No modelo de Peleg, o parâmetro  $k_1$  está relacionado à transferência de massa, sendo menor o valor de  $k_1$ , maior a velocidade inicial de sorção de umidade e  $k_2$  está relacionado à capacidade de sorção de água e, portanto, quanto menor o valor de  $k_2$ , maior a capacidade de sorção (GALDEANO et al., 2014).

**Tabela 3.** Parâmetros cinéticos obtidos pelo modelo de Peleg para filmes de amido/PBAT em diferentes formulações

AMOSTRAS	UR = 58%			UR = 75%			UR = 86%		
	$k_1$	$k_2$	R	$k_1$	$k_2$	R	$k_1$	$k_2$	R
FC	25,29	15,02	0,97	29,68	7,03	0,99	20,51	4,00	0,99
FQ -TMFS	22,92	14,44	0,99	25,54	5,79	0,99	18,76	3,49	0,98
FQ-TPFS	21,07	14,35	0,97	19,49	5,13	0,99	16,86	3,06	0,99
FOEO	23,80	14,56	0,99	29,18	6,24	0,97	20,04	3,52	0,98
F1:1-TMFS	17,99	14,21	0,97	17,75	4,50	0,99	15,49	2,67	0,99
F1:1-TPFS	14,39	13,33	0,97	17,76	4,69	0,99	14,80	2,46	0,99

Observa-se na Tabela 3 menores valores de  $k_1$  e  $k_2$  para as formulações F1:1-TPFS e F1:1-TMFS, seguidos dos filmes FQ-TPFS, FQ-TMFS,

FOEO livre e o FC.

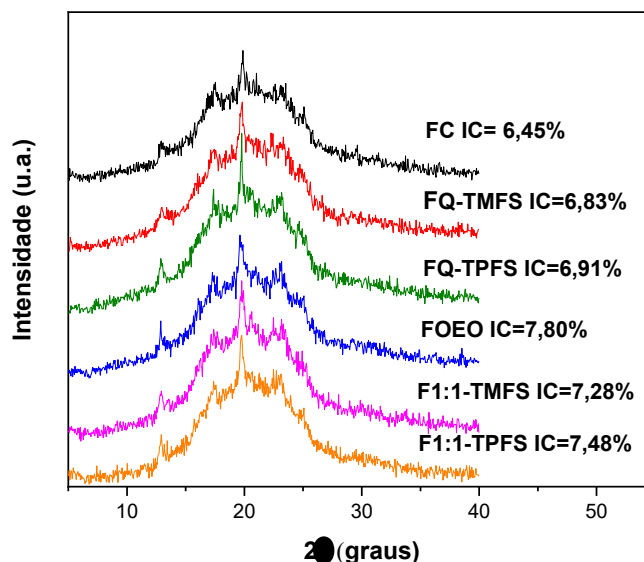
O resultado observado demonstra que as partículas de quitosana puras e na presença do OEO tem efeito importante no teor de água de equilíbrio. Este efeito é mais pronunciado em filmes contendo partículas de quitosana encapsuladas com OEO em sua formulação, indicando maior taxa de sorção de umidade inicial e maior capacidade de sorção (GALDEANO et al., 2014). Essa maior taxa de sorção de água pode ser atribuída à presença da quitosana, que possuem hidroxilas para interagir com a água e a capacidade do OEO de plastificar a matriz polimérica, juntos, apresentam efeito sinérgico e diminuem os valores de  $k_1$  e  $k_2$  comparados as demais formulações. Este resultado está de acordo com o que foi observado no estudo da PVA.

A interação do TPFS com a quitosana possibilita sua maior capacidade de interagir com a água, desta forma, os filmes produzidos com TPFS apresentaram menores valores de  $k_1$  e  $k_2$  comparados aos filmes produzidos com TMFS.

### 6.3.3 ANÁLISE DE DIFRAÇÃO DE RAIO X

Na Figura 5 estão apresentados os padrões de DRX para os filmes de amido e PBAT em diferentes formulações e os valores de IC. As amostras da Figura 5 apresentam uma estrutura semicristalina com predominância da região amorfa. Observa-se picos de difração em  $12,9^\circ$ ,  $16,2^\circ$ ,  $17,3^\circ$ ,  $19,8^\circ$ ,  $20,6^\circ$ ,  $22,3^\circ$ ,  $23,3^\circ$  e  $25^\circ$  referentes ao amido, PBAT e quitosana (DA SILVA OLIVEIRA, FERNANDES e CARVALHO, 2021; MERCI et al., 2022; GAO et al., 2022).

**Figura 5.** Difratoograma de Raios X para filmes de amido/PBAT e os valores de IC



Fonte: O próprio autor.

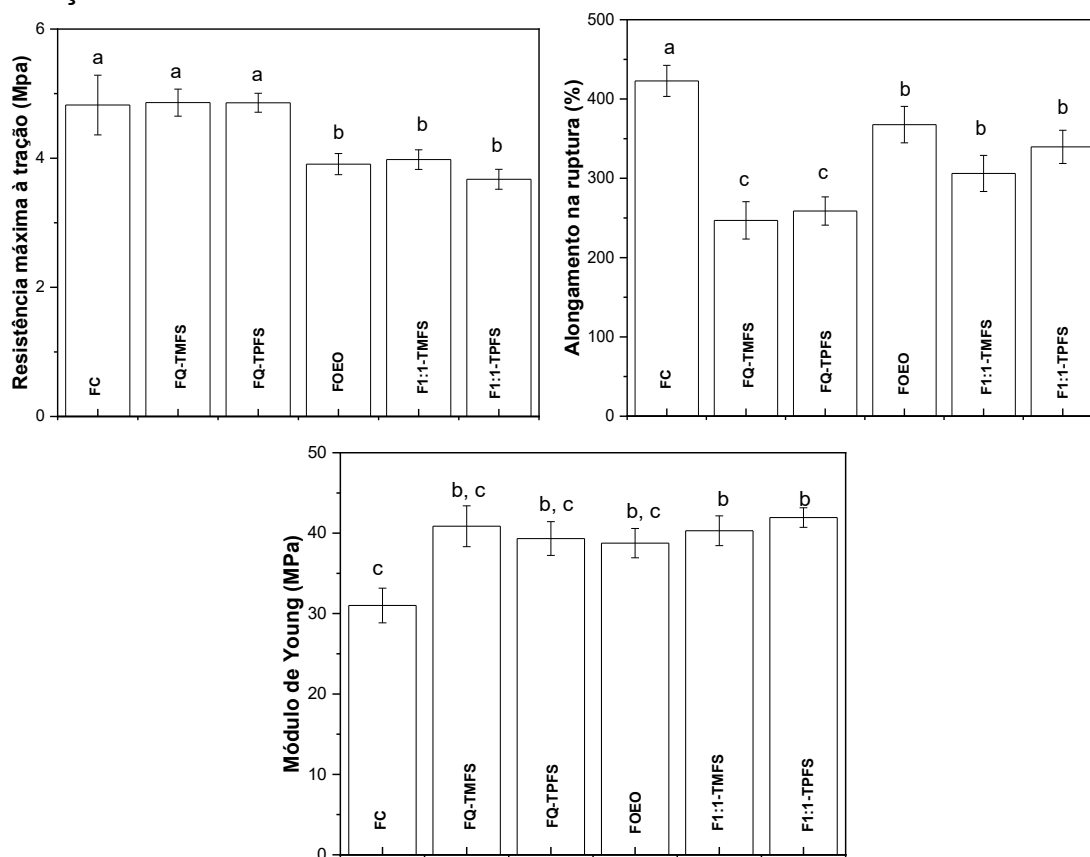
Os baixos valores de IC para todas as amostras estão apresentados na Figura 5. Um ligeiro aumento no valor de IC é observado para o filme na presença de OEO livre (FOEO), este resultado, os valores obtidos na PVA e sorção de umidade indicam que o OEO esteja plastificando os filmes de amido/PBAT, reduzindo as forças intermoleculares ao longo das cadeias poliméricas, aumentando a mobilidade das cadeias de amido/PBAT e favorecendo o processo de recristalização (YUN et al., 2019).

A cristalinidade dos filmes não é afetada pela presença das partículas de quitosana puras e encapsuladas com OEO (Figura 5).

#### 6.3.4 PROPRIEDADES MECÂNICAS

Os resultados das propriedades mecânicas dos filmes produzidos de amido e PBAT estão apresentados na Figura 6.

**Figura 6.** Propriedades mecânicas dos filmes de amido/PBAT em diferentes formulações



Fonte: O próprio autor.

Observa-se que o FC apresentou o maior valor de TS (4,82 Mpa) e E (422 %) e menor valor de MY (31Mpa) (Figura 6), comparado as demais formulações. No entanto, não houve diferença significativa na TS com os filmes FQ-TMFS e FQ-TPFS, verificou-se apenas um ligeiro aumento nesses valores, este resultado juntamente com o aumento nos valores de MY indicam que as partículas estão bem dispersas na matriz do filme (TEODORO et al., 2015).

A adição de partículas com OEO e OEO livre aos filmes diminuiu os valores de TS e aumentou os valores de E e MY comparados ao FC, comprovando que o OEO atua como plastificante em filmes de amido/PBAT, reduzindo a interação polímero-polímero, aumentando a mobilidade das cadeias, tornando estes materiais mais flexíveis (MARTINS et al., 2012; SHEN e KAMDEM, 2015). O mesmo comportamento foi observado por outros autores que utilizaram filmes ativos com óleos essenciais (MEDEIROS et al., 2019; BALAN, 2021).

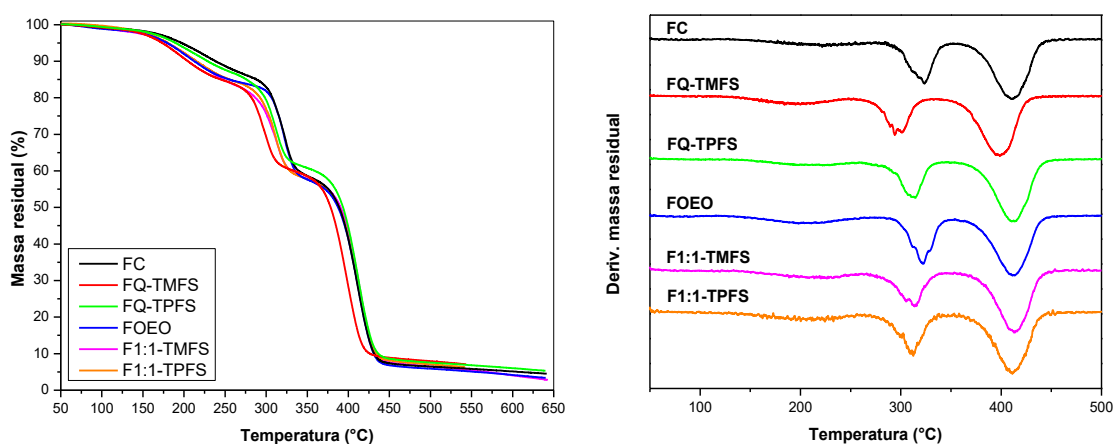
Os filmes com partículas de quitosana pura apresentaram menores

valores de  $E$ , possivelmente à presença das partículas geraram pontos de concentração de tensões que conseqüentemente diminuíram e interferiram nessa propriedade do filme (PAULO et al., 2022).

### 6.3.5 ANÁLISE TERMOGRAVIMÉTRICA

A análise termogravimétrica foi realizada para avaliar a estabilidade térmica dos filmes de amido/PBAT adicionados de partículas de quitosana puras, encapsuladas com OEO e OEO livre. Na Figura 7 estão apresentadas as curvas de TGA e DTG.

**Figura 7.** (a) Curvas de TG e (b) DTG para os filmes de amido/PBAT



Fonte: O próprio autor.

Verifica-se quatro eventos de perda de massa para os filmes produzidos ( $T_{max}$ ), o primeiro relacionado à perda de umidade em temperaturas abaixo de 100 °C, a degradação do glicerol em uma faixa de 196 a 221 °C, o terceiro evento corresponde à degradação do amido em 298 a 323 °C e a degradação do PBAT em temperaturas acima de 397 °C (Tabela 4).

**Tabela 4.** Dados de  $T_{max}$ ,  $T_{90}$  e Rm 500 para filmes de amido/PBAT

FILMES	$T_{max}$ (°C)	$T_{90}$ (°C)	Rm 500 (%)
FC	81/223/323/412	237	5,97
FQ -TMFS	92/197/298/397	205	7,18
FQ-TPFS	95/211/ 311/412	229	6,91
FOEO	77/207/322/412	212	5,42
F1:1-TMFS	98/220/315/413	214	5,64
F1:1-TPFS	89/221/311/412	215	6,34

A presença de partículas de quitosana diminuiu a estabilidade térmica dos filmes na presença e ausência do OEO, como pode ser observado na Tabela 4 pelos menores valores de temperatura em que as amostras mantêm 90% da massa inicial ( $T_{90}$ ). O mesmo comportamento foi observado para filmes produzidos com OEO livre, este resultado pode estar relacionado com a capacidade do OEO agir como plastificante (SCHLEMMER, SALES e RESK, 2010).

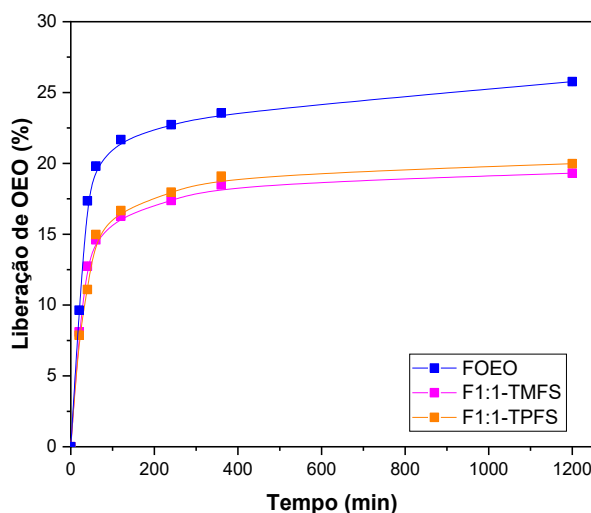
A presença de partículas e do OEO não interferiu na massa residual a 500 °C (Rm500), sendo de 5 a 7% para todos os filmes produzidos.

#### 6.3.6 CINÉTICA DE LIBERAÇÃO DE OEO

Na Figura 8 estão apresentadas as curvas cinéticas de liberação do OEO. Observa-se que a liberação do OEO ocorreu em duas etapas, uma etapa mais rápida inicialmente, denominada efeito de explosão, seguida por uma segunda etapa em que ocorre uma liberação mais lenta.

A formulação com OEO livre na matriz polimérica (FOEO) apresentou maior liberação, este resultado está de acordo com o esperado, uma vez que não há uma barreira protegendo o OEO.

**Figura 8.** Cinética de liberação do OEO nos filmes de amido/PBAT com OEO encapsulado em partículas de quitosana e OEO livre



Fonte: O próprio autor.

Para estudar o mecanismo de liberação do OEO, os dados experimentais foram ajustados a modelos cinéticos (Tabela 5) e os parâmetros obtidos desses ajustes estão apresentados na Tabela 6.

**Tabela 5.** Modelos cinéticos usados para estudar o mecanismo de liberação do OEO

Modelo Cinético	Equação	Mecanismo
<b>Ordem 0</b>	$\frac{M_t}{M_\infty} = k_0 t + b$	Liberação lenta da substância ativa a partir de substâncias que não degradam
<b>Primeira ordem</b>	$\ln(M_\infty - M_t) = -kt$	Liberam uma quantidade de OEO proporcional à quantidade restante no seu interior, de modo que a quantidade da substância ativa a ser liberada vai diminuindo com o tempo.
<b>Korsmeyer Peppas</b>	$\log\left(\frac{M_t}{M_\infty}\right) = \log k + n \log t$	n < 0,5 Difusão <i>quasi</i> Fickiana n = 0,5 Difusão Fickiana 0,5 < n < 1,0 Difusão Anômala n = 1,0 Transporte Caso II
<b>Peppas-Sahlin</b>	$\frac{M_t}{M_\infty} = k_1 t^m + k_2 t^{2m}$	R/F < 0 difusão Fickiana R/F > 0, a relaxação das cadeias poliméricas prevalece
<b>Weibull</b>	$\frac{M_t}{M_\infty} = 1 - \exp(-at^b)$	b < 0,75 difusão Fickiana 0,75 < b < 1 mecanismo de difusão e intumescimento b > 1 transporte anômalo

**Tabela 6.** Parâmetros obtidos a partir do ajuste dos dados experimentais aos modelos cinéticos

Modelo		FOEO	F1:1-TMFS	F1:1-TPFS
Ordem 0	R	0,972	0,943	0,979
	K <sub>0</sub>	4,451.10 <sup>-4</sup>	6,574.10 <sup>-4</sup>	6,473.10 <sup>-4</sup>
	b	0,765	0,704	0,733
Primeira Ordem	R	0,989	0,981	0,986
	k	0,006	0,003	0,005
Korsmeyer Peppas	R	0,992	0,994	0,997
	k	0,051	0,079	0,069
	n	0,676	0,549	0,576
Peppas Sahlin	*R/F	-0,340	-0,390	-0,345
Weibull	R	0,991	0,994	0,989
	a	0,064	0,198	0,141
	β	0,691	0,417	0,509

$$*(R/F) = (k_2/k_1) \times t^m$$

Os dados experimentais de liberação de OEO foram melhores ajustados à equação de Korsmeyer-Peppas e Weibull, com maiores valores de regressão (R<sup>2</sup>) em relação aos outros modelos cinéticos.

O valor do coeficiente de liberação (n) é utilizado para indicar os comportamentos Fickianos e não Fickianos (anômalos) no modelo de Korsmeyer-Peppas. Para filmes finos, valores intermediários de n (0,5<n<1,0) indicam uma difusão anômala, descrevendo uma combinação de mecanismos de liberação do OEO por difusão e relaxação das cadeias (RITGER e PEPPAS, 1987).

A fim de determinar a predominância da difusão ou relaxação das cadeias no mecanismo de liberação, foi realizado o cálculo da relação R/F pelo modelo de Peppas Sahlin. Valores de R/F<0 indicam que o processo predominante no mecanismo de liberação é a difusão como observado na Tabela 6.

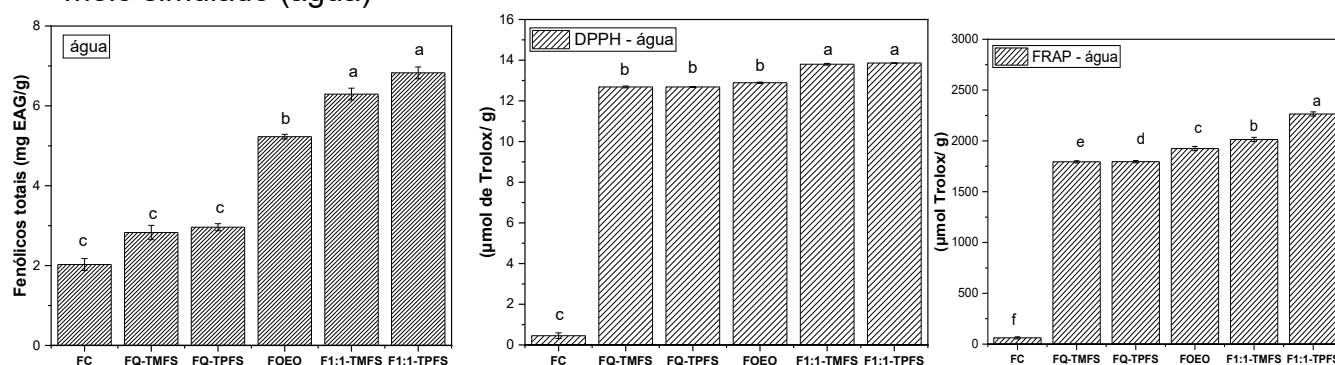
No modelo de Weibull o valor de β é um parâmetro que caracteriza a liberação da substância ativa. Para valores de β < 0,75 o mecanismo de liberação se dá por simples difusão ou difusão de Fick, valores de 0,75 <β<1 indicam que o mecanismo de liberação ocorre por difusão e intumescimento, quando o valor de β > 1 caracteriza um transporte anômalo, onde a liberação pode envolver difusão, intumescimento e/ou erosão (PAPADOPOULOU et al., 2006). Na Tabela 6 verifica-se valores de β<0,75 indicando que o mecanismo de liberação ocorre por difusão, estando de acordo com os resultados obtidos pelo modelo de Korsmeyer-Peppas e

Peppas Sahlin.

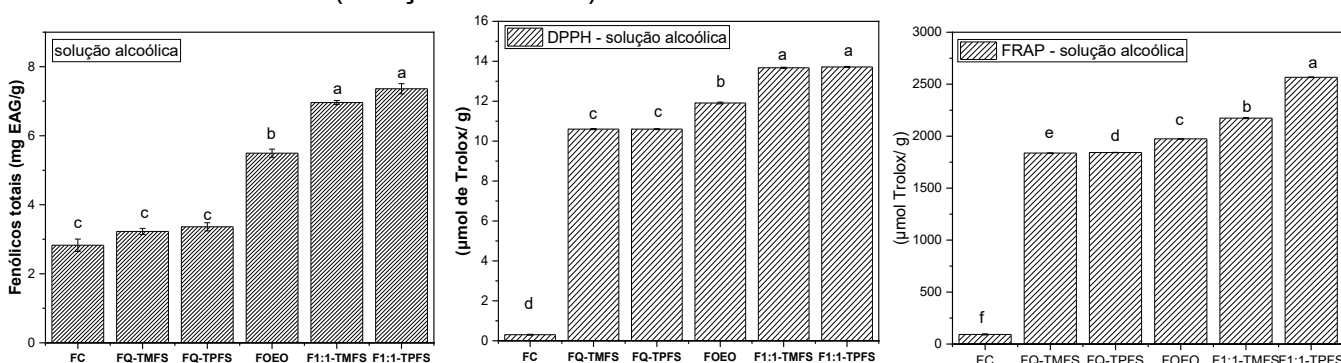
### 6.3.7 QUANTIFICAÇÃO DE COMPOSTOS FENÓLICOS TOTAIS E ATIVIDADE ANTIOXIDANTE

O teor de compostos fenólicos totais e a atividade antioxidante por DPPH e FRAP dos filmes de amido/PBAT produzidos em diferentes formulações podem ser visualizados na Figura 9 para o meio simulado em água e Figura 10 para meio simulado em solução alcoólica. Verifica-se que independente do meio o resultado foi semelhante.

**Figura 9.** Compostos fenólicos e capacidade antioxidante dos filmes amido/PBAT em meio simulado (água)



**Figura 10.** Compostos fenólicos e capacidade antioxidante dos filmes amido/PBAT em meio simulado (solução alcoólica)



Fonte: O próprio autor.

As formulações FC, FQ-TMFS e FQ-TPFS, embora não possuam compostos fenólicos em sua composição apresentaram valores de compostos fenólicos como observado nas Figuras 9 e 10, esse resultado está relacionado com a

determinação de compostos fenólicos totais pelo método de Folin–Ciocalteu, que pode sofrer interferência de algumas substâncias (ácido cítrico, sulfato ferroso, polissacarídeos), que mesmo não sendo compostos fenólicos reagem com Folin-Ciocalteu aumentando esses valores (PAULO et al., 2022; TERPINC et al., 2012).

Os filmes adicionados de OEO livre e encapsulado aumentaram consideravelmente os valores de compostos fenólicos e atividade antioxidante, o mesmo resultado foi verificado em diversos trabalhos (PAULO et al., 2022; BALAN et al., 2021; ZHAI et al., 2023). Os compostos fenólicos presentes em óleos essenciais são os principais responsáveis pela atividade antioxidante. No óleo essencial de orégano os principais compostos fenólicos encontrados são carvacrol, timol,  $\gamma$ -terpineno e p-cimeno (BURT, 2004).

Filmes com partículas de quitosana encapsuladas com OEO apresentaram maiores valores de atividade antioxidante, isso porque, nesses filmes a atividade oxidante é provenientes tanto da quitosana quanto do OEO, além disso, este resultado pode estar relacionado com a eficiência da encapsulação em preservar os compostos ativos (BALAN et al., 2021).

Para a formulação F1:1-TPFS os valores de compostos fenólicos e antioxidante (DPPH e FRAP) foram ligeiramente maiores que F1:1-TMFS, uma vez que, maior a reticulação da quitosana nestes filmes, mais difícil a liberação do OEO, como verificado no ensaio de liberação do OEO.

## 6.4 CONCLUSÃO

Neste trabalho foi possível produzir por extrusão filmes multicamadas de amido/PBAT com partículas de quitosana em diferentes reticulantes (TMFS e TPFS) puras, com OEO encapsulado em partículas de quitosana e OEO livre. Todas as formulações apresentaram superfície lisa e homogênea.

A presença de partículas de quitosana e OEO afetaram as propriedades físico químicas dos filmes, uma vez que as partículas estejam agindo como reforço ou carga nos filmes e o OEO como plastificante, aumentando os valores de PVA, a taxa de sorção de água e os valores de E e MY comparados ao FC. As partículas de quitosana não afetaram a cristalinidade dos filmes.

O estudo cinético de liberação de OEO indicou uma difusão anômala, descrevendo uma combinação de mecanismo de liberação do OEO por difusão e relaxação das cadeias, com predominância do processo de difusão como comprovado pelo parâmetro  $R/F < 0$ . O modelo de Weibull também confirma que o mecanismo de liberação é descrito por uma difusão Fickiana.

Os filmes elaborados com OEO encapsulado e livre apresentaram maiores valores de compostos fenólicos e atividade antioxidante, sendo valores mais expressivos para as formulações F1:1-TMFS e F1:1-TPFS, indicando o efeito protetor da encapsulação.

Os filmes de amido/PBAT produzidos com partículas de quitosana encapsuladas com OEO apresentam potencial para serem usados em embalagens biodegradáveis ativas, com boas propriedades físico químicas, térmicas, mecânicas e organolépticas, mascarando o odor do OEO e protegendo a substância ativa.

## REFERÊNCIAS

A.O.A.C. **Official Methods of Analysis**. 15th Edition, Association of Official Analytical Chemist, Washington DC, 1990.

AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA. **Resolução Nº 105, de 19 de MAIO de 1999**. Diário Oficial da União, Brasil, 1999.

AMERICAN SOCIETY FOR TESTING AND MATERIALS – ASTM. **Standard test methods for tensile properties of thin plastic sheeting, D882- 91**. Annual book of ASTM, Philadelphia, 1996.

AMERICAN SOCIETY FOR TESTING AND MATERIALS – ASTM. **Standard test method for water vapor transmission of material – E96–95**. Annual book of ASTM, Philadelphia, 1995.

BALDWIN, E.A.; NISPEROS, M.O.; CHEN, X.; HAGENMAIER, R.D. Improving storage life of cut apple and potato with edible coating. **Postharvest Biology and Technology**, v. 9, p. 151–163, 1996.

BURT, S. Essential oils: Their antibacterial properties and potential applications in foods: A review. **International Journal of Food Microbiology**, v. 94, p. 223–253, 2004.

COBO, F. N.; GUTTUZZO, L.; CARVALHO, G. M. Study on Formation of Microporous in PLA Films and PLA/PBAT blends by Breath Figure Method. **Brazilian Journal of Development**, v. 7, n. 2, p. 16948–16962, 2021.

BALAN, G. C.; PAULO, A. F. S.; CORREA, L. G.; ALVIM, I. D.; UENO, C. T.; COELHO, A. R.; STROHER, G. R.; YAMASHITA, F.; SAKANAKA, L. S.; SHIRAI, M. A. Production of Wheat Flour/PBAT Active Films Incorporated with Oregano Oil Microparticles and Its Application in Fresh Pastry Conservation. **Food and Bioprocess Technology**, v. 14, p. 1587–1599, 2021.

DA SILVA OLIVEIRA, M. Z. F.; FERNANDES, T. S. M.; CARVALHO, T. V. Synthesis and characterization of commercial chitosan beads cross-linked with glutaraldehyde. **Revista Matéria**, v. 26, n. 2, 2021.

FUKUMOTO, L. R.; MAZZA, G. Assessing antioxidant and prooxidant activities of phenolic compounds. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.48, n.8, p.3597-3604, 2000.

GALDEANO, M. C., WILHELM, A. E., GROSSMANN, M. V. E., & MALI, S. Effect of Processing and Environmental Conditions in the Properties of Oat Starch Biodegradable Materials. **Polímeros**, v. 24, n. 1, p. 80-87, 2014.

GAO, S.; ZHANG, Y.; WANG, J.; JIANG, J.; ZHAI, X.; WANG, W. Influence of starch

content on the physicochemical and antimicrobial properties of starch/PBAT/ $\epsilon$ -polylysine hydrochloride blown films. **Food Packaging and Shelf Life**, v. 34, n. November, p. 101005, 2022.

GÓES, M. M.; SIMÕES, B. M.; YAMASHITA, F.; MALI, S. O.; DE CARVALHO, G. M. Plasticizers' effect on Ph indicator film based on starch and red grape skin extract for monitoring fish freshness. **Packaging Technology and Science**, p. 1-13, 2023.

HOSSEINI, S. F.; ZANDI, M.; REZAEI, M.; FARAHMANDGHAHI, F. Two-step method for encapsulation of oregano essential oil in chitosan nanoparticles: Preparation, characterization and in vitro release study. **Carbohydrate Polymers**, v. 95, n. 1, p. 50–56, 2013.

KATEKHONG, W.; WONGPHAN, P.; KLINMALAI, P.; HARNKARNSUJARIT, N. Thermoplastic starch blown films functionalized by plasticized nitrite blended with PBAT for superior oxygen barrier and active biodegradable meat packaging. **Food Chemistry**, v. 374, n. 131709, 2022.

LOULI, V.; RAGOUSSIS, N.; MAGOULAS, K. Recovery of phenolic antioxidants from wine industry by-products. **Bioresource Technology**, v.92, p. 201-208, 2004.

MALI, S.; GROSSMANN, M. V. E.; YAMASHITA, F. Filmes de amido: produção, propriedades e potencial de utilização Starch films: production, properties and potential of utilization. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 31, n. 1, p. 137-156, 2010.

MALI, S.; SAKANAKA, L.; YAMASHITA, F.; GROSSMAN, M. V. E. Water sorption and mechanical properties of cassava starch films and their relation to plasticizing effect. **Carbohydrate Polymer**, v. 60, p. 283- 289, 2005.

MARTINS, J. T.; CERQUEIRA, M.A.; VICENTE, A. A. Influence of  $\alpha$ -tocopherol on physicochemical properties of chitosan-based films. **Food Hydrocolloids**, v. 27, p. 220–227, 2012.

MARVDASHTI, L. M.; YAVARMANESH, M.; KOOCHEKI, A. In vitro release study of nisin from active polyvinyl alcohol-Alyssum homolocarpum seed gum films at different temperatures. **Polymer Testing**, v. 79, n. 106032, 2019.

MEDEIROS, J. A. S.; BLICK, A. P.; GALINDO, M. V.; ALVIM, I. D.; YAMASHITA, F.; UENO, C. T.; SHIRAI, M/ A.; GROSSO, C. R.F.; CORRADINI, E.; SAKANAKA, L. S Incorporation of Oregano Essential Oil Microcapsules in Starch-Poly (Butylene Adipate Co-Terephthalate) (PBAT) Films. **Macromolecular Symposia**, v. 383, n. 1, p. 1–7, 2019.

MERCI, A.; GÓES, M. M.; MALI, S.; YAMASHITA, F.; CARVALHO, G. M. Physical and Mechanical Properties of Starch Films – The role of the crosslinking mechanism through iodine binding capacity. **Revista Principia**. 2022.

PAULO, A. F. S.; BALAN, G. C.; STRÖHER, G. R.; YAMASHITA, F.; BITTENCOURT,

P.; SAKANAKA, L. S.; KATSUDA, M. S.; SHIRAI, M. A. Influence of free and microencapsulated oregano oil on starch and poly (butylene co-terephthalate adipate) active film properties. **Polymer Bulletin**, v. 79, n. 7, p. 4859–4877, 2022.

PAPADOPOULOU, V.; KOSMIDIS, K.; VLACHOU, M.; MACHERAS, P. On the use of the Weibull function for the discernment of drug release mechanisms. *International Journal of Pharmaceutics*, v. 309, p. 44 – 50, 2006.

PELEG, M. An empirical model for the description of moisture sorption curves. **Journal of Food Science**, v. 53, p. 1216–1217, 1988.

VIMAL, S.; MAJEED S.; TAJU, G.; NAMBI, K. S. N.; RAJ, N. S.; MADAN, N.; FARROK, M A.; RAJKUMAR, T.; GOPINATH, D.; HAMEED, A. S. S. Chitosan tripolyphosphate (CS/TPP) nanoparticles: preparation, characterization and application for gene delivery in shrimp. **Acta Tropica**, v. 128, n. 3, p. 486–93, 2013.

RITGER, P.; PEPPAS, N.A.; A simple equation for description of solute release. II. Fickian and anomalous release from swellable devices. **Journal of Controlled Release**, v. 5, n. 1, p. 37-42, 1987.

ROCKLAND, L. B. Saturated Salt Solutions for Static Control of Relative Humidity between 5° and 40° C. **Analytical Chemistry**, v. 32, n. 10, p. 1375–137, 1960.

RUBILAR, J. F.; CRUZ, R. M. S.; SILVA, H. D.; VICENTE, A. A.; KHMELINSKII, I.; VIEIRA, M. C. Physico-mechanical properties of chitosan films with carvacrol and grape seed extract. **Journal of Food Engineering**, v. 115, n. 4, p. 466–474, 2013.

RUFINO, M. S. M.; ALVES, R. E.; BRITO, E. S.; MORAIS, S. M.; SAMPAIO, C. G.; PÉREZ-JIMÉNEZ, J.; SAURA-CALIXTO, F. D. Metodologia científica: Determinação da atividade antioxidante total em frutas pelo método de redução do ferro (FRAP). Fortaleza: Embrapa, **Comunicado técnico online**, v. 125, 2006.

RUFINO, M. S. M.; ALVES, R. E.; BRITO, E. S.; MORAIS, S. M.; SAMPAIO, C. G.; PÉREZ-JIMÉNEZ, J.; SAURA-CALIXTO, F. D. Metodologia científica: Determinação da atividade antioxidante total em frutas pela captura do radical livre ABTS. Fortaleza: Embrapa, **Comunicado técnico online**, v. 128, 2007.

SANCHEZ-GONZALEZ, L.; VARGAS, M.; GONZÁLEZ-MARTÍNEZ, C.; CHIRALT, A.; CHÁFER, M. Use of essential oils in bioactive edible coatings. **Food Engineering Reviews**, v. 3, p. 1–16.

SCHLEMMER, D.; SALES, M. J.; RESCK, I. S. Preparação, Caracterização e Degradação de Blendas PS/TPS Usando Glicerol e Óleo de Buriti como Plastificantes. **Polímeros, Ciência e Tecnologia**, v. 20, n. 1, p. 6-13, 2010.

SHEN, Z.; KAMDEM, D. P. Development and characterization of biodegradable chitosan films containing two essential oils. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 74, p. 289–296, 2015.

SHIMAZU, A. A.; MALI, S.; GROSSMANN, M. V. E. Efeito plastificante e antiplastificante do glicerol e do sorbitol em filmes biodegradáveis de amido de mandioca. **Ciências Agrárias**, v. 28, n.1, p. 79-88, 2007.

SINGLETON, V. L.; ROSSI, J. A. Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. **American Journal of Enology and Viticulture**, v.16, p.144-158, 1965.

SOUZA, A. G.; FERREIRA, R. R.; PAULA, L. C.; MITRA, S. K.; ROSA, D. S. Starch-based films enriched with nanocellulose-stabilized Pickering emulsions containing different essential oils for possible applications in food packaging. **Food Packaging and Shelf Life**, v. 27, p. 100615, 2021.

TEODORO, A. P.; MALI, S.; ROMERO, N.; DE CARVALHO, G. M. Cassava starch films containing acetylated starch nanoparticles as reinforcement: Physical and mechanical characterization. **Carbohydrate Polymers**, v. 126, p. 9–16, 2015.

UE Nº 10. EU 2016/1416. REGLAMENTO DE LA UNIÓN EUROPEA (UE) DE LA COMISIÓN de 14 de Janeiro de 2011 sobre materiales y objetos plásticos destinados a entrar en contacto con alimentos. Directives 80/590/EEC and 89/109/EEC. **Official Journal of the European Union (2004)**, p. L338/4, 2011.

YUN, D.; CAI, H.; LIU, Y.; XIAO, L.; SONG, J.; LIU, J. Development of active and intelligent films based on cassava starch and Chinese bayberry (*Myrica rubra* Sieb. et Zucc.) anthocyanins. **RSC Advances**, v. 9, n. 53, p. 30905–30916, 2019.

ZHAI, X.; LI, M.; ZHANG, R.; WANG, W.; HOU, H. Extrusion-blown starch/PBAT biodegradable active films incorporated with high retentions of tea polyphenols and the release kinetics into food simulants. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 227, n. October 2022, p. 851–862, 2023.

ZHOU, X.; YANG, R.; WANG, B.; CHEN, K. Development and characterization of bilayer films based on pea starch/polylactic acid and use in the cherry tomatoes packaging. **Carbohydrate Polymers**, v. 222, p. 114912, 2019.

## 7 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Foram produzidos filmes de amido *via casting* plastificados com diferentes proporções e tipos de plastificantes: isomalte e glicerol. Os filmes foram caracterizados e avaliados quanto o efeito dos plastificantes nas propriedades do filme e seu uso como indicador de frescor de pescado. Verificou-se que o tipo e proporção de plastificante e a presença do GSE influencia as propriedades dos filmes, desta forma, pode-se modular a composição do filme de acordo com a aplicação desejada.

O filme SIG70/30-GSE foi escolhido para ser utilizado na avaliação da atividade indicadora de pH de filmes GSE em peixes e determinação das bases voláteis, em que confirmou o potencial deste material para ser usado como indicador de frescor de peixe, apresentando a mudança de coloração no momento em que ocorre o aumento nos valores de bases voláteis totais, quando o peixe se torna impróprio para consumo.

Partículas de quitosana foram preparadas por gelificação iônica com diferentes reticulantes: TMFS e TPFS, a elas, foi incorporado OEO, a fim de serem adicionadas em matrizes poliméricas para serem usadas como embalagem ativa. As propriedades e a liberação de OEO dessas partículas foram estudadas. Verificou-se que o tipo de reticulante utilizado interfere nas propriedades das partículas e na liberação do OEO. As propriedades conferidas à essas partículas as tornam promissoras para serem utilizadas em embalagens ativas, sendo capazes de proteger a substância ativa no processamento por extrusão.

Filmes de amido/PBAT foram produzidos por extrusão multicamadas com adição de OEO livre e encapsulado em partículas de quitosana a fim de avaliar seu potencial para uso como embalagens biodegradáveis ativas/antioxidante. A presença das partículas de quitosana puras e encapsuladas com OEO afetou as propriedades físico-químicas, mecânicas, índice de cristalinidade e estabilidade térmica dos filmes. A quantificação dos compostos fenólicos e atividade antioxidante demonstrou maiores valores para as formulações com partículas de quitosana encapsuladas com OEO, comprovando o efeito protetor da encapsulação. Os estudos realizados indicam que filmes de amido/PBAT e partículas de quitosana encapsuladas com OEO apresentam potencial para serem utilizados em embalagens

biodegradáveis ativas, em que as partículas de quitosana atuam protegendo a substância ativa e mascarando o odor do OEO.