

**UNIVERSIDADE FEDERAL DA GRANDE DOURADOS
FACULDADE DE CIÊNCIAS EXATAS E TECNOLOGIAS**

ISABELLE MOREIRA SOUZA FERREIRA

**DESENVOLVIMENTO DE FILMES BIOPOLIMÉRICOS COMESTÍVEIS
CONTENDO QUITOSANA OBTIDA A PARTIR DE ESCAMAS DE PEIXE
(*Oreochromis niloticus*)**

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO EM CIÊNCIA E TECNOLOGIA AMBIENTAL

DOURADOS/MS

2024

ISABELLE MOREIRA SOUZA FERREIRA

**DESENVOLVIMENTO DE FILMES BIOPOLIMÉRICOS COMESTÍVEIS
CONTENDO QUITOSANA OBTIDA A PARTIR DE ESCAMAS DE PEIXE
(*Oreochromis niloticus*)**

Dissertação de mestrado submetida ao programa de pós-graduação em Ciência e Tecnologia Ambiental, como um dos requisitos necessários para a obtenção do título de mestre em Ciência e Tecnologia na área de concentração em Ciência Ambiental.

Orientador: Prof. Dr. Marcelo Fossa da Paz

DOURADOS/MS

2024

Dedico este trabalho à memória de minha querida avó, Ivone Moreira de Souza. Seu notável exemplo de humildade, humanidade e amor foi uma constante orientação em minha vida, sempre me guiando pelo caminho correto e incentivando minha dedicação aos estudos e busca pelo conhecimento.

AGRADECIMENTOS

Agradeço,

Ao Prof. Dr. Marcelo Fossa da Paz, pela orientação, apoio e companheirismo.

Aos colegas de laboratório, em especial à Rafaela, Asser, Évilon, Henry e João, pela companhia, convívio e companheirismo.

A todo o grupo de pesquisa BioEng, coordenado pelo Prof. Dr. Gustavo Graciano Fonseca.

A todos os professores e técnicos da UFGD que auxiliaram na realização das análises e interpretação dos resultados.

Aos amigos, Bruna, Carine, Gabriela, Jasna, Marianna, Tamara e Zach, pelo incentivo, palavras gentis e cada gesto de amizade. Com vocês, a minha jornada é mais colorida e leve.

À FUNDECT, pelo apoio financeiro.

LISTA DE TABELAS E ILUSTRAÇÕES

Tabela 1. Descrição dos tratamentos feitos, com seus componentes e tipo de ligação química.....	31
Tabela 2. Coloração (CIE-Lab) e opacidade das amostras de filmes biopoliméricos.....	38
Tabela 3. Resistência a tração, alongação e espessura das amostras de filmes biopoliméricos.....	42
Tabela 4. PVA e solubilidade em água das amostras de filmes biopoliméricos.....	45
Tabela 5. Tempo total de biodegradação em solo das amostras de filmes biopoliméricos.....	48
Tabela 6. Espectros de emissão de fluorescência das amostras de filmes biopoliméricos.....	49

Capítulo 2:

Figura 1. Estruturas químicas da quitina e quitosana.....	14
Figura 2. Representação esquemática das três formas polimórficas da quitina.....	15
Figura 3. Extração de alginato de algas marrons e conversão por método alcalino em alginato de sódio.....	16
Figura 4. Estrutura molecular do alginato de sódio.....	17
Figura 5. Representação esquemática da dissociação da curdlana em diferentes temperaturas (25 a 90 °C).....	18

Capítulo 3:

Figura 1. Amostras de filmes biopoliméricos enterradas em solo LRa2, com suas localizações sinalizadas.....	34
Figura 2. Comparação das médias de valores de resistência à tração (RT) das amostras de biopolímeros de alginato de sódio e goma curdlana.....	40
Figura 3. Comparação das médias de valores de alongação das amostras de biopolímeros de alginato de sódio e goma curdlana.....	41
Figura 4: Interação iônica entre o cálcio e o alginato.....	43
Figura 5. Ligação covalente entre alginato e quitosana com glutaraldeído.....	44

Figura 6. Amostras dos filmes biopoliméricos de goma curdlana no início (A) e fim (B) da análise de biodegradação em solo LRa2.....	46
Figura 7. Amostras dos filmes biopoliméricos de alginato de sódio no início (A) e fim (B) da análise de biodegradação em solo LRa2.....	46

RESUMO

A quitosana pode ser associada a outros biopolímeros, como o alginato de sódio e a goma curdlana, para a formação de filmes biopoliméricos com características aperfeiçoadas. O objetivo do trabalho foi o desenvolvimento e caracterização de filmes biopoliméricos comestíveis contendo quitosana obtida a partir de escamas de peixe (*Oreochromis niloticus*), para futuro uso como invólucro de alimentos embutidos como salame e linguiça. Para a formação dos filmes foram realizados 18 tratamentos com 0,8 g de quitosana e 1 g, 1,6 g, 2 g de alginato e goma curdlana. As amostras foram caracterizadas quanto a sua coloração (CIELAB), opacidade, resistência à tração (RT), alongação, espessura, biodegradação em solo, permeabilidade ao vapor d'água, solubilidade em água e fluorescência. Os filmes apresentaram pequenas diferenças em sua coloração, sendo as amostras de alginato de sódio mais amareladas. Quanto a RT, a amostra AG2 foi a mais resistente, com um resultado de $7.85E-04$ MPa. A amostra AC1,6 obteve a maior alongação, com 25,56%. De acordo com a regressão linear calculada, observou-se que os biofilmes estarão completamente degradados de um a dois anos, com resultados variando entre 101 e 696 dias. A adição dos *cross-linkers* glutaraldeído e cloreto de cálcio nas amostras de alginato deixaram estas mais permeáveis ($138,896 \text{ g.mm.dia}^{-1}.\text{kPa}^{-1}.\text{m}^{-2}$), devido às forças de ligação iônica entre os grupos COO^- e Ca^{2+} . Mesma interação que deixa-os menos solúvel (38,19%) e promove a rápida geleificação e encurtamento. Todas as amostras apresentaram opacidade acima de 40%, o que indica uma melhor proteção UV. Isso se confirma na fluorescência, onde todas as amostras apresentaram pico na região de 500 nm, o que indica que a energia é absorvida na região de luz UV.

Palavras-chave: Biopolímeros; alginato de sódio; polissacarídeos; embalagens comestíveis; alimentos embutidos.

ABSTRACT

Chitosan can be combined with other biopolymers, such as sodium alginate and curdlan gum, to form biopolymeric films with enhanced characteristics. The aim of this study was to develop and characterize edible biopolymeric films containing chitosan obtained from fish scales (*Oreochromis niloticus*) for future use as a packaging material for processed meats like salami and sausage. To form the films, 18 treatments were conducted using 0.8 g of chitosan combined with 1 g, 1.6 g, and 2 g of alginate and curdlan gum. The samples were characterized for color (CIELAB), opacity, tensile strength (TS), elongation, thickness, biodegradation in soil, water vapor permeability, water solubility, and fluorescence. The films showed slight differences in color, with the sodium alginate samples being more yellowish. In terms of TS, the AG2 sample was the most resistant, with a result of $7.85\text{E-}04$ MPa. The AC1.6 sample exhibited the highest elongation at 25.56%. According to the calculated linear regression, it was observed that the biofilms would be completely degraded within one to two years, with results varying between 101 and 696 days. The addition of cross-linkers glutaraldehyde and calcium chloride to the alginate samples made them more permeable ($138.896 \text{ g.mm.day}^{-1}.\text{kPa}^{-1}.\text{m}^{-2}$) due to ionic bonding forces between the COO^- groups and Ca^{2+} . This same interaction made them less soluble (38.19%) and promoted rapid gelation and shortening. All samples showed opacity above 40%, indicating better UV protection. This is confirmed by the fluorescence data, where all samples exhibited a peak in the 500 nm region, indicating that energy is absorbed in the UV light region.

Keywords: Biopolymers; sodium alginate; polysaccharides; edible packaging; embedded foods.

SUMÁRIO

Capítulo 1	11
1. INTRODUÇÃO GERAL	11
1.1 INTRODUÇÃO E JUSTIFICATIVA	11
1.2 ESTRUTURA DO TRABALHO.....	12
1.3 OBJETIVOS.....	12
 Capítulo 2	14
2. REVISÃO DE LITERATURA.....	14
2.1 Quitosana	14
2.1.1 Obtenção da Quitosana.....	15
2.1.2 Características da Quitosana	15
2.2 Alginato de sódio.....	16
2.3 Goma Curdlana.....	17
2.4 Biopolímeros e sua aplicação na indústria alimentícia.....	19
3. REFERÊNCIAS.....	21
 Capítulo 3	26
RESUMO.....	26
ABSTRACT.....	27
1. INTRODUÇÃO	28
2. MATERIAL E MÉTODOS.....	29
2.1 Obtenção da quitosana.....	29
2.2 Obtenção dos filmes biopoliméricos.....	30
2.3 Avaliação subjetiva dos filmes biopoliméricos.....	31
2.4 Espessura.....	32
2.5 Colorimetria e Opacidade.....	32
2.6 Resistência a tração (RT) e Elongação.....	32
2.7 Permeabilidade ao vapor de água (PVA).....	33
2.8 Biodegradação em solo.....	33
2.9 Solubilidade em água.....	35
2.10 Fluorescência.....	35
2.11 Análise Estatística.....	35

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	36
3.1 Avaliação subjetiva dos filmes biopoliméricos.....	36
3.2 Colorimetria e Opacidade.....	36
3.3 Resistência à tração, Elongação e Espessura.....	39
3.4 PVA e solubilidade em água.....	42
3.5 Biodegradação.....	45
3.6 Fluorescência.....	48
4. CONCLUSÃO.....	50
5. REFERÊNCIAS.....	51
APÊNDICE 1.....	55

Capítulo 1

1. INTRODUÇÃO GERAL

1.1 INTRODUÇÃO E JUSTIFICATIVA

Desde a sua popularização no século XIX, o plástico derivado de petróleo vem sendo utilizado como principal forma de embalagem para alimentos (Priyadarshi; Rhim, 2020), porém o uso indiscriminado desses materiais tem causado sérios problemas ambientais, como a poluição de oceanos e impacto na vida marinha.

Como alternativa a estes polímeros, surgem os biopolímeros, que têm chamado a atenção quando utilizados como embalagens para alimentos, por sua excelente biocompatibilidade, biodegradabilidade e atividade antimicrobiana (Gan *et al.*, 2022).

Os biopolímeros podem ser obtidos de diversas fontes naturais e renováveis, como plantas (celulose, amido), crustáceos e peixes (quitina que ao ser deacetilada gera a quitosana), microrganismos (gomas curdlana, dextrana e xantana) e algas (alginato) (Shiekh *et al.*, 2022; Rostami *et al.*, 2019). Esses materiais podem ser combinados, entre si e com outros compostos, para a produção de biopolímeros com características atraentes às diferentes indústrias e aplicações.

A quitina é o segundo mais abundante biopolímero disponível na natureza, atrás apenas da celulose (El Knidri *et al.*, 2018). A principal fonte utilizada atualmente para extração de quitina é o exoesqueleto de crustáceos, mas estudos recentes vêm apontando o exoesqueleto de insetos (Triunfo *et al.*, 2022; Hahn *et al.*, 2020) e escamas de peixe (Gapsari *et al.*, 2022) como alternativa. Dentre as características mais atraentes da quitosana estão suas propriedades formadoras de filme e gel, atividade antimicrobiana, biocompatibilidade, floculação e biodegradação, como descrito por Priyadarshi e Rhim (2020), porém o hidrogel resultante não possui propriedades mecânicas específicas e não é adequado para algumas aplicações. O gel de quitosana se apresenta quebradiço e é instável em condições ácidas, pois uma interação repulsiva entre grupos amina protonados presentes em cadeias poliméricas leva à ruptura da rede do gel (Afra *et al.*, 2024).

Como forma de melhorar as propriedades da quitosana, é possível utilizar agentes *cross-linkers* que pode ser fisicamente automontado com ação da temperatura ou pH ou reticulado usando agentes químicos ou iônicos que em geral é uma interação não covalente entre o polímero e o agente de carga oposta como o glutaraldeído, e agentes plastificantes como a glicerina (Afra *et al.*, 2024; Osmani *et al.*, 2021). Um *cross-linker* é uma molécula que ajuda no estabelecimento de uma ligação cruzada, iônica ou covalente, entre duas cadeias

poliméricas, alterando as suas propriedades e tornando o material resultante aplicável a diferentes objetivos (Priyadarshi; Rhim, 2020).

Já a adição de agentes plastificantes como a glicerina, ajuda na melhora da flexibilidade do polímero principal (como a quitosana). A glicerina é o agente plastificante mais utilizado em filmes de quitosana (Priyadarshi; Rhim 2020), conferindo a esse filme melhores propriedades mecânicas que são desejáveis quando trata-se de biopolímeros para uso como embalagens de alimentos e invólucro de embutidos.

Dada a crescente necessidade de alternativas ecologicamente corretas para a produção de materiais que substituam o plástico derivado de petróleo e a importância da exploração de fontes renováveis para esses materiais, em concordância com os 17 Objetivos do Desenvolvimento Sustentável, propostos pela ONU em 2015 como forma de incentivar pesquisas que corroborem com o alcance desses objetivos até 2030 (Nações Unidas, 2015), o presente trabalho se justifica pela avaliação de biopolímeros com potencial de utilização como embalagem para alimentos utilizando quitosana derivada de escamas de peixe, o que impulsiona a bioeconomia circular e diminui a formação de resíduos sólidos que seriam descartados no meio ambiente.

1.2 ESTRUTURA DO TRABALHO

Após a Introdução Geral (Capítulo 1), a estruturação do trabalho seguiu o seguinte padrão:

Capítulo 2: Revisão de Literatura;

Capítulo 3: Artigo - **Desenvolvimento de filmes biopoliméricos comestíveis contendo quitosana obtida a partir de escamas de peixe (*Oreochromis niloticus*)**.

1.3 OBJETIVOS

Objetivos Gerais:

- Desenvolver e caracterizar filmes biopoliméricos comestíveis de alginato de sódio e quitosana derivada de escamas de peixes para uso na indústria alimentícia;
- Desenvolver e caracterizar filmes biopoliméricos comestíveis de goma curdlana e quitosana derivada de escamas de peixes para uso na indústria alimentícia.

Objetivos Específicos:

- Otimizar as combinações entre os biopolímeros alginato e goma curdlana visando obter filmes com características físicas com potencial de aplicação na indústria de alimentos.

- Verificar se ligações com agentes reticulantes (*cross-linkers*) estabelece melhor estrutura para os filmes biopoliméricos melhorando suas características industriais.
- Determinar se a adição de quitosana nos filmes a base de alginato e curdlana traz alguma melhoria estrutural ou funcional nos filmes.

Capítulo 2

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Quitosana

A quitosana é um polímero natural proveniente da deacetilação da quitina, que é um polissacarídeo, rico em grupos amino e hidroxila, e o segundo mais abundante biopolímero presente na natureza, atrás apenas da celulose (Vedula; Yadav, 2021).

Como pode ser observado na Figura 1, a quitina é um polissacarídeo linear, consistido de ligações β -(1 $\rightarrow$ 4) de unidades 2-acetamido-2-deoxi- β -D-glucopiranosose e parcialmente de ligações β -(1 $\rightarrow$ 4) de unidades 2-amino-2-deoxi- β -D-glucopiranosose (El Knidri *et al.*, 2018).

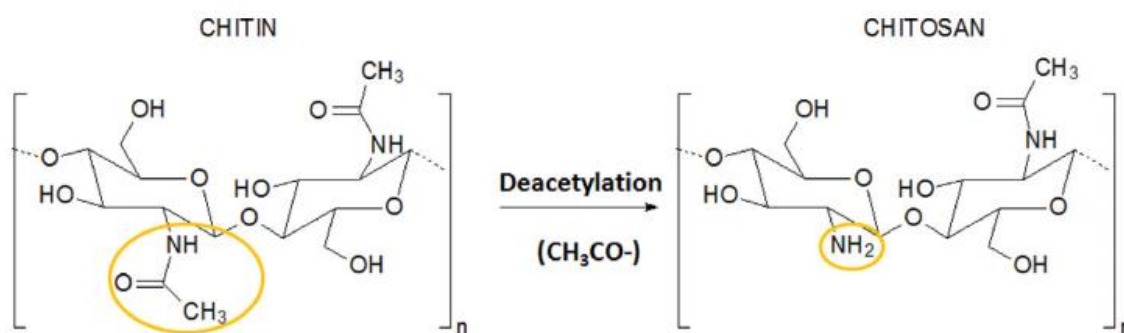


Figura 1. Estruturas químicas da quitina e quitosana (Muxika *et al.*, 2017).

Atualmente a fonte mais explorada de quitina/quitosana é o exoesqueleto de crustáceos, mas outras fontes como insetos e escamas de peixe também já estão sendo exploradas, como feito por Psarianos *et al.* (2022) e Gapsari *et al.* (2022). A quitina é também encontrada na vasta maioria de fungos, algas verdes, paredes celulares e leveduras (El Knidri *et al.*, 2018).

Dependendo de sua fonte, a quitina pode se configurar em três principais formas poliméricas. São elas: α -quitina (organizada em células monoclinicas), β -quitina (organizada em células ortorombicas) e γ -quitina (combinação das formas anteriores). A forma mais abundante e estável é a α -quitina (El Knidri *et al.*, 2018). As representações esquemáticas podem ser vistas na Figura 2.



Figura 2. Representação esquemática das três formas polimórficas da quitina (El Knidri *et al.*, 2018).

2.1.1 Obtenção da Quitosana

A quitosana é obtida pela deacetilação dos grupos N-acetil-D-glucosamina em D-glucosamina. O peso molecular e o grau de deacetilação são dependentes da fonte de onde é extraída a quitosana, podendo o último influenciar nas características físico-químicas, reológicas, e aparência do polissacarídeo, além de impactar a bioatividade e toxicidade do mesmo (Días-Montes; Castro-Muñoz, 2021).

O grau de deacetilação da quitosana produzida pelo método químico (alcalino) vai depender do tempo de reação, temperatura, e concentração da solução alcalina utilizada. Esse processo nunca é completo, portanto a quitosana obtida terá graus de deacetilação diferentes (Priyadarshi; Rhim, 2020).

A quitosana é solúvel em soluções aquosas ácidas de pH abaixo de 6 (Sikorski *et al.*, 2021) e insolúvel em soluções neutras ou alcalinas. Essa solubilidade envolve a protonação dos grupos amina e, por esta característica, a quitosana tem sido utilizada como carreador de medicamentos até o estômago (Martău *et al.*, 2019).

2.1.2 Características da Quitosana

Suas características de biocompatibilidade, biodegradabilidade, atividade antimicrobiana, não-toxicidade, baixo custo de obtenção, versatilidade, dentre outras descritas por vários estudos, proporcionam à quitosana uma grande popularidade para estudos e desenvolvimento de novos produtos e tecnologias utilizando este polímero natural.

É válido ressaltar exemplos da versatilidade desse polímero, como a aplicação ambiental de nanotubos de quitosana e carbono para a eliminação de poluentes da água, controle da poluição do ar e remediação do solo (Wang *et al.*, 2023). Há também muitas aplicações na área médica, descritas por Martău *et al.* (2019), que envolvem o uso da quitosana, por sua bioadesividade, na administração de medicações que são específicas a certas regiões, como mucosa bucal, intestino delgado e estômago.

2.2 Alginato de sódio

O alginato é um polissacarídeo aniônico não-ramificado, extraído da parede celular de algas marrons e purificado por tratamento com solução alcalina (usando hidróxido de sódio), sendo então convertido em alginato de sódio. O alginato é muito poroso, o que confere a ele a característica de ser muito permeável à água (Saberri Riseh *et al.*, 2022). Uma esquematização da extração de alginato de sódio a partir de algas marrons pode ser observada na Figura 3.

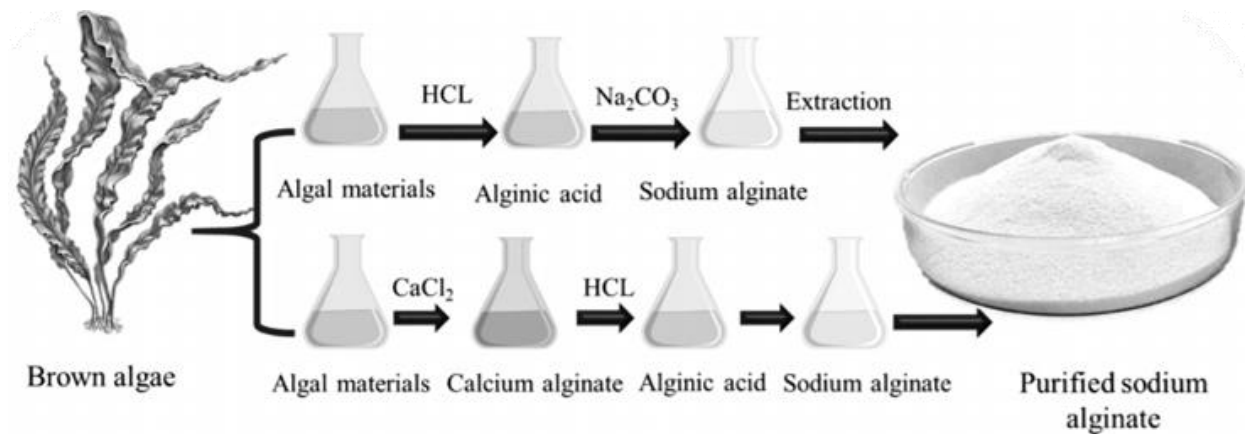


Figura 3. Extração de alginato de algas marrons e conversão por método alcalino em alginato de sódio. Adaptado de: Saberri Riseh *et al.*, 2022.

Como descrito por Kocira *et al.* (2021) e diversos outros autores, o alginato pode formar filmes fortes e estruturas fibrosas apropriadas, devido a sua estrutura linear. É, por isso, considerado um ótimo material filmogênico.

Kocira *et al.* (2021) ainda esclarece que o alginato consiste de diversas proporções, arranjos e pesos moleculares de ácido D-manurônico (M) e ácido L-gulurônico (G). As propriedades do alginato são dependentes de todos os fatores citados e, se a proporção M/G for <1 o gel possui maior quantidade de ácido gulurônico (capazes de formar ligações mais fortes), mas se a proporção for >1 o gel detém menos ácido gulurônico e uma estrutura mais flexível. Na Figura 4 observa-se a estrutura molecular do alginato de sódio.

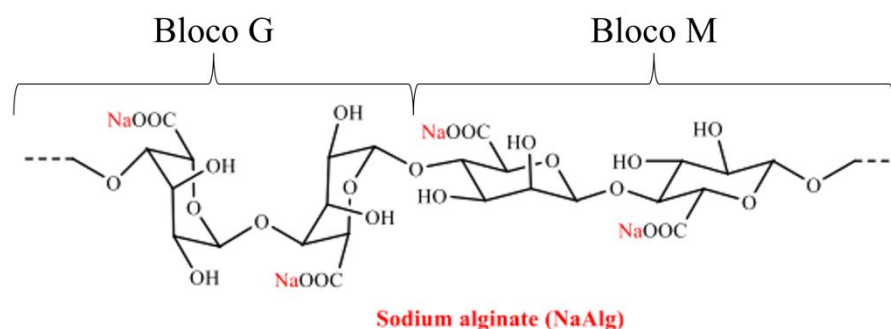


Figura 4. Estrutura molecular do alginato de sódio. Adaptado de: Wang *et al.*, 2023.

Devido à sua forte afinidade por íons metálicos (como o íon Ca^{2+}), o alginato tem sido utilizado de diversas formas como adsorvente para remoção de metais pesados presentes no meio ambiente, como foi amplamente descrito por Wang *et al.* (2023). Esta mesma característica permite que o alginato seja utilizado na formação de filmes poliméricos e coberturas para preservação e aumento da vida de prateleira de diversos alimentos (Kocira *et al.*, 2021).

Alginato de sódio solúvel em água é o mais utilizado na elaboração de coberturas e filmes biopoliméricos, sendo necessária a adição de íons divalentes (Ca^{2+}), que formam pontes bivalentes de sal devido à ligação de íons cálcio aos blocos de alginato, reduzindo assim a sua solubilidade em água (Alharaty; Ramaswamy, 2020; Senturk Parreidt *et al.*, 2018).

2.3 Goma Curdlana

Curdlana é um polissacarídeo linear composto de resíduos de glucose ligados por ligações glicosídicas β -1,3, e é um polissacarídeo extracelular sintetizado pela bactéria *Alcaligenes faecalis* (Maeda *et al.* 1967; Xiao *et al.* 2017), mas também por outras espécies como *Agrobacterium* sp., *Rhizobium* sp., *Gluconacetobacter xylinus*, *Bacillus cereus*, entre outros microrganismos (Verma *et al.*, 2020; Yuan *et al.*, 2021).

Esse hidrocoloide tem uma estrutura molecular de tripla hélice, podendo ser facilmente reconhecida por macrófagos e outras células do sistema imune, levando ao aumento da imunidade. Por isso está sendo muito utilizada em aplicações farmacêuticas (Jindal; Khattar, 2018; Yuan *et al.*, 2021).

Para a formação de géis, quando aquecida a 55-60 °C e resfriada, um gel reversível de baixa viscosidade é formado, similar ao ágar. No entanto, quando a temperatura de aquecimento é 80 °C ou mais, é formado um gel irreversível devido ao desmanche da tripla

hélice da curdlana (Yuan *et al.*, 2021). Uma esquematização da tripla hélice da curdlana e seu comportamento às diferentes temperaturas de aquecimento pode ser vista na Figura 5.

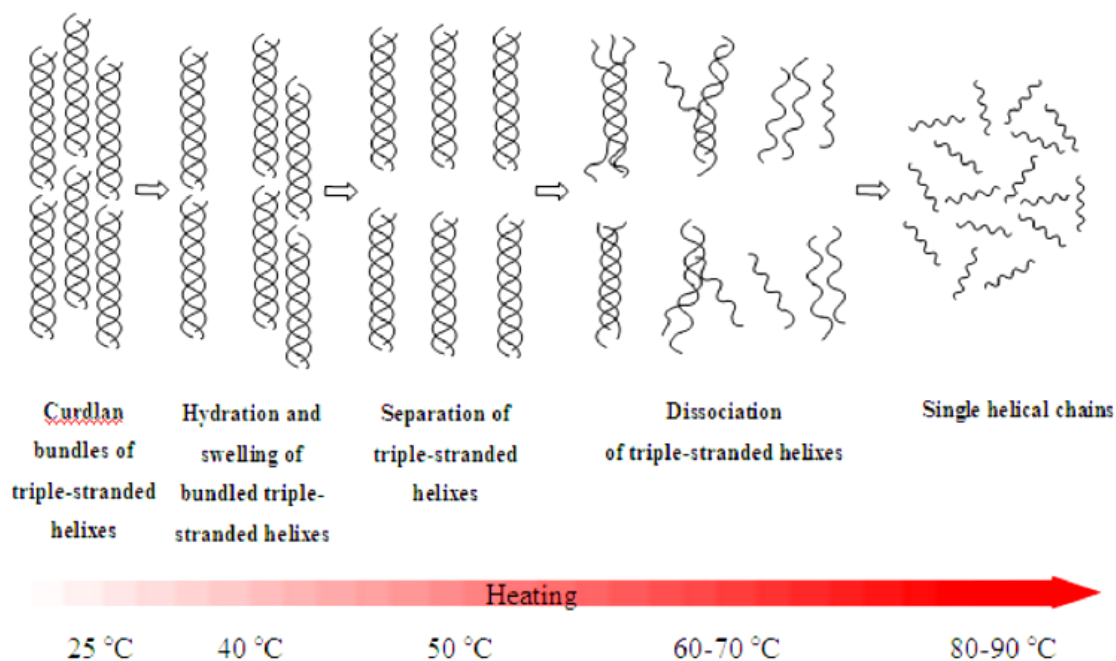


Figura 5. Representação esquemática da dissociação da curdlana em diferentes temperaturas (25 a 90 °C) (Xiao *et al.*, 2017)

Mohsin *et al.* (2020) e outros estudos e autores mencionam que a combinação de curdlana com gelatina de peixe e curdlana com quitosana tem tido sucesso e mostrado resultados como a melhora de estabilidade termal e propriedades de resistência à água.

A goma curdlana tem numerosas aplicações em diversas áreas. Valizadeh *et al.* (2023) adsorveram com êxito antibióticos em água, aplicando-se uma força magnética. A adsorção é mais favorável em temperaturas mais altas. Já Mohsin *et al.* (2020) combinaram goma xantana e goma curdlana em um novo filme comestível para aplicação como embalagem de alimentos e encontraram uma forte ligação de hidrogênio intermolecular entre as duas gomas utilizadas, que proporcionou aos filmes uma elevada resistência à tração.

Mangolim *et al.* (2017) avaliaram a capacidade espessante para iogurte da curdlana extraída de uma cepa de *Agrobacterium* sp. e menciona como a baixa solubilidade da curdlana deve-se à grande quantidade de pontes de hidrogênio intra/intermoleculares no polímero, mostrando que o polissacarídeo interage mais com a própria estrutura do que com a água.

2.4 Biopolímeros e sua aplicação na indústria alimentícia

A embalagem é um ramo essencial na produção de alimentos, já que conserva o alimento de fatores externos, como radiação UV, oxigênio e outros fatores que favorecem a degradação do alimento e interferem na sua validade (Xue *et al.* 2023).

Os biopolímeros entraram nesse cenário devido à grande demanda por tecnologias mais limpas e ecologicamente corretas, já que atualmente os polímeros mais utilizados como embalagens de alimentos são derivados de petróleo e, portanto, contribuem com a utilização de combustíveis fósseis.

Dentre muitas características atraentes dos biopolímeros, destaca-se sua possibilidade de ser comestível, biodegradável, não-tóxico e biocompatível. Estes biopolímeros são assim chamados por terem sua origem em plantas, animais e microrganismos. Alguns exemplos de biopolímeros que têm sido mais estudados são: quitosana, quitina, colágeno, alginato de sódio, ágar e carragena (Xue *et al.* 2023).

Quando produzidos como filmes, que são materiais usados para proteger o alimento ou servir de invólucro para produtos embutidos (como salame e linguiça), os biopolímeros proporcionam aumento da vida de prateleira dos produtos, alguns oferecem proteção antimicrobiana e agem como uma barreira natural comestível que controla a transferência de umidade, oxigênio, lipídeos e sabor em sistemas alimentares (Purewal *et al.*, 2024; Alharaty; Ramaswamy, 2020) proporcionando numerosas possibilidades de combinações visando diferentes aplicações na indústria.

Além das características e vantagens já citados, alguns biopolímeros também oferecem a possibilidade de ter nutrientes incorporados à sua matriz (Kocira *et al.*, 2021) o que, consequentemente, gera um alimento mais seguro e nutritivo, além de diminuir o descarte de plásticos/polímeros sintéticos que irão transformar-se em micro-plásticos e impactar a vida no planeta, gerando diversos riscos à saúde.

O método mais popular de fabricação de biopolímeros é por *casting* (fusão por solventes). Como descrito por Basiak *et al.* (2012) e citado por Kocira *et al.* (2021), neste método o filme comestível é obtido pela remoção dos solventes utilizados no preparo da solução formadora de filme. As macromoléculas da solução (como a quitosana, alginato e goma curdlana) são dissolvidas em seus respectivos solventes e depois combinadas. Com a interação físico-química intermolecular dessas moléculas, uma estrutura contínua é estabelecida e, após secagem, o filme resultante é descolado da superfície onde a solução formadora de filme foi depositada.

O processo de formação de filmes por *casting* apresenta uma versatilidade única na produção de filmes planos com diferentes espessuras, de maneira análoga à fabricação de folhas de papel. Essa técnica não requer necessariamente a extrusão a quente, o que a torna uma opção viável para uma variedade de aplicações industriais proporcionando maior eficiência energética e maior facilidade na formação dos filmes (Chen; Roethe; Boccaccini, 2008). Além disso, o casting oferece a vantagem de produzir filmes com propriedades específicas, como transparência, resistência mecânica e barreira a gases, tornando-o ideal para embalagens flexíveis, revestimentos e filmes técnicos.

Existem numerosos estudos sobre biopolímeros, com variadas combinações. Ezati *et al.* (2023) revisaram a proteção UV de biopolímeros usados como embalagens de alimentos, listando diversos estudos que demonstram a elevada proteção que os biopolímeros conferem aos alimentos, protegendo-os contra a foto-oxidação e, conseqüentemente, conservando os alimentos frescos por mais tempo.

Mugnaini *et al.* (2024) desenvolveram filmes comestíveis de alginato/pululana, incorporados com extrato de bagaço de uvas, utilizados para preservação de alimentos. Os filmes apresentaram propriedades funcionais de atividade antimicrobiana e antioxidante, graças à incorporação do extrato de bagaço de uva. A eficácia dos resultados de propriedades antioxidantes deveu-se à quantidade de extrato e composição do filme.

Mangaraj *et al.* (2022) produziram filmes com o objetivo de substituir os atuais plásticos sintéticos, derivados de petróleo, como embalagens para alimentos. Seu estudo produziu e caracterizou filmes baseados em amido, mandioca e ácido poli-láctico (PLA), e puderam concluir que seu filme pode ser usado como um substituto biodegradável aos atuais polímeros sintéticos.

Oliveira da Silva *et al.* (2020), desenvolveram e caracterizaram filmes baseados em farinha de bocaiúva (*Acromonia aculeata*), que apresentaram características relevantes e desejáveis para serem considerados em usos como embalagem ou cobertura comestíveis.

Como foi possível constatar, os biopolímeros têm sido muito estudados como substitutos ecologicamente corretos e muitas vezes superiores aos polímeros sintéticos. Muitos estudos estão sendo feitos para avaliar suas características e tornar sua fabricação mais barata para o uso em escala industrial, banindo assim o uso de plásticos derivados de petróleo que apenas trazem danos à saúde animal e humana, e impactam o meio ambiente.

3. REFERÊNCIAS

- Afra, S.; Samadi, A.; Asadi, P.; Bordbar, M.; Iloukhani, M.; Rai, A.; Aghajanpour, M. Chitosan crosslinkers and their functionality in 3D bioprinting to produce chitosan-based bioinks, *Inorganic Chemistry Communications*, 168, 112842, 2024. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.inoche.2024.112842>.
- Alharaty, G.; Ramaswamy, H. S. The Effect of Sodium Alginate-Calcium Chloride Coating on the Quality Parameters and Shelf Life of Strawberry Cut Fruits. *Journal of Composites Science*. 4, 123. 2020. DOI: <https://doi.org/10.3390/jcs4030123>
- Basiak, E.; Galus, E.; Lenart, E. Starch films and coatings for food. *Food Industry* 66, 28–30. 2012.
- Chen, Q.; Roethe, J.A.; Boccaccini, A.R. Tissue Engineering Scaffolds from Bioactive Glass and Composite Materials. *Top. Tissue Eng.* 2008, 4, 1–27.
- Díaz-Montes, E.; Castro-Muñoz, R. Trends in Chitosan as a Primary Biopolymer for Functional Films and Coatings Manufacture for Food and Natural Products. *Polymers*. 13, 767. 2021. DOI: <https://doi.org/10.3390/polym13050767>
- El Knidri, H.; Belaabed, R.; Addaou, A.; Laajeb, A.; Lahsini, A. Extraction, chemical modification and characterization of chitin and chitosan. *International Journal of Biological Macromolecules*. 120, 1181-1189. 2018. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2018.08.139>
- Ezati, P.; Khan, A.; Priyadarshi, R.; Bhattacharya, T.; Tammina, S. K.; Rhim, J.-W. Biopolymer-based UV protection functional films for food packaging. *Food Hydrocolloids*. 142, 108771. 2023. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2023.108771>
- Gan L.; Jiang G.; Yang Y.; Zheng B.; Zhang S.; Li X.; Tian Y.; Peng B. Development and characterization of levan/ pullulan/ chitosan edible films enriched with ϵ -polylysine for active food packaging. *Food chemistry*. 388, 132989. 2022. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2022.132989>
- Gapsari, F.; Hidayatullah, S.; Setyarini, P. H.; Madurani, K. A.; Hermawan, H. Effectiveness of a fish scales-derived chitosan coating for corrosion protection of carbon steel. *Egyptian Journal of Petroleum*. 31, 25-31. 2022. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ejpe.2022.02.001>

Hahn, T.; Tafi, E.; Paul, A.; Salvia, R.; Falabella, P.; Zibek, S. Current state of chitin purification and chitosan production from insects. *Journal of Chemical Technology and Biotechnology*. 11, 10974660. 2020. DOI: <https://doi.org/10.1002/jctb.6533>

Kocira, A.; Kozłowicz, K.; Panasiewicz, K.; Staniak, M.; Szpunar-Krok, E.; Horthyńska, P. Polysaccharides as Edible Films and Coatings: Characteristics and Influence on Fruit and Vegetable Quality - A Review. *Agronomy*. 11, 813. 2021. DOI: <https://doi.org/10.3390/agronomy11050813>

Mangaraj, S.; Thakur, R. R.; Yadav, A. Development and characterization of PLA and Cassava starch-based novel biodegradable film used for food packaging application. *Journal of Food Processing and Preservation*. 46, e16314. 2022. DOI: <https://doi.org/10.1111/jfpp.16314>

Mangolim, C. S.; Silva, T. T.; Fenelon, V. C.; Koga, L. N.; Ferreira, S. B. S.; Bruschi, M. L.; Matioli, G. Description of recovery method used for curdlan produced by *Agrobacterium* sp. IFO 13140 and its relation to the morphology and physicochemical and technological properties of the polysaccharide. *PLoS ONE*. 12(2), e0171469. 2017. DOI: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0171469>

Martău, G. A.; Mihai, M.; Vodnar, D. C. The Use of Chitosan, Alginate, and Pectin in the Biomedical and Food Sector - Biocompatibility, Bioadhesiveness, and Biodegradability. *Polymers*. 11, 1837. 2019. DOI: <https://doi.org/10.3390/polym11111837>

Mohsin, A.; Zaman, W. Q.; Guo, M.; Ahmed, W.; Khan, I. M.; Niazi, S.; Rehman, A.; Hang, H.; Zhuang, Y. Xanthan-Curdan nexus for synthesizing edible food packaging films. *International Journal of Biological Macromolecules*. 162, 43-49. 2020. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2020.06.008>

Mugnaini, G.; Bonini, M.; Gentile, L.; Panza, O.; Del Nobile, M. A.; Conte, A.; Esposito, R.; D'Errico, G.; Moccia, F.; Panzella, L. Effect of design and molecular interactions on the food preserving properties of alginate/pullulan edible films loaded with grape pomace extract. *Journal of Food Engineering*. 361, 111716. 2024. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2023.111716>

Muxika A.; Etxabide A.; Uranga J.; Guerrero P.; de la Caba, K. Chitosan as a bioactive polymer: Processing, properties and applications. *International Journal of Biological*

Macromolecules. 105, 1358–1368. 2017. DOI:
<http://dx.doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2017.07.087>

Nações Unidas. Departamento de assuntos econômicos e sociais. Desenvolvimento Sustentável. *Os 17 Objetivos do Desenvolvimento Sustentável*. Disponível em: <https://sdgs.un.org/goals>

Oliveira da Silva, A.; Cortez-Vega, W.R.; Prentice, C.; Fonseca, G. G. Development and characterization of biopolymer films based on bocaiuva (*Acromonia aculeata*) flour. *International Journal of Biological Macromolecules*. 155, 1157-1168. 2020. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2019.11.083>

Osmani, R. A. M.; Singh, E.; Hani, U.; Chavan, S.; Kazi, H.; Menon, M. Bionanocomposite hydrogels for regenerative medicine and biomedical applications. In *Bionanocomposites in Tissue Engineering and Regenerative Medicine*. p. 91-118, 2021. Woodhead Publishing.

Priyadarshi R.; Rhim J.-W. Chitosan-based biodegradable functional films for food packaging applications. *Innovative food science and emerging technologies*. 62, 102346. 2020. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ifset.2020.102346>

Purewal, S.S.; Kaur, A.; Bangar, S.P.; Singh, P.; Singh, H. Protein-Based Films and Coatings: An Innovative Approach. *Coatings*. 14(1), 32. 2024. DOI: <https://doi.org/10.3390/coatings14010032>

Psarianos, M.; Ojha, S.; Schneider, R.; Schlüter, O. K. Chitin Isolation and Chitosan Production from House Crickets (*Acheta domesticus*) by Environmentally Friendly Methods. *Molecules*. 27, 5005. 2022. DOI: <https://doi.org/10.3390/molecules27155005>

Rostami, M.; Yousefi, M.; Khezerlou, A.; Aman Mohammadi, M.; Jafari, S.M. Application of different biopolymers for nanoencapsulation of antioxidants via electrohydrodynamic processes. *Food Hydrocolloid*. 97, 105170. 2019.

Saberi Riseh, R.; Hassanisaadi, M.; Vatankhah, M.; Soroush F.; Varma, R. S. Nano/microencapsulation of plant biocontrol agents by chitosan, alginate, and other important biopolymers as a novel strategy for alleviating plant biotic stresses. *International Journal of Biological Macromolecules*. 222, 1589–1604. 2022. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2022.09.278>.

Senturk Parreidt, T.; Muller, K.; Schmid, M. Alginate-Based edible films and coatings for food packaging applications. *Foods*. 7, 170. 2018.

Shiekh, K.A.; Liangpanth, M.; Luesuwan, S.; Kraisitthisirintr, R.; Ngiwngam, K.; Rawdkuen, S.; Rachtanapun, P.; Karbowiak, T.; Tongdeesoontorn, W. Preparation and characterization of bioactive chitosan film loaded with cashew (*Anacardium occidentale*) leaf extract. *Polymers*. 14, 540. 2022. DOI: <https://doi.org/10.3390/polym14030540>

Sikorski, D.; Gzyra-Jagiela, K.; Draczyński, Z. The Kinetics of Chitosan Degradation in Organic Acid Solutions. *Marine Drugs*. 19, 236. 2021. DOI: <https://doi.org/10.3390/md19050236>

Triunfo, M.; Tafi, E.; Guarnieri, A.; Salvia, R.; Scieuzo, C.; Hahn, T.; Zibek, S.; Gagliardini, A.; Panariello, L.; Coltelli, M. B.; De Bonis, A.; Falabella, P. Characterization of chitin and chitosan derived from *Hermetia illucens*, a further step in a circular economy process. *Scientific Reports*. 12, 6613. 2022. DOI: <https://doi.org/10.1038/s41598-022-10423-5>

Valizadeh, K.; Bateni, A.; Sojoodi, N.; Rafiei, R.; Behrooz, A. H.; Maleki, A. Preparation and characterization of chitosan-curdlan composite magnetized by zinc ferrite for efficient adsorption of tetracycline antibiotics in water. *International Journal of Biological Macromolecules*. 235, 123826. 2023. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2023.123826>

Vedula S. S.; Yadav G. D. Chitosan-based membranes preparation and applications: Challenges and opportunities. *Journal of the Indian Chemical Society*. 98, 100017. 2021. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jics.2021.100017>

Wang, X.; Tarahomi, M.; Sheibani, R.; Xia, C.; Wang, W. Progresses in lignin, cellulose, starch, chitosan, chitin, alginate, and gum/carbon nanotube (nano)composites for environmental applications: A review. *International Journal of Biological Macromolecules*. 241, 124472. 2023. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2023.124472>

Xiao, M.; Jiang, M.; Wu, K.; Yang, H.; Ni, X.; Yan, W.; Phillips, G. O.; Jiang, F. Investigation on curdlan dissociation by heating in water. *Food Hydrocolloids*. 70, 57-64. 2017. DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodhyd.2017.03.018>

Xue, W.; Zhu, J.; Sun, P.; Yang, F.; Wu, H.; Li, W. Permeability of biodegradable film comprising biopolymers derived from marine origin for food packaging application: A review.

Trends in Food and Science & Technology. 136, 295-307. 2023. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2023.05.001>

Yuan, M.; Fu, G.; Sun, Y.; Zhang, D. Biosynthesis and applications of curdlan. *Carbohydrate Polymers*. 273, 118597. 2021. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2021.118597>

Capítulo 3

DESENVOLVIMENTO DE FILMES BIOPOLIMÉRICOS COMESTÍVEIS CONTENDO QUITOSANA OBTIDA A PARTIR DE ESCAMAS DE PEIXE (*Oreochromis niloticus*)

RESUMO

A quitosana pode ser associada a outros biopolímeros, como o alginato de sódio e a goma curdlana, para a formação de filmes biopoliméricos com características aperfeiçoadas. O objetivo do trabalho foi o desenvolvimento e caracterização de filmes biopoliméricos comestíveis contendo quitosana obtida a partir de escamas de peixe (*Oreochromis niloticus*), para futuro uso como invólucro de alimentos embutidos como salame e linguiça. Para a formação dos filmes foram realizados 18 tratamentos com 0,8 g de quitosana e 1 g, 1,6 g, 2 g de alginato e goma curdlana. As amostras foram caracterizadas quanto a sua coloração (CIELAB), opacidade, resistência à tração (RT), alongação, espessura, biodegradação em solo, permeabilidade ao vapor d'água, solubilidade em água e fluorescência. Os filmes apresentaram pequenas diferenças em sua coloração, sendo as amostras de alginato de sódio mais amareladas. Quanto a RT, a amostra AG2 foi a mais resistente, com um resultado de 7.85E-04 MPa. A amostra AC1,6 obteve a maior alongação, com 25,56%. De acordo com a regressão linear calculada, observou-se que os biofilmes estarão completamente degradados de um a dois anos, com resultados variando entre 101 e 696 dias. A adição dos *cross-linkers* glutaraldeído e cloreto de cálcio nas amostras de alginato deixaram estas mais permeáveis ($138,896 \text{ g.mm.dia}^{-1}.\text{kPa}^{-1}.\text{m}^{-2}$), devido às forças de ligação iônica entre os grupos COO^- e Ca^{2+} . Mesma interação que deixa-os menos solúvel (38,19%) e promove a rápida geleificação e encurtamento. Todas as amostras apresentaram opacidade acima de 40%, o que indica uma melhor proteção UV. Isso se confirma na fluorescência, onde todas as amostras apresentaram pico na região de 500 nm, o que indica que a energia é absorvida na região de luz UV.

Palavras-chave: Biopolímeros; alginato de sódio; polissacarídeos; embalagens comestíveis; alimentos embutidos

ABSTRACT

Chitosan can be combined with other biopolymers, such as sodium alginate and curdlan gum, to form biopolymeric films with enhanced characteristics. The aim of this study was to develop and characterize edible biopolymeric films containing chitosan obtained from fish scales (*Oreochromis niloticus*) for future use as a packaging material for processed meats like salami and sausage. To form the films, 18 treatments were conducted using 0.8 g of chitosan combined with 1 g, 1.6 g, and 2 g of alginate and curdlan gum. The samples were characterized for color (CIELAB), opacity, tensile strength (TS), elongation, thickness, biodegradation in soil, water vapor permeability, water solubility, and fluorescence. The films showed slight differences in color, with the sodium alginate samples being more yellowish. In terms of TS, the AG2 sample was the most resistant, with a result of $7.85\text{E-}04$ MPa. The AC1.6 sample exhibited the highest elongation at 25.56%. According to the calculated linear regression, it was observed that the biofilms would be completely degraded within one to two years, with results varying between 101 and 696 days. The addition of cross-linkers glutaraldehyde and calcium chloride to the alginate samples made them more permeable ($138.896 \text{ g.mm.day}^{-1}.\text{kPa}^{-1}.\text{m}^{-2}$) due to ionic bonding forces between the COO^- groups and Ca^{2+} . This same interaction made them less soluble (38.19%) and promoted rapid gelation and shortening. All samples showed opacity above 40%, indicating better UV protection. This is confirmed by the fluorescence data, where all samples exhibited a peak in the 500 nm region, indicating that energy is absorbed in the UV light region.

Keywords: Biopolymers; sodium alginate; polysaccharides; edible packaging; embedded foods.

1. INTRODUÇÃO

Biopolímeros tem sido amplamente estudados como substitutos a polímeros sintéticos, e abundantes pesquisas mostram que estes são substitutos viáveis, devido a sua biodegradabilidade, biocompatibilidade, não-toxicidade, atividade antimicrobiana e proteção UV. Todas as características mencionadas, aliadas a capacidade dos biopolímeros de integrar nutrientes às suas matrizes, tornam-os candidatos ao uso como embalagens comestíveis de alimentos, aumentando a vida de prateleira do alimento e proporcionando nutrientes ao consumidor, sem contribuir com o desperdício de comida ou com a poluição do meio ambiente (Purewal *et al.*, 2024).

A quitosana, um polímero natural composto por ligações β -(1 $\rightarrow$ 4) de unidades 2-acetamido-2-deoxi- β -D-glucopirranose e parcialmente de ligações β -(1 $\rightarrow$ 4) de unidades 2-amino-2-deoxi- β -D-glucopirranose (El Knidri *et al.*, 2018), derivada da deacetilação da quitina, é um material amplamente estudado na atualidade como componente de diversos materiais para uso na indústria alimentícia.

Outros compostos, como o alginato de sódio, um polissacarídeo extraído de algas marrons (Xu *et al.*, 2022), e a goma curdlana, um polissacarídeo composto por 300 a 500 unidades de glucose ligadas por elos β -1,3-glicosídicos (Yuan *et al.*, 2021) podem ser associados à quitosana, por meio de interações físico-químicas e intermoleculares, para a formação de filmes biopoliméricos com características aperfeiçoadas (Kumar *et al.*, 2020).

Filmes e coberturas comestíveis tornaram-se muito populares devido à sua capacidade de manter alimentos frescos por mais tempo. Coberturas são definidas como uma fina camada comestível aplicada na superfície do alimento, enquanto o filme é um material que pode ser usado para embalar e acomodar o alimento (Alharaty; Ramaswamy, 2020).

Hamann *et al.*(2022) e Fakhouri *et al.*(2007) pontuam que os filmes tem a função de inibir ou reduzir a transferência de gases, umidade, aromas, e dióxido de carbono, funcionando como barreiras semi-permeáveis que preservam por mais tempo produtos cárneos, por exemplo, de sofrerem deterioração química promovida pela oxidação de lipídeos e proteínas, como mencionado por Umaraw *et al.* (2020).

Considerando os desafios atuais de obtenção de alternativas ao uso de polímeros sintéticos e derivados de petróleo, buscando-se embalagens comestíveis e ativas, o presente trabalho teve o objetivo de desenvolver e caracterizar filmes comestíveis, biodegradáveis e biocompatíveis a serem usados como invólucro para alimentos embutidos, como salame e linguiça.

2. MATERIAL E MÉTODOS

Quitosana extraída de resíduo de pescado, ácido acético glacial P.A. (Neon Comercial Reagentes Analíticos Ltda., Suzano-SP, Brasil), alginato de sódio P.A. (Dinâmica Química Contemporânea Ltda., Indaiatuba-SP, Brasil), goma curdlana comercial em pó (China), Glicerina P.A.-A.C.S. (LabSynth Produtos para Laboratórios Ltda. Diadema-SP, Brasil), solução glutaraldeído 25% P.S. (Êxodo Científica Química Fina Indústria e Comércio Ltda., Sumaré-SP, Brasil) e cloreto de cálcio P.A. (Dinâmica Química Contemporânea Ltda., Indaiatuba-SP, Brasil) foram utilizados na obtenção das soluções formadoras de filmes biopoliméricos.

Para o processo de deacetilação da quitina e obtenção da quitosana, foram utilizados: micropérolas de hidróxido de sódio P.A.-A.C.S. (Sciavicco Comércio e Indústria Ltda., Belo Horizonte-MG, Brasil), escamas de peixe obtidas do Frigorífico Mar&Terra Indústria e Comércio de Pescados Ltda., localizado na cidade de Itaporã-MS-Brasil, e ácido acético glacial P.A. (Neon Comercial Reagentes Analíticos Ltda., Suzano-SP, Brasil).

2.1 Obtenção da quitosana

A obtenção de quitosana foi realizada através da deacetilação (remoção dos grupos acetila (COCH_3)) da quitina, sendo que as escamas, foram obtidas da empresa MAR & TERRA, transportadas até os Laboratórios de Bioengenharia, sendo lavadas e levadas a secagem em estufa à temperatura de 100°C por 24 horas, em seguida moídas em moinhos de facas para obtenção de um pó fino.

Para este estudo, foi utilizado o método químico alcalino para obtenção da quitosana, que consiste na deacetilação (remoção dos grupos acetila (COCH_3)) da quitina, um processo que nunca é completo e, portanto, a quitosana obtida tem diferentes graus de deacetilação (Priyadarshi; Rhim, 2020; Abdulkarim et.al., 2013).

A extração de quitosana foi feita com metodologia adaptada de Gapsari et.al (2022). O pó foi misturado a uma solução 50% de NaOH e levado à autoclave por 1 hora a 111°C . Após esse procedimento, foi feita a filtração utilizando papel filtro qualitativo (gramatura 80 g/m^2) com poros de $14\text{ }\mu\text{m}$ e bomba de hidrovácuo (Quimis Q355J) até lavagem completa com água destilada (saída da água completamente transparente). O resíduo sólido foi então seco em estufa a 50°C por 24 horas para depois ser ressuspensionado em água destilada para a neutralização do pH (pHmetro Quimis Q400AS).

Com o pH neutralizado, a solução foi novamente filtrada e o resíduo sólido foi seco em estufa a 50 °C por 24 horas para ser então adicionado a uma solução 10% de ácido acético (CH₃COOH), onde a quitosana é solubilizada.

A mistura foi incubada em shaker, à temperatura ambiente por 48 horas, para a solubilização da quitosana na solução de ácido acético (CH₃COOH). Posteriormente, essa mistura foi novamente filtrada e o pH da solução foi neutralizado para que a quitosana solubilizada precipitasse, possibilitando a separação do precipitado que foi seco em estufa e armazenado em recipiente de vidro, com fechamento hermético e em local seco e sem exposição ao sol até o uso.

2.2 Obtenção dos filmes biopoliméricos

O método utilizado para a formação dos filmes biopoliméricos foi o de *casting*, como descrito por Priyadarshi & Rhim (2020) e Shankar & Rhim (2018), e consiste de nove etapas: dissolução da quitosana em ácido fraco, adição de outros compostos como cross-linkers, plastificantes e outros polímeros, homogeneização da solução por 10 minutos, eliminação das bolhas de ar, despejo da solução em superfície plana, secagem, descolamento dos filmes e armazenagem.

Foram dissolvidos 0,8 g de quitosana em 20 mL de ácido acético a 10%. Ocorreu então a adição dessa solução em um béquer contendo 80 mL de água destilada e 1 g, 1,6 g ou 2 g de alginato de sódio P.A. (fundido a 60 °C) ou goma curdlana (fundida a 80 °C).

A solução foi cuidadosamente misturada utilizando agitador mecânico (Quimis Q235) até a completa homogeneização dos compostos, mantendo a temperatura de fusão do alginato de sódio ou da goma curdlana. Foram adicionados 600 µL de glicerina (agente plastificante) e, quando necessário, 1 mL de glutaraldeído 25% P.S. (*cross-linker*), ou CaCl₂ (*cross-linker*) borrifado sobre a solução formadora de filme, já na placa.

A solução formadora de filme foi despejada em placa de Petri descartável e estéril, medindo 150x15 cm. As placas foram deixadas para secagem na bancada por 24 horas e depois levadas à estufa (28 °C) por 24 horas. Foi feito o descolamento dos filmes das placas e armazenagem até o início das análises.

A descrição dos tratamentos e componentes das matrizes pode ser encontrada na Tabela 1.

Tabela 1. Descrição dos tratamentos feitos, com seus componentes e tipo de ligação química.

Tratamento	Composição			Reação		
	Alginate (g)	Curdlane (g)	Chitosan (g)	casting	glutaraldehyde	CaCl ₂
AC 1	1	-	0,8	✓		
AC 1,6	1,6	-	0,8	✓		
AC 2	2	-	0,8	✓		
AG 1	1	-	0,8		✓	
AG 1,6	1,6	-	0,8		✓	
AG 2	2	-	0,8		✓	
ACa 1	1	-	0,8			✓
ACa 1,6	1,6	-	0,8			✓
ACa 2	2	-	0,8			✓
CC 1	-	1	0,8	✓		
CC 1,6	-	1,6	0,8	✓		
CC 2	-	2	0,8	✓		
CG 1	-	1	0,8		✓	
CG 1,6	-	1,6	0,8		✓	
CG 2	-	2	0,8		✓	
CCa 1	-	1	0,8			✓
CCa 1,6	-	1,6	0,8			✓
CCa 2	-	2	0,8			✓

Fonte: A autora.

2.3 Avaliação subjetiva dos filmes biopoliméricos

Os filmes foram avaliados pelos seguintes aspectos visuais e táteis: continuidade (ausência de rachaduras após secagem), homogeneidade (ausência de partículas insolúveis e bolhas de ar), e flexibilidade (manuseio sem risco de ruptura) (Silva *et al.*, 2022).

Para flexibilidade foram realizados testes com diferentes concentrações do agente plastificante (glicerina), a saber: 200, 400, 600 e 1.000 µL x 100 mL⁻¹.

Quanto a continuidade dos filmes, diferentes quantidades de quitosana foram previamente testadas, a fim de obter-se a melhor concentração para que fosse possível a formação de um filme biopolimérico contínuo e flexível. As quantidades testadas foram: 0,3 g; 0,5 g; 0,8 g e 1 g de quitosana.

2.4 Espessura

A espessura dos filmes foi medida utilizando um paquímetro digital MTX modelo 316119. A média final foi obtida de cinco medidas aleatórias feitas em diferentes partes dos filmes.

2.5 Colorimetria e Opacidade

A cor dos filmes foi determinada utilizando o colorímetro CR-400 (Konica Minolta, Chroma Meter, Japan), de acordo com a escala CIE-Lab, usando os parâmetros L*, variando de 0 (preto) a 100 (branco), a* de verde (-) a vermelho (+) e b* de azul (-) a amarelo (+). As amostras foram sobrepostas a um padrão branco, e os padrões L*, a*, b* foram medidos em tempo real, resultando na diferença de cor (ΔE). As medidas foram feitas em triplicata, após a calibração do colorímetro com fundo branco e fundo preto.

Os valores de opacidade foram determinados em porcentagem segundo Sobral (2000), conforme a Equação 1:

$$Y(\%) = \frac{Y_p}{Y_b} \times 100$$

Onde: Op = opacidade do filme (%); Yp = opacidade do filme sobreposto a um fundo preto; Yb = opacidade do filme sobreposto a um fundo branco.

2.6 Resistência à Tração (RT) e Elongação

A resistência à tração e a elongação foram determinadas, em triplicata, segundo metodologia da ASTM (2000a), utilizando texturômetro TA-XT plus (SMS, Surrey, UK). As análises foram feitas no Laboratório de Análise de Produtos Agropecuários, da Faculdade de Ciências Agrárias – UFGD. Os filmes foram cortados em retângulos (7,0 cm de comprimento por 2,5 cm de largura) e fixados em garras com distância inicial de separação de 50 mm. A resistência à tração foi determinada através da Equação 2:

$$RT = \frac{F_m}{A}$$

Onde: RT = resistência à tração (MPa); Fm = força máxima no momento da ruptura (N); A = área da secção transversal do filme (m²).

A elongação foi calculada utilizando a Equação 3:

$$E = \frac{dr}{do} \times 100$$

Onde: E = elongação (%); do = separação inicial entre as garras (mm); dr = separação entre as garras no momento da ruptura (mm).

2.7 Permeabilidade ao vapor de água (PVA)

A permeabilidade ao vapor de água foi determinada em triplicata pelo método gravimétrico ASTM (2000b). Os filmes foram selados na abertura circular de uma célula de permeação contendo cloreto de cálcio anidro (0% de HR). Estas células de permeação foram colocadas em dissecadores contendo uma solução saturada de cloreto de sódio (75% UR) e mantidas a 25 °C. A massa da célula foi verificada em intervalos de 24h, durante sete dias. A permeabilidade ao vapor de água foi calculada pela Equação 4:

$$PVA = \frac{\Delta W}{t \cdot A} \times \frac{L}{\Delta P}$$

Onde: PVA = permeabilidade ao vapor de água (g mm dia⁻¹ kPa⁻¹ m⁻²); ΔW= ganho de massa pela célula (g); L= espessura inicial do filme (mm); t = tempo de armazenamento (dias); A = área do filme exposta (m²); ΔP = diferença de pressão parcial (kPa).

2.8 Biodegradação em solo

A biodegradação em solo foi realizada de acordo com Fernandes *et al.* (2019), com adaptações. O solo utilizado foi o Latossolo Roxo álico - LRA2 (Prefeitura Municipal de Dourados, 2023; EMBRAPA, 2021) disposto em bandeja de plástico 32 cm x 32 cm. Aproximadamente 5 cm de terra foi adicionado na bandeja e, em seguida, os filmes foram acomodados e mais 5 cm de terra foi adicionado para cobrir as amostras. A localização de cada amostra foi sinalizada, conforme mostra a Figura 1.

2.9 Solubilidade em água

A solubilidade em água foi determinada cortando quadrados de cada amostra de filme, medindo 2 cm x 2 cm. Estes foram previamente pesados, levados à estufa a 105 °C até atingir um peso constante (matéria seca inicial), e foram imersos em 50 mL de água destilada.

O sistema foi mantido sob agitação a 150 rpm, em shaker a 25 °C por 24 horas. Após esse período os discos foram retirados da água e levados novamente à estufa a 105 °C até que atingisse peso constante novamente (matéria seca final). A solubilidade é representada pelo total de matéria solúvel dissolvida em água e foi calculada através da Equação 6:

$$S(\%) = \frac{(m_i - m_f)}{m_i} \times 100$$

Onde: S = solubilidade em água (%); m_i = massa seca inicial da amostra (g); m_f = massa seca final da amostra (g).

2.10 Fluorescência

A espectroscopia de fluorescência dos filmes biopoliméricos foi medida utilizando um fluorímetro portátil, na região de 370-1054 nm. A análise foi realizada pelo departamento de Física da UFGD.

2.11 Análise Estatística

Neste estudo, as análises estatísticas dos dados foram obtidas pelo software OriginPro®, versão 2023b, que calculou a análise de variância (ANOVA) e o teste Tukey, que foi usado para avaliar as diferenças entre as propriedades dos filmes. As diferenças foram definidas como significativas em $p < 0,05$.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 Avaliação subjetiva dos filmes biopoliméricos

Inicialmente, os filmes foram analisados quanto ao seu aspecto subjetivo (continuidade, homogeneidade e flexibilidade).

Para todas as matrizes, a adição de glicerina apresentou filmes de menor resistência mecânica com 200 e 400 $\mu\text{L} \times 100 \text{ mL}^{-1}$, excesso de glicerina a 1.000 $\mu\text{L} \times 100 \text{ mL}^{-1}$ e uma boa elasticidade a 600 $\mu\text{L} \times 100 \text{ mL}^{-1}$. Assim, todos os filmes a partir deste experimento, foram elaborados com essa concentração de glicerina (600 $\mu\text{L} \times 100 \text{ mL}^{-1}$).

A quantidade de quitosana adicionada às soluções formadoras de filme foi sendo gradualmente ampliada, visando estabelecer qual a maior quantidade possível de ser adicionada para obter-se um filme biopolimérico contínuo e flexível. A adição de 1 g de quitosana dificultou a completa solubilização dos compostos das matrizes, mesmo com a utilização do agitador mecânico e estando a solução sob aquecimento. Devido a este fato, a quantidade máxima de quitosana a ser adicionada foi fixada em 0,8 g.

Os filmes de curdlana e quitosana apresentaram ótima flexibilidade, mas era possível rasgá-los com facilidade. A solução formadora de filme foi completamente transparente e homogênea, mas após a secagem, os filmes ficaram esbranquiçados/amarelados e com aparência menos homogênea. As amostras CCa apresentaram aspecto áspero e pouco homogêneo, mas mantiveram uma flexibilidade notável.

Os filmes de alginato de sódio e quitosana, com exceção das triplicatas com CaCl_2 , apresentaram ótima flexibilidade e homogeneidade, não sendo possível rasgá-los facilmente como os filmes de curdlana. No caso das triplicatas com CaCl_2 , além de apresentarem pouca ou nenhuma flexibilidade, superfície áspera e sem transparência, os mesmos também sofreram encurtamento ao borrifar CaCl_2 e durante o processo de secagem, o que deve-se à interação do alginato com o CaCl_2 .

3.2 Colorimetria e Opacidade

Como pontuado por Gan *et al.* (2022) a cor dos filmes é um fator essencial quando fala-se em embalagem de alimentos, pois a percepção do consumidor quanto ao produto embalado é diretamente afetada. Por essa razão, os padrões de cor (CIELAB) e opacidade dos filmes foram medidos, e seu detalhamento pode ser observado na Tabela 2.

O valor de L^* manteve-se alto em todas as amostras, tendo apenas a amostra ACa 2 apresentado um valor menor de luminosidade. Os valores de L^* para os filmes de alginato de sódio e quitosana variaram de 76,91 a 90,73, enquanto os filmes de goma curdlana e

quitosana obtiveram resultados de L^* entre 89,73 e 93,40. É possível afirmar então que os filmes de goma curdlana possuem uma coloração mais próxima ao branco, o que é importante quando fala-se de embalagem de alimentos, já que o consumidor está habituado a embalagens claras.

Os valores de a^* foram todos negativos para os filmes de goma curdlana e quitosana, o que mostra que a cor dessas amostras, no chroma a^* , foi levemente esverdeada. Já os filmes de alginato de sódio e quitosana variaram entre valores positivos (vermelho) e negativos (verde) de a^* , sendo a amostra ACa 2 a mais avermelhada (3,16), e a amostra AG 1 a mais esverdeada (-0.73).

Os valores de b^* foram estatisticamente diferentes entre as amostras de alginato de sódio e goma curdlana, sendo as amostras de alginato as mais amareladas, com seus valores de b^* variando entre 13,84 (AC 1) e 25,13 (ACa 2). Tal característica é explicada pela cor naturalmente amarelada do alginato de sódio utilizado na obtenção dos filmes biopoliméricos. As amostras de goma curdlana e quitosana tiveram sua variação de b^* entre 9,14 (CC 1) e 14,24 (CCa 2), sendo alguns valores estatisticamente iguais entre si, mas diferentes das amostras de alginato de sódio.

O aumento na adição de alginato de sódio e goma curdlana influenciou na coloração dos filmes, deixando-os com uma luminosidade (L^*) menor e, em geral, com uma coloração mais acentuada para o amarelo (b^*), e levemente para o vermelho (a^*).

A adição dos *cross-linkers* glutaraldeído e cloreto de cálcio não influenciou na cor dos filmes biopoliméricos, já que pode-se observar valores de L^* , a^* e b^* estatisticamente iguais entre amostras com e sem a adição de *cross-linkers*.

Na opacidade pode-se observar que algumas amostras com glutaraldeído e amostras sem adição de *cross-linkers* foram estatisticamente iguais, o que sugere que a adição de glutaraldeído não interfere na opacidade dos filmes. Em contrapartida, as amostras com adição de cloreto de cálcio foram as mais opacas, com seus valores variando de 51,01% a 67,38%, sendo as amostras de alginato de sódio com cloreto de cálcio (ACa) as mais opacas, com valores estatisticamente iguais.

Tabela 2. Coloração (CIE-Lab) e opacidade das amostras de filmes biopoliméricos.

	L*	a*	b*	Opacidade (%)
AC 1	90.39 ± 0.23 ^{cde}	-0.02 ± 0.09 ^{cd}	13.84 ± 0.15 ^{fgh}	48.17 ± 0.97 ^{bcd}
AC 1,6	88.51 ± 0.09 ^{efg}	0.37 ± 0.03 ^c	16.51 ± 0.15 ^{def}	45.11 ± 3.65 ^d
AC 2	87.79 ± 0.18 ^{fg}	0.45 ± 0.01 ^c	17.75 ± 0.26 ^{cde}	46.08 ± 0.26 ^d
AG 1	90.73 ± 0.28 ^{bcde}	-0.73 ± 0.08 ^{ef}	14.01 ± 0.53 ^{fgh}	46.29 ± 0.82 ^{cd}
AG 1,6	87.01 ± 2.02 ^g	0.03 ± 0.42 ^{cd}	20.57 ± 2.92 ^{bc}	49.11 ± 1.42 ^{bcd}
AG 2	89.7 ± 0.19 ^{ef}	-0.46 ± 0.05 ^{de}	16.14 ± 0.28 ^{def}	45.67 ± 0.33 ^d
ACa 1	87.23 ± 0.64 ^g	0.65 ± 0.29 ^c	18.52 ± 1.31 ^{cd}	63.30 ± 1.50 ^a
ACa 1,6	82.91 ± 1.11 ^h	1.98 ± 0.28 ^b	22.66 ± 1.13 ^{ab}	67.38 ± 0.58 ^a
ACa 2	76.91 ± 1.53 ⁱ	3.16 ± 0.49 ^a	25.13 ± 1.59 ^a	62.05 ± 1.86 ^a
CC 1	92.87 ± 0.83 ^{ab}	-1.21 ± 0.06 ^{fg}	9.14 ± 0.47 ⁱ	47.68 ± 5.34 ^{cd}
CC 1,6	92.86 ± 0.22 ^{ab}	-1.29 ± 0.09 ^{fg}	10.56 ± 0.56 ^{hi}	48.26 ± 0.44 ^{bcd}
CC 2	92.10 ± 0.26 ^{abcd}	-1.23 ± 0.12 ^{fg}	11.35 ± 0.89 ^{ghi}	50.39 ± 0.81 ^{bcd}
CG 1	92.91 ± 0.36 ^{ab}	-1.61 ± 0.10 ^g	11.39 ± 0.55 ^{ghi}	48.91 ± 2.17 ^{bcd}
CG 1,6	92.64 ± 0.21 ^{abc}	-1.54 ± 0.08 ^g	11.16 ± 0.26 ^{ghi}	47.39 ± 0.70 ^{cd}
CG 2	92.41 ± 0.09 ^{abc}	-1.60 ± 0.04 ^g	11.50 ± 0.20 ^{ghi}	48.91 ± 0.36 ^{bcd}
CCa 1	93.40 ± 0.13 ^a	-0.97 ± 0.12 ^{efg}	8.80 ± 0.52 ⁱ	51.01 ± 2.86 ^{bcd}
CCa 1,6	92.20 ± 0.53 ^{abc}	-0.76 ± 0.14 ^{ef}	9.67 ± 1.08 ⁱ	52.61 ± 3.15 ^{bc}
CCa 2	89.73 ± 1.09 ^{def}	-0.40 ± 0.43 ^{de}	14.24 ± 2.49 ^{efg}	54.32 ± 1.81 ^b

Valores de média ± desvio padrão na mesma coluna seguidos de letras diferentes indicam diferença significativa (p<0.05).

Quando comparados a outros filmes biopoliméricos, as amostras deste estudo possuem valores de L*, a* e b* similares a Gan *et al.* (2022), que obtiveram uma luminosidade (L*) variando entre 88,37 e 91,85, valores de a* negativos entre -0,80 e -1,75, e valores de b* variando entre 7,04 e 25,4.

Quanto à opacidade, os biopolímeros obtidos neste estudo apresentaram-se mais opacos quando comparados aos resultados de Oliveira da Silva *et al.* (2020), que alcançaram resultados de 3,8% a 9,3% e apontam como a opacidade dos biopolímeros dificulta a passagem de luz, e é uma característica desejável quando trata-se de aplicação em alguns

produtos da indústria de alimentos, já que a luz é um dos fatores de deterioração dos alimentos.

3.3 Resistência à tração, Elongação e Espessura

Os filmes biopoliméricos foram analisados quanto a sua resistência à tração (RT), alongação e espessura. O detalhamento das medidas pode ser observado na Tabela 3, e as comparações das médias são ilustradas nas Figuras 2 e 3.

As amostras de alginato de sódio com quitosana exibiram maior RT quando comparadas às amostras de goma curdlana com quitosana, que já na avaliação subjetiva foi possível apurar a pouca resistência que essas amostras obtiveram, sendo possível rasgá-las com facilidade.

Dentre as amostras de alginato de sódio e quitosana (AC, AG, ACa), o aumento na proporção de alginato presente no biopolímero influenciou positivamente a RT da amostra, sendo AG 2 a amostra com maior RT quando comparada aos demais tratamentos. Como mencionado por Khapre *et al.* (2021), o uso de *cross-linking* leva a um aperfeiçoamento das propriedades mecânicas da quitosana. Esta liga-se ao alginato por meio de ligação covalente formada pelo glutaraldeído, e consequentemente obtém uma melhor RT.

Possivelmente, o aumento na quantidade de alginato presente na amostra possibilita que formem-se mais ligações com o glutaraldeído, ocasionando no resultado observado de valor superior quando compara-se a amostra AG 2 aos outros tratamentos. Sob outro enfoque, o aumento na adição de alginato na triplicata AG levou à uma menor capacidade de alongação das amostras, o que novamente pode ser devido às fortes ligações covalentes proporcionadas pelo glutaraldeído.

As amostras de Barbut e Harper (2019) obtiveram resultados de RT para filmes de alginato e CaCl_2 , quando glicerol foi adicionado, de 15,9 e 34,1 MPa. A amostra AG 2 deste estudo, com resultado de $7.85\text{E-}04$ MPa, foi a mais resistente. A característica quebradiça da quitosana pode ter influenciado negativamente na RT das amostras deste estudo.

Com a comparação dos valores de média de cada tratamento ($p < 0,05$), é possível afirmar que a variação na quantidade de goma curdlana e a adição de *cross-linkers* às amostras não alterou significativamente suas propriedades mecânicas de resistência à tração, já que todos os valores de RT não apresentam significância estatística para todos os tratamentos de biopolímeros de goma curdlana e quitosana.

Oliveira da Silva *et al.* (2020) menciona que quanto maior a quantidade de plastificante utilizada, mais flexíveis e menos resistentes à tração são os biopolímeros.

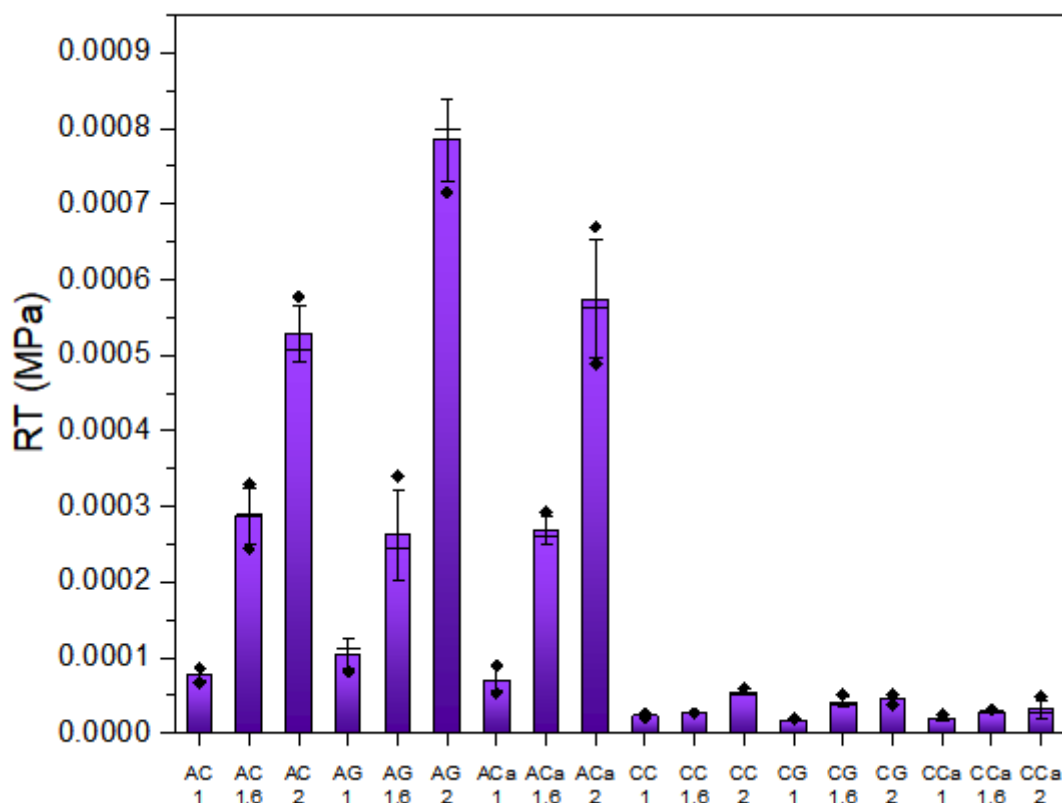


Figura 2. Comparação das médias de valores de resistência à tração (RT) das amostras de biopolímeros de alginato de sódio (AC/AG/ACa) e goma curdlana (CC/CG/CCa).

Comparando-se os valores de média da elongação, nota-se que a amostra com melhor porcentagem de elongação foi AC 1,6 (25,56%), enquanto que a amostra com porcentagem mais baixa foi ACa 1 (2,43%).

Nas amostras de goma curdlana com quitosana, constata-se que, com o aumento na quantidade de goma curdlana a elongação do biopolímero é aperfeiçoada, o que pode ser devido à interação deste hidrocoloide com a glicerina (agente plastificante). A adição de glutaraldeído diminuiu a capacidade de elongação das amostras CG, quando comparadas às outras triplicatas, o que pode indicar que a interação entre este e a goma curdlana leva a uma interação menor entre o hidrocoloide e a glicerina.

Quando cloreto de cálcio foi adicionado como *cross-linker* nas amostras de goma curdlana, houve um aumento na capacidade de elongação das amostras, sendo as amostras CC 2 e CCa 2 as mais promissoras dentre as amostras de filme de goma curdlana e quitosana. Essa significativa melhora das amostras com cloreto de cálcio, quando comparadas às outras, pode ser devido a interação dos grupos hidroxila da glicerina com os íons Ca^{2+} do cloreto de

cálcio. Como apontado por Yang *et al.* (2021) e Xiao *et al.* (2021), íons Ca^{2+} ligam-se a amino ácidos carregados negativamente de forma eficaz.

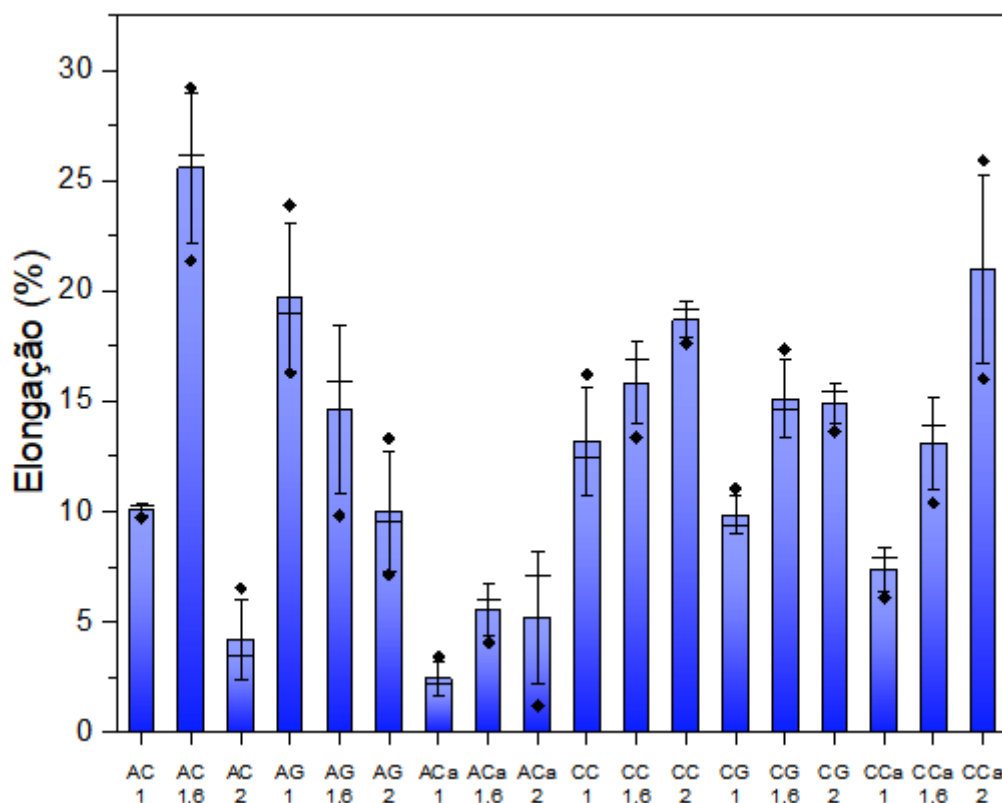


Figura 3. Comparação das médias de valores de elongação das amostras de biopolímeros de alginato de sódio (AC/AG/ACa) e goma curdlana (CC/CG/CCa).

Quanto a espessura, as amostras apresentaram valores próximos na maioria das triplicatas, sendo as amostras de ACa as mais espessas, com valores que se estendem de 0,31 a 0,71 mm. A maior espessura dessas amostras deve-se ao encurtamento dos filmes durante o processo de secagem, que torna as moléculas mais próximas umas das outras e, consequentemente, aumenta sua densidade.

Hilbig *et al.* (2020) aponta que filmes fortes devem ser formados para manter a estabilidade do produto, como a linguiça. Considerando essa afirmação, filmes espessos tem vantagem na utilização como invólucro de produtos cárneos.

Tabela 3. Resistência a tração, alongação e espessura das amostras de filmes biopoliméricos.

	RT (MPa)	Elongação (%)	Espessura (mm)
AC 1	7.68E-05 ± 9.95E-06 ^d	10.08 ± 0.32 ^{cdef}	0.10 ± 0.008 ⁱ
AC 1,6	2.87E-04 ± 4.34E-05 ^c	25.56 ± 3.94 ^a	0.13 ± 0.11 ^h
AC 2	5.28E-04 ± 4.27E-05 ^b	4.17 ± 2.08 ^f	0.18 ± 0.01 ^{fg}
AG 1	1.05E-04 ± 2.16E-05 ^d	19.70 ± 3.85 ^{ab}	0.13 ± 0 ^h
AG 1,6	2.62E-04 ± 6.96E-05 ^c	14.62 ± 4.36 ^{bcd}	0.16 ± 0.01 ^g
AG 2	7.85E-04 ± 6.31E-05 ^a	9.98 ± 3.11 ^{cdef}	0.17 ± 0.008 ^{fg}
ACa 1	7.07E-05 ± 1.85E-05 ^d	2.43 ± 0.86 ^f	0.31 ± 0.005 ^c
ACa 1,6	2.68E-04 ± 2.10E-05 ^c	5.55 ± 1.33 ^{ef}	0.35 ± 0.21 ^b
ACa 2	5.74E-04 ± 9.09E-05 ^b	5.18 ± 3.45 ^{ef}	0.71 ± 0.01 ^a
CC 1	2.31E-05 ± 3.07E-06 ^d	13.16 ± 2.78 ^{bcd}	0.16 ± 0 ^g
CC 1,6	2.74E-05 ± 9.46E-07 ^d	15.84 ± 2.16 ^{bc}	0.16 ± 0.005 ^{fg}
CC 2	5.43E-05 ± 4.86E-06 ^d	18.68 ± 0.94 ^{ab}	0.21 ± 0 ^e
CG 1	1.69E-05 ± 1.74E-06 ^d	9.86 ± 1.02 ^{cdef}	0.16 ± 0 ^g
CG 1,6	4.13E-05 ± 8.33E-06 ^d	15.10 ± 2.01 ^{bcd}	0.16 ± 0.005 ^{fg}
CG 2	4.45E-05 ± 7.22E-06 ^d	14.88 ± 1.06 ^{bcd}	0.18 ± 0.005 ^f
CCa 1	1.98E-05 ± 4.00E-06 ^d	7.37 ± 1.11 ^{def}	0.18 ± 0 ^{fg}
CCa 1,6	2.85E-05 ± 1.98E-06 ^d	13.10 ± 2.42 ^{bcd}	0.21 ± 0.008 ^e
CCa 2	3.09E-05 ± 1.48E-05 ^d	20.96 ± 4.94 ^{ab}	0.24 ± 0.008 ^d

Valores de média ± desvio padrão na mesma coluna seguidos de letras diferentes indicam diferença significativa (p<0.05).

3.4 PVA e Solubilidade em água

As amostras foram testadas quanto à sua permeabilidade ao vapor d'água e solubilidade em água e os resultados obtidos podem ser encontrados na Tabela 4.

Todas as amostras de goma curdlana (CC/CG/CCa), assim como as amostras de alginato AC 1,6, AC 2, AG 1 e AG 1,6 tiveram valores de permeabilidade estatisticamente iguais, variando entre 10,297 (AC 1,6) e 19,539 (CCa 2). A amostra mais permeável foi ACa 2, atingindo 138,896 g.mm/KPa.dia.m², seguida das amostras ACa 1,6, ACa 1 e AG 2 que atingiram valores de 63,094, 43,773 e 20,569 g.mm/KPa.dia.m², respectivamente.

A permeabilidade dos filmes é um aspecto importante de biopolímeros utilizados na indústria de alimentos, pois revela a capacidade de retenção ou perda de água para o ambiente,

ou ainda ganho de água para os alimentos higroscópicos. Isso que determina seu uso e até interfere no tempo de prateleira. Alguns alimentos necessitam desidratar no decorrer do tempo como os salames, enquanto que outros precisam manter o teor de umidade constante.

Como afirmado por Ockerman (1989) e citado por Adzaly *et al.* (2016), uma boa barreira à água é uma propriedade crucial para filmes intencionados ao uso como invólucro de linguiças. Os autores também mencionam que valores baixos de permeabilidade ao vapor d'água indicam uma maior capacidade dos filmes de promover a proteção das linguiças da umidade e perda de rendimento durante o processamento e armazenamento do alimento.

Santos *et al.* (2022) obteve resultados próximos aos de Oliveira da Silva *et al.* (2020), variando entre 3,81 e 4,78 g.mm/KPa.dia.m² e menos permeáveis do que as amostras deste estudo. A adição dos *cross-linkers* glutaraldeído e cloreto de cálcio nas amostras de alginato deixaram estas mais permeáveis, devido às forças de ligação iônica entre os grupos COO⁻ e Ca²⁺ formando uma ligação mais permeável já que este polímero, antes linear, forma uma estrutura em ziguezague gerando pequenos poros (Figura 4). Já as ligações entre alginato e quitosana através da ligação entre os grupos amina da quitosana provocam um afastamento entre os polímeros resultando numa maior permeabilidade conforme pode ser observado na Figura 5. Esses tipos de ligação tendem a formar hidrogéis de morfologia porosas interconectadas, melhor resistência mecânica, tempos de hemostasia mais curtos, tempos de gelificação rápidos e excelente deformabilidade (Zhang *et al.*, 2018). Nos resultados das amostras de goma curdlana, os valores foram estatisticamente iguais.

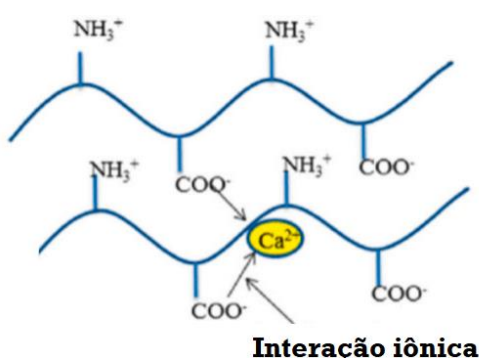


Figura 4: Interação iônica entre o cálcio e o alginato (Najihah; Hassan; Ismail, 2024).

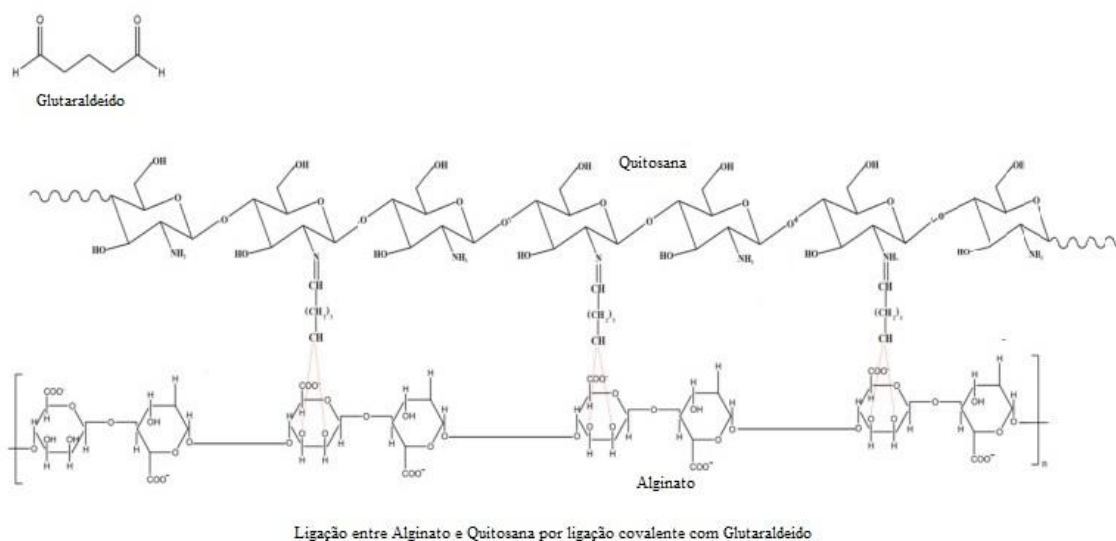


Figura 5. Ligação covalente entre alginato e quitosana com glutaraldeído (adaptado de: Khapre; Pandey; Jugarde, 2021).

Referindo-se à solubilidade das amostras, as matrizes mais solúveis foram AC 1,6, CCa 1,6 e CCa 2, com resultados de 84,31%, 85,59% e 85,56%, respectivamente, sendo estatisticamente iguais. Novamente, a adição de *cross-linkers* teve pouca influência nos resultados obtidos, assim como as quantidades de alginato e goma curdlana adicionadas (1 g, 1,6 g, 2 g). Os resultados obtidos neste estudo foram semelhantes aos encontrados por Santos *et al.* (2022), que obtiveram solubilidade variando entre 89,16% e 95,03%.

Tabela 4. PVA e solubilidade em água das amostras de filmes biopoliméricos.

	PVA (g.mm/KPa.dia.m²)	Solubilidade (%)
AC 1	9.302 ± 0.17 ^e	76.62 ± 7.14 ^{ab}
AC 1,6	10.297 ± 0.27 ^{de}	84.31 ± 1.90 ^a
AC 2	12.514 ± 1.01 ^{de}	69.30 ± 4.85 ^{abc}
AG 1	11.432 ± 0.15 ^{de}	74.60 ± 9.68 ^{ab}
AG 1,6	16.664 ± 6.74 ^{de}	74.48 ± 1.27 ^{ab}
AG 2	20.569 ± 8.78 ^d	57.40 ± 25.50 ^{bcd}
ACa 1	43.773 ± 1.28 ^c	56.05 ± 9.97 ^{bcd}
ACa 1,6	63.094 ± 4.73 ^b	45.25 ± 7.13 ^{cd}
ACa 2	138.896 ± 5.81 ^a	38.19 ± 3.54 ^d
CC 1	14.157 ± 0.32 ^{de}	74.71 ± 5.83 ^{ab}
CC 1,6	14.529 ± 0.18 ^{de}	76.90 ± 3.23 ^{ab}
CC 2	18.023 ± 0.15 ^{de}	78.12 ± 3.64 ^{ab}
CG 1	14.203 ± 0.40 ^{de}	76.96 ± 8.93 ^{ab}
CG 1,6	14.218 ± 1.32 ^{de}	73.58 ± 0.88 ^{ab}
CG 2	15.503 ± 0.79 ^{de}	77.40 ± 2.91 ^{ab}
CCa 1	15.965 ± 0.32 ^{de}	71.20 ± 2.99 ^{ab}
CCa 1,6	16.301 ± 3.07 ^{de}	85.59 ± 8.38 ^a
CCa 2	19.539 ± 3.88 ^{de}	85.56 ± 3.50 ^a

Valores de média ± desvio padrão na mesma coluna seguidos de letras diferentes indicam diferença significativa (p<0.05).

3.5 Biodegradação

A biodegradação dos filmes foi avaliada por um período de 12 semanas, sendo as amostras pesadas a cada 5 dias. Na primeira semana, houve uma grande perda de umidade nas amostras e sua aparência já mostrou-se diferente. Com o passar das semanas, as amostras de goma curdlana e alginato de sódio ficaram mais frágeis, opacas e secas, como mostram as Figuras 6 e 7.

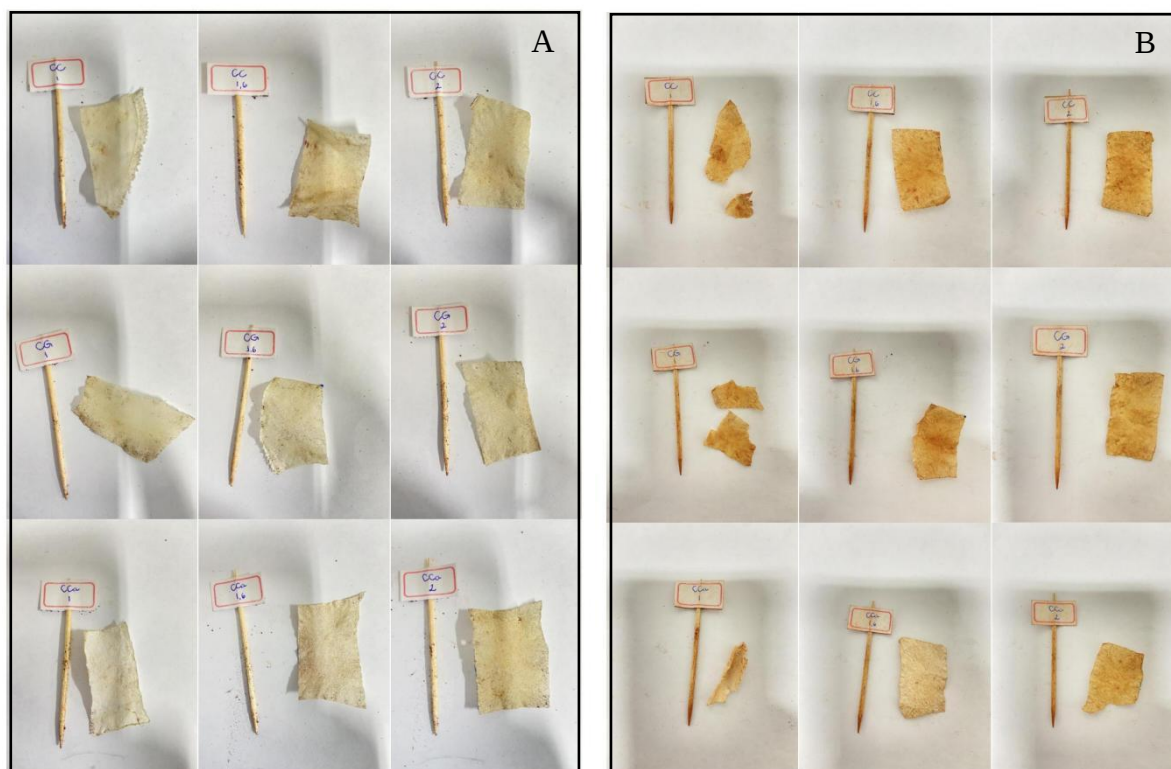


Figura 6. Amostras dos filmes biopoliméricos de goma curdlana no início (A) e fim (B) da análise de biodegradação em solo LRa2.

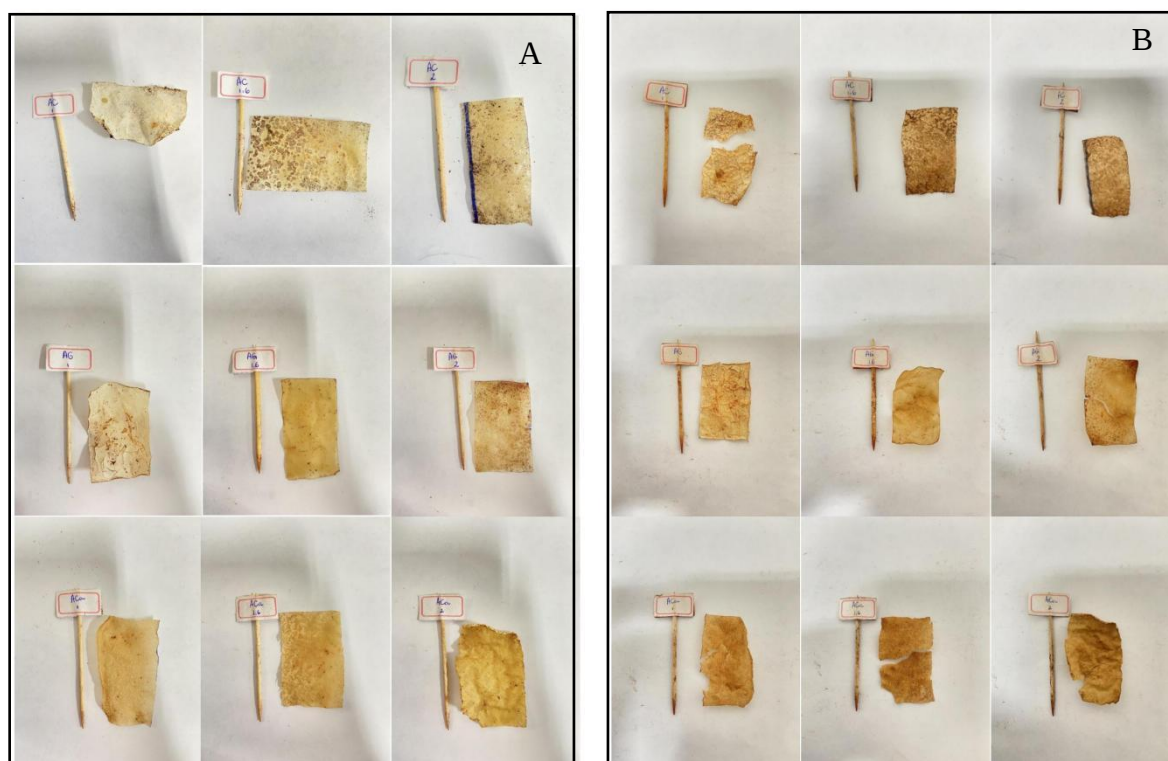


Figura 7. Amostras dos filmes biopoliméricos de alginato de sódio no início (A) e fim (B) da análise de biodegradação em solo LRa2.

As amostras apresentaram aparência mais enrugada e áspera com o passar do tempo, tendo sua coloração alterada para um tom mais amarelado. Com a perda de umidade, os filmes ficaram mais firmes e apresentaram uma resistência a tração melhor, mas o avanço na degradação tornou-os mais frágeis após alguns dias.

Awasthi *et al.* (2022) citam que a biodegradação dos biopolímeros é uma ação microbiana em que os biopolímeros são degradados inteiramente até produtos finais (CO_2 e H_2O). Essa biodegradação acontece em quatro fases: biodeterioração, biofragmentação, assimilação e mineralização (Awasthi *et al.*, 2022; Harrison *et al.*, 2018).

Diferentes tipos de solo e condições de pH, temperatura e umidade, afetam a velocidade em que biopolímeros são biodegradados. Siracusa *et al.* (2019) e também Awasthi *et al.* (2022) mencionam que uma umidade no solo de 50-60% é a ideal para biodegradação aeróbica dos biopolímeros, levando a um período de biodegradação de aproximadamente 100 dias.

A tendência linear e os cálculos de regressão mostram que o tempo total de biodegradação dos filmes de curdlana vai de 101 (CCa 1) a 696 (CC 1,6) dias, enquanto os filmes de alginato tem um tempo de degradação total de 324 (ACa 1) a 627 (AC 1) dias. Todos os valores para tempo total de degradação são descritos na Tabela 5.

As amostras com adição do *cross-linker* CaCl_2 apresentaram aparência mais frágil, desfazendo-se com facilidade, principalmente a amostra CCa 1. Esta é também a amostra que apresenta menor tempo de degradação, podendo estar completamente degradada em 101 dias.

Como apontado anteriormente, os grupos hidroxila da glicerina interagem com os íons Ca^{2+} do cloreto de cálcio, e Fernandes *et al.* (2019) apontam que em seu estudo, os filmes biopoliméricos com maiores quantidades de glicerina começaram a degradar mais rapidamente. Levanta-se então a hipótese de que as ligações entre a glicerina, os íons Ca^{2+} , a quitosana e a curdlana/alginato foram quebradas com maior facilidade pela microbiota selvagem presente no solo, levando portanto às previsões de rápida degradação das amostras CCa e ACa.

Considerando suas diferenças de composição e ligações químicas, todas as amostras são degradáveis em um período de um a dois anos, o que já torna as amostras estudadas ótimas substitutas de polímeros sintéticos, que levam centenas de anos para se decompor e, mesmo assim, podem tornar-se microplásticos que são prejudiciais à saúde humana e animal.

Tabela 5. Tempo total de biodegradação em solo das amostras de filmes biopoliméricos.

Tempo total de degradação em solo (em dias)			
AC 1	627	CC 1	292
AC 1,6	379	CC 1,6	696
AC 2	497	CC 2	452
AG 1	492	CG 1	346
AG 1,6	513	CG 1,6	663
AG 2	504	CG 2	371
ACa 1	324	CCa 1	101
ACa 1,6	547	CCa 1,6	379
ACa 2	356	CCa 2	154

Fonte: A autora.

3.6 Fluorescência

As amostras foram submetidas à análise de espectroscopia de fluorescência, e os resultados mostram que quando excitadas no comprimento de onda UV, todas as amostras tiveram seus picos de emissão de fluorescência no comprimento de onda de luz azul, como mostra a Tabela 6. Os cromatogramas de fluorescência das amostras podem ser vistos no Apêndice 1.

De acordo com Simomukay *et al.* (2022), a fluorescência de uma amostra é emitida em comprimentos de onda cerca de 50-150 nm maiores do que os comprimentos de onda de excitação dessa amostra. No caso das amostras deste trabalho, de acordo com a afirmação feita, é possível calcular que o comprimento de onda de excitação das amostras foi na faixa de violeta e UV, sendo a fluorescência emitida na faixa de 499-516 nm, o que corresponde à luz anil e azul no espectro de luz visível.

Este fato implica que as amostras são capazes de absorver luz nos comprimentos de onda UV e infravermelho. Sendo capazes de filtrar a luz nos comprimentos de onda UV, o biopolímero é capaz de diminuir a fotodegradação do alimento embalado, proporcionando maior tempo de prateleira ao mesmo, como pontua Ezati *et al.* (2023).

Tabela 6. Espectros de emissão de fluorescência das amostras de filmes biopoliméricos.

Espectros de fluorescência			
	Pico de emissão	λ de emissão (nm)	λ de excitação (nm)
Quitosana	3712.52	507.14	357.14
Alginato	1927.9	516.19	366.19
Curdiana	2988.31	505.32	355.32
AC 1	743.68	507.14	357.14
AC 1,6	680.57	507.14	357.14
AC 2	640.04	512.57	362.57
AG 1	767.55	507.14	357.14
AG 1,6	1061.4	507.14	357.14
AG 2	836.2	507.14	357.14
ACa 1	2328.09	507.14	357.14
ACa 1,6	3155.26	507.14	357.14
ACa 2	3288.37	507.14	357.14
CC 1	1643.72	507.14	357.14
CC 1,6	1762.42	507.14	357.14
CC 2	2727.89	507.14	357.14
CG 1	3670.97	507.14	357.14
CG 1,6	3357.21	507.14	357.14
CG 2	3724.29	507.14	357.14
CCa 1	981.36	499.15	349.15
CCa 1,6	1292.65	507.14	357.14
CCa 2	2033.38	507.14	357.14

Fonte: A autora.

4. CONCLUSÃO

O presente estudo mostrou o potencial dos filmes de alginato e quitosana a serem usados como invólucros de linguças na indústria alimentícia. Foi observado que as diferenças mais significativas foram entre as amostras de alginato e as amostras de goma curdlana, tendo os *cross-linkers* pouco influenciado nos resultados entre os filmes com a mesma matéria-prima.

Todas as amostras apresentaram fluorescência na região de luz visível, o que implica que a luz UV foi absorvida pelo filme, conferindo às amostras a característica de proteção contra raios UV.

É possível concluir também que as amostras são biodegradáveis, podendo estar completamente mineralizadas em CO₂, H₂O e biomassa em um período de um a dois anos. Ademais, estudos posteriores são recomendados para aprimorar as características dos filmes e possibilitar novas aplicações aos mesmos.

5. REFERÊNCIAS

- Abdulkarim, A.; Isa, M. T.; Abdulsala, M. S.; Muhammad, A. J.; Ameh, A. O. Extraction and characterisation of chitin and chitosan from mussel shell. *Civil and Environmental Research*. 3(2), 108–114. 2013. ISSN 2222-2863.
- Adzaly, N. Z.; Jackson, A.; Kang, I.; Almenar, E. Performance of a novel casing made of chitosan under traditional sausage manufacturing conditions. *Meat Science*. 113. 116-123. 2016. DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.meatsci.2015.11.023>.
- Alharaty, G.; Ramaswamy, H. S. The Effect of Sodium Alginate-Calcium Chloride Coating on the Quality Parameters and Shelf Life of Strawberry Cut Fruits. *Journal of Composites Science*. 4, 123. 2020. DOI: <https://doi.org/10.3390/jcs4030123>.
- ASTM. American Society for testing and Materials. *Standard methods of water vapor transmission of materials*. Annual Books of ASTM Standards. Designation E00996-00 (pp. 907-914). Philadelphia: ASTM, 2000b.
- ASTM. American Society for Testing and Materials. *Standard test methods for tensile properties on thin plastic sheeting*. Annual Books of ASTM Standards. Designation D00882-00 (pp. 160-168). Philadelphia: ASTM Annual Books of ASTM Standards. Designation E 96-95 (pp. 785–792). Philadelphia: ASTM, 2000a.
- Awasthi, S. K.; Kumar, M.; Kumar, V.; Sarsaiya, S.; Anerao, P.; Ghosh, P.; Singh, L.; Liu, H.; Zhang, Z.; Awasthi, M. K. A comprehensive review on recent advancements in biodegradation and sustainable management of biopolymers. *Environmental Pollution*. 307, 119600. 2022. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2022.119600>.
- Barbut, S.; Harper, B. A. Dried Ca-alginate films: Effects of glycerol, relative humidity, soy fibers, and carrageenan. *Food Science and Technology*. 103. 260-265. 2019. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2019.01.004>.
- Ezati, P.; Khan, A.; Priyadarshi, R.; Bhattacharya, T.; Tammina, S.K.; Rhim, J.-W. Biopolymer-based UV protection functional films for food packaging. *Food Hydrocolloids*. 142, 108771. 2023. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2023.108771>.

Fakhouri, F. M.; Fontes, L. C. B.; Gonçalves, P. V.; Milanez, C. R.; Steel, C. J.; Queiroz, F. P. C. Edible films and toppings based on native starches and gelatin in the conservation and sensory acceptance of *Crimson* grapes. *Food Science and Technology*. 27(2), 369–375. 2007. DOI: <https://doi.org/10.1590/s0101-20612007000200027>.

Fernandes, A. S.; Cardoso, J. C. O.; Gomes, J. N.; Ascheri, D. P. R. Elaboração e Caracterização de Filmes Biodegradáveis de Amido de *Solanum lycocarpum* St. Hill e Glicerol. *Journal of Social, Technological and Environmental Science*. v.8, n.1, p. 362-378. 2019. DOI: <http://dx.doi.org/10.21664/2238-8869.2019v8i1.p362-378>.

Gan, L.; Jiang, G.; Yang, Y.; Zheng, B.; Zhang, S.; Li, X.; Tian, Y.; Peng, B. Development and characterization of levan/pullulan/chitosan edible films enriched with ϵ -polylysine for active food packaging. *Food Chemistry*. 388, 132989. 2022. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2022.132989>.

Gapsari, F.; Hidayatullah, S.; Setyarini, P. H.; Madurani, K. A.; Hermawan, H. Effectiveness of a fish scales-derived chitosan coating for corrosion protection of carbon steel. *Egyptian Journal of Petroleum*. 31, 25-31. 2022. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ejpe.2022.02.001>.

Hamann, D.; Puton, B. M. S.; Comin, T.; Colet, R.; Valduga, E.; Zeni, J.; Steffens, J.; Junges, A.; Backes, G. T.; Cansian, R. L. Active edible films based on green tea extract and gelatin for coating of fresh sausage. *Meat Science*. 194, 108966. 2022. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2022.108966>.

Harrison, J. P.; Boardman, C.; O'Callaghan, K.; Delort, A. M.; Song, J. Biodegradability standards for carrier bags and plastic films in aquatic environments: a critical review. *Royal Society Open Science*. 5 (5), 171792. 2018.

Khapre, M. A.; Pandey, S.; Jugade, R. M. Glutaraldehyde-cross-linked- chitosan-alginate composite for organic dyes removal from aqueous solutions. *International Journal of Biological Macromolecules*. 190, 862-875. 2021. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2021.09.026>.

Kumar, S.; Mukherjee, A.; Dutta, J. Chitosan based nanocomposite films and coatings: Emerging antimicrobial food packaging alternatives. *Trends in Food Science & Technology*. 97, 196-209. 2020. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2020.01.002>.

Najihah, A.Z.; Hassan, M.Z.; Ismail, Z. Current trend on preparation, characterization and biomedical applications of natural polysaccharide-based nanomaterial reinforcement hydrogels: A review. *International Journal of Biological Macromolecules*, 271(2), 132411, 2024. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2024.132411>.

Oliveira da Silva, A.; Cortez-Vega, W.R.; Prentice, C.; Fonseca, G. G. Development and characterization of biopolymer films based on bocaiuva (*Acromonia aculeata*) flour. *International Journal of Biological Macromolecules*. 155, 1157-1168. 2020. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2019.11.083>.

Prefeitura Municipal de Dourados. Classe de solos. 2023. Disponível em: <https://www.dourados.ms.gov.br/index.php/classe-de-solos/>. Acesso em: 23 out. 2023.

Priyadarshi, R.; Rhim J.-W. Chitosan-based biodegradable functional films for food packaging applications. *Innovative food science and emerging technologies*. 62, 102346. 2020. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ifset.2020.102346>.

Purewal, S.S.; Kaur, A.; Bangar, S.P.; Singh, P.; Singh, H. Protein-Based Films and Coatings: An Innovative Approach. *Coatings*. 14(1), 32. 2024. DOI: <https://doi.org/10.3390/coatings14010032>.

Santos, L. G.; Alves-Silva, G. F.; Martins, V. G. Active-intelligent and biodegradable sodium alginate films loaded with *Clitoria ternatea* anthocyanin-rich extract to preserve and monitor food freshness. *International Journal of Biological Macromolecules*. 220, 866-877. 2022. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2022.08.120>.

Shankar, S., & Rhim, J. W. Preparation of sulfur nanoparticle-incorporated antimicrobial chitosan films. *Food Hydrocolloids*. 82, 116–123. 2018.

Silva, A. O.; Fakhoury, F. M.; Fonseca, G.G. Development of highly biodegradable and sustainable films based on pequi pulp. *Biomass Conversion and Biorefinery*. 2022. DOI: <https://doi.org/10.1007/s13399-022-03047-2>.

Simomukay, E.; Ferrari, T. C.; Pereira, G. M.; Baldassari, L. L.; Dalberto, B. T.; Godinho, J. F.. *Fundamentos de análise instrumental*. Grupo A. 2022. E-book. ISBN 9786556903347. Disponível em: <https://app.minhabiblioteca.com.br/#/books/9786556903347/>. Acesso em: 03 dez. 2023.

Siracusa, V. Microbial degradation of synthetic biopolymers waste. *Polymers*. 11(6), 1066. 2019.

Sobral, P. J. A Influência da espessura sobre certas propriedades de biofilmes à base de proteínas miofibrilares. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*. v. 35, p. 1251-1259, 2000.

Sousa, D.M.G.; Lobato E. Latossolos. EMBRAPA. 2021. Disponível em: <https://www.embrapa.br/agencia-de-informacao-tecnologica/tematicas/bioma-cerrado/solo/tipos-de-solo/latossolos>. Acesso em: 23 out. 2023.

Umaraw, P.; Munekata, P. E. S.; Verma, A. K.; Barba, F. J.; Singh, V. P.; Kumar, P.; Lorenzo, J. M. Edible films/coating with tailored properties for active packaging of meat, fish and derived products. *Trends in Food Science and Technology*. 98, 10–24. 2020. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2020.01.032>.

Xiao, Y.; Kang, S.; Liu, Y.; Guo, X.; Li, M.; Xu, H. Effect and mechanism of calcium ions on the gelation properties of cellulose nanocrystals-whey protein isolate composite gels. *Food Hydrocolloids*. 111, 106401. 2021.

Xu, C.; Zeng, X.; Yang, Z.; Ji, H. Enhanced Sunscreen Effects via Layer-By-Layer Self-Assembly of Chitosan/Sodium Alginate/Calcium Chloride/EHA. *Molecules*. 27, 1148. 2022. DOI: <https://doi.org/10.3390/molecules27031148>.

Yang, Q.; Wang, Y.-R.; Li-Sha, Y.-J.; Chen, H.-Q. Physicochemical, structural and gelation properties of arachin-basil seed gum composite gels: Effects of salt types and concentrations. *Food Hydrocolloids*. 113, 106545. 2021. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2020.106545>.

Yuan, M.; Fu, G.; Sun, Y.; Zhang, D. Biosynthesis and applications of curdlan. *Carbohydrate Polymers*. 273, 118597. 2021. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2021.118597>.

Zhang, Z.; Wang, X.; Wang, Y.; Hao, J. Rapid-Forming and Self-Healing Agarose-Based Hydrogels for Tissue Adhesives and Potential Wound Dressings. *Biomacromolecules* 19(3), 980-988. 2018. DOI: <https://doi.org/10.1021/acs.biomac.7b01764>.

APÊNDICE 1 - CROMATOGRAMAS DE FLUORESCÊNCIA DAS AMOSTRAS DE FILMES BIOPOLIMÉRICOS

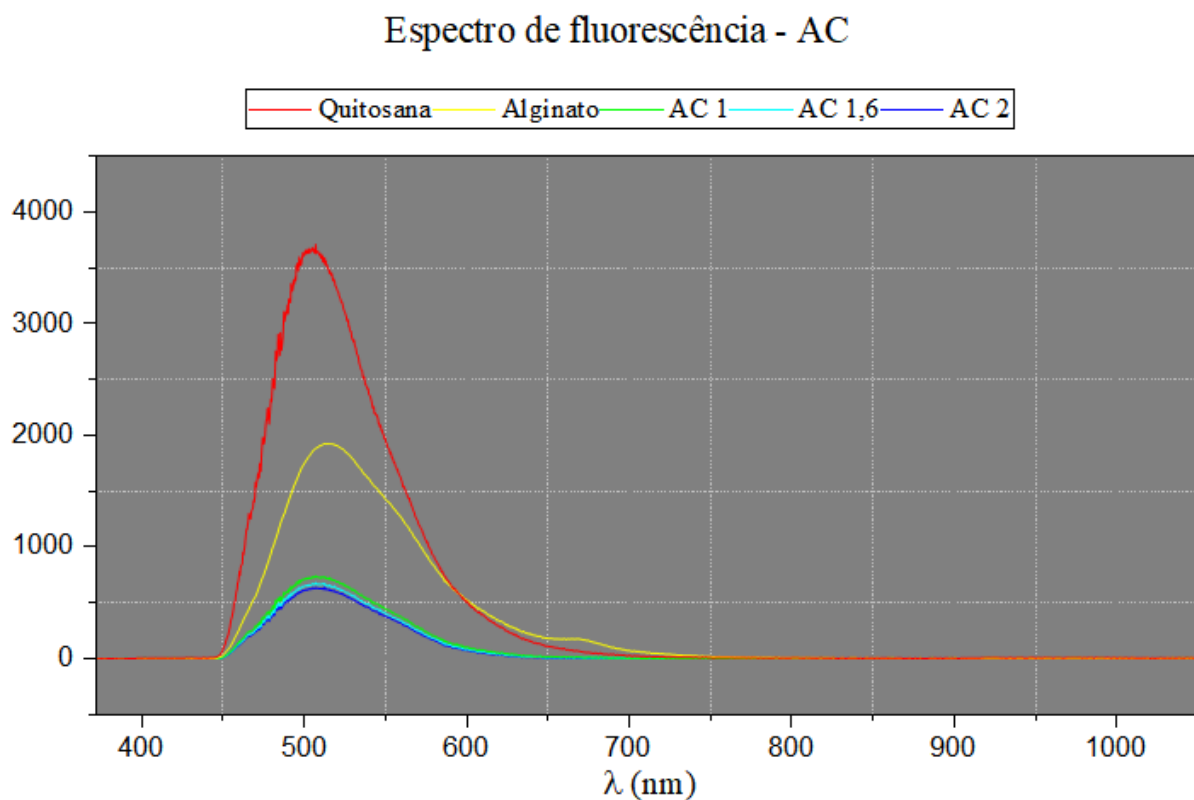


Figura 1. Espectro de fluorescência da matriz de filmes biopoliméricos de alginato de sódio e quitosana, sem adição de *cross-linkers* (AC).

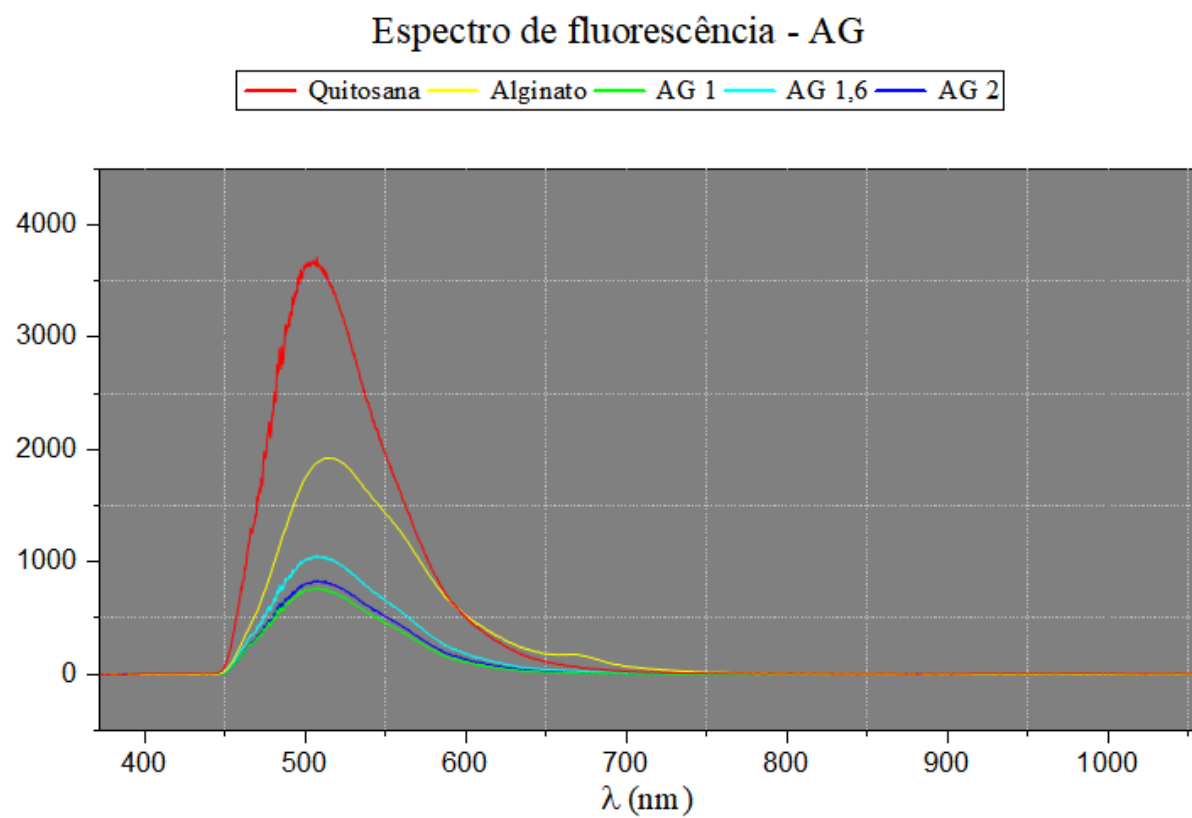


Figura 2. Espectro de fluorescência da matriz de filmes biopoliméricos de alginato de sódio e quitosana, com adição do *cross-linker* glutaraldeído (AG).

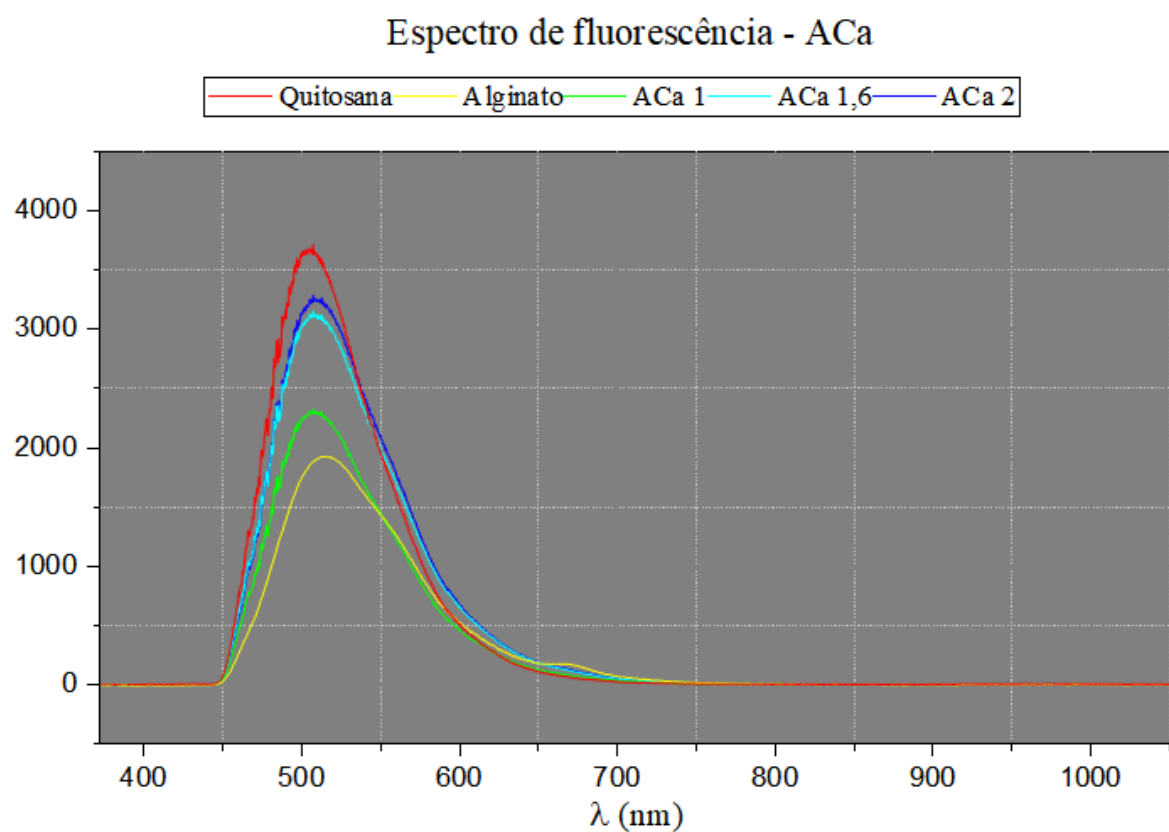


Figura 3. Espectro de fluorescência da matriz de filmes biopoliméricos de alginato de sódio e quitosana, com adição do *cross-linker* cloreto de cálcio (A Ca).

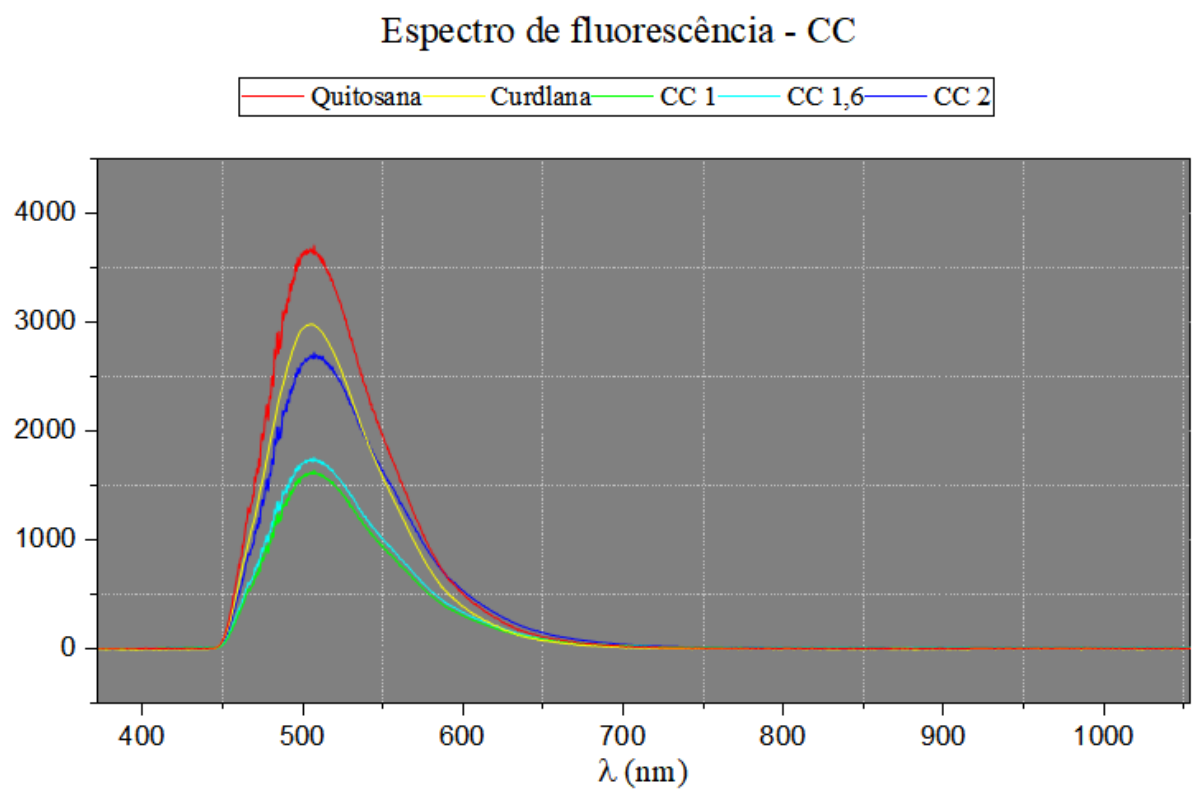


Figura 4. Espectro de fluorescência da matriz de filmes biopoliméricos de goma curdlana e quitosana, sem adição de *cross-linkers* (CC).

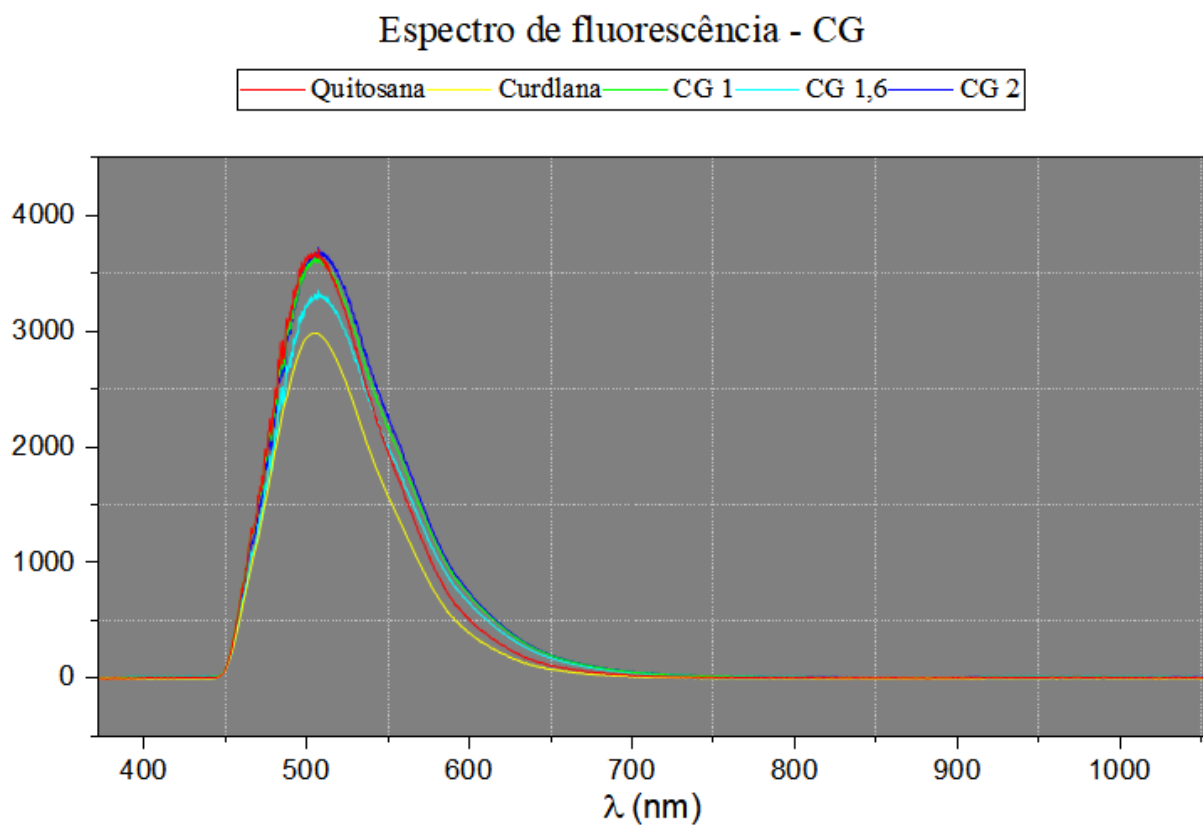


Figura 5. Espectro de fluorescência da matriz de filmes biopoliméricos de goma curdlana e quitosana, com adição do *cross-linker* glutaraldeído (CG).

Espectro de fluorescência - CCa

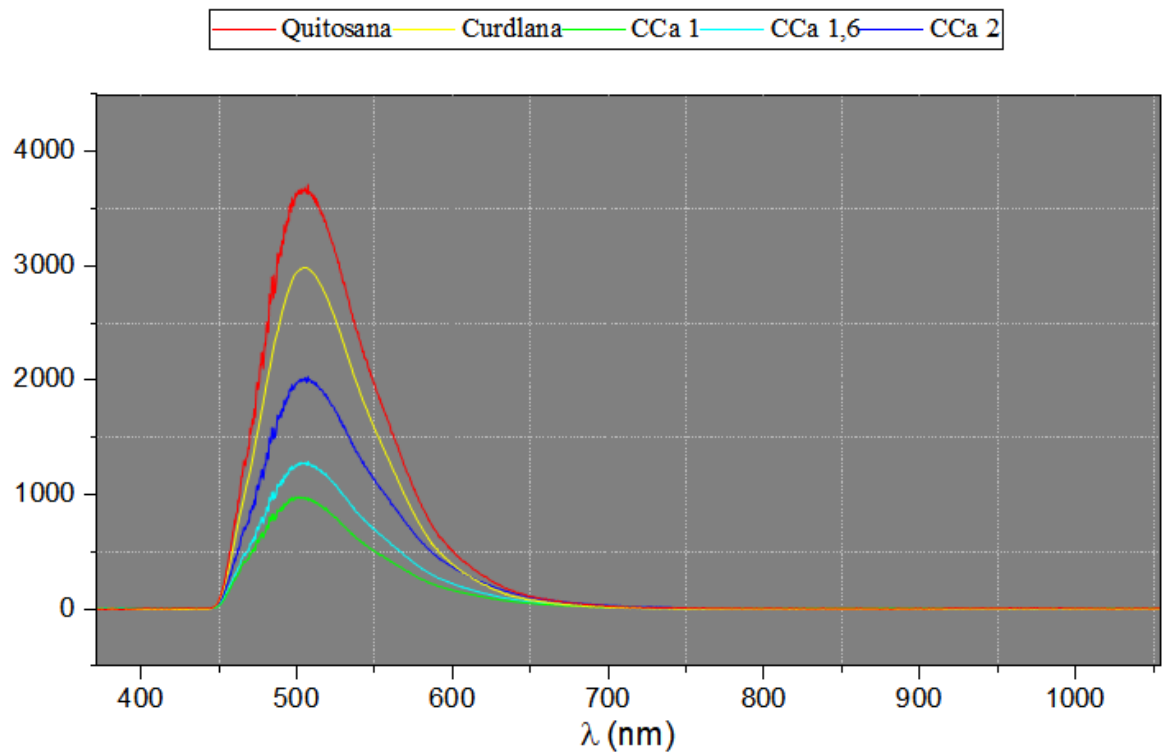


Figura 6. Espectro de fluorescência da matriz de filmes biopoliméricos de goma curdlana e quitosana, com adição do *cross-linker* cloreto de cálcio (CCa).