



**UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL  
INSTITUTO DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE ALIMENTOS  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE  
ALIMENTOS**

**FILMES BIODEGRADÁVEIS DE ALGINATO DE SÓDIO, PLA E PVA  
INCORPORADOS DE COMPOSTOS ANTIOXIDANTES E ANTIMICROBIANOS**

Diego Santiago Tupuna Yerovi

Porto Alegre, março de 2023

### CIP - Catalogação na Publicação

Tupuna-Yerovi, Diego Santiago  
FILMES BIODEGRADÁVEIS DE ALGINATO DE SÓDIO, PLA E  
PVA INCORPORADOS DE COMPOSTOS ANTIOXIDANTES E  
ANTIMICROBIANOS / Diego Santiago Tupuna-Yerovi. --  
2023.  
119 f.  
Orientador: Alessandro Rios.

Tese (Doutorado) -- Universidade Federal do Rio  
Grande do Sul, Instituto de Ciência e Tecnologia de  
Alimentos, Programa de Pós-Graduação em Ciência e  
Tecnologia de Alimentos, Porto Alegre, BR-RS, 2023.

1. Embalagens Biodegradáveis. 2. Compostos  
Bioativos. 3. Atividade Antimicrobiana. 4. Capacidade  
Antioxidante. 5. Filmes multicamada. I. Rios,  
Alessandro, orient. II. Título.

**Diego Santiago Tupuna Yerovi**

**FILMES BIODEGRADÁVEIS DE ALGINATO DE SÓDIO, PLA E PVA  
INCORPORADOS DE COMPOSTOS ANTIOXIDANTES E ANTIMICROBIANOS**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos do Instituto de Ciência e Tecnologia de Alimentos, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, como um dos requisitos para a obtenção do grau de Doutor em Ciência e Tecnologia de Alimentos.

Orientador: Prof. Dr. Alessandro de Oliveira Rios

Porto Alegre, março de 2023

**FILMES BIODEGRADÁVEIS DE ALGINATO DE SÓDIO, PLA E PVA  
INCORPORADOS DE COMPOSTOS ANTIOXIDANTES E ANTIMICROBIANOS**

EXECUTOR: Diego Santiago Tupuna Yerovi

Engenheiro Agroindustrial (EPN), Mestre e doutorando em Ciência e  
Tecnologia de Alimentos (PPGCTA- UFRGS).

ORIENTADOR: Prof. Dr. Alessandro de Oliveira Rios

Doutor em Ciência de Alimentos (UNICAMP)

LOCAL DE EXECUÇÃO: Laboratório de Compostos Bioativos - ICTA – UFRGS

Instituto Universitário de Engenharia de Alimentos para o  
Desenvolvimento (IIAD) da Universidade Politécnica de  
Valência (UPV) – Espanha

## RESUMO

A poluição ambiental causada por materiais de embalagens plásticas não biodegradáveis e sintéticos aumentaram o interesse em polímeros biodegradáveis. Da produção mundial de plástico, quase 40% é destinada para embalagem como uso final, sendo que a maioria são descartáveis e não existe um adequado processo de reciclagem, gerando negativos impactos ambientais no planeta. A crescente preocupação dos consumidores com os problemas decorrentes do uso de embalagens plásticas, bem como a demanda por alimentos de maior qualidade contribuem para o desenvolvimento de embalagens fabricadas com biopolímeros naturais ou sintéticos. Embora os filmes biodegradáveis não pretendam substituir totalmente as embalagens sintéticas tradicionais, eles têm o potencial de reduzir seu uso, além de poder atuar como sistemas de liberação controlada de compostos bioativos. O alginato de sódio, o ácido polilático (PLA) e o poli vinil álcool (PVA) são biopolímeros com a capacidade de formar filmes biodegradáveis com boas propriedades físico-químicas mecânicas, térmicas, óticas e de barreira. Além disso, há a possibilidade de incorporar compostos bioativos à matriz polimérica para obter filmes com propriedades antioxidantes e/ou antimicrobianas que permitam preservar a qualidade e prolongar a vida útil dos alimentos. Nesse sentido, o objetivo do presente trabalho foi desenvolver, caracterizar e avaliar as propriedades funcionais de filmes ativos biodegradáveis obtidos a partir de alginato de sódio e incorporados de licopene e  $\beta$ -caroteno, e filmes multicamada de PLA e PVA e incorporados de ácidos p-cumárico. Os filmes apresentaram boas propriedades mecânicas e de barreira, assim como uma ótima capacidade antioxidante e antimicrobiana, respectivamente, demonstrando ser capazes de proteger alimentos da degradação química, biológica e microbiológica. Foi possível desenvolver filmes biodegradáveis com alto potencial para ser usados como embalagem primária de alimentos.

**Palavras-chave:** Embalagem biodegradável; carotenoides; alginato de sódio; PVA; PLA; capacidade antioxidante; antimicrobianos, Embalagem ativa.

## LISTA DE FIGURAS

<b>Figura 1</b> Classificação de polímeros biodegradáveis de acordo com sua origem.....	13
<b>Figura 2</b> Formação de estrutura complexada através da interação de íons de cálcio com os grupos de ácido carboxílico do alginato.....	18
<b>Figura 3</b> Importância do controle da transferência de massa e gases nas embalagens de alimentos.....	26

## SUMÁRIO

	RESUMO.....	1
<b>1</b>	<b>INTRODUÇÃO.....</b>	<b>6</b>
<b>2</b>	<b>OBJETIVOS.....</b>	<b>9</b>
2.1	Objetivo geral .....	9
2.2	Objetivos específicos.....	9
	CAPÍTULO 1: REVISÃO DA LITERATURA.....	10
<b>3</b>	<b>REVISÃO DE LITERATURA .....</b>	<b>11</b>
3.1	FILMES BIODEGRADÁVEIS. ....	11
3.2	FILMES BIODEGRADÁVEIS DE ALGINATO DE SÓDIO.....	16
	3.2.1 Alginato de sódio .....	16
	3.2.2 Complexação.....	18
	3.2.3 Formação e propriedades de filmes de alginato de sódio .....	19
3.3	FILMES BIODEGRADÁVEIS DE ÁCIDO POLILÁTICO .....	20
	3.3.1 Ácido Polilático (PLA).....	20
	3.3.2 Formação e propriedades de filmes de PLA .....	21
3.4	FILMES BIODEGRADÁVEIS DE Polivinil álcool .....	22
	3.4.1 Polivinil álcool (PVA) .....	22
	3.4.2 Formação e propriedades de filmes de PVA.....	22
3.5	FILMES BIODEGRADÁVEIS INCORPORADOS COM COMPOSTOS BIOATIVOS .....	23
	3.5.1 Incorporação de antioxidantes .....	24
	3.5.2 Incorporação de antimicrobianos.....	25

3.6	APLICAÇÃO DE FILMES BIODEGRADÁVEIS EM ALIMENTOS <i>IN</i> <i>NATURA</i> .....	26
	CAPÍTULO 2: MATERIAL E MÉTODOS .....	28
<b>4</b>	<b>MATERIAL E MÉTODOS.....</b>	<b>29</b>
4.1	MATERIAL .....	29
4.2	EXTRAÇÃO DO LICOPENO E $\beta$ -CAROTENO .....	29
4.3	DESENVOLVIMENTO DOS FILMES DE ALGINATO DE SÓDIO.....	30
4.4	DESENVOLVIMENTO DOS FILMES DE PVA .....	31
4.5	DESENVOLVIMENTO DOS FILMES DE PLA .....	31
4.6	DESENVOLVIMENTO DOS FILMES MULTICAMADA .....	31
4.7	CARACTERIZAÇÃO DOS EXTRATOS .....	32
4.8	CARATERIZAÇÃO DOS FILMES .....	32
	4.8.1 Espessura .....	32
	4.8.2 Solubilidade em água .....	32
	4.8.3 Permeabilidade a vapor de água (PVA) .....	33
	4.8.4 Permeabilidade ao oxigênio (OP) .....	33
	4.8.5 Cor.....	34
	4.8.6 Transparência.....	34
	4.8.7 Resistencia a tração e alongamento.....	35
	4.8.8 Termogravimetria (TGA) .....	35
	4.8.9 Calorimetria diferencial de varredura (DSC) .....	35
	4.8.10 Propriedades microestruturais (SEM e FESEM).....	36
	4.8.11 Capacidade antioxidante dos carotenoides e filmes em óleo de girassol.....	36

4.8.12	Atividade antimicrobiana dos filmes de PVA, PLA e multicamada.....	37
4.8.13	Análise dos resultados .....	37
	CAPÍTULO 3: ARTIGOS CIENTÍFICOS.....	38
<b>5</b>	<b>Biodegradable Sodium Alginate Films Incorporated with Lycopene and <math>\beta</math>-Carotene for Food Packaging Purposes.....</b>	<b>39</b>
<b>6</b>	<b>PLA-PVA active laminates with p-coumaric acid for food packaging purposes.....</b>	<b>71</b>
	CAPÍTULO 4: DISCUSSÃO GERAL, CONCLUSÃO E PERSPECTIVAS FUTURAS.....	101
<b>7</b>	<b>DISCUSSÃO GERAL.....</b>	<b>102</b>
<b>8</b>	<b>CONCLUSÕES.....</b>	<b>107</b>
<b>9</b>	<b>PERSPECTIVAS FUTURAS.....</b>	<b>108</b>
	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....	108

## 1 INTRODUÇÃO

As principais funções das embalagens de alimentos são proteger os alimentos de fatores físicos, químicos e biológicos, para reduzir sua deterioração e prolongar os efeitos benéficos do processamento, com manutenção da qualidade e segurança dos alimentos com o prolongamento da vida útil. Na indústria de alimentos, os filmes plásticos, obtidos em sua maioria a partir de polímeros derivados de petróleo, são comumente utilizados como embalagem devido a suas boas propriedades mecânicas e de barreira, estabilidade térmica, baixa permeabilidade ao vapor de água, ampla aplicabilidade, baixo custo e alta durabilidade.

O mercado mundial de filmes plásticos é dominado pelo uso de polietileno (PE) e de polipropileno (PP), que juntos somam a produção de cerca de 34 milhões de toneladas por ano. Os dados da Plastics Europe confirmam que independentemente do tipo de polímero, a embalagem é o maior uso final dos plásticos (44%) (AVÉROUS; POLLET, 2012; PLASTICSEUROPE, 2022). Mundialmente, um total de 1,3 bilhão de toneladas de resíduos sólidos urbanos por ano foi gerado em 2012, mas espera-se que esse total aumente para 2,2 bilhões de toneladas por ano até 2025 (SENTURK PARREIDT; MÜLLER; SCHMID, 2018).

Os materiais de embalagem não renováveis e não biodegradáveis podem ser descartáveis e altamente duráveis, dependendo de sua composição e aplicação específica, porém apresentam sérios inconvenientes ambientais. A mudança climática global, causada em parte pelas emissões tóxicas geradas na incineração de resíduos plásticos, tornou-se um problema cada vez mais importante, e o descarte de itens elaborados a partir de plásticos, como utensílios de fast-food, embalagens e sacos de lixo, também gera um problema ambiental. Além disso, a reciclagem de plástico apresenta um equilíbrio ecológico negativo devido à necessidade, em quase todos os casos, de eliminar resíduos presentes nas embalagens plásticas, bem como o consumo de energia durante as fases do processo de reciclagem (GONTARD *et al.*, 2011; AVÉROUS; POLLET, 2012).

A crescente preocupação dos consumidores com os problemas ambientais decorrentes do uso de embalagens a partir de fontes não renováveis, bem como a demanda por alimentos saudáveis contribuíram para o desenvolvimento de

embalagens fabricadas com fontes naturais (NARAYAN, 2014). A fim de resolver este problema, empresas e pesquisadores têm trabalhado em maneiras de desenvolver novas estratégias para produção de embalagem com materiais biodegradáveis, a partir de polímeros naturais ou sintéticos (GONTARD *et al.*, 2011).

Por estas diferentes razões, alcançar as condições das substituições plásticas convencionais por polímeros degradáveis, particularmente para aplicações de curto prazo (embalagens), é de grande interesse para a sociedade como um todo, desde as indústrias até os consumidores. Embora os filmes biodegradáveis não pretendam substituir totalmente as embalagens sintéticas tradicionais, eles têm o potencial de reduzir seu uso, de funcionar como sistemas de liberação controlada de substâncias ativas e de limitar a migração de umidade, aroma e lipídios entre os componentes de alimentos (AVÉROUS; POLLET, 2012; HAN, 2014b).

Existe a possibilidade da incorporação de alguns aditivos com propriedades antioxidantes e/ou antimicrobianas à matriz de filmes biodegradáveis com o objetivo de preservar e prolongar a vida útil dos alimentos embalados. Os filmes podem atuar como portadores de substâncias antioxidantes para proteger contra descoloração, degradação e rancidez oxidativa (PARREIDT *et al.*, 2018).

A adição de antioxidantes naturais pode alterar a estrutura da matriz polimérica do filme. A adição destes compostos pode proporcionar maior barreira à luz visível e UV, assim como menor permeabilidade ao vapor de água através do caráter hidrofóbico do antioxidante adicionado, e maior atividade antioxidante, o que pode propiciar uma melhor estabilidade de alimentos com alto teor de gordura (NORONHA *et al.*, 2014; PAGNO *et al.*, 2016). Os agentes antimicrobianos incorporados inibem o crescimento indesejável de micro-organismos na superfície do alimento de forma mais eficiente do que sua incorporação direta no alimento, devido à sua liberação controlada da embalagem para o produto. A liberação controlada pode prolongar a ação antimicrobiana ao longo do tempo de forma mais constante, necessitando assim de doses menores de princípios ativos (HERNÁNDEZ-GARCÍA *et al.*, 2021).

Nos últimos anos foram desenvolvidos estudos para caracterizar e avaliar a estabilidade de filmes biodegradáveis obtidos a partir de biopolímeros naturais e incorporados de carotenoides e ácidos fenólicos. Os resultados têm demonstrado que

foi possível desenvolver filmes com atividade antioxidante e antimicrobiana que podem ser aplicados como embalagens de alimentos (NORONHA *et al.*, 2014; DOS SANTOS *et al.*, 2016; PAGNO *et al.*, 2016; ASSIS *et al.*, 2018; ANDRADE; GONZÁLEZ- MARTÍNEZ; CHIRALT, 2022; ORDOÑEZ; ATARÉS; CHIRALT, 2022b).

Os filmes plásticos à base de polímeros não biodegradáveis são os mais utilizados na indústria de embalagens para embalagens alimentícias e médicas (POLYMER PROPERTIES DATABASE, 2022). Os filmes multicamadas para fins de embalagem variam de 3 a 12 camadas. Os filmes de monocamada têm boas propriedades mecânicas, mas fracas propriedades de barreira (oxigênio, vapor de água e aroma) e baixa resistência ao calor ou vice-versa. Esses fatores são essencialmente para aumentar a vida útil dos alimentos embalados (ALIAS; WAN; SARBON, 2022). Além disso, compostos bioativos com propriedades antimicrobianas ou antioxidantes podem ser adicionados aos filmes multicamadas, a fim de desenvolver uma embalagem ativa com benefícios funcionais (TAMPAU *et al.*, 2020; ANDRADE; GONZÁLEZ-MARTÍNEZ; CHIRALT, 2022; ORDOÑEZ; ATARÉS; CHIRALT, 2022a). A união entre camadas é o principal requisito para uma montagem multicamadas bem-sucedida. O procedimento precisa alcançar a melhor aderência entre monocamadas e às vezes é necessário o uso de plastificantes, emulsificantes e outros aditivos (LA FUENTE ARIAS *et al.*, 2021).

Neste contexto, por causa das boas propriedades na formação de filmes, o alginato de sódio, PLA e PVA se apresentam como excelentes materiais para serem usados na matriz filmogênica. O licopeno,  $\beta$ -caroteno e o ácido p-cumárico apresentam uma boa capacidade antioxidante e atividade antimicrobiana com alto potencial para serem incorporados nos filmes com o objetivo de desenvolver embalagens com propriedades funcionais.

Este trabalho está organizado na forma de capítulos. O **Capítulo 1** apresenta a fundamentação teórica dos assuntos abordados ao longo da presente tese. No **Capítulo 2** estão descritos os procedimentos empregados para a realização do trabalho, na forma de Materiais e Métodos. Os artigos produzidos a partir dos resultados obtidos estão apresentados no **Capítulo 3**, e o **Capítulo 4** compreende uma discussão geral do trabalho realizado, assim como as conclusões obtidas a partir do mesmo.

## 2 OBJETIVOS

### 2.1 OBJETIVO GERAL

Desenvolver filmes biodegradáveis com propriedades funcionais, produzidos a partir de alginato de sódio, PLA e PVA, usando glicerina como plastificante, e incorporados de carotenoides e ácidos fenólicos, com propriedades adequadas para aplicação como embalagem de alimentos *in natura* suscetíveis à oxidação e crescimento microbiano.

### 2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Desenvolver filmes de alginato de sódio complexados com cloreto de cálcio e glicerina como plastificante e incorporados com licopeno e  $\beta$ -caroteno, usando a técnica de *casting*;
- Verificar a influência da adição de diferentes concentrações de carotenoides nas propriedades mecânicas, ópticas, térmicas e de barreira dos filmes;
- Verificar o potencial antioxidante dos filmes ativos através da avaliação da estabilidade oxidativa de óleo de girassol embalado nos filmes produzidos sob condições aceleradas de armazenamento (luz e temperatura), através da análise da formação de peróxidos e dienos e trienos conjugados;
- Desenvolver filmes multicamada de PVA e PLA com glicerina como plastificante, incorporados com ácido p-cumárico, usando a técnica de *thermoprocessing*;
- Verificar a influência da adição de diferentes concentrações de ácido p-cumárico nas propriedades mecânicas, ópticas, térmicas e de barreira dos filmes ativos multicamada;
- Avaliar a atividade antimicrobiana dos filmes ativos multicamada através da análise da inibição do crescimento microbiano *in vitro* usando as bactérias *Escherichia coli* e *Listeria innocua*;

## **CAPÍTULO 1: REVISÃO DA LITERATURA**

### 3 REVISÃO DE LITERATURA

#### 3.1 FILMES BIODEGRADÁVEIS

Um filme é essencialmente uma rede polimérica de interação extensiva de uma estrutura de gel tridimensional. Embora o processo de formação de filme, seja em fundição úmida ou em fundição a seco, os materiais formadores de filme devem formar uma estrutura de gel rearranjado espacialmente com todos os agentes formadores incorporados, como biopolímeros, plastificantes, outros aditivos e solventes. Os materiais formadores de película biopoliméricos são geralmente gelatinizados ou gelificados para produzir soluções formadoras de película. Para filmes obtidos a partir de polissacarídeos, várias modificações químicas estão disponíveis, entre essas, a complexação (HAN, 2014b).

A embalagem desempenha um papel importante na preservação e proteção de todos os tipos de alimentos e de suas matérias-primas em toda a cadeia de distribuição, como também pode contribuir para minimizar ou evitar a deterioração oxidativa e/ou microbiana durante o armazenamento (RYDZ *et al.*, 2018). Danos mecânicos e alterações por causa de fatores físicos, químicos e biológicos podem ser evitados pelo uso de embalagens, prolongando os efeitos benéficos do processamento, com manutenção da qualidade e segurança dos alimentos e possível aumento de sua vida útil (MARSH; BUGUSU, 2007). O setor de embalagens para alimentos encontra-se em constante desenvolvimento devido à ampliação dos mercados internacionais, regulações alimentares, avanços tecnológicos, disponibilidade de matérias-primas, além das demandas dos consumidores (SENTURK PARREIDT; MÜLLER; SCHMID, 2018).

Atualmente as embalagens plásticas produzidas a partir de polímeros oriundos da indústria petrolífera representam um fator indispensável na vida do consumidor por causa de sua versatilidade e capacidade de inovação. Além disso, apresentam boas propriedades mecânicas, resistência química e barreira ao oxigênio. Os plásticos podem ser formados por uma extensa gama de diferentes materiais que podem oferecer soluções personalizadas para inúmeros produtos, aplicações e setores (KABASCI, 2014).

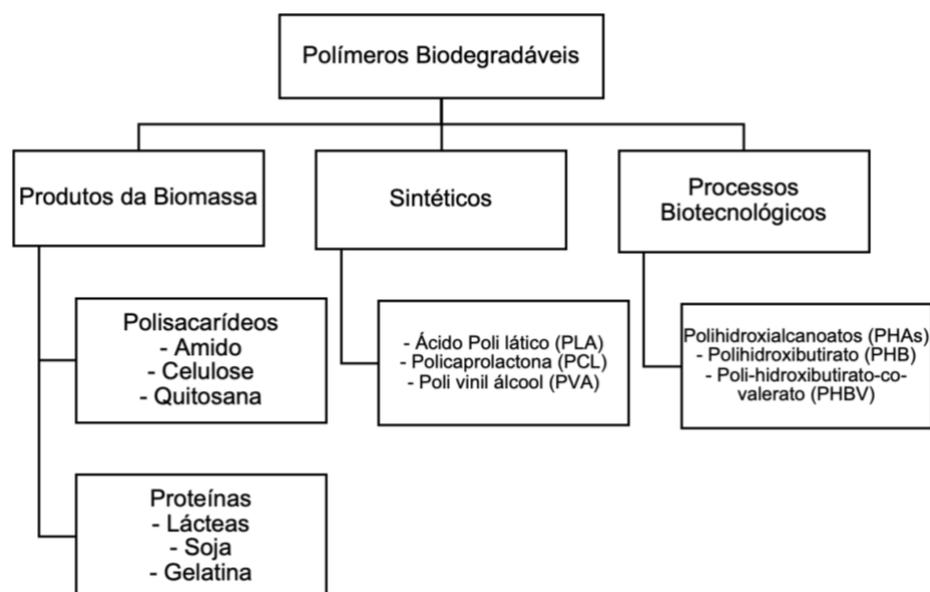
Segundo dados relatados pela Associação de Fabricantes de Plástico (PlasticsEurope, 2022) a produção mundial de plásticos em 2021 foi mais de 390 milhões de toneladas, liderada pelos continentes da Ásia e a Norte América. Esta produção pode ser considerada preocupante, uma vez que a maior percentagem se refere a materiais gerados a partir do petróleo. Os plásticos são obtidos em sua maioria a partir de fontes fósseis, embora possam também ser obtidos a partir de fontes biológicas; e em ambos casos podem ser biodegradáveis (KABASCI, 2014).

Nos últimos anos, a maior quantidade de plástico produzido (aproximadamente 44%) é destinada ao desenvolvimento de embalagens. Polímeros não biodegradáveis como o polipropileno (PP), polietileno (PE), policloreto de polivinila (PVC), poli tereftalato de etila (PET) e poliestireno (PS) são os mais utilizados como material polimérico na produção de embalagens para alimentos (in natura, doces, salgados e lanches), materiais cotidianos como filmes de cozinha, recipientes para micro-ondas, sacolas de supermercado e sacos de lixo, bandejas e recipientes reutilizáveis, filme de embalagem, garrafas de bebidas, representando mais do 60% da demanda global de plástico na Europa (PLACKETT, 2011; PLASTICSEUROPE, 2022).

Os plásticos derivados de fontes petroquímicas, como PS, PP, PE, e PET têm sido cada vez mais utilizados como materiais de embalagem devido à sua disponibilidade em grandes quantidades a baixo custo e suas propriedades funcionais favoráveis: boa resistência à tração, boa barreira ao oxigênio e possibilidade de selagem pelo calor (MENSITIERI *et al.*, 2011). Em contrapartida, tais polímeros apresentam baixa taxa de transmissão de vapor de água e não são totalmente biodegradáveis, fato que pode impulsionar a poluição ambiental e gerar sérios problemas ecológicos (THARANATHAN, 2003; MENSITIERI *et al.*, 2011).

A crescente preocupação dos consumidores com os problemas ambientais decorrentes do uso de embalagens sintéticas, bem como a demanda por alimentos de maior qualidade contribuíram para o desenvolvimento de embalagens fabricadas a partir de fontes biodegradáveis (PRAMEELA; MURALI MOHAN; RAMAKRISHNA, 2018; SILVA; BIERHALZ; KIECKBUSCH, 2009). De acordo com forma de síntese e fonte de obtenção, os polímeros biodegradáveis para desenvolvimento de embalagens ativas biodegradáveis são classificados em três grupos principais (**Figura 1**).

**Figura 1** Classificação de polímeros biodegradáveis de acordo com sua origem.



Fonte: Adaptado de (HERNÁNDEZ-GARCÍA *et al.*, 2021).

O primeiro grupo corresponde aos obtidos a partir da biomassa, como no caso dos biopolímeros extraídos de recursos agroalimentares ou resíduos, tais como polissacarídeos (amido, celulose, alginato ou quitosana) e proteínas (lácteos e proteínas de soja ou gelatina). O segundo grupo corresponde aos polímeros sintéticos obtidos a partir de monômeros de fontes renováveis, como o ácido polilático (PLA), ou do petróleo: poli vinil álcool (PVA). O terceiro grupo é formado por polímeros produzidos por microrganismos, obtidos a partir de processos biotecnológicos por meio da extração de culturas, como os PHAs (HERNÁNDEZ-GARCÍA *et al.*, 2021).

O uso de biopolímeros provoca menos lixo e menos poluição, assim, os polímeros biodegradáveis substituem os processos de reciclagem mais tradicionais, enquanto no setor de embalagens alimentícias, o objetivo da aplicação dos filmes de biopolímeros, é preservar a qualidade dos produtos alimentícios, protegendo-os da deterioração física, química e biológica, resultando na extensão da vida útil e melhoria da segurança. Eles também podem proteger os produtos alimentares da migração de umidade, crescimento microbiano na superfície, alterações químicas induzidas pela luz e oxidação de nutrientes. Além disso, funcionam como barreiras contra óleos, gases ou vapores e como portadores de substâncias ativas, como antioxidantes, antimicrobianos, corantes e aromatizantes (POPOVIĆ *et al.*, 2018).

O uso de filmes de biopolímeros como embalagem primária pode substituir potencialmente materiais de embalagem convencionais, parcial ou totalmente, o que pode reduzir a utilização global de materiais sintéticos (ROBERTSON, 2012). Uma vantagem adicional dos materiais de embalagem biodegradáveis é que na biodegradação ou desintegração e compostagem eles podem atuar como fertilizantes e condicionadores de solo, o que pode proporcionar aumento na produção agrícola (THARANATAN, 2003).

Contudo, os biopolímeros têm que competir com polímeros derivados de combustíveis fósseis (convencionais) em termos de propriedades mecânicas, condições de processamento, custo, sendo por essa razão que a indústria de embalagens produzidas a partir de biopolímeros não podem considerar somente a biodegradabilidade do material, mas também à sua funcionalidade (MENSITIERI *et al.*, 2011; POPOVIĆ *et al.*, 2018).

Os materiais de embalagem precisam atender a diferentes necessidades em termos de resistência à umidade, bem como às barreiras de vapor de água e a gases, como uma alternativa para a conservação ideal dos alimentos. As estruturas multicamadas baseadas em polímeros ou substratos são amplamente utilizadas, pois consistem em diferentes materiais combinadas por extrusão ou laminação e que apresentam melhores propriedades funcionais. Assim, o uso de compostos biodegradáveis e de base biológica nesse sistema, pode reduzir a dependência dos produtos petroquímicos e a reciclagem completa da embalagem pode ser alcançada (JOST *et al.*, 2014).

Os polímeros biodegradáveis oferecem propriedades mecânicas competitivas e econômicas em comparação com polímeros sintéticos. Porém, para superar os problemas de alongação e ruptura associados aos biopolímeros, plastificantes e outros aditivos naturais são adicionados na solução filmogênica (HAN, 2014a). O uso dos aditivos biodegradáveis, com baixa toxicidade e boa compatibilidade atraiu o mercado juntamente com a tendência mundial crescente de uso de biopolímeros (CAO; YANG; FU, 2009).

Os plastificantes são compostos não voláteis e de baixa massa molecular, com alto ponto de ebulição e miscíveis com o polímero, que são adicionados para alterar

as propriedades mecânicas e físicas dos filmes, geralmente necessários para filmes baseados em polissacarídeos ou proteínas (SENTURK PARREIDT; MÜLLER; SCHMID, 2018; SKURTYS *et al.*, 2010). A escolha dos plastificantes a serem adicionados à solução filmogênica depende da sua compatibilidade com o polímero e o solvente, de modo a evitar a separação prematura durante o processo de secagem e alcançar uma plastificação efetiva (PRAMEELA; MURALI MOHAN; RAMAKRISHNA, 2018).

O uso de um plastificante é normalmente necessário na formulação de filmes a partir de biopolímeros ou misturas de biopolímeros. Este é um resultado direto das interações específicas nos materiais, bem como sua sensibilidade a temperaturas relativamente altas. O plastificante tem uma clara influência nas propriedades reológicas do biopolímero e, por sua vez, na morfologia e propriedades finais das misturas (HEERES; VAN MASTRIGT; PICCHIONI, 2013). Os plastificantes mais eficazes geralmente têm uma estrutura molecular semelhante com o polímero no qual serão incorporados. No caso dos carboidratos, os plastificantes mais utilizados são os polióis (especialmente sorbitol ou glicerol), porque reduzem as ligações de hidrogênio entre as cadeias e, assim, aumentam o volume molecular livre. Outros polióis, como frutose, ou polietilenoglicóis (PEG), também são exemplos de plastificantes (SANTANA; KIECKBUSCH, 2013). A eficácia relativa dos diferentes polióis pode ser atribuída às suas diferentes habilidades de se associarem com a água, já que a água também funciona como um potente plastificante de carboidratos e proteínas. Uma vez que a permeabilidade depende da difusividade na matriz polimérica e na solubilidade do equilíbrio interfacial, plastificantes menos hidrofílicos devem ser preferidos se o objetivo for a redução da permeabilidade ao vapor de água (SANTANA; KIECKBUSCH, 2013).

Os plastificantes são adicionados aos filmes, a fim de reduzir a temperatura de transição vítrea e o módulo de elasticidade, e, portanto, obter uma redução na fragilidade e um aumento na flexibilidade, tenacidade, tração e resistência ao impacto. A concentração de plastificante usada na preparação do filme geralmente varia de 10 a 60 g/100 g de biopolímero, dependendo da flexibilidade desejada do filme (GUILBERT; GONTARD; GORRIS, 1996). Nesse contexto as propriedades mecânicas das embalagens biodegradáveis podem ser melhoradas pela plastificação

da rede polimérica (JOST *et al.*, 2014). Como desvantagem, os plastificantes geralmente aumentam a permeabilidade do filme ao oxigênio, umidade, aroma e óleos, devido à redução das atrações intermoleculares ao longo das cadeias poliméricas (TAVASSOLI- KAFRANI; SHEKARCHIZADEH; MASOUDPOUR-BEHABADI, 2016). A adição de plastificantes hidrofílicos à formulação geralmente promove a permeabilidade ao vapor de água e influencia as propriedades mecânicas do material do filme (SENTURK PARREIDT; MÜLLER; SCHMID, 2018).

As tecnologias para a produção de filmes de biopolímeros são semelhantes às das estruturas termoplásticas: fundição por solvente (*casting*) e extrusão (SKURTYIS *et al.*, 2010). Para materiais filmogênicos dispersos em soluções aquosas, a remoção do solvente é necessária para obter uma formação sólida do filme e controlar suas propriedades.

Uma das técnicas mais utilizadas para formar filmes é o *casting*, em que as dispersões são espalhadas sobre um material de base adequado e depois são secas. Durante a secagem da solução, a solubilidade do polímero diminui como resultado da evaporação do solvente, até que as cadeias poliméricas se alinhem para formação dos filmes (NUSSINOVITCH, 2013).

A fundição de misturas em seco, em seguida, moldadas por compressão, é conhecida como *thermoprocessing*, uma técnica mais adaptável especificamente para polímeros termoplásticos. Por causa disso, esse método é considerado ecologicamente correto, econômico e melhor para produção em massa. O bom deste método é que não requer nenhum tipo de solvente. Nos últimos anos está sendo muito utilizada para obter filmes multicamada incorporados com compostos bioativos (LA FUENTE ARIAS *et al.*, 2021).

## **3.2 FILMES BIODEGRADÁVEIS DE ALGINATO DE SÓDIO**

### **3.2.1 Alginato de sódio**

O alginato de sódio é um polissacarídeo natural que pode ser isolado das paredes celulares das algas marrons da família *Phaeophyceae*, principalmente, *Macrocystis pyrifera*, *Ascophyllum nodosum* e *Laminaria hyperborean*, onde está presente como os sais de cálcio, magnésio e sódio do ácido algínico formando parte da parede celular com funções estruturais semelhantes à carragenina e ágar

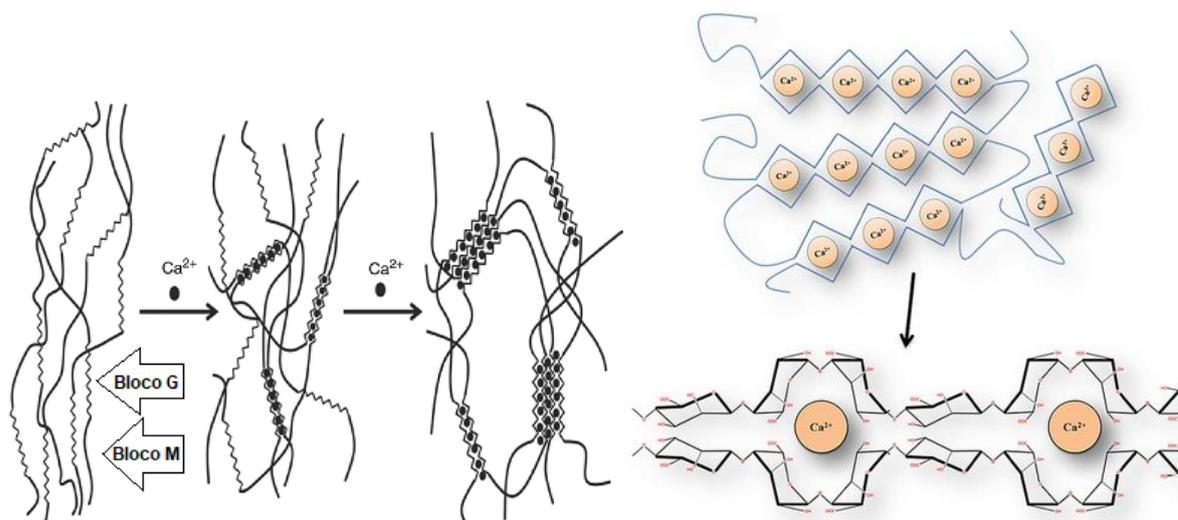
(BIERHALZ; DA SILVA; KIECKBUSCH, 2012; LILING *et al.*, 2016; QIN *et al.*, 2018; SEIXAS *et al.*, 2013; SENTURK PARREIDT; MÜLLER; SCHMID, 2018). Este hidrocoloide também pode ser sintetizado por microrganismos como *Pseudomonas aeruginosa* e *Azerobacter vinelandii*) (BLANCO-PASCUAL; MONTERO; GÓMEZ-GUILLÉN, 2014; GAO; POLLET; AVÉROUS, 2017). A extração do alginato é realizada através de uma série de etapas envolvendo a dissolução do ácido algínico na biomassa de algas marinhas com uma solução alcalina, precipitação de alginato de sódio com cloreto de cálcio, filtração e subseqüentes operações de purificação e secagem (QIN *et al.*, 2018).

A estrutura molecular do alginato está constituída principalmente por copolímeros lineares binários não-ramificados de ácido polimanurônico e ácido poligulurônico unidos por ligações glicosídicas (1-4) (SANTANA; KIECKBUSCH, 2013; TAVASSOLI-KAFRANI; SHEKARCHIZADEH; MASOUDPOUR-BEHABADI, 2016). A fonte do alginato afeta a proporção de resíduos M e G, e provoca um impacto nas propriedades físicas e químicas do polissacarídeo, bem como a viscosidade da solução de revestimento e a espessura do produto (SENTURK PARREIDT; MÜLLER; SCHMID, 2018). Baseado na estrutura o alginato se dissolve facilmente em água e pode desenvolver soluções filmogênicas homogêneas, que após secagem formam filmes que têm uma ampla gama de aplicações alimentares, entre essas como embalagem (BLANCO-PASCUAL; MONTERO; GÓMEZ-GUILLÉN, 2014; RINAUDO, 2014).

Os alginatos são preferencialmente extraídos na forma de sódio devido a sua solubilidade em água fria, o alginato de sódio é o sal mais comumente usado (FERTAH *et al.*, 2017; FUNAMI *et al.*, 2009; LILING *et al.*, 2016; SANTANA; KIECKBUSCH, 2013). Uma das propriedades mais atrativas do alginato é a sua capacidade de gelificar em soluções aquosas na presença de íons divalentes (sais de cálcio), sem ser necessário aplicar calor para formar gel termicamente estável, permitindo evitar os efeitos prejudiciais (degradação) que o calor pode causar nos componentes bioativos envolvidos (QIN *et al.*, 2018). Essa propriedade está relacionada com complexação que acontece na cavidade proporcionada pelos blocos G na estrutura linear (**Figura 2**) (TAVASSOLI-KAFRANI; SHEKARCHIZADEH; MASOUDPOUR-BEHABADI, 2016). Posteriormente, depois do processo de secagem

da solução filmogênica complexada é possível formar filmes de alginato com diferentes propriedades físico-químicas (QIN *et al.*, 2018).

**Figura 2** Formação de estrutura complexada através da interação de íons de cálcio com os grupos de ácido carboxílico do alginato.



Fonte: Adaptado de (QIN *et al.*, 2018; SENTURK PARREIDT; MÜLLER; SCHMID, 2018).

### 3.2.2 Complexação

O alginato é um trocador iônico natural, o estado carregado do alginato é benéfico para a formação de filmes. A adição de um determinado cátion divalente na solução leva à formação de gel através da troca iônica, sendo que este polissacarídeo apresenta afinidade pelos metais alcalino-terrosos como  $\text{Ca}^{++}$ ,  $\text{Sr}^{++}$  e  $\text{Ba}^{++}$ . Por sua vez, os cátions monovalentes e os íons  $\text{Mg}^{++}$  não formam gel, embora alguns cátions, como  $\text{Pb}^{++}$ ,  $\text{Cu}^{++}$ ,  $\text{Cd}^{++}$ , entre outros, também possam induzir a gelificação, a sua toxicidade limita sua utilização (OZILGEN; BUCAK, 2018; SENTURK PARREIDT; MÜLLER; SCHMID, 2018).

Cada resíduo de alginato tem um grupo ácido carboxílico que pode formar sal com estes íons, uma vez que a solução de alginato de sódio entra em contato com eles, forma-se uma estrutura gelificada com mudanças conformacionais no alginato, tais como o alinhamento dos blocos G e a formação do modelo de “caixa de ovo” devido à ligação de íons de cálcio entre duas cadeias e a formação de pontes de sal, que causa o aprisionamento de uma grande quantidade de água dentro da rede

polimérica (**Figura 2**) (BIERHALZ *et al.*, 2014; QIN *et al.*, 2018; SENTURK PARREIDT; MÜLLER; SCHMID, 2018; TAVASSOLI-KAFRANI; SHEKARCHIZADEH; MASOUDPOUR-BEHABADI, 2016).

A complexação da estrutura polimérica com cálcio reduz consideravelmente a solubilidade e a permeabilidade ao vapor de água dos filmes, bem como sua flexibilidade, além de proporcionar maior resistência do material (SANTANA; KIECKBUSCH, 2013; SEIXAS *et al.*, 2013). A reação do alginato com íons de cálcio é rápida, mas a moldagem para produção do filme é difícil (TAVASSOLI-KAFRANI; SHEKARCHIZADEH; MASOUDPOUR-BEHABADI, 2016). Por esse motivo, podem ser usados procedimentos de 1 etapa (baixa complexação) ou 2 etapas (complexação complementar) para preparar filmes complexados. A escolha do tipo de complexação também depende das propriedades físicas desejadas no filme final, para diminuir a solubilidade dos filmes em meio aquoso é necessário fazer a complexação complementar (GALUS; LENART, 2013; SANTANA; KIECKBUSCH, 2013; SEIXAS *et al.*, 2013; SILVA; BIERHALZ; KIECKBUSCH, 2009).

### **3.2.3 Formação e propriedades de filmes de alginato de sódio**

Entre os diversos materiais investigados para a produção de filmes biodegradáveis, o alginato representa um polissacarídeo importante, por serem polímeros naturais que apresentam características termoestáveis e reológicas, possuem baixo custo, ausência de toxicidade, boas propriedades gelificantes, biodegradabilidade, biocompatibilidade e fácil modificação química e bioquímica (SANTANA; KIECKBUSCH, 2013; SEIXAS *et al.*, 2013).

O alginato de sódio forma um filme transparente e incolor após a dissolução em água e secagem. Os filmes de alginato possuem excelente resistência à tração e flexibilidade, além de serem resistentes ao rasgamento e impermeáveis aos óleos. Devido ao atual pedido de redução ou substituição de embalagens de alimentos não biodegradáveis ou não recicláveis, a capacidade de formação de filme do alginato tem um elevado potencial na indústria alimentar funcional. Os filmes de alginato são seguros de usar, fáceis de processar e podem propiciar excelente estabilidade do produto embalado e estender seu prazo de validade. No entanto, a natureza porosa dos géis de alginato os torna permeáveis ao oxigênio e à água (QIN *et al.*, 2018).

Por ser um hidrocoloide o alginato é um material hidrofílico, portanto, os filmes apresentam barreiras fracas de umidade, mas altas barreiras ao O<sub>2</sub> e pode proporcionar melhor estabilidade para alimentos ricos em lipídeos insaturados. A baixa barreira à umidade é causada pelo comportamento de absorção e intumescimento dos alginatos, que acelera a captação de água e a transmissão ao vapor de água (JOST *et al.*, 2014). Além disso, é possível melhorar as propriedades tecnológicas dos filmes a base de alginato através de reações químicas como a complexação ou tratamentos físicos como ultrassom, calor ou radiação (TAVASSOLI-KAFRANI; SHEKARCHIZADEH; MASOUDPOUR-BEHABADI, 2016).

Uma das técnicas mais utilizadas para formar filmes de alginato é a técnica de “*casting*”, que consiste em espalhar as dispersões do alginato e aditivos sobre um material de base adequado e depois secar em estufa com circulação de ar (TAVASSOLI-KAFRANI; SHEKARCHIZADEH; MASOUDPOUR-BEHABADI, 2016).

O glicerol, o sorbitol, xilitol, manitol, etc., têm sido utilizados como plastificantes no desenvolvimento de filmes de alginato (GALUS; LENART, 2013; JOST *et al.*, 2014; OLIVAS; BARBOSA-CÁNOVAS, 2008; SANTANA; KIECKBUSCH, 2013; SEIXAS *et al.*, 2013; SILVA; BIERHALZ; KIECKBUSCH, 2009). Entre esses, o glicerol provou ser o mais prático e eficiente. O glicerol é abundante e de baixo custo, mas é altamente higroscópico e infinitamente solúvel em água (SANTANA; KIECKBUSCH, 2013). O uso do glicerol como plastificante permite a obtenção de filmes mais maleáveis no sentido de que pode aumentar sua elasticidade, além de serem considerados como barreira moderada ao vapor de água (SEIXAS *et al.*, 2013).

### **3.3 FILMES BIODEGRADÁVEIS DE ÁCIDO POLILÁTICO**

#### **3.3.1 Ácido Polilático (PLA)**

O ácido polilático (PLA) é um poliéster termoplástico alifático linear, obtido a partir de monômeros de ácido lático, uma molécula quiral, produzidos a partir da fermentação de fontes vegetais renováveis e biodegradáveis, como amidos de milho ou arroz e matérias-primas de açúcar (MULLER; GONZÁLEZ-MARTÍNEZ; CHIRALT, 2017). O monômero do ácido polilático, existe nas formas opticamente ativas L e D e uma mistura racêmica 1:1 de ácidos L- e D-lático, ou seja, ácido DL-lático. (SERNA C L; RODRÍGUEZ DE S A; ALBÁN A F, 2011).

A pureza ótica, o rendimento e a forma enantiomérica dominante do ácido láctico são determinados pelo tipo de *Lactobacillus* usado e pelas condições de fermentação, como tipo e concentração de nutrição, aeração, pH, temperatura e assim por diante. Do ponto de vista industrial, é crucial produzir ácido láctico com alta pureza ótica e rendimento. A remoção de impurezas do caldo de fermentação da produção de ácido láctico é importante para aumentar o peso molecular e a pureza ótica do PLA. Essas impurezas incluem carboidratos, ácidos orgânicos, álcoois, aminoácidos e proteínas. O PLA é um polímero biodegradável muito promissor, pois apresenta versatilidade, excelente processabilidade, propriedades mecânicas razoáveis, alta transparência e custo relativamente baixo (LA FUENTE ARIAS *et al.*, 2021).

### 3.3.2 Formação e propriedades de filmes de PLA

Os filmes de PLA possuem propriedades mecânicas no mesmo intervalo dos filmes plásticos obtidos a partir dos polímeros derivados do petróleo, com exceção de um alongamento baixo. No entanto, esta propriedade pode ser finada durante a polimerização (por copolimerização) ou por modificações pós-polimerização mediante o uso de plastificantes (SERNA C L; RODRÍGUEZ DE S A; ALBÁN A F, 2011). Algumas propriedades do PLA, como grau de cristalinidade, temperatura de fusão e transição vítrea, podem ser ajustadas controlando a composição de monômeros das duas formas isoméricas óticas (MENSITIERI *et al.*, 2011).

O PLA apresenta uma alta barreira à água e ao CO<sub>2</sub>, além de ser imprimível e pode nem precisar de tratamentos corona antes da impressão (ORDOÑEZ; ATARÉS; CHIRALT, 2022a). Apesar dessas várias características positivas, o PLA também apresenta desvantagens, como baixa capacidade de selagem a quente e propriedades relativamente baixas de barreira ao O<sub>2</sub> (MENSITIERI *et al.*, 2011).

Portanto, assim como com outros polímeros, a estratégia de fazer misturas para melhorar a funcionalidade do material também tem sido amplamente estudada com PLA. No entanto, como o PLA é hidrofóbico, sua compatibilidade é afetada quando misturado com biopolímeros hidrofílicos, como o amido (MULLER; GONZÁLEZ-MARTÍNEZ; CHIRALT, 2017). Outras limitações do PLA, em comparação com outras embalagens plásticas, são a baixa temperatura de distorção; isso pode ser um problema em aplicações onde o material de embalagem é exposto a picos de

aquecimento durante o enchimento, transporte ou armazenamento e pode eventualmente se deformar (SERNA C L; RODRÍGUEZ DE S A; ALBÁN A F, 2011).

O PLA pode ser duro como o acrílico ou macio como o polietileno, rígido como o poliestireno ou flexível como um elastômero. Também pode ser formulado para fornecer uma variedade de resistências. As resinas PLA podem ser esterilizadas com raios gama e são estáveis quando expostas aos raios ultravioletas. Ao PLA também são atribuídas propriedades de interesse, como maciez, resistência a arranhões e desgaste (BONILLA *et al.*, 2013b).

O ácido polilático (PLA) possui boas propriedades para fins de embalagem de alimentos e é considerado o bioplástico mais promissor, com base em sua produção e na tendência crescente de utilização. As propriedades benéficas do PLA incluem boa resistência mecânica e capacidade de termoformagem, biocompatibilidade, capacidade de compostagem e renovabilidade de monômeros, mas sua fragilidade inerente e baixa resistência térmica são desvantagens que limitam seu uso em aplicações de embalagens (JAMSHIDIAN *et al.*, 2010; MULLER; GONZÁLEZ-MARTÍNEZ; CHIRALT, 2017; ORDOÑEZ; ATARÉS; CHIRALT, 2022b).

### **3.4 FILMES BIODEGRADÁVEIS DE POLIVINIL ÀLCOOL**

#### **3.4.1 Polivinil álcool (PVA)**

O poli vinil álcool (PVA) é um polímero hidrossolúvel e biodegradável comercialmente pela hidrólise alcalina parcial ou completa do poli (acetato de vinila), eliminando os grupos acetato; isso significa que tanto o peso molecular quanto o grau de hidrólise do PVA podem ser controlados para obter materiais com propriedades e funcionalidades diferentes. O elevado número de grupos hidroxila na cadeia molecular do PVA confere-lhe uma natureza altamente hidrofílica, aumentando a biocompatibilidade, e promove a formação de ligações de hidrogênio, afetando as propriedades físicas do material (ANDRADE; GONZÁLEZ-MARTÍNEZ; CHIRALT, 2020).

#### **3.4.2 Formação e propriedades de filmes de PVA**

O PVA é um polímero atraente que exhibe muitas propriedades úteis, como baixa toxicidade, biocompatibilidade, alta hidrofílicidade, boa estabilidade química e excelentes propriedades de formação de filme (HAJJI *et al.*, 2016). Essas

características têm incentivado o uso do PVA para desenvolver filmes biodegradáveis, utilizando PVA puro ou misturado com outros biopolímeros, como amido, proteínas, quitosana ou celulose e derivados a fim de obter materiais biodegradáveis com propriedades adequadas para diferentes usos (ANDRADE; GONZÁLEZ-MARTÍNEZ; CHIRALT, 2020).

A baixíssima permeabilidade a gases ( $\text{CO}_2$  e  $\text{O}_2$ ) faz com que o PVA seja amplamente utilizado em aplicações de embalagens de alimentos, pelo fato de formar filmes solúveis em água (ABDULLAH *et al.*, 2017). Essa permeabilidade foi melhorada com a absorção de umidade, que pode atuar como plastificante para a matriz polimérica. No entanto, a tendência de absorver umidade limita seu uso em condições de alta umidade. Para modificar ou melhorar suas propriedades físicas e mecânicas, o PVA pode ser misturado com outros polímeros em compósitos multicamadas, ou a matriz de PVA pode ser reticulada com diferentes agentes, por exemplo, aditivos alimentares, óleos essenciais ou outros biopolímeros (ANDRADE; GONZÁLEZ-MARTÍNEZ; CHIRALT, 2020, 2021; BIRCK *et al.*, 2014; TAMPAU *et al.*, 2020; TAMPAU; GONZÁLEZ-MARTÍNEZ; CHIRALT, 2020).

Nos últimos anos têm sido desenvolvidos estudos na preparação de misturas com PLA. Esses materiais biodegradáveis podem ser aplicados na indústria de embalagens. O controle de características como permeabilidade ao vapor da água e  $\text{O}_2$ , e mecanismos de migração de compostos são fatores de interesse industrial. As misturas PVA/PLA consistem em componentes poliméricos com hidrofobicidades e permeabilidades essencialmente diferentes.

### **3.5 FILMES BIODEGRADÁVEIS INCORPORADOS COM COMPOSTOS BIOATIVOS**

Além dos plastificantes, os filmes biodegradáveis para embalagem de alimentos podem ser incorporados com compostos que possuem propriedades funcionais (antimicrobianos e/ou antioxidantes) que melhoram seu desempenho, estendendo a vida útil do alimento embalado (ASSIS *et al.*, 2018; BONILLA *et al.*, 2013a, 2013b). Por outro lado, a mistura com outros aditivos alimentares e agentes modificadores pode estender as aplicações dos filmes. Isso ocorre devido às fracas propriedades mecânicas (resistência à tração e alongamento) e às fracas

propriedades de barreira dos filmes e revestimentos biodegradáveis (TAVASSOLI-KAFRANI; SHEKARCHIZADEH; MASOUDPOUR-BEHABADI, 2016). As características mecânicas, funcionais, organolépticas e nutricionais dos filmes biodegradáveis podem ser modificadas com a incorporação de vários aditivos naturais ou químicos (ORDOÑEZ; ATARÉS; CHIRALT, 2022b, 2022a; REQUENA; VARGAS; CHIRALT, 2018; SENTURK PARREIDT; MÜLLER; SCHMID, 2018).

### **3.5.1 Incorporação de antioxidantes**

A incorporação de antioxidantes em filmes pode propiciar o aumento do prazo de validade do produto, protegendo os alimentos contra rancidez oxidativa, degradação e descoloração (TAVASSOLI-KAFRANI; SHEKARCHIZADEH; MASOUDPOUR-BEHABADI, 2016). Antioxidantes naturais e sintéticos são amplamente utilizados em embalagens de alimentos (SKURTYS *et al.*, 2010). Compostos fenólicos, vitaminas E e C, óleos essenciais, ascorbato de sódio, ácido cítrico e ácido ferúlico são os compostos antioxidantes mais comuns (BONILLA *et al.*, 2012; SONG *et al.*, 2011).

Entre os compostos que possuem atividade antioxidante estão os carotenoides como o licopeno ou  $\beta$ -caroteno, presentes em vários alimentos na forma de pigmentos. Nos sistemas alimentares, os carotenoides podem apresentar atividade antioxidante isoladamente ou atuar em sinergia com outros compostos bioativos. Além disso, o consumo de tais pigmentos na dieta pode atuar na redução do risco de várias doenças (por exemplo, câncer ou doenças cardiovasculares) e nas transformações biológicas associadas à idade (RODRIGUEZ-AMAYA; RODRIGUEZ; AMAYA-FARFAN, 2006).

Existem alguns estudos que avaliaram a incorporação de agentes antioxidantes em filmes biodegradáveis obtidos a partir de alginato de sódio. A aplicação de um filme com antioxidantes incorporados diminuiu a oxidação com sucesso devido às propriedades de barreira a gases do filme de alginato e ao efeito sinérgico entre dois fatores. Os antioxidantes fenólicos, que têm sido frequentemente incorporados, não atuaram como absorvedores de oxigênio, mas impediram a formação de radicais livres de ácidos graxos e, portanto, sua absorção de oxigênio na auto-oxidação (SENTURK PARREIDT; MÜLLER; SCHMID, 2018).

### 3.5.2 Incorporação de antimicrobianos

A incorporação de agentes antimicrobianos nos filmes biodegradáveis e revestimentos comestíveis demonstrou atuar como um fator de estresse para diminuir o crescimento de patógenos e para proteger os alimentos contra a flora de deterioração (SKURTYYS *et al.*, 2010). É benéfica em comparação à sua aplicação direta a produtos alimentícios, devido à oportunidade de liberar gradualmente os agentes e manter uma concentração crítica por um período prolongado (HERNÁNDEZ-GARCÍA *et al.*, 2021). Os compostos antimicrobianos incluem ácidos orgânicos (ácido láctico, acético, málico e cítrico), quitosana, o sistema lactoperoxidase e alguns metabólitos secundários derivados de plantas (cássia, cravo, alho, sálvia, orégano, pimentão, tomilho, alecrim, erva cidreira), como óleos essenciais e fitoalexinas. Filmes e revestimentos comestíveis com propriedades antimicrobianas podem ser nomeados como embalagens ativas (SUNG *et al.*, 2013).

Uma grande variedade de substâncias antimicrobianas já foi incorporada em filmes biodegradáveis de PLA e PVA formando embalagens biodegradáveis ativas inteligentes. Os resultados mostraram que o filme consegue diminuir eficazmente a carga microbiana dos produtos alimentícios revestidos (ANDRADE; GONZÁLEZ-MARTÍNEZ; CHIRALT, 2022; ORDOÑEZ; ATARÉS; CHIRALT, 2022a). Entre esses, os óleos essenciais foram adicionados para introduzir propriedades antimicrobianas, mas o fator limitante da sua utilização é o seu sabor forte, que se origina dos compostos fenólicos presentes (ANDRADE; GONZÁLEZ-MARTÍNEZ; CHIRALT, 2020; SENTURK PARREIDT; MÜLLER; SCHMID, 2018; TAMPAU; GONZÁLEZ-MARTÍNEZ; CHIRALT, 2020).

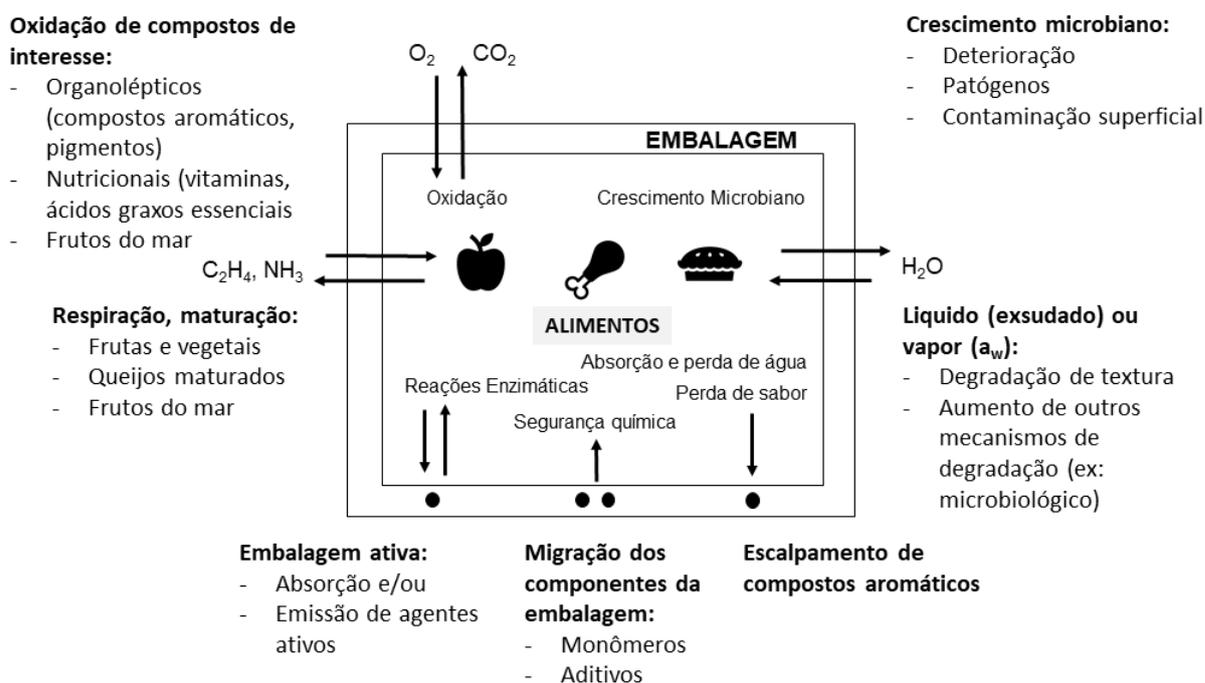
Os ácidos fenólicos são outro grupo importante de compostos bioativos com propriedades antioxidantes e antimicrobianas. Estudos realizados nos últimos anos mostram que são ingredientes bastante úteis em termos de saúde humana, em que os cereais integrais são fontes primárias de ácidos fenólicos hidroxicinâmicos, como o ácido ferúlico, vanílico, sinápico e p- cumárico (FARDET; ROCK; RÉMÉSY, 2008). O ácido p-cumárico (ácido 4- hidroxí-cinâmico), classificado como nutracêutico e fitoquímico, é identificado em níveis significativos em muitas frutas e vegetais, bem como em cereais, sendo considerado um dos mais importantes ácidos fenólicos pela

sua atividade antimicrobiana, antioxidante e anticancerígena com muitas funções fisiológicas (BOZ, 2015).

### 3.6 APLICAÇÃO DE FILMES BIODEGRADÁVEIS EM ALIMENTOS *IN NATURA*

Os materiais de embalagem em termos de qualidade dos alimentos e a preservação da segurança são protagonistas no controle da transferência de massa entre os alimentos, a embalagem e a atmosfera, em conjunto com os problemas logísticos, de custo e ambientais. Além da proteção contra agressões leves e mecânicas, a embalagem dos alimentos deve controlar a transferência dos principais gases (oxigênio, dióxido de carbono, etileno, etc.) e vapores (umidade, compostos aromáticos, etc.) envolvidos na degradação química, biológica, e microbiológica dos alimentos, assim como também a migração de aditivos e constituintes de embalagens potencialmente tóxicos (**Figura 3**) (GONTARD *et al.*, 2011).

**Figura 3** Importância do controle da transferência de massa e gases nas embalagens de alimentos



Fonte: Adaptado de (GONTARD *et al.*, 2011)

Frutas e vegetais minimamente processados são submetidos a etapas de preparação, que removem as barreiras naturais (cutícula, pele, casca), induz lesões de tecidos, danificam a integridade do fruto e causam estresse de fermento, tornando-

o vulnerável a contaminação, escurecimento enzimático, formação volátil indesejável e alterações na textura. Os efeitos de deterioração, bem como o crescimento de bactérias deteriorantes e patogênicas, podem ser evitados aumentando as barreiras naturais ou substituindo-as por barreiras artificiais que circundam o produto, como um filme ou revestimento comestível (OLIVAS; BARBOSA-CANOVAS, 2005).

O atraso da respiração e processos fisiológicos são requisitos para a extensão da vida de prateleira de frutas e vegetais. Desta forma, revestimentos e filmes com a capacidade de modificar o transporte de gás têm o potencial para aplicações na embalagem de produtos frescos (NCAMA *et al.*, 2018). Em particular, os revestimentos baseados em polissacarídeos têm sido usados para reduzir a respiração de frutas e vegetais devido a suas permeabilidades seletivas aos gases O<sub>2</sub> e CO<sub>2</sub> (GONTARD *et al.*, 2011).

Há vários desafios associados a carnes, aves e frutos do mar ao longo de sua vida útil. Eles podem ser definidos como perda de umidade e seus efeitos na textura, cor e sabor; oxidação lipídica e descoloração marrom; estrago microbiano; perda de sabor volátil e/ou coleta de odor estranho. O uso de revestimentos e filmes biodegradáveis funcionais como embalagens poderia ser uma alternativa para preservar esses alimentos (QIN *et al.*, 2018; SENTURK PARREIDT; MÜLLER; SCHMID, 2018; TAVASSOLI-KAFRANI; SHEKARCHIZADEH; MASOUDPOUR-BEHABADI, 2016).

## **CAPÍTULO 2: MATERIAL E MÉTODOS**

## 4 MATERIAL E MÉTODOS

Os experimentos e análises do presente estudo foram desenvolvidos no Laboratório de Compostos Bioativos do Instituto de Ciência e Tecnologia de Alimentos (ICTA) da Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS) e no Instituto Universitário de Engenharia de Alimentos para o Desenvolvimento (IIAD) da Universidade Politécnica de Valência (UPV) – Espanha.

### 4.1 MATERIAL

Para desenvolver os filmes por *casting*, o alginato de sódio (P.A), com pureza de 90 % (g/g) foi fornecido pela Dinâmica® da Química Contemporânea Ltda (São Paulo, Brasil). O cloreto de cálcio (P.A) dihidratado ( $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ ), com 99% (g/g) de pureza, e a glicerina (GLY) (P.A) foram comprados na Êxodo Científica (São Paulo, Brasil). Os tomates, cenouras e óleo de girassol (sem adição de antioxidantes) foi comprado em mercado de Porto Alegre, Brasil.

O polivinil álcool (PVA) ( $M_w$  13,000–23,000; 87–89% hidrolisado) da Sigma-Aldrich (Steinheim, Alemanha) e o ácido polilático amorfo 4060D (PLA) da Natureworks (U.S.A) foram usados para obter os filmes multicamada por *thermoprocessing*. A glicerina da Sigma-Aldrich (Steinheim, Alemanha) foi usada como plastificante. O ácido p-cumárico (P-CA) foi obtido da Sigma-Aldrich (Steinheim, Alemanha). O nitrato de magnésio e o pentóxido de fósforo foram fornecidos pela Panreac Química S.A. (Barcelona, Espanha). O caldo de soja triptona, ágar triptona soja e água peptonada para o teste microbiano foram adquiridos da Scharlab (Barcelona, Espanha). As cepas de *Listeria innocua* (CECT 910) e *Escherichia coli* (CECT 101) foram obtidas da Coleção de Tipos Espanhola (CECT, Universidade de Valência, Espanha). O agar vil vermelho violeta, palcam agar base e o suplemento seletivo de palcam para *L. innocua* foram comprados na Scharlab (Barcelona, Espanha). Todos os reagentes usados foram de grau analítico.

### 4.2 EXTRAÇÃO DO LICOPENO E $\beta$ -CAROTENO

O licopeno e o  $\beta$ -caroteno foram extraídos seguindo o procedimento de Nunes e Mercadante (2004) e Assis *et al.* (2018), respectivamente. Os tomates ou cenouras foram cortados (600 g) e as sementes do tomate foram descartadas. Os antioxidantes naturais foram extraídos com acetato de etila (1000 mL) em duas etapas sob agitação

mecânica usando o agitador Fisatom SP 713D (São Paulo, Brasil) durante 120 min a temperatura ambiente. Cada extrato obtido foi filtrado e finalmente concentrado usando um rotaevaporador Fisatom model 801/802 (São Paulo, Brasil) e armazenado no freezer (-18 °C).

### 4.3 DESENVOLVIMENTO DOS FILMES DE ALGINATO DE SÓDIO

Primeiramente foi obtida a solução dihidratada de cloreto de cálcio ( $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ ) para a complexação dos filmes, através da solubilização de cloreto de cálcio em água destilada (1% p/v) a 25 °C, sob agitação magnética. Após preparada, a solução foi mantida sob refrigeração (4 °C) durante 1 h. Para a preparação das soluções filmogênicas foi usado o processo de dois estágios seguindo o procedimento reportado por Santana e Kieckbusch (2013) e Seixas *et al.* (2013) com modificações. No primeiro estágio foi formado um pré-filme com baixa complexação. O alginato de sódio (1% p/v) foi solubilizado em água destilada, e com adição de glicerina como plastificante (60% p/p biopolímero), em temperatura de 25 °C, sob agitação mecânica de 1000 rpm durante 1 h para garantir a homogeneidade. Após a completa solubilização a temperatura foi incrementada para 70 °C e foi adicionada a solução  $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$  lentamente devido à intensa reação com os íons  $\text{Ca}^{2+}$  até conseguir transferir 0,04 g  $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ /g biopolímero usando uma bomba peristáltica com um fluxo máximo de 1 mL/min para evitar a gelificação local. A solução filmogênica foi colocada em banho de gelo até diminuir a temperatura para 25 °C. Baseado em testes prévios, os extratos de licopeno e  $\beta$ -caroteno foram adicionados nas concentrações de 0,1%, 0,3% e 0,5% (p/p biopolímero) na solução filmogênica e as dispersões foram identificadas como L 0.1, L 0.3, e L 0.5, e B 0.1, B 0.3, e B 0.5, respectivamente. Também foram obtidos filmes sem adição de carotenoides como controle.

Após completa dissolução a solução filmogênica foi mantida sob agitação mecânica a temperatura ambiente, durante 1 h para eliminar a presença de bolhas. A solução filmogênica parcialmente complexada foi despejada (0,48 g/cm<sup>2</sup>) em placas de Petri de poliestireno ( $\varnothing = 15$  cm). As placas foram submetidas ao processo de secagem numa estufa com circulação forçada de ar DeLeo B5AFD (São Paulo, Brasil) a 40 °C durante 16 h. Os filmes após secos, foram submetidos ao processo de complexação, para isso foi colocado 40 mL de uma solução aquosa de cloreto de cálcio (5% p/v) contendo glicerina (10% p/v) em cada placa durante 3 min. Depois a

solução foi descartada e as placas foram colocadas novamente na estufa a 40 °C durante 2 h. Finalmente os filmes secos foram condicionados a temperatura ambiente em dessecador com 52% UR durante 72 h antes das análises de caracterização.

#### **4.4 DESENVOLVIMENTO DOS FILMES DE PVA**

Os filmes foram obtidos de acordo com o procedimento descrito por Andrade (2022) com pequenas modificações. Os *pellets* de cada formulação foram obtidos por fusão dos componentes (PVA:GLY:P-CA) em diferentes proporções: 91:9:0 (PVA), 88:9:3 (PVA3) e 86:9:5 (PVA5) usando um misturador interno HAAKE PolyLab QC, Thermo Fisher Scientific (Alemanha) a 160 °C e 50 rpm, por 10 min e a posterior trituração usando um termomixer VORWERK modelo TM6-1 (Wuppertal, Alemanha) usando nitrogênio líquido. Em seguida, os *pellets* foram condicionados a 25 °C e 53% UR por 7 dias. Para obter os filmes foi realizada uma moldagem por compressão usando uma prensa de placa quente Labtech Engineering modelo LP20 (Tailândia). Os *pellets* condicionados (3 g) foram colocados em folhas de Teflon, pré-aquecidos por 3 min a 160 °C, posteriormente comprimidos a 100 bar e 160 °C por 3 min. Em seguida, um ciclo de resfriamento de 3 min foi aplicado até que a temperatura atingisse aproximadamente 70 °C. Filmes isentos de ácido p-cumárico também foram realizados e usados como controle. Os filmes de PVA foram condicionados a 53% UR até serem utilizados para caracterização e análise antimicrobiana.

#### **4.5 DESENVOLVIMENTO DOS FILMES DE PLA**

Filmes de PLA foram obtidos por moldagem por compressão de *pellets* de PLA, 2 g foram colocados em folhas de Teflon e pré-aquecidos a 160 °C por 3 min em uma prensa de placa quente. Os filmes foram obtidos por moldagem por compressão a 160 °C e 150 bar por 3 min, com um ciclo final de resfriamento de 3 min.

#### **4.6 DESENVOLVIMENTO DOS FILMES MULTICAMADA**

A montagem do filme multicamada PLA-PVA-PLA (ML) foi realizada por moldagem por compressão em prensa de placa quente, pré-aquecida a 110 °C por 3 min e, posteriormente, prensada a 110 °C e 20 bar por 3 min, seguida de um ciclo de resfriamento de 3 min até 70 °C. O mesmo processo foi seguido para os filmes multicamada PLA-PVA3-PLA (ML3) e PLA-PVA5-PLA (ML5). Todos os filmes multicamada foram armazenados a 25 °C e 53% UR.

## 4.7 CARACTERIZAÇÃO DOS EXTRATOS

A quantificação de carotenoides dos extratos foi realizada via espectrofotometria, previamente a sua incorporação às soluções filmogênicas de alginato de sódio. Os extratos foram suspensos em etanol e analisados em espectrofotômetro UV-Vis IL-592 Spectrale (Tokyo, Japão). Em cubetas de vidro de 1 cm de caminho óptico, o extrato de cenoura foi avaliado a  $\lambda = 465\text{nm}$  ( $A_{1\%} = 2592$ ), e o extrato de tomate a  $\lambda = 466\text{nm}$  ( $A_{1\%} = 3450$ ). Os resultados foram expressos em  $\beta$ -caroteno equivalente e licopeno equivalente, para extrato de cenoura e tomate, respectivamente.

## 4.8 CARATERIZAÇÃO DOS FILMES

### 4.8.1 Espessura

A espessura dos filmes foi determinada através de um micrômetro digital de alta precisão (0,001 mm) Digimess modelo IP40 (São Paulo, Brasil), onde o resultado foi expresso através da média da leitura de cinco pontos aleatórios de cada amostra. Cada formulação foi mensurada 10 vezes para melhor representação populacional.

### 4.8.2 Solubilidade em água

A solubilidade em água dos filmes biodegradáveis foi determinada de acordo com o método descrito por Gontard (1992), com algumas modificações. As amostras foram cortadas em discos ( $\varnothing = 2\text{ cm}$ ), pesadas e colocadas em cápsulas metálicas para ser submetidas a secagem em estufa com circulação e renovação de ar ( $105\text{ }^{\circ}\text{C} - 24\text{ h}$ ). Após o processo de secagem e pesagem, foram adicionados nas amostras 30 mL de água destilada nas cápsulas e submetidas a agitação usando um agitador Nova técnica modelo NT145 com banho térmico (São Paulo, Brasil) durante 24 h a  $25\text{ }^{\circ}\text{C}$ . Após essa etapa, a água de cada cápsula foi retirada e as amostras foram filtradas. As amostras não solubilizadas foram submetidas a secagem a  $105\text{ }^{\circ}\text{C}$  durante 24 h. A quantidade de matéria não solubilizada foi expressa em porcentagem de massa solubilizada em relação à massa inicial:

$$S(\%) = \left( \frac{W_i - W_f}{W_i} \right) \times 100 \quad (1)$$

Onde  $W_i$  é o peso seco inicial da amostra (g) e  $W_f$  é o peso seco final da amostra (g) após ter permanecido 24 h sob agitação nas capsulas com 30 mL de água destilada.

#### 4.8.3 Permeabilidade a vapor de água (PVA)

A permeabilidade ao vapor de água dos filmes foi avaliada de acordo com método padrão da American Society for Testing and Materials (ASTM 96-05) (ASTM, 2000) e como descrito por Pagno *et al.* (2015). Para os filmes de alginato de sódio, amostras circulares foram fixadas em células de permeação de alumínio contendo  $\text{CaCl}_2$  anidro granular e o conjunto foi armazenado em uma cuba de vidro com umidade relativa de 75% e a 25 °C, com gradiente de umidade relativa de 0/75% através de uma solução saturada de NaCl. O ganho de peso do conjunto de permeação foi avaliado após 24 h, onde cada conjunto foi pesado em balança analítica Shimadzu modelo AY (Tokyo, Japão). A PVA foi obtida através do seguinte cálculo:

$$PVA = \frac{w \times L}{A \times t \times \Delta p} \quad (2)$$

Onde  $w$  é a massa (g) de água permeada através do filme após 24 h,  $L$  é a espessura do filme (mm),  $A$  é a área de permeação,  $t$  é o tempo de permeação (h) e  $\Delta p$  é a diferença de pressão de vapor entre os dois lados do filme (Pa).

Para os filmes de PVA, PLA e multicamada a espessura de amostras de filmes circulares foi medida em seis pontos aleatórios. Os copos de permeabilidade Payne foram preenchidos com 5 mL de água destilada e selados com as amostras de filmes circulares ( $\varnothing = 3,5$  cm). Os copos foram colocados em dessecadores contendo solução supersaturada de  $\text{MgNO}_3$  e mantidos a 25 °C e pesados periodicamente a cada 1,5 h durante 25 h usando uma balança analítica Fisher Scientific ME36S - Sartorius (Hampton, NH, EUA). A taxa de transmissão de vapor de água (WVTR) foi usada para calcular o WVP considerando a taxa de perda de peso ao longo do tempo. As medições foram realizadas em triplicado para cada formulação.

#### 4.8.4 Permeabilidade ao oxigênio (OP)

A permeabilidade ao oxigênio (OP) foi determinada utilizando um equipamento Mocon Ox-Tran modelo 1/50 (Minneapolis, EUA) de acordo com o método ASTM D3985-95 (ASTM, 2010) a 25 °C e 53% UR. A área de teste do filme foi de 50 cm<sup>2</sup> e

a taxa de transmissão de oxigênio (OTR) foi usada para calcular o OP dividindo a OTR pelo gradiente de pressão parcial de oxigênio em ambos os lados do filme e multiplicando pela espessura média do filme, que tinha sido previamente medida em seis posições aleatórias na amostra. As medidas foram realizadas em duplicata.

#### 4.8.5 Cor

A coloração dos filmes foi avaliada usando um colorímetro Konica Minolta modelo CR-400 (Tokyo, Japão) de acordo com sistema CIELab. Um prato branco de cerâmica foi usado para calibrar o equipamento antes de realizar cada avaliação. A análise foi conduzida em triplicata. O parâmetro chroma, hue e a variação total da cor, representada através de  $\Delta E$ , foram calculados a partir das fórmulas a seguir:

$$\text{Chroma} = (a^*)^2 + (b^*)^2 \quad (3)$$

$$h_{ab} = \tan^{-1}\left(\frac{b^*}{a^*}\right) \quad (4)$$

$$\Delta E = \sqrt{(L^* - L_0^*)^2 + (a^* - a_0^*)^2 + (b^* - b_0^*)^2} \quad (5)$$

Para os filmes de PVA, PLA e multicamada os parâmetros CIELab foram determinados a partir dos espectros de reflectância das amostras (400-700 nm) usando um espectrocolorímetro Konica Minolta CM-5 (Tokyo, Japão). Três medições foram feitas a partir de três réplicas de filme em três pontos aleatórios por réplica, com fundo branco e preto. As coordenadas de cor  $L^*$ ,  $a^*$  e  $b^*$  foram obtidas a partir da refletância de um material de camada infinitamente espessa de acordo com Sapper *et al.* (2018). Os valores de luminosidade ( $L^*$ ), chroma ( $C_{ab}^*$ ) e hue ( $h_{ab}^*$ ) também foram calculados.

#### 4.8.6 Transparência

A transmissão de luz através dos filmes de alginato de sódio foi avaliada em triplicata e medida mediante o uso de um espectrofotômetro Shimadzu modelo UV-1800 (Tokyo, Japão), na faixa de comprimento de onda de 200 nm a 800 nm com o uso de uma cubeta de quartzo vazia como referência. Para tanto, os filmes foram cortados em retângulos e aderidos à parede interna da cubeta de quartzo do aparelho para leitura. Para os filmes de PVA, PLA e multicamada a transparência foi avaliada através da transmitância interna (Ti) utilizando a teoria de Kubelka-Munk.

#### 4.8.7 Resistência a tração e alongamento

As propriedades mecânicas dos filmes foram avaliadas quanto a sua resistência à tração e porcentagem de alongação, conforme a metodologia ASTM D882 - 12 (ASTM, 2012). Previamente, 10 tiras de cada formulação foram cortadas em forma retangular (10 mm x 100 mm) e acondicionados a 58% UR e 25 °C, durante 48 h. A espessura foi determinada mediante o uso de um micrômetro digital Mitutoyo MDC-25 (Tokyo, Japão), precisão de 0,001 mm, resolução/0 mm ~ 25 mm, em cinco pontos aleatórios de cada amostra. Posteriormente, a menor espessura foi utilizada no software do aparelho. As análises foram realizadas em texturômetro Stable Micro Systems TA-XT2i (Surrey, Reino Unido), a 25 °C, com separação inicial das garras de 50 mm e velocidade de 0,8 mm/s. Os parâmetros foram determinados a partir das curvas de estresse-deformação obtidas, e calculadas de acordo com a ASTM D882. O módulo elástico (EM), a resistência à tração (TS) e o alongamento no ponto de ruptura (E) foram determinados a partir das curvas de tensão de tração ( $\sigma$ ) versus deformação de Hencky ( $\epsilon_H$ ).

#### 4.8.8 Termogravimetria (TGA)

A análise termogravimétrica (TGA) serve para a avaliação da estabilidade térmica de um polímero e assim determinar as faixas de temperatura de início e fim dos processos degradativos da cadeia polimérica. A análise dos filmes de alginato de sódio foi realizada através de um analisador termogravimétrico Shimadzu modelo TGA Q50 (Tokyo, Japão), com taxa de aquecimento de 10 °C/min, de 30 °C até 800 °C (LÓPEZ *et al.*, 2015). Pequenas quantidades de amostras (4-5 mg) foram submetidas a diferentes taxas de aquecimento, em que a perda de massa (%) foi avaliada em função da temperatura. As análises foram realizadas em triplicata. Para as análises térmicas dos filmes multicamada, as monocamadas foram separadas manualmente das multicamadas previamente acondicionadas a 53% UR. A análise TGA foi realizada usando um analisador termogravimétrico Mettler Toledo TGA/SDTA 851e (Schwarzenbach, Suíça) de acordo com Tampau (2020).

#### 4.8.9 Calorimetria diferencial de varredura (DSC)

A análise por Calorimetria Diferencial de Varredura (DSC) permite avaliar a quantidade de calor liberado ou absorvido por uma amostra quando esta passa por

eventos térmicos como a Temperatura de Transição Vítreia ( $T_g$ ), Temperatura de Fusão ( $T_f$ ), e Temperatura de Cristalização ( $T_c$ ), as quais representam transformações físicas, químicas ou físico-químicas ocorridas na amostra quando esta é submetida a um programa de temperatura. Para esta análise, uma quantidade determinada de amostra foi aquecida de 30 °C até 300 °C, com taxa de aquecimento de 10 °C/min (PEREIRA *et al.*, 2011). Para análise DSC dos filmes PVA, PLA e multicamada, cada amostra (8–9 mg) foi colocada em cadinhos de alumínio hermeticamente fechados e analisada usando um calorímetro de varredura diferencial Mettler Toledo DSC 1 stare System (Schwarzenbach, Suíça) usando o perfil de varredura de temperatura para folhas de PVA e PLA descrito por Andrade (2021).

#### **4.8.10 Propriedades microestruturais (SEM e FESEM)**

A microestrutura dos filmes de alginato de sódio incorporados com 0,3% de licopeno ou  $\beta$ -caroteno foi avaliada por microscopia eletrônica de varredura (SEM) usando um microscópio de varredura convencional de filamento de tungstênio (Carl Zeiss EVO MA10, Cambridge, UK). As amostras multicamadas foram previamente criofraturadas por imersão em nitrogênio líquido. Em seguida, foram revestidos por pulverização catódica de platina para observar a seção transversal usando um microscópio eletrônico de varredura de emissão de campo (FESEM) ZEISS modelo ULTRA 55 (Alemanha), em uma tensão de aceleração de 2 kV.

#### **4.8.11 Capacidade antioxidante dos carotenoides e filmes em óleo de girassol**

A capacidade antioxidante dos carotenoides e dos filmes de alginato de sódio foi medida através de sua capacidade em retardar as reações de oxidação do óleo de girassol. Tendo em vista a influência da luz, do calor, do contato com oxigênio e da forma de incorporação de antioxidantes na estabilidade oxidativa de óleos. A análise foi realizada mediante o armazenamento de óleo de girassol em sachê de filme de alginato de sódio com carotenoides, sob condições controladas de luz (4000–5000 lux) e calor (30 °C) com umidade relativa de 65% (VARGAS *et al.*, 2017). Para avaliar a estabilidade oxidativa, 10 mL de óleo de girassol foram armazenados em sachês retangulares (10 cm x 5 cm). Os sachês foram produzidos através da selagem térmica dos filmes mediante o uso de solução de gelatina (24,4%) de acordo com o procedimento descrito por Wang *et al.* (2015). Durante o armazenamento em

diferentes tempos uma amostra foi retirada e foi analisado o índice de peróxidos e quantificação de dienos e trienos conjugados (AOAC, 2016). Como controle, o óleo foi armazenado em sachês plásticos de polietileno de baixa densidade, garrafas plásticas PET e em placas Petri (sem embalagem). As análises foram realizadas em triplicata.

#### **4.8.12 Atividade antimicrobiana dos filmes de PVA, PLA e multicamada**

A avaliação antimicrobiana foi realizada seguindo o procedimento descrito por Requena (2019) e Tampau (2018) utilizando TSA como meio de cultura. Previamente, amostras circulares dos filmes ( $\varnothing = 55$  mm) foram esterilizadas usando luz ultravioleta em uma cabine de fluxo laminar Telstar Bio II advance (Spain). 10 mL de TSA foram vertidos em placas de Petri ( $\varnothing = 55$  mm) e inoculados com 100  $\mu$ L de suspensão bacteriana de *E. coli* ou *L. innocua* ( $10^7$  e  $10^6$  UFC/mL, respectivamente). Em seguida, o meio de cultura inoculado foi coberto com as amostras de filme e o meio de cultura inoculado não coberto foi usado como controle. Cada formulação de filme e controle foram testados em duplicata. As placas de Petri foram seladas e incubadas a 10 °C durante 6 dias. Após a incubação, cada amostra foi colocada em sacos estéreis com água peptonada e homogeneizada por 3 min usando um misturador de pá IUL Instruments Masticator (Barcelona, Espanha). Diluições seriadas foram realizadas e vertidas em placas de Petri, finalmente cobertas com meios seletivos: ágar violeta red vile (VRBA) para *E. coli* e palcam agar base (PAB) enriquecido com suplemento seletivo palcam para *L. innocua*. Após 48 h de incubação a 37 °C, as colônias (UFC/g) foram contadas. As contagens microbianas foram realizadas em duplicado para cada amostra.

#### **4.8.13 Análise dos resultados**

Todas as análises foram realizadas em triplicata e os resultados foram submetidos à análise estatística utilizando ANOVA e teste de comparação de médias de Tukey ao nível de 5% de significância, através do programa SPSS 18.0 (Nova Iorque, USA).

### **CAPÍTULO 3: ARTIGOS CIENTÍFICOS**

**5 BIODEGRADABLE SODIUM ALGINATE FILMS INCORPORATED WITH LYCOPENE AND  $\beta$ -CAROTENE FOR FOOD PACKAGING PURPOSES**

Artigo aceito para publicação na Food Science and Technology International

Qualis A3 na área Ciência de Alimentos CAPES

## **6 PLA-PVA ACTIVE LAMINATES WITH P-COUMARIC ACID FOR FOOD PACKAGING PURPOSES**

Artigo formatado para a revista Food Packaging and Shelf Life - Elsevier

Qualis A1 na área Ciência de Alimentos CAPES

## **CAPÍTULO 4: DISCUSSÃO GERAL, CONCLUSÃO E PERSPECTIVAS FUTURAS**

## 7 DISCUSSÃO GERAL

Cada vez mais existe um aumento do interesse dos consumidores para diminuir o uso de embalagens sintéticas, portanto as indústrias de alimentos tentam substituir o uso de embalagens feitas com materiais derivados do petróleo em alimentos processados. Os biopolímeros têm sido utilizados como materiais para desenvolver filmes biodegradáveis, porém não é possível atingir propriedades mecânicas, físicas e de barreira similares às propriedades das embalagens tradicionais. Além disso, os biopolímeros têm um custo mais elevado e é necessário o uso de plastificantes e outros aditivos, o que têm limitado seu uso na indústria. Por outro lado, os carotenoides e ácidos fenólicos têm sido utilizados como antioxidantes e antimicrobianos naturais em diferentes tipos de embalagens, porém são susceptíveis à degradação por exposição a fatores ambientais como luz, oxigênio e alta temperatura, e isso limita as suas aplicações. A incorporação de compostos bioativos em filmes biodegradáveis permite a obtenção de embalagens ativas biodegradáveis. As propriedades funcionais dessas embalagens oferecem uma alternativa para seu uso em lugar de embalagens tradicionais. Os filmes teriam propriedades mecânicas, físicas e de barreira inferiores, mas ajudariam a estender a vida útil dos produtos embalados substituindo o uso de aditivos sintéticos. Com base nisso, o objetivo do trabalho foi desenvolver filmes ativos à base de biopolímeros e incorporados de compostos bioativos e avaliar sua interação com a matriz polimérica através da determinação das propriedades físico químicas, mecânicas, térmicas, estruturais e de barreira.

A parte experimental foi dividida em duas partes. A primeira foi realizada no Instituto de Ciência e Tecnologia de Alimentos (ICTA) da Universidade Federal do Rio Grande do Sul em Porto Alegre, Brasil. Foram desenvolvidos filmes de alginato de sódio usando a técnica de *casting*. A partir de testes preliminares foram avaliadas as adições das concentrações de 0,1%, 0,3% e 0,5% (em relação ao peso do polímero) de licopeno ou  $\beta$ -caroteno como antioxidantes naturais. A segunda parte foi realizada no Instituto de Investigación de Alimentos para el Desarrollo (IIAD) da Universidade Politécnica de Valência (UPV) em Valência, Espanha. Foram desenvolvidos filmes multicamada de ácido polilático (PLA) e polivinil álcool (PVA) usando a técnica de *thermoprocessing* com a adição das concentrações de 0%, 0,3% e 0,5% de ácido p-

cumárico como antimicrobiano. A partir dos resultados obtidos foram desenvolvidos dois artigos científicos:

- Biodegradable sodium alginate films incorporated with lycopene and  $\beta$ -carotene for food packaging purposes.
- PLA-PVA active laminates with p-coumaric acid for food packaging purposes.

Em cada etapa do trabalho foi atingido um objetivo específico que permitiu estabelecer parâmetros para as seguintes avaliações e possíveis aplicações do produto obtido.

Na primeira etapa, o licopeno e o  $\beta$ -caroteno foram extraídos de tomate e cenoura, respectivamente, até conseguir extratos com 95% de pureza. Após, foram realizados testes prévios para escolher as concentrações dos carotenoides que iam ser incorporadas nos filmes. Com base no levantamento bibliográfico, foram realizados testes para estabelecer o processo para obtenção de filmes de alginato de sódio complexados com cloreto de cálcio e incorporados de carotenoides.

Os resultados do estudo indicaram que foi possível obter filmes biodegradáveis de alginato de sódio incorporados de carotenoides usando a técnica de *casting*. Os filmes obtidos mostraram propriedades mecânicas, físicas e de barreira inferiores em comparação com embalagens tradicionais derivadas do petróleo. Os filmes com 0,3% de licopeno ou  $\beta$ -caroteno apresentaram propriedades mecânicas moderadas, com menor resistência à tração e alongamento na ruptura do que os filmes de controle. Da mesma forma, mostraram uma maior intensidade de cor e baixa transmissão de luz UV/Vis. A obtenção de filmes biodegradáveis com barreira à luz pode ser uma alternativa para manutenção da qualidade e estabilidade de produtos susceptíveis a fotodegradação, como por exemplo alimentos com alto teor de lipídeos.

Outro parâmetro importante a ser avaliado em embalagens para alimentos é a permeabilidade ao vapor de água, visto que alimentos que apresentam baixa atividade de água ou umidade precisam ser armazenados em materiais que proporcionem sua manutenção ou estabilidade. No desenvolvimento de filmes podem ser utilizados compostos para modificar a permeabilidade, como por exemplo, compostos hidrofóbicos que diminuam a interação com as moléculas de água e consequente permeação através dos filmes. A incorporação de carotenoides promoveu redução (p

< 0,05) na permeabilidade ao vapor de água, principalmente pela adição de 0,5%. Os filmes com 0,3% de licopeno ou  $\beta$ -caroteno não apresentaram diferenças significativas ( $p > 0,05$ ) em relação aos filmes controle. Assim, eles foram utilizados para análise de microestrutura por microscopia eletrônica de varredura e avaliação da capacidade antioxidante.

Para avaliar a capacidade antioxidante foi investigada a estabilidade oxidativa de óleo de girassol armazenado em sachês feitos a partir dos filmes biodegradáveis de alginato de sódio incorporados de carotenoides sob condições aceleradas de armazenamento, já que as reações de degradação são influenciadas por vários fatores como calor, iluminação e presença de oxigênio.

No terceiro dia de armazenamento, o óleo embalado em sachês de filmes controle (alginato de sódio sem carotenoides), polietileno de baixa densidade (PEBD), garrafa PET e placa petri (livre sem embalagem) apresentou índice de peróxidos superior ao limite máximo estabelecido pelo Codex Alimentarius (1999) para óleo vegetal (10 mEq/kg), enquanto o menor aumento no índice de peróxidos foi observado para amostras de óleo embaladas em filmes com  $\beta$ -caroteno ou licopeno. Os filmes incorporados de carotenoides retardaram a oxidação lipídica do óleo de girassol durante o período de armazenamento, apresentando excelente efeito antioxidante em relação às embalagens usadas como controle. Os filmes incorporados com  $\beta$ -caroteno apresentaram um período de indução menor do que os filmes com licopeno. No caso do  $\beta$ -caroteno, até o dia 10 de armazenamento, o valor de índice de peróxidos foi menor ( $9,19 \pm 1,58$  mEq/kg) do que o limite, enquanto para o licopeno o limite não foi ultrapassado até o dia 7 ( $8,85 \pm 0,81$  mEq/kg).

A estabilidade oxidativa dos filmes pode estar relacionada à menor transmissão de luz UV (210 nm) e visível (500 nm), onde os filmes incorporados com 0,3 % de carotenoides apresentaram menor transmissão quando comparados ao filme controle. Além disso, pode estar associada à capacidade antioxidante dos carotenoides possibilitada por sua estrutura composta por muitas ligações duplas conjugadas. A microscopia eletrônica de varredura dos filmes mostrou uma superfície homogênea, mas os filmes com licopeno ou  $\beta$ -caroteno mostraram uma estrutura mais compacta do que o filme controle.

Os resultados sugerem que os filmes de alginato de sódio incorporados com maiores concentrações de carotenoides poderiam manter o efeito antioxidante durante um longo período de armazenamento. Portanto, foi demonstrado que a incorporação de carotenoides nos filmes de alginato de sódio é uma alternativa com alto potencial para desenvolver embalagens ativas que possam ser aplicadas em embalagem de alimentos.

Na segunda etapa, com base no levantamento bibliográfico, foram escolhidas as concentrações do ácido p-cumárico que iam ser incorporadas em filmes de PVA. Foram realizados testes prévios para estabelecer as condições do processo para obtenção de filmes multicamada de PVA e PLA e incorporados de ácido p-cumárico.

Os resultados do estudo indicaram que foi possível obter filmes ativos multicamada biodegradáveis de PVA – PLA incorporados de ácido p-cumárico usando a técnica de *thermoprocessing* (mistura por fusão e moldagem por compressão). Foram desenvolvidos filmes de três camadas compostos por uma folha interna de PVA e duas camadas externas de PLA com boa adesão intercâmara. Os filmes multicamadas mostraram valores das propriedades mecânicas que ficaram próximos aos valores do filme de PLA, ou seja, tornaram-se mais rígidos, mais resistentes à ruptura e menos extensíveis que os filmes de PVA. No entanto, a incorporação do ácido p-cumárico não afetou o comportamento mecânico. As propriedades de barreira das multicamadas foram melhoradas em comparação com as monocamadas, combinando camadas hidrofóbicas (PLA) e hidrofílicas (PVA), que fornecem permeabilidades ao vapor de água e ao oxigênio, respectivamente. A incorporação do ácido p-cumárico não afetou o OP, mas promoveu redução no WVP, principalmente com a adição de 5 % ( $p < 0,05$ ). O objetivo principal de uma embalagem multicamada é conseguir melhorar as propriedades de barreira combinando as características positivas que são específicas de cada material. Embora o ácido p-cumárico não tenha promovido variações notáveis na transição vítrea do PLA e do PVA, a estabilidade térmica do PVA foi melhorada.

Para avaliar a atividade antimicrobiana dos filmes foi realizado um teste in vitro com a inoculação de uma bactéria gram positiva (*Listeria innocua*) e uma gram negativa (*Escherichia coli*), em que o meio de cultura foi despejado em placas de Petri e inoculado com a suspensão bacteriana. Em seguida, o meio de cultura inoculado foi

coberto com as amostras de filme multicamada com diferentes concentrações de ácido p-cumárico e o meio de cultura inoculado não coberto foi usado como controle.

A quantidade de ácido p-cumárico incorporada nos filmes multicamadas foi suficiente para atingir um efeito inibitório contra ambas as bactérias. Isso indica que o ácido p-cumárico foi liberado da matriz do filme multicamada, embora a natureza hidrofóbica do PLA limite a liberação completa de ácidos fenólicos. Como era esperado, o efeito antibacteriano do ácido p-cumárico foi maior contra *E. coli* do que contra *L. innocua*. No entanto, a inibição do crescimento microbiano do filme com concentração 0,3% e 0,5% de ácido p-cumárico em relação aos filmes controle foi inferior a 2 log UFC, o que permitiria considerá-lo um material antibacteriano eficaz. A maior redução de log UFC foi alcançada pela concentração 0,5% contra ambas as bactérias testadas, 1,53 e 1,05 para *E. coli* e *L. innocua*, respectivamente. Portanto, a eficácia da atividade antibacteriana dos filmes depende da concentração de ácido p-cumárico. Os filmes multicamadas apresentaram notável atividade antimicrobiana nos ensaios *in vitro*, ou seja, o ácido p-cumárico teve uma boa liberação no meio de cultura e uma inibição efetiva do crescimento microbiano.

Portanto, as adequadas propriedades mecânicas e funcionais dos laminados ativos de PLA/PVA desenvolvidos neste estudo, os tornam um potencial material para aplicações em embalagens de alimentos, principalmente no que diz respeito à qualidade nutricional e conservação.

Foi demonstrado que é possível desenvolver filmes biodegradáveis que podem ter propriedades antioxidantes e/ou antimicrobianas mediante a adição de compostos bioativos. Diferentes técnicas podem ser utilizadas, no entanto é necessário usar processos que sejam mais próximos aos desenvolvidos na indústria de embalagens como foi o caso dos filmes produzidos por *thermoprocessing*. Os resultados mostraram que os filmes obtidos apresentam propriedades mecânicas e de barreira muito diferentes das embalagens tradicionais, conhecidas pela boa resistência, alongação, maleabilidade, baixa permeabilidade e solubilidade. No entanto, as embalagens biodegradáveis têm muitas aplicações que não requerem propriedades mecânicas semelhantes ao plástico. Também existe a possibilidade de misturar biopolímeros com polímeros derivados do petróleo para desenvolver embalagens que

sejam parcialmente biodegradáveis, aproveitando a vantagem de ser ativas por causa das propriedades funcionais dos compostos incorporados.

## 8 CONCLUSÕES

Os resultados obtidos nesse estudo demonstraram que o alginato de sódio, o ácido polilático e o polivinil álcool podem ser biopolímeros utilizados para o desenvolvimento de filmes monocamada e multicamada usando diferentes técnicas como o *casting* e *thermoprocessing*. Foi verificado que a adição de licopeno,  $\beta$ -caroteno ou ácido p-cumárico contribui para a obtenção de embalagens com atividade antioxidante e/ou antimicrobiana. A incorporação destes compostos bioativos demonstrou ser uma boa opção para aplicação como antioxidantes ou antimicrobianos naturais em filmes, com a modificação das propriedades mecânicas e de barreira. Com destaque para a melhora da permeabilidade ao vapor de água e oxigênio dos filmes multicamada com adição de ácido p-cumárico. A determinação da interação entre a matriz polimérica e os compostos bioativos são fatores importantes para o desenvolvimento de embalagens biodegradáveis ativas, assim como avaliar a estabilidade oxidativa, atividade antimicrobiana dos compostos adicionados e a manutenção das propriedades funcionais dos filmes. Esses resultados servem para poder prever e planejar uma futura aplicação e determinar as condições ótimas para seu uso como embalagem. A capacidade antioxidante, liberação dos antioxidantes e a barreira à fotodegradação foram comprovadas através da avaliação da estabilidade do óleo de girassol. No caso dos filmes multicamada o teste antimicrobiano in vitro permitiu comprovar a atividade antimicrobiana e a liberação do ácido p-cumárico com uma efetiva inibição de crescimento microbiano, respectivamente. A avaliação dessas propriedades funcionais demonstrou a potencial aplicação dos filmes como embalagem para alimentos susceptíveis às reações de oxidação lipídica e degradação induzidas pela exposição a luz, assim como à deterioração e contaminação causada pelo crescimento microbiano. Isto pode proporcionar maior estabilidade e aumentar a vida útil de alimentos durante o armazenamento. Assim, este estudo validou o potencial uso de biopolímeros e compostos bioativos para auxiliar no desenvolvimento e uso de novas técnicas para melhorar a produção e futuras aplicações de embalagens ativas biodegradáveis como embalagem primária de alimentos.

## 9 PERSPECTIVAS FUTURAS

Os resultados obtidos neste estudo contribuíram para melhor compreensão do uso do alginato de sódio, ácido polilático e polivinil álcool como biopolímeros para obtenção de filmes, paralela à adição de antioxidantes e antimicrobianos naturais e avaliação da sua interação e estabilidade junto a matriz polimérica. Durante o desenvolvimento foi possível observar novas possibilidades quanto ao seu uso, técnicas para obtenção dos filmes e avaliação de outras propriedades destas embalagens. Assim, como perspectivas futuras para dar continuidade, complementar e aprofundar este trabalho, pode-se sugerir:

- Estudo da adição de plastificantes, emulsificantes e outros aditivos naturais para melhorar as propriedades mecânicas.
- Estudo da liberação dos compostos bioativos em líquidos simulantes.
- Estudo das interações intermoleculares entre a matriz polimérica e os compostos bioativos através de diferentes técnicas de caracterização, como por exemplo a análise de espectroscopia no infravermelho com transformada de Fourier (FT-IR).
- Aplicação dos filmes como embalagem para diferentes matrizes alimentícias e seu efeito na vida útil destes alimentos.
- Investigação da biodesintegração e biodegradação dos filmes em solo.
- Estudar a migração dos antioxidantes para o alimento durante a aplicação como embalagem.
- Estudar a inibição de crescimento microbiano no alimento (*in vivo*) durante a aplicação como embalagem.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABDULLAH, Zainab Waheed *et al.* PVA, PVA Blends, and Their Nanocomposites for Biodegradable Packaging Application. **Polymer-Plastics Technology and Engineering**, [s. l.], v. 56, n. 12, p. 1307–1344, 2017. Disponível em: <https://doi.org/10.1080/03602559.2016.1275684>.

ALIAS, A R; WAN, M Khairul; SARBON, N M. Emerging materials and technologies of multi-layer film for food packaging application: A review. **Food Control**, [s. l.], v. 136, p. 108875, 2022. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0956713522000688>.

ANDRADE, Johana; GONZÁLEZ-MARTÍNEZ, Chelo; CHIRALT, Amparo. Antimicrobial PLA-PVA multilayer films containing phenolic compounds. **Food Chemistry**, [s. l.], v. 375, p. 131861, 2022. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0308814621028673>.

ANDRADE, J; GONZÁLEZ-MARTÍNEZ, C; CHIRALT, A. Effect of carvacrol in the properties of films based on poly (vinyl alcohol) with different molecular characteristics. **Polymer Degradation and Stability**, [s. l.], v. 179, p. 109282, 2020. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0141391020302147>.

ANDRADE, Johana; GONZÁLEZ-MARTÍNEZ, Chelo; CHIRALT, Amparo. Liposomal encapsulation of carvacrol to obtain active poly (Vinyl alcohol) films. **Molecules**, [s. l.], v. 26, n. 6, 2021.

AOAC. **Official Methods of Analysis of AOAC International**. 20. ed. Maryland: AOAC International, 2016.

ASSIS, Renato Queiroz *et al.* Synthesis of biodegradable films based on cassava starch containing free and nanoencapsulated  $\beta$ -carotene. **Packaging Technology and Science**, [s. l.], v. 31, n. 3, p. 157–166, 2018.

ASTM. **ASTM D882- 12 Standard Test Method for Tensile Properties of Thin Plastic Sheeting**ASTM. [S. l.: s. n.], 2012.

ASTM. **ASTM E96-95 Standard Test Methods for Water Vapor Transmission of Materials**. ASTM. [S. l.: s. n.], 2000.

ASTM. **Standard Test Method for Oxygen Gas Transmission Rate Through Plastic Film and Sheeting Using a Coulometric Sensor**. Annual Book of ASTM Standards. [S. l.: s. n.], 2010.

AVÉROUS, Luc; POLLET, Eric. Biodegradable Polymers. *Em*: AVÉROUS, Luc; POLLET, Eric (org.). **Environmental Silicate Nano-Biocomposites**. London: Springer-Verlag London, 2012. p. 450.

BIERHALZ, Andréa C K *et al.* Effect of calcium and/or barium crosslinking on the physical and antimicrobial properties of natamycin-loaded alginate films. **LWT - Food Science and Technology**, [s. l.], v. 57, n. 2, p. 494–501, 2014.

BIERHALZ, Andréa Cristiane Krause; DA SILVA, Mariana Altenhofen; KIECKBUSCH, Theo Guenter. Natamycin release from alginate/pectin films for food packaging applications. **Journal of Food Engineering**, [s. l.], v. 110, n. 1, p. 18–25, 2012.

BIRCK, C *et al.* New crosslinked cast films based on poly(vinyl alcohol): Preparation and physico-chemical properties. **Express Polymer Letters**, [s. l.], v. 8, p. 941–952, 2014.

BLANCO-PASCUAL, N.; MONTERO, M.P.; GÓMEZ-GUILLÉN, M.C. Antioxidant film development from unrefined extracts of brown seaweeds *Laminaria digitata* and *Ascophyllum nodosum*. **Food Hydrocolloids**, [s. l.], v. 37, p. 100–110, 2014.

BONILLA, J. *et al.* Edible films and coatings to prevent the detrimental effect of oxygen on food quality: Possibilities and limitations. **Journal of Food Engineering**, [s. l.], v. 110, n. 2, p. 208–213, 2012.

BONILLA, J *et al.* Effect of the incorporation of antioxidants on physicochemical and antioxidant properties of wheat starch–chitosan films. **Journal of Food Engineering**, [s. l.], v. 118, n. 3, p. 271–278, 2013a. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0260877413001726>.

BONILLA, J *et al.* Effects of chitosan on the physicochemical and antimicrobial properties of PLA films. **Journal of Food Engineering**, [s. l.], v. 119, n. 2, p. 236–243, 2013b. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0260877413002616>.

BOZ, Hüseyin. p-Coumaric acid in cereals: presence, antioxidant and antimicrobial effects. **International Journal of Food Science & Technology**, [s. l.], v. 50, n. 11, p. 2323–2328, 2015. Disponível em: <https://doi.org/10.1111/ijfs.12898>.

CAO, Na; YANG, Xinmin; FU, Yuhua. Effects of various plasticizers on mechanical and water vapor barrier properties of gelatin films. **Food Hydrocolloids**, [s. l.], v. 23, n. 3, p. 729–735, 2009.

DOS SANTOS, Priscilla Pereira *et al.* Biodegradable polymers as wall materials to the synthesis of bioactive compound nanocapsules. **Trends in Food Science & Technology**, [s. l.], v. 53, p. 23–33, 2016.

FARDET, Anthony; ROCK, Edmond; RÉMÉSY, Christian. Is the in vitro antioxidant potential of whole-grain cereals and cereal products well reflected in vivo?. **Journal of Cereal Science**, [s. l.], v. 48, n. 2, p. 258–276, 2008. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0733521008000209>.

FERTAH, Mohamed *et al.* Extraction and characterization of sodium alginate from Moroccan Laminaria digitata brown seaweed. **Arabian Journal of Chemistry**, [s. l.], v. 10, p. S3707–S3714, 2017.

FUNAMI, Takahiro *et al.* Rheological properties of sodium alginate in an aqueous system during gelation in relation to supermolecular structures and Ca<sup>2+</sup> binding. **Food Hydrocolloids**, [s. l.], v. 23, n. 7, p. 1746–1755, 2009.

GALUS, Sabina; LENART, Andrzej. Development and characterization of composite edible films based on sodium. **Journal of Food Engineering**, [s. l.], v. 115, p. 459–465, 2013.

GAO, Chengcheng; POLLET, Eric; AVÉROUS, Luc. Innovative Plasticized Alginate Obtained by Thermo-mechanical Mixing: Effect of Different Biobased Polyols Systems. **Carbohydrate Polymers**, [s. l.], v. 157, p. 669–676, 2017.

GONTARD, N. *et al.* Food Packaging Applications of Biopolymer-Based Films. *Em*: PLACKETT, David (org.). **Biopolymers – New Materials for Sustainable Films and Coatings**. Firsted. West Sussex: John Wiley & Sons, Ltd, 2011. p. 350.

GONTARD, Nathalie; GUILBERT, Stéphane; CUQ, Jean-Louis. Edible Wheat Gluten Films: Influence of the Main Process Variables on Film Properties using Response Surface Methodology. **Journal of Food Science**, [s. l.], v. 57, n. 1, p. 190–195, 1992.

GUILBERT, Stéphane; GONTARD, Nathalie; GORRIS, Leon G.M. Prolongation of the shelf-life of perishable food products using biodegradable films and coatings. **LWT - Food Science and Technology**, [s. l.], v. 29, n. 1–2, p. 10–17, 1996.

HAJJI, Sawssen *et al.* Structural analysis, and antioxidant and antibacterial properties of chitosan-poly (vinyl alcohol) biodegradable films. **Environmental Science and Pollution Research**, [s. l.], v. 23, n. 15, p. 15310–15320, 2016. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s11356-016-6699-9>.

HAN, Jung H. A Review of Food Packaging Technologies and Innovations. *Em*: HAN, Jung H. (org.). **Innovations in Food Packaging**. Seconded. London: Academic Press, 2014a. p. 3–12.

HAN, Jung H. Edible Films and Coatings: A Review. *Em*: HAN, Jung H. (org.). **Innovations in Food Packaging**. Seconded. London: Academic Press, 2014b. p. 622.

HEERES, Hero Jan; VAN MASTRIGT, Frank; PICCHIONI, Francesco. Polymeric Blends with Biopolymers. *Em*: THOMAS, Sabu *et al.* (org.). **Handbook of Biopolymer-Based Materials: From Blends and Composites to Gels and Complex Networks**. Firsted. Weinheim: Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA., 2013. p. 143–171.

HERNÁNDEZ-GARCÍA, Eva *et al.* Biodegradable Antimicrobial Films for Food Packaging: Effect of Antimicrobials on Degradation. [s. l.], 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/foods10061256>.

JAMSHIDIAN, Majid *et al.* Poly-Lactic Acid: Production, applications, nanocomposites, and release studies. **Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety**, [s. l.], v. 9, n. 5, p. 552–571, 2010.

JOST, Verena *et al.* Influence of plasticiser on the barrier, mechanical and grease resistance properties of alginate cast films. **Carbohydrate Polymers**, [s. l.], v.

110, p. 309–319, 2014. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.carbpol.2014.03.096>.

KABASCI, Stephan. Bio-Based Plastics – Introduction. *Em*: KABASCI, Stephan (org.). **Bio-Based Plastics : Materials and Applications**. Firsted. West Sussex: John Wiley & Sons, Inc., 2014. p. 1–7.

LA FUENTE ARIAS, Carla Ivonne *et al.* **Bio-based multilayer films: A review of the principal methods of production and challenges**. [S. l.]: Taylor and Francis Ltd., 2021.

LILING, Guo *et al.* Effects of ionic crosslinking on physical and mechanical properties of alginate mulching films. **Carbohydrate Polymers**, [s. l.], v. 136, p. 259–265, 2016.

LÓPEZ, Olivia v. *et al.* Thermoplastic starch plasticized with alginate-glycerol mixtures: Melt-processing evaluation and film properties. **Carbohydrate Polymers**, [s. l.], v. 126, p. 83–90, 2015. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.carbpol.2015.03.030>.

MARSH, Kenneth; BUGUSU, Betty. Food packaging - Roles, materials, and environmental issues: Scientific status summary. **Journal of Food Science**, [s. l.], v. 72, n. 3, p. 39–55, 2007.

MENSITIERI, Giuseppe *et al.* Processing and shelf life issues of selected food packaging materials and structures from renewable resources. **Trends in Food Science and Technology**, [s. l.], v. 22, n. 2–3, p. 72–80, 2011.

MULLER, Justine; GONZÁLEZ-MARTÍNEZ, Chelo; CHIRALT, Amparo. Poly(lactic) acid (PLA) and starch bilayer films, containing cinnamaldehyde, obtained by compression moulding. **European Polymer Journal**, [s. l.], v. 95, p. 56–70, 2017. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0014305717310248>.

NARAYAN, Ramani. The Promise of Bioplastics – Bio-Based and Biodegradable-Compostable Plastics. *Em*: KABASCI, Stephan (org.). **Bio-Based**

**Plastics : Materials and Applications.** Firsted. West Sussex: John Wiley & Sons, Ltd., 2014. p. 347–357.

NCAMA, Khayelihle *et al.* Plant-based edible coatings for managing postharvest quality of fresh horticultural produce: A review. **Food Packaging and Shelf Life**, [s. l.], v. 16, p. 157–167, 2018.

NORONHA, Carolina Montanheiro *et al.* Characterization of antioxidant methylcellulose film incorporated with  $\alpha$ -tocopherol nanocapsules. **Food Chemistry**, [s. l.], v. 159, p. 529–535, 2014.

NUNES, Itaciara L.; MERCADANTE, Adriana Z. Obtenção de cristais de licopeno a partir de descarte de tomate. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, [s. l.], v. 24, n. 3, p. 440–447, 2004.

NUSSINOVITCH, Amos. Biopolymer Films and Composite Coatings. *Em*: EBNESAJJAD, Sina (org.). **Handbook of Biopolymers and Biodegradable Plastics: Properties, Processing and Applications.** firsted. Oxford: William Andrew, 2013. p. 295–327.

OLIVAS, Guadalupe I.; BARBOSA-CÁNOVAS, Gustavo V. Alginate-calcium films: Water vapor permeability and mechanical properties as affected by plasticizer and relative humidity. **LWT - Food Science and Technology**, [s. l.], v. 41, n. 2, p. 359–366, 2008.

OLIVAS, G I; BARBOSA-CANOVAS, G V. Edible coatings for fresh-cut fruits. **Critical reviews in food science and nutrition**, United States, v. 45, n. 7–8, p. 657–670, 2005.

ORDOÑEZ, Ramón; ATARÉS, Lorena; CHIRALT, Amparo. Antibacterial properties of cinnamic and ferulic acids incorporated to starch and PLA monolayer and multilayer films. **Food Control**, [s. l.], v. 136, p. 108878, 2022a. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0956713522000718>.

ORDOÑEZ, Ramón; ATARÉS, Lorena; CHIRALT, Amparo. Effect of ferulic and cinnamic acids on the functional and antimicrobial properties in thermo-processed PLA

films. **Food Packaging and Shelf Life**, [s. l.], v. 33, p. 100882, 2022b. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S2214289422000746>.

OZILGEN, Sibel; BUCAK, Seyda. Functional Biopolymers in Food Manufacturing. *Em*: GRUMEZESCU, Alexandru Mihai; HOLBAN, Alina Maria (org.). **Biopolymers for Food Design**. Firsted. London: Academic Press, 2018. p. 536.

PAGNO, Carlos H *et al.* Development of active biofilms of quinoa (*Chenopodium quinoa* W.) starch containing gold nanoparticles and evaluation of antimicrobial activity. **Food Chemistry**, [s. l.], v. 173, p. 755–762, 2015. Disponível em: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0308814614016306>.

PAGNO, Carlos Henrique *et al.* Synthesis of biodegradable films with antioxidant properties based on cassava starch containing bixin nanocapsules. **Journal of Food Science and Technology**, [s. l.], v. 53, n. 8, p. 3197–3205, 2016. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s13197-016-2294-9>.

PARREIDT, Tugce Senturk *et al.* Effect of presence and concentration of plasticizers, vegetable oils, and surfactants on the properties of sodium-alginate-based edible coatings. **International Journal of Molecular Sciences**, [s. l.], v. 19, n. 3, p. 1–21, 2018.

PEREIRA, Rúben *et al.* Preparation and Characterization of Films Based on Alginate and Aloe Vera. **International Journal of Polymer Analysis and Characterization**, [s. l.], v. 16, n. 7, p. 449–464, 2011. Disponível em: <https://doi.org/10.1080/1023666X.2011.599923>.

PLACKETT, David. **Biopolymers – New Materials for Sustainable Films and Coatings**. Firsted. West Sussex: John Wiley & Sons, Ltd, 2011.

PLASTICSEUROPE. **Plastics – the Facts 2018**. Brussels: [s. n.], 2018. Disponível em: [https://www.plasticseurope.org/application/files/6315/4510/9658/Plastics\\_the\\_facts\\_2018\\_AF\\_web.pdf](https://www.plasticseurope.org/application/files/6315/4510/9658/Plastics_the_facts_2018_AF_web.pdf).

POLYMER PROPERTIES DATABASE. **MULTILAYER FILMS (FLEXIBLE PACKAGING MATERIALS)**. [S. l.], 2022.

POPOVIĆ, Senka Z. *et al.* Biopolymer Packaging Materials for Food Shelf-Life Prolongation. *Em*: GRUMEZESCU, Alexandru Mihai; HOLBAN, Alina Maria (org.). **Biopolymers for Food Design**. Firsted. London: Academic Press, 2018. p. 223–277.

PRAMEELA, Kandra; MURALI MOHAN, CHALLA RAMAKRISHNA, Chinthala. Biopolymers for Food Design: Consumer-Friendly Natural Ingredients. *Em*: GRUMEZESCU, Alexandru Mihai; HOLBAN, Alina Maria (org.). **Biopolymers for Food Design**. Firsted. London: Academic Press, 2018. p. 1–32.

QIN, Yimin *et al.* Applications of Alginate as a Functional Food Ingredient. *Em*: GRUMEZESCU, Alexandru Mihai; HOLBAN, Alina Maria (org.). **Biopolymers for Food Design**. Firsted. London: Academic Press, 2018. p. 536.

QUINTAVALLA, Stefania; VICINI, Loredana. Antimicrobial food packaging in meat industry. **Meat Science**, [s. l.], v. 62, n. 3, p. 373–380, 2002.

REQUENA, Raquel; VARGAS, María; CHIRALT, Amparo. Eugenol and carvacrol migration from PHBV films and antibacterial action in different food matrices. **Food Chemistry**, [s. l.], v. 277, p. 38–45, 2019. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0308814618318685>.

REQUENA, Raquel; VARGAS, María; CHIRALT, Amparo. Obtaining antimicrobial bilayer starch and polyester-blend films with carvacrol. **Food Hydrocolloids**, [s. l.], v. 83, p. 118–133, 2018. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0268005X18305812>.

RINAUDO, Marguerite. Biomaterials based on a natural polysaccharide: Alginate. **TIP Revista Especializada en Iencias Químico-Biológicas**, [s. l.], v. 17, n. 1, p. 92–96, 2014.

ROBERTSON, Gordon L. **Food Packaging Principles and Practice**. Thirded. Boca Raton: CRC Press, 2012.

RODRIGUEZ-AMAYA, Delia B.; RODRIGUEZ, Evelyn B.; AMAYA-FARFAN, Jaime. Advances in Food Carotenoid Research: Chemical and Technological Aspects, Implications in Human Health. **Malaysian Journal of Nutrition**, [s. l.], v. 12, n. 1, p. 101–121, 2006.

RYDZ, Joanna *et al.* Present and Future of Biodegradable Polymers for Food Packaging Applications. *Em*: GRUMEZESCU, Alexandru Mihai; HOLBAN, Alina Maria (org.). **Biopolymers for Food Design**. London: Elsevier Academic Press, 2018. p. 431–467.

SANTANA, A. A.; KIECKBUSCH, T. G. Physical evaluation of biodegradable films of calcium alginate plasticized with polyols. **Brazilian Journal of Chemical Engineering**, [s. l.], v. 30, n. 4, p. 835–845, 2013.

SAPPER, Mayra *et al.* Antifungal and functional properties of starch-gellan films containing thyme (*Thymus zygis*) essential oil. **Food Control**, [s. l.], v. 92, p. 505–515, 2018. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0956713518302299>.

SEIXAS, Fernanda L. *et al.* Biofilms composed of alginate and pectin: Effect of concentration of crosslinker and plasticizer agents. **Chemical Engineering Transactions**, [s. l.], v. 32, p. 1693–1698, 2013.

SENTURK PARREIDT, Tugce; MÜLLER, Kajetan; SCHMID, Markus. Alginate-Based Edible Films and Coatings for Food Packaging Applications. **Foods**, [s. l.], v. 7, n. 10, p. 170, 2018.

SERNA C L; RODRÍGUEZ DE S A; ALBÁN A F. Ácido Poliláctico (PLA): Propiedades y Aplicaciones. **INGENIERÍA Y COMPETITIVIDAD**, [s. l.], v. 5, p. 16–26, 2011. Disponível em: [https://revistaingenieria.univalle.edu.co/index.php/ingenieria\\_y\\_competitividad/article/view/2301](https://revistaingenieria.univalle.edu.co/index.php/ingenieria_y_competitividad/article/view/2301). Acesso em: 27 nov. 2022.

SILVA, Mariana Altenhofen da; BIERHALZ, Andréa Cristiane Krause; KIECKBUSCH, Theo Guenter. Alginate and pectin composite films crosslinked with Ca<sup>2+</sup> ions: Effect of the plasticizer concentration. **Carbohydrate Polymers**, [s. l.], v. 77, n. 4, p. 736–742, 2009.

SKURTYS, O. *et al.* Food Hydrocolloid Edible Films & Coatings. *Em*: HOLLINGWORTH, C.S. (org.). **Food Hydrocolloids Characteristics, Properties and Structures**. Firsted. New York: Nova Science Publishers Inc, 2010. p. 41–80.

SONG, Yongling *et al.* Effect of sodium alginate-based edible coating containing different anti-oxidants on quality and shelf life of refrigerated bream (*Megalobrama amblycephala*). **Food Control**, [s. l.], v. 22, n. 3–4, p. 608–615, 2011.

SUNG, Suet-Yen *et al.* Antimicrobial agents for food packaging applications. **Trends in Food Science & Technology**, [s. l.], v. 33, n. 2, p. 110–123, 2013.

TAMPAU, Alina *et al.* Enhancement of PLA-PVA Surface Adhesion in Bilayer Assemblies by PLA Aminolisation. **Food and Bioprocess Technology**, [s. l.], v. 13, n. 7, p. 1215–1228, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s11947-020-02475-0>.

TAMPAU, Alina; GONZÁLEZ-MARTÍNEZ, Chelo; CHIRALT, Amparo. Polyvinyl alcohol-based materials encapsulating carvacrol obtained by solvent casting and electrospinning. **Reactive and Functional Polymers**, [s. l.], v. 153, p. 104603, 2020. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1381514819311927>.

TAMPAU, Alina; GONZÁLEZ-MARTÍNEZ, Chelo; CHIRALT, Amparo. Release kinetics and antimicrobial properties of carvacrol encapsulated in electrospun poly-( $\epsilon$ -caprolactone) nanofibres. Application in starch multilayer films. **Food Hydrocolloids**, [s. l.], v. 79, p. 158–169, 2018. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0268005X17317939>.

TAVASSOLI-KAFRANI, Elham; SHEKARCHIZADEH, Hajar; MASOUDPOUR-BEHABADI, Mahdieh. Development of edible films and coatings from alginates and carrageenans. **Carbohydrate polymers**, [s. l.], v. 137, p. 360–374, 2016.

THARANATHAN, R. N. Biodegradable films and composite coatings: Past, present and future. **Trends in Food Science and Technology**, [s. l.], v. 14, n. 3, p. 71–78, 2003.

VARGAS, Carolina Galarza *et al.* Comparative study on the properties of films based on red rice (*Oryza glaberrima*) flour and starch. **Food Hydrocolloids**, [s. l.], v. 65, p. 96–106, 2017. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0268005X16307469>.

WANG, Liqiang *et al.* Preparation and Sealing Processing of Sodium Alginate Based Blending Film. **Mathematical Problems in Engineering**, [s. l.], v. 2015, p. 895637, 2015. Disponível em: <https://doi.org/10.1155/2015/895637>.

YANG, Jisheng; CHEN, Shengbi; FANG, Yun. Viscosity study of interactions between sodium alginate and CTAB in dilute solutions at different pH values. **Carbohydrate Polymers**, [s. l.], v. 75, n. 2, p. 333–337, 2009.