

UNIVERSIDADE FEDERAL DO MARANHÃO
CENTRO DE CIÊNCIAS EXATAS E TECNOLÓGICAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA
MESTRADO EM QUÍMICA

AQUILES FERREIRA DE ABREU JÚNIOR

**SÍNTESE E CARACTERIZAÇÃO DE BIOFILMES À BASE DE
ALGINATO DE SÓDIO RETICULADO COM POLIACRILAMIDA
CATIÔNICA**

São Luís - MA

2017

AQUILES FERREIRA DE ABREU JÚNIOR

**SÍNTESE E CARACTERIZAÇÃO DE BIOFILMES À BASE DE
ALGINATO DE SÓDIO RETICULADO COM POLIACRILAMIDA
CATIÔNICA**

Dissertação de mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Química da Universidade Federal do Maranhão como parte dos requisitos para a obtenção do título de Mestre em Química, área de concentração: Química Analítica.

Orientadora: Prof^a. Dr^a. Luiza Maria Ferreira Dantas.

Co-orientador: Prof. Dr. Arão Pereira da Costa Filho.

São Luís - MA

2017

**SÍNTESE E CARACTERIZAÇÃO DE BIOFILMES À BASE DE
ALGINATO DE SÓDIO RETICULADO COM POLIACRILAMIDA
CATIÔNICA**

AQUILES FERREIRA DE ABREU JÚNIOR

Aprovado em: _____ de _____ de 2017.

Membros da Banca:

Prof^a. Dr^a. Luiza Maria Ferreira Dantas
(Orientadora – UFMA)

Prof. Dr. Arão Pereira da Costa Filho
(Co-orientador – UFMA)

Prof. Dr. Harvey Alexander Villa Velez
(UFMA)

Prof. Dr. Jaldyr de Jesus Gomes Varela Jr
(UFMA)

São Luís - MA

2017

Dedicatória

Dedico este trabalho a Deus e à minha família.

Agradecimentos

Agradeço em primeiro lugar a Deus por me proporcionar saúde, força, fé e coragem para que eu possa atingir os objetivos. Ao Prof. Dr. Arão Filho, infinitamente, pois, mesmo não sendo credenciado ao Programa de Pós-Graduação em Química, acreditou em meu potencial e colocou-se à disposição para me ajudar no momento mais difícil deste curso com incentivos para em frente, sem o seu apoio, talvez nem estivesse concluindo este trabalho.

À Prof^ª Dra. Luiza Dantas, pela confiança e apoio num momento crítico ao qual me encontrava e por se colocar à disposição para ser minha orientadora.

À minha esposa, Priscila Ximendes, por incansavelmente me apoiar e incentivar em todas as lutas da minha vida.

À minha mãe, Nair Barros, ao meu pai, Aquiles Ferreira (*In memoriam*), e às minhas irmãs, Liliane Abreu e Gleiciane Abreu por todo amor e apoio quem sempre me concedem.

Ao Prof. Dr. Harvey Alexander, pela contribuição nos estudos matemáticos, estatísticos e demais contribuições.

Ao Prof. Dr. Denilson Moreira, pelas realizações dos ensaios mecânicos e contribuições importantíssimas para melhoria da dissertação.

Ao Prof. Dr. Jaldyr Varela, pela contribuição científica, apoio e incentivo nas etapas difíceis deste percurso.

À Central Analítica-UFMA, ao LSC-UFMA, ao LEPEQ-UFMA, ao LIM-UFMA pelas realizações das análises.

Aos amigos (as) de graduação e mestrado que estiveram sempre me dando força e compartilhando conhecimento durante este período.

À CAPES, pelo apoio financeiro nos 05 meses iniciais.

*“Quando você tem uma meta, o que era
um obstáculo passa a ser uma etapa de um de seus planos.”*

Gerhard Erich Boehme

Resumo

Biofilmes à base de alginato de sódio (AS) reticulados com poliacrilamida catiônica (PAMc) de alta massa molar foram confeccionados pela técnica *casting*. Nesse estudo foi utilizado o delineamento composto central rotacional (DCCR) realizando-se 11 ensaios. Os biofilmes produzidos foram caracterizados com relação à umidade (ω), solubilidade em água (S), permeabilidade ao vapor de água (PVA), espessura (σ), espectroscopia de absorção na região do infravermelho com transformada de Fourier (FTIR), microscopia eletrônica de varredura (MEV) e propriedades mecânicas. Os resultados experimentais mostraram que os biofilmes com menores teores de glicerol obtiveram menores teores de umidade. Observou-se que para a solubilidade e permeabilidade ao vapor de água, os menores valores observados foram influenciados pelas concentrações de PAMc. O ensaio 5 (AS 6,0g; GLI 1,0g; PAMc 2,5%) apresentou menores valores de ω e PVA, com possível aplicação como coberturas de alimentos e o ensaio 10 (AS 6,0g; GLI 3,0g; PAMc 2,5%) maior S, podendo ser aplicado em embalagens biodegradáveis. Os resultados obtidos através FTIR confirmaram a interação química entre o AS e a PAMc. As análises morfológicas mostraram que os biofilmes apresentaram heterogeneidade quando as concentrações de PAMc foram aumentadas. Quanto às propriedades mecânicas, verificou-se que a tensão à ruptura (TR) e o módulo de Young (E) aumentaram quando as concentrações de PAMc foram maiores e a deformação diminuiu quando as concentrações de glicerol foram elevadas. O ensaio 11 (AS 6,0g; GLI 3,0g; PAMc 2,5%) apresenta maiores TR (14,06 MPa) e E (21,17 MPa), com potenciais para aplicações como sacolas biodegradáveis.

Palavras-chave: Biofilmes; Alginato de Sódio; Poliacrilamida Catiônica; Glicerol.

Abstract

Biofilms based on sodium alginate (AS) crosslinked with cationic polyacrylamide (PAMc) of high molar mass were made by the casting technique. In this study, the central rotational compound design (DCCR) was used and 11 trials were performed. The biofilms produced were characterized with respect to moisture (ω), water solubility (S), water vapor permeability (PVA), thickness (σ), absorption spectroscopy in the infrared region with Fourier transform (FTIR), microscopy scanning (SEM) and mechanical properties. The experimental results showed that biofilms with lower glycerol contents obtained lower moisture content. It was observed that for the solubility and permeability to water vapor, the lower values observed were influenced by the concentrations of PAMc. Assay 5 (AS 6.0g, GLI 1.0g, PAMc 2.5%) presented lower values of ω and PVA, with possible application as food coatings and assay 10 (AS 6.0g, GLI 3.0g; PAMc 2.5%) higher S, and can be applied in biodegradable packages. The results obtained through FTIR confirmed the chemical interaction between AS and PAMc. Morphological analyzes showed that biofilms showed heterogeneity when the concentrations of MAP were increased. Regarding the mechanical properties, tensile strength (*TR*) and Young's modulus (*E*) were found to increase when the PAMc concentrations were higher and the deformation decreased when glycerol concentrations were high. Trial 11 (AS 6.0g, GLI 3.0g, PAMc 2.5%) showed higher *TR* (14.06 MPa) and *E* (21.17 MPa), with potential for applications as biodegradable bags.

Keywords: Biofilms; Sodium Alginate; Cationic Polyacrylamide; Glycerol.

Lista de Figuras

Figura 1. Fotografias de algas Phaeophyceae.....	22
Figura 2. Estrutura dos blocos homopoliméricos M- e G- e dos blocos heteropoliméricos MG-, que constituem a molécula de alginato. Em (A) tem-se uma sequência M—M; em (B) uma sequência G—G e em (C) uma sequência M—G—M.....	23
Figura 3. Estrutura típica da poliacrilamida.....	27
Figura 4. Esquema de interação química entre o alginato de sódio e a poliacrilamida catiônica.....	33
Figura 5. Fluxograma para a elaboração dos biofilmes.....	37
Figura 6. Espectro de FTIR de AS, PAMc e do filme (AS/PAMc/GLI).....	44
Figura 7. Espectro de FTIR do glicerol.....	45
Figura 8. Micrografias do Alginato de sódio (AS) (A), (B), (C) e (D) com aumento de 420, 1000, 3000 e 5000 X, respectivamente.....	46
Figura 9. Micrografias da poliacrilamida catiônica (PAMc) (A), (B), (C) e (D) com aumento de 420, 1000, 3000 e 5000 X, respectivamente.....	47
Figura 10. Micrografias dos biofilmes: (A) ensaio 1 (AS 6,0g; GLI 2,0g; PAMc 1,5%); (B) ensaio 4 (AS 6,0g; GLI 4,0g; PAMc 3,5%); (C) ensaio 7 (AS 6,0g; GLI 3,0g; PAMc 0,0%); (D): ensaio 11 (AS 6,0g; GLI 3,0g; PAMc 2,5%) com aumento de 1000 X.....	47
Figura 11. Tensão máxima <i>versus</i> deformação máxima na ruptura.....	51
Figura 12. Simulação da umidade dos biofilmes de glicerol + poliacrilamida catiônica através do modelo de regressão.....	56
Figura 13. Simulação da solubilidade dos biofilmes de glicerol + poliacrilamida catiônica através do modelo de regressão.....	57
Figura 14. Simulação da PVA dos biofilmes de glicerol + poliacrilamida catiônica através do modelo de regressão.....	57

Lista de Tabelas

Tabela 1. Reagentes utilizados.....	34
Tabela 2. Equipamentos e materiais utilizados.....	34
Tabela 3. Variáveis independentes e seus respectivos níveis.	35
Tabela 4. Delineamento completo do processo de elaboração de biofilme de alginato de sódio e poliacrilamida catiônica.	36
Tabela 5. Espessura, tensão e deformação na ruptura dos biofilmes.....	49
Tabela 6. Análise de médias por meio do teste de Tukey* para as respostas em função dos ensaios.	51
Tabela 7. Análise de variância de dois fatores para as respostas: umidade, solubilidade e PVA.	54
Tabela 8. Parâmetros de regressão pelo método passo a passo para as respostas em função da quantidade de glicerol e poliacrilamida.	55

Lista de Abreviaturas e Siglas

Δl – Distância final de separação da garra (mm)

A – Área da seção transversal do filme (mm^2)

A_e – Área da superfície exposta do filme (m^2)

AS – Alginato de sódio

ANOVA – Análise de variância

ASTM – American Society for Testing and Materials

DCCR – Delineamento Composto Central Rotacional

DNA – Ácido desoxirribonucleico

E – Módulo de elasticidade ou módulo de Young (MPa)

F – Fator F

f – Número fatorial

F_m – Força máxima no momento da ruptura (N)

FTIR – Fourier Transform infrared spectroscopy

G – Coeficiente angular da reta de ajuste aos pontos experimentais em um gráfico da massa versus tempo (g/dia)

G – Gulurônico

GL – Grau de liberdade

GLI – Glicerol

IUPAC – International Union of Pure and Applied Chemistry

k – Número de variáveis independentes

M – Manurônico

MEV – Microscopia eletrônica de varredura

m_f – Massa seca final (g)

MQ – Média quadrática

MRE – Erro médio relativo

m_u – Massa úmida (g)

n – Número de valores experimentais

p – Nível de significância ($\alpha = 95\%$)

PAM – Poliacrilamida

PAMc – Poliacrilamida catiônica

PVA – Permeabilidade ao vapor de água ($\text{g}\cdot\text{mm}/\text{m}^2\cdot\text{dia}\cdot\text{kPa}$)

R^2 – Coeficiente de determinação

RNA – Ácido ribonucleico

rpm – Rotação por minuto

RSM – Método de regressão estatístico múltiplo

S – Solubilidade (%)

SQ – Soma dos quadrados

TR – Tensão na ruptura (MPa)

UR – Umidade relativa (%)

y – Valores experimentais

y^* – Valores calculados

α – Níveis de variáveis axiais codificadas como $-\alpha$ e $+\alpha$

ΔP_ω – Diferença de pressão parcial através do filme (kPa)

σ – Espessura (mm)

ω – Umidade (%)

ε – Deformação elástica longitudinal (%)

l_0 – Distância inicial de separação (mm)

Lista de Equações

Equação 1. Níveis de variáveis axiais codificadas (α).	35
Equação 2. Equação para determinar a umidade (ω).	38
Equação 3. Equação para determinar a solubilidade (S).	38
Equação 4. Para determinar a permeabilidade ao vapor de água (PVA).	39
Equação 5. Para determinar a tensão na ruptura (MPa).	40
Equação 6. Para determinar a deformação elástica longitudinal (%).	41
Equação 7. Para determinar o módulo de Young (MPa).	41
Equação 8. Coeficiente de determinação dos modelos propostos.	42
Equação 9. Erro médio relativo dos modelos propostos.	42
Equação 10. Modelo de regressão para as respostas para a umidade.	57
Equação 11. Modelo de regressão para as respostas de solubilidade.	58
Equação 12. Modelo de regressão para as respostas de PVA.	58

Sumário

1. INTRODUÇÃO	16
2. OBJETIVOS	19
2.1 Geral	19
2.2 Específicos	19
3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	20
3.1 Biofilmes poliméricos.....	20
3.2 Alginato de sódio	21
3.2.1 Aplicações e vantagens	23
3.3 Plastificantes	24
3.3.1 Glicerol.....	25
3.4 Reticulante	26
3.4.1 Poliacrilamida.....	26
3.5 Análises utilizadas para biofilmes poliméricos	28
3.5.1 Espectroscopia de absorção na região do infravermelho com transformada de Fourier (FTIR)	28
3.5.2 Microscopia eletrônica de varredura (MEV)	28
3.5.3 Solubilidade em água	29
3.5.4 Espessura	30
3.5.5 Permeabilidade ao vapor de água (PVA)	30
3.5.6 Propriedades Mecânicas	32
3.5.7 Textura ou homogeneidade	33
3.6 Biofilmes de alginato de sódio e poliacrilamida catiônica como reticulante	33
4. MATERIAIS E MÉTODOS	34
4.1 Reagentes e instrumentação.....	34

4.2	Planejamento experimental.....	35
4.3	Preparação dos biofilmes	36
4.4	Caracterização dos biofilmes	37
4.4.1	Aspecto visual	37
4.4.2	Umidade (ω).....	38
4.4.3	Solubilidade (S).....	38
4.4.4	Espessura (σ)	38
4.4.5	Permeabilidade ao Vapor de Água (PVA)	39
4.4.6	Espectroscopia na região do infravermelho com transformada de Fourier (FTIR).....	39
4.4.7	Microscopia eletrônica de varredura (MEV)	40
4.4.8	Propriedades mecânicas	40
4.4.9	Abordagens matemáticas e estatísticas dos dados.....	41
5.	RESULTADOS E DISCUSSÃO	43
5.1	Aspecto visual dos biofilmes elaborados.....	43
5.2	Espectroscopia na região do infravermelho com transformada de Fourier (FTIR) ..	43
5.3	Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)	46
5.4	Propriedades mecânicas	48
5.5	Resultados experimentais do estudo dos biofilmes	51
5.6	Influência das composições de glicerol e poliacrilamida catiônica sobre as variáveis respostas dos biofilmes	53
5.7	Modelagens matemáticas das respostas com relação às concentrações do glicerol e poliacrilamida catiônica para a confecção dos biofilmes	55
6.	CONCLUSÕES	59
	REFERÊNCIAS.....	60

1. INTRODUÇÃO

Nos últimos anos, tem-se observado uma preocupação em minimizar os problemas ambientais causados pelo descarte de plásticos sintéticos tradicionais que ainda são muito usados [1]. Desta forma, os polímeros biodegradáveis têm sido intensivamente estudados como uma alternativa aos polímeros convencionais [2, 3].

Filmes provenientes de biopolímeros (polissacarídeos e proteínas) apresentam-se como alternativa ao uso de derivados petroquímicos, possibilitando a formação de matrizes contínuas e a otimização de parâmetros como pH e o tipo de plastificante, resultando em materiais com propriedades melhoradas [4]. Portanto, existe grande interesse mundial na pesquisa e desenvolvimento de sistemas de embalagens biodegradáveis com polímeros naturais, devido ao seu baixo custo, biocompatibilidade e abundância [5, 6].

Biofilme é um filme preparado a partir de materiais biológicos. Este filme age como barreira a elementos externos e, conseqüentemente, pode proteger o produto embalado de danos físicos e biológicos e aumentar a sua vida útil. São geralmente produzidos com polissacarídeos, proteínas, lipídios e derivados. A obtenção dos mesmos está baseada na dispersão ou solubilização dos biopolímeros em um solvente (água, etanol ou ácidos orgânicos) e acréscimo de aditivos (plastificantes ou agentes de liga) obtendo-se uma solução ou dispersão filmogênica. Após o preparo, estas coberturas devem passar por uma operação de secagem para a formação dos filmes ou coberturas tipo *casting* [7].

Os biopolímeros são macromoléculas provenientes das fontes renováveis que ocorrem na natureza. Celulose, amido, quitina (açúcares), proteínas, peptídeos (aminoácidos), DNA (ácido desoxirribonucleico), RNA (ácido ribonucleico) (nucleotídeos) e alginato de sódio (AS) são exemplos de biopolímeros. A utilização de biopolímeros, especialmente em aplicações industriais e médicas, tem chamado à atenção do meio acadêmico e industrial, devido às características de biodegradabilidade, biocompatibilidade, baixo custo e não toxicidade. Entre os aspectos que contribuem para a utilização de biopolímeros é que são materiais provenientes de fontes renováveis e sustentáveis em relação aos polímeros sintéticos provenientes de derivados de petróleo [8].

Dentre os polímeros naturais, destaca-se o alginato de sódio que é um biopolímero extraído de várias espécies de algas marinhas, conhecido como um copolímero linear contendo resíduos de 3-D-manuronato de *p*-D-manuronato (M) e *a*-L-guluronato (G) ligados covalentemente em sequências diferentes [9]. Possuem propriedades importantes, tais como alta viscosidade, formação de géis e filmes. Devido a estas propriedades, os alginatos são usados em várias áreas, como produtos farmacêuticos, médicos, papel, couro, indústria alimentar, biocatalisantes imobilizados e impressão têxtil. No entanto, devido às suas propriedades mecânicas precárias, eles precisam ser modificados com polímero sintético para melhorar suas aplicações [10].

A acrilamida é um importante produto químico industrial que tem sido usado desde meados dos anos 1950 como um intermediário químico na produção de poli(acrilamida) (PAM). Na classificação dos polímeros de acordo com a IUPAC (International Union of Pure and Applied Chemistry) denomina-se poli(acrilamida) (ou propenamida) como polímero de adição, onde monômeros são adicionados à cadeia de polímero em crescimento [11]. É um polímero sintético e solúvel em água, de alta massa molar e amorfo. Pode ser sintetizado por diferentes métodos: iniciação via radicais livres ou eletroquímica [12, 13], ondas ultrasônicas, sensibilidade fotoquímica, radiação ultravioleta, radiação por transmissão de elétrons e sistema redox aquoso [14].

Na solução filmogênica, a poli(acrilamida) catiônica (PAMc) atua como agente reticulante reagindo seus grupos funcionais quaternários de amônio com os grupos carboxílicos presentes no alginato de sódio. Para melhorar as propriedades mecânicas, diminuindo a fragilidade dos filmes biodegradáveis de alginato de sódio, é importante utilizar um agente plastificante que atue como redutor das forças intermoleculares e aumente a mobilidade das cadeias poliméricas, melhorando a flexibilidade, resistência e estabilidade do produto. São normalmente moléculas de baixa massa molar, que podem ser adicionadas a sistemas poliméricos para diminuir suas interações intra e intermoleculares promovendo maior flexibilidade. Os plastificantes podem também atuar como lubrificantes da cadeia polimérica [15]. Este comportamento ocorre porque o plastificante ao enfraquecer as forças intermoleculares entre as cadeias aumenta o volume livre do sistema. Dentre os plastificantes mais utilizados em filmes protéicos estão o glicerol, sorbitol, propilenoglicol, polietilenoglicol e monoglicérides. Neste trabalho, optou-se pela utilização do glicerol em razão de seu baixo custo, além de ser uma substância biodegradável. Quimicamente conhecido como 1, 2, 3-propanotriol ou

comercialmente como glicerina, é um dos compostos químicos mais utilizados como plastificantes na confecção de biofilmes poliméricos [16].

2. OBJETIVOS

2.1 Geral

Preparar biofilmes tendo como matriz polimérica o alginato de sódio e reticulante o polímero catiônico poliacrilamida de alta massa molar.

2.2 Específicos

- ✓ Preparar biofilmes de alginato de sódio reticulado com poliacrilamida catiônica aplicando o Delineamento Composto Central Rotacional 2^2 (DCCR 2^2) com 04 pontos fatoriais, 04 pontos axiais e 03 pontos centrais, totalizando 11 ensaios;
- ✓ Analisar os biofilmes quanto aos aspectos visuais;
- ✓ Caracterizar os biofilmes com relação à umidade, solubilidade, espessura e permeabilidade ao vapor de água;
- ✓ Caracterizar os biofilmes através da espectroscopia de absorção na região do infravermelho com transformada de Fourier – FTIR, a fim de confirmar as bandas relativas às interações químicas entre os grupos carboxílicos e quaternário de amônio;
- ✓ Observar as alterações na estrutura morfológica do biofilme por meio da microscopia eletrônica de varredura – MEV;
- ✓ Analisar os biofilmes com relação às propriedades mecânicas: tensão na ruptura, deformação e módulo de Young.

3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1 Biofilmes poliméricos

Biofilmes poliméricos são formados a partir de polímeros de origem animal ou vegetal, como polissacarídeos, lipídios e proteínas. Quando biofilmes são descartados no meio ambiente, os mesmos são convertidos em compostos simples, mineralizados, que, redistribuídos através dos ciclos de carbono, nitrogênio e enxofre não agredem o biossistema. Em síntese, a biodegradação de um polímero é o processo intrínseco pelo qual microrganismos e suas enzimas consomem este polímero como fonte de nutrientes, em condições normais de umidade, temperatura e pressão; os polímeros melhor adaptados à biodegradação completa são os naturais, aqueles hidrolisáveis a CO_2 e H_2O , ou a CH_4 e os polímeros sintéticos que possuem estruturas próximas às naturais [17].

Existem alguns requisitos específicos para o seu uso, tais como: boa aceitabilidade sensorial, propriedades de barreira e mecânicas adequadas, estabilidade bioquímica, físico-química e microbiológica, ser inócuo, não poluente, de processamento simples e de baixo custo. Esses filmes também devem ser de preferência, transparentes, ter consistência suficiente para serem facilmente removíveis no manuseio e não introduzir alterações no sabor [15].

Segundo Gennadios e Weller [18] os biofilmes apresentam algumas vantagens em relação aos filmes sintéticos:

- ✓ Os filmes podem ser consumidos juntamente com o produto, representando assim, a embalagem ideal sob o ponto de vista ambiental;
- ✓ Mesmo se não forem consumidos com o produto, ainda estarão contribuindo para a redução da poluição ambiental;
- ✓ Os filmes biodegradáveis podem aumentar as propriedades organolépticas do produto embalado através da incorporação de vários componentes;
- ✓ Podem servir como suplemento nutricional, particularmente, quando os filmes forem formados a partir de proteínas;
- ✓ Podem ser utilizadas como embalagens individuais para pequenas porções de alimentos ou para frutos, hortaliças ou amêndoas;
- ✓ Os filmes biodegradáveis podem localizar-se na superfície ou compartimentalizar alimentos heterogêneos, prevenindo interações entre as fases, como a migração de umidade e solutos;

- ✓ Podem funcionar como condutores de agentes antimicrobianos e antioxidantes;
- ✓ Podem servir como microencapsuladores de aromas e sabores;
- ✓ Podem ser aplicados em embalagens multicamadas, juntamente com filmes sintéticos, sendo que o filme biodegradável ficaria no lado interno da embalagem em contato com o alimento.

A produção de biofilmes para uso em embalagem de alimentos representa uma alternativa aos filmes poliméricos convencionais e vem despertando interesse em função das potenciais aplicações adicionais, tais como: a habilidade de funcionar como suporte de substâncias ativas para liberação controlada (antioxidantes, agentes antimicrobianos, quelantes, etc); a possibilidade de utilizar os biofilmes no interior de alimentos heterogêneos (ex: bolo com recheio, hambúrguer), funcionando como barreira interna ao transporte de gases e solutos [19].

As embalagens plásticas derivadas do petróleo, como as poliolefinas, poliésteres, poliamidas, etc, são muito utilizadas. São viáveis economicamente, sendo produzidas em grande quantidade por um baixo custo, possuem boas propriedades mecânicas (tensão de ruptura e alongamento) e de barreira a gases e compostos aromáticos, além da estabilidade térmica. Apresentam baixa taxa de transmissão ao vapor de água, mas, infelizmente, não são biodegradáveis, o que acarreta sérios problemas ao meio ambiente quanto à sua utilização [20].

O processo de produção dos biofilmes a partir de uma solução filmogênica envolve uma primeira etapa de solubilização da macromolécula em um solvente (água, etanol, solução de ácido acético, etc.) ao qual podem ser incorporados diversos aditivos (plastificantes, agentes reticulantes, etc.); na segunda etapa, a solução formadora do filme é vertida sobre um suporte e, usualmente, submetida à secagem até uma condição que permita um fácil desprendimento do molde. Dentre estes materiais, destaca-se o alginato de sódio, sendo um polissacarídeo muito utilizado em filmes biodegradáveis [21].

3.2 Alginato de sódio

O ácido algínico, também denominado alginato ou algin, é um polissacarídeo aniônico natural que ocorre naturalmente como o principal polissacarídeo estrutural de algas marinhas (*Phaeophyceae*) (Figura 1) e como mucilagem extracelular segregada por certas espécies de bactérias. Portanto, é renovável, biodegradável, não tóxico,

solúvel em água, abundante e biocompatível. É um copolímero linear, constituído por unidades repetitivas de 1,4-*p*-D-manuronopiranosilo e 1,4-*a*-L-guluronopiranosilo conhecidas como ácido manurônico (M) e gulurônico (G). É geralmente presente como sal de sódio, chamado de alginato de sódio. Os alginatos de sódio são comumente usados como estabilizadores, espessantes e gelificantes em vários alimentos, tais como, sopas, molhos e bebidas [22].

Figura 1. Fotografias de algas Phaeophyceae.

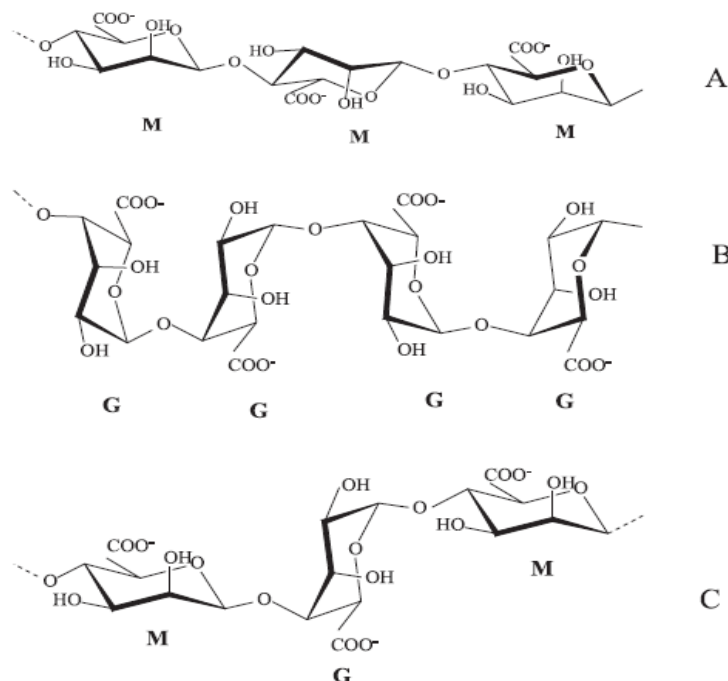


Fonte: SANTANA [23].

Os monômeros podem aparecer como blocos homopoliméricos de unidades G consecutivas (GG), unidades M consecutivas (MM) e unidades M e G alternadas (GM), conforme Figura 2. Alginato de sódio é extraído de diferentes fontes e difere nos teores M e G, bem como o comprimento de cada bloco. Os blocos G são mais rígidos e mais estendidos em configuração de cadeia do que os blocos M devido a um maior grau de rotação impedida em torno das ligações glicosídicas [24].

Características como a ação gelificante e espessante, biodegradabilidade, biocompatibilidade e ausência de toxidez tornam o alginato de sódio um material interessante para inúmeras aplicações. Dentre as várias aplicações, os filmes de alginato têm sido estudados com o objetivo de utilizá-los em embalagens, cobertura e proteção de diferentes materiais [25], matriz ou cobertura reticulada para sistemas de liberação de fármacos [26] e no encapsulamento de células vivas [27].

Figura 2. Estrutura dos blocos homopoliméricos M- e G- e dos blocos heteropoliméricos MG-, que constituem a molécula de alginato. Em (A) tem-se uma sequência M—M; em (B) uma sequência G—G e em (C) uma sequência M—G—M.



Fonte: GARCIA-CRUZ *et al.*, [28].

3.2.1 Aplicações e vantagens

A principal vantagem do gel de alginato é a sua habilidade de ser termoestável podendo ser armazenado à temperatura ambiente. Uma vez formado, o gel de alginato mantém sua forma e propriedades reológicas durante o processamento térmico, incluindo todo tipo de cozimento, congelamento e descongelamento, uma propriedade desejável em muitos alimentos. Alginato de sódio pode ser dissolvido em água, com ou sem aquecimento, resultando em soluções com uma grande faixa de viscosidade e diferentes perfis reológicos. Em contato com cátions multivalentes ocorre uma transição sol/gel. Essas características, combinadas ao fato do alginato ser um produto muito bem caracterizado e seu comportamento físico-químico entendido, tanto na fase líquida como na fase gel, fazem desse biopolímero um material de trabalho único, comparado aos outros polissacarídeos. Somente a pectina se assemelha ao alginato no que se refere ao comportamento de transição sol/gel, mas este sistema não está tão bem caracterizado como acontece com alginatos. Alginatos são muito utilizados e consumidos por ser uma substância natural, sustentável, de origem vegetal, renovável e biodegradável [21].

A utilização deste biopolímero é de extrema importância para o tratamento de feridas de difícil cicatrização, pois é considerado relativamente inerte, biocompatível, biodegradável e possui a capacidade de formar matrizes de gel de elevada porosidade com boas propriedades mucoadesivas. Também tem sido utilizado em indústrias alimentícias, de impressão em tecidos e em processos para tratamento de água [29, 30].

3.3 Plastificantes

Os plastificantes são definidos como substâncias com alto ponto de fusão e baixa volatilidade que, quando adicionados a outro material provocam certas mudanças nas suas propriedades físicas, químicas e mecânicas. Além disso, em sua maioria, apresentam caráter hidrofílico, e, por serem normalmente moléculas pequenas, são facilmente acoplados entre as cadeias poliméricas devido à sua habilidade em reduzir a formação de pontes de hidrogênio entre as cadeias. A incorporação de plastificante em biopolímeros modifica a organização molecular tridimensional da rede polimérica, diminuindo as forças de atração intermoleculares causando um aumento do volume livre ou da mobilidade molecular do polímero. Conseqüentemente, a rede torna-se menos densa com o decréscimo das forças, melhorando a flexibilidade e extensibilidade dos filmes [31].

Existem três hipóteses importantes para explicar o fenômeno da plastificação. A primeira relata que o plastificante atua como um lubrificante interno, que reduz o atrito intermolecular existente entre as cadeias, permitindo maior mobilidade das mesmas. Uma segunda hipótese baseia-se no efeito de solvatação dos sítios polares das cadeias poliméricas, reduzindo a atração intermolecular. E a terceira hipótese considera que o movimento das moléculas plastificantes, com baixa massa molar, aumenta o volume livre do polímero, permitindo maior espaço para o movimento das cadeias [32].

A escolha do plastificante a ser adicionado à formulação depende da compatibilidade deste com o polímero e o solvente utilizados, isto é, deve ser miscível no polímero e no solvente, de forma a evitar a separação prematura no decorrer do processo de secagem. Os plastificantes mais efetivos geralmente têm uma estrutura molecular próxima a do polímero que devem plastificar. Polióis (glicerol, sorbitol, derivados de glicerina, entre outros), monossacarídeos (principalmente a frutose), dissacarídeos, lipídeos e derivados (ácidos graxos, monoglicerídeos, derivados de éster, entre outros) são exemplos de plastificantes [33].

A literatura registra o uso de vários tipos de plastificantes utilizados na elaboração de filmes e coberturas comestíveis. Os mais recorrentes são os polióis, sobretudo o glicerol [30, 33-36] e o sorbitol [25, 37-40] ou misturas de glicerol, xilitol e sorbitol [41, 42].

3.3.1 Glicerol

Quimicamente, o glicerol é um tri-álcool com três carbonos, tendo como nome sistemático (IUPAC) 1,2,3-propanotriol, enquanto o termo glicerina aplica-se à purificação de compostos comerciais que contém, normalmente, quantidades maiores ou iguais a 95% de glicerol. É um líquido incolor, com gosto adocicado, sem cheiro e muito viscoso, derivado de fontes naturais ou petroquímicas. A presença de três grupos hidroxila na estrutura do glicerol é responsável pela solubilidade em água e sua natureza higroscópica, possuindo uma molécula altamente flexível que forma ligações de hidrogênio tanto intra como intermoleculares [43]. A incorporação de plastificantes na matriz de alginato geralmente resulta em uma diminuição da resistência à tração e do módulo de Young e um aumento do alongamento à ruptura das películas de alginato, sendo o plastificante mais popular utilizado para a plastificação do alginato de sódio [33].

As principais aplicações do glicerol podem estar: i) na indústria química, como, por exemplo, insumo para a síntese de resinas, ésteres e plásticos, responsáveis pelo consumo de 18% do glicerol disponível; ii) na indústria farmacêutica, como componente de cápsulas, medicamentos, cremes e pomadas, onde seu consumo é de aproximadamente 7% do total; iii) em cosméticos por ser atóxico, não irritante, insípido e inodoro, têm sido amplamente utilizado como emoliente e umectante em cremes para a pele, loções pós-barba, desodorantes, batons e maquiagens em geral. Essas aplicações correspondem por 40% de seu consumo; iv) na indústria alimentícia, cerca de 20 % do glicerol é utilizado na composição de umectantes, além de conservar por mais tempo bebidas e alimentos, tais como refrigerantes, balas, bolos, pastas de queijo e de carne e ração animal seca; v) em outros usos (cerca de 10 %), no processamento de tabaco, a fim de tornar as fibras do fumo mais resistentes e evitar o ressecamento das folhas, na composição dos filtros de cigarros e como veículo de aromas; e vi) na indústria têxtil para amaciar e aumentar a flexibilidade das fibras [44].

Laohakunjit e Noomhorm (2002), concluíram que o uso do glicerol como plastificantes em filmes de amido de arroz promoveu homogeneidade, claridade, aspecto liso e menos impurezas insolúveis quando comparados com os filmes sem plastificantes e a permeabilidade ao vapor de água melhorou com o aumento da concentração de glicerol [45].

3.4 Reticulante

Para Lima *et al.*, (2007), o uso de polímeros naturais para obtenção de filmes pode apresentar como desvantagem a alta solubilidade em água. A hidrossolubilidade dos biopolímeros aumenta a velocidade de degradação, podendo limitar a aplicação do material. Uma das maneiras de contornar esse problema é realizar ligações cruzadas entre as cadeias poliméricas, tornando o polímero insolúvel em meio aquoso. Essas ligações podem ser obtidas através do processo de reticulação, alterando assim propriedades como estabilidade térmica, mecânica e a solubilidade do material em água. As características funcionais de um filme biodegradável resultam de um equilíbrio entre o grau de reticulação e a ação de plastificantes. Os biofilmes preparados a partir de polissacarídeos têm sido submetidos a processos de reticulação visando diminuir a solubilidade em água. Biofilmes de alginato de sódio reticulados por imersão em diferentes concentrações de solução aquosa de CaCl_2 (cloreto de cálcio), mostraram-se insolúveis em água, mas permeáveis a vapores de água [25].

A reação entre o agente reticulante e a matriz polimérica é um processo que ocorre quando cadeias lineares ou ramificadas são interligadas por ligações covalentes, um processo conhecido como *crosslinking* ou ligação cruzada, ou seja, ligações entre moléculas lineares produzindo polímeros tridimensionais com alta massa molar. Com o aumento da reticulação, a estrutura se torna mais rígida. A vulcanização da borracha é um exemplo de ligação cruzada [46]. Neste trabalho foi utilizada a poliacrilamida catiônica como agente reticulante.

3.4.1 Poliacrilamida

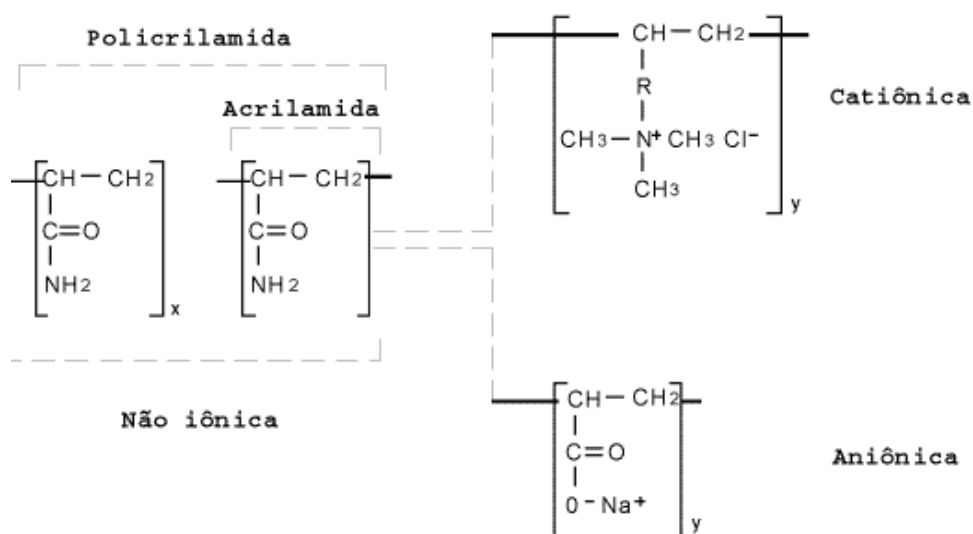
Dentre todos os polímeros solúveis em água de uso comercial, a poliacrilamida é o mais usado em meio ao grupo dos polímeros sintéticos. Os polímeros de poliacrilamida são amplamente usados como floculante, agentes de controle reológico e aditivos. As principais aplicações da poliacrilamida tem sido no tratamento de água, na

indústria do papel, na mineração e nessas atividades ela está relacionada com a capacidade de floculação de sólidos em suspensão [47], material têxtil e de impressão, gel de eletroforese, produção de papel, recuperação de petróleo, refino de açúcar, e melhorias do solo e apresenta entre suas características o baixo custo e não toxicidade [48].

A acrilamida é o mais simples e importante membro de uma série de amins acrílicas e metacrílicas. O material começou a ser comercializado em 1954 e desde então se tem mostrado um grande interesse de estudos neste monômero. A poliacrilamida é um polímero sintético solúvel em água, de alta massa molar e amorfo que pode ser sintetizado por reação em cadeia como polímero neutro, aniônico ou catiônico [11]. Estudos investigaram a influência da temperatura na viscosidade aparente do polímero do sal quaternário de amônio modificado com poliacrilamida, e os resultados mostraram que a viscosidade diminuiu a concentrações de sal mais baixas e aumentou a concentrações mais elevadas de sal [49]. Didehban e Mahtab [50] através da síntese e avaliação eletroquímica de hidrogéis de poliacrilamida investigaram o efeito reticulador, iniciador, concentrações gráficas na absorção de água e condutividade elétrica de hidrogéis.

A síntese da poliacrilamida pode resultar tanto em homopolímeros como em copolímeros classificados em: aniônicos, catiônicos e não iônicos como mostra na Figura 3 [11].

Figura 3. Estrutura típica da poliacrilamida.



Fonte: MOODY [51].

3.5 Análises utilizadas para biofilmes poliméricos

Os biofilmes possuem várias características que estão envolvidas na sua produção as quais indicam parâmetros de qualidade, textura ou homogeneidade, umidade, espessura, permeabilidade ao vapor de água, solubilidade em água, microscopia, espectroscopia de absorção na região do infravermelho com transformada de Fourier, propriedades mecânicas e etc. Esses atributos finais dos filmes são resultantes das características das macromoléculas utilizadas, das interações entre os constituintes envolvidos na formulação (macromolécula, solventes, plastificante e outros aditivos), do processo de produção, do processo de dispersão da solução filmogênica (pulverização, espalhamento, etc.) e das condições de secagem.

3.5.1 Espectroscopia de absorção na região do infravermelho com transformada de Fourier (FTIR)

A espectroscopia no infravermelho com transformada de Fourier é uma técnica quantitativa e qualitativa utilizada para a determinação estrutural de substâncias e na quantificação de um ou mais componentes de uma amostra complexa. As vantagens de aplicabilidade da técnica vão desde baixo custo até a extensa gama de amostras, podendo ser analisadas amostras líquidas, sólidas ou gasosas. A absorção na região do Infravermelho ocorre devido aos movimentos vibracionais e rotacionais dos grupos moleculares e ligações químicas de uma molécula. Essencialmente, existem duas vibrações fundamentais: estiramento das ligações, quando os átomos permanecem no mesmo eixo da ligação, porém a distância entre os átomos aumenta ou diminui, e deformação angular, quando as posições mudam em relação ao eixo da ligação original. Se a luz infravermelha de mesma frequência de vibração, de estiramento ou de deformação angular incide na amostra, a energia é absorvida e a amplitude de vibração é aumentada. Devido à energia de absorção na frequência de ressonância, o detector do espectrômetro de infravermelho grava um pico de absorção naquele número de onda. Vibrações de deformação angular geralmente requerem energias menores e são encontradas em frequências menores do que as de vibrações de estiramento [52].

3.5.2 Microscopia eletrônica de varredura (MEV)

A caracterização dos filmes biodegradáveis através da microscopia é de grande importância, quando se deseja obter uma melhor compreensão do comportamento dos

filmes. A análise de microscopia mais utilizada para avaliar a microestrutura de filmes biodegradáveis é a microscopia eletrônica de varredura. Entretanto, se o filme for diretamente submetido ao feixe de luz, ele será degradado. Uma alternativa é utilizar um feixe de luz de intensidade bem baixa, 5 a 10 kV. Para melhor visualização da imagem é necessário metalizar a amostra com uma fina camada de ouro, já que a maioria dos materiais biodegradáveis é à base de carbono. A microscopia é extremamente eficaz para avaliar a superfície dos filmes, e para investigar a estrutura interna do material é necessário fazer uma fratura na amostra e observar o perfil do corte no microscópio. Para que ocorra o mínimo de alteração na estrutura do material, recomenda-se uma fratura crioscópica, geralmente utilizando-se nitrogênio líquido. O corte feito simplesmente com um instrumento cortante como tesoura ou estilete pode mascarar eventuais falhas/defeitos na estrutura do filme.

Veiga-Santos *et al.* [53], investigaram a microestrutura de filmes biodegradáveis por observação direta em microscópio óptico de lente polarizada, sem preparo prévio, através de transmitância. Para essa metodologia foi possível observar heterogeneidades e a formação de cristalização. A utilização da microscopia óptica para observar materiais biodegradáveis é uma ferramenta útil, rápida e de relativo baixo custo.

3.5.3 Solubilidade em água

Define-se solubilidade em água de biofilmes como a quantidade de matéria seca que é solubilizada após 24 horas de imersão. A avaliação dessa propriedade é essencial para se definir o campo de aplicação do filme. Embalagens primárias necessitam de solubilidade em água devido ao manuseio, transporte e armazenamento das mesmas. Além disso, alimentos com alta atividade de água, por exemplo, requerem filmes insolúveis para seu condicionamento [54]. Esta propriedade é de grande importância para filmes biodegradáveis, uma vez que a grande maioria dos filmes elaborados a partir de carboidratos e proteínas possui grande afinidade com a água [55].

De modo geral, a adição de plastificantes tende a aumentar a solubilidade de filmes. Em filmes reticulados, entretanto, esse efeito pode ser menos pronunciado. As moléculas de plastificante podem permanecer fortemente ligadas à estrutura reticulada do polímero dificultando, desta maneira, a sua liberação para a solução. Solubilidade de filmes pode ser diminuída com adição de componentes hidrofóbicos (lipídios, ceras), mas a adição de componentes pode provocar efeitos adversos nas propriedades ópticas e

mecânicas dos mesmos. Uma alternativa seria o processo de reticulação que impede a separação das cadeias e sua passagem para solução. Aumentando a densidade de reticulação, a capacidade de absorção de líquido de baixo peso molecular diminui, podendo ser inexistente quando os segmentos que formam o retículo forem muito pequenos, ou seja, quando as cadeias possuírem um melhor empacotamento [56].

Altos valores de solubilidade em água para filmes contendo glicerol podem estar relacionados à evaporação do plastificante durante o ensaio gravimétrico em estufa à 105°C. Em um estudo que avaliou diferentes condições e temperaturas de secagem de géis de alginato, foi verificado que o processo de secagem em temperaturas de 60°C resultava em filmes mais finos e com menor elasticidade em relação aos filmes secos em temperaturas mais baixas, indicando uma possível perda de glicerol nesta temperatura [57].

3.5.4 Espessura

A espessura dos filmes é definida segundo as necessidades de utilização como embalagem, considerando-se a natureza, o volume e peso do alimento a ser embalado e as condições de armazenamento. O controle da espessura dos filmes é importante para sua uniformidade, repetitividade das medidas de suas propriedades funcionais e validade das comparações entre as propriedades dos filmes. Uma não uniformidade na espessura dos filmes pode causar problemas mecânicos e de conservação. A espessura deve ser estabelecida levando-se em conta a utilização final do filme, que vai depender do tipo de alimento que será embalado. A espessura dos filmes é uma das características mais importantes, pois influencia na permeabilidade ao vapor de água [58]. O controle da espessura é difícil, sobretudo, nos processos de produção do tipo *casting*. Sobral [58] afirma ainda que a permeabilidade ao vapor de água, ao oxigênio e ao gás carbônico diminuía conforme a espessura dos filmes aumentava.

3.5.5 Permeabilidade ao vapor de água (PVA)

Uma das propriedades mais importante de um filme comestível é a permeabilidade ao vapor de água (PVA), que é definida pelo "Annual Book of Standards" (ASTM E96-80) [59], como a taxa de transmissão de vapor de água por unidade de área de um material delgado, de espessura conhecida, induzida por uma diferença de pressão entre duas superfícies específicas, sob condições de temperatura e

umidade relativa especificada (ASTM, 1989) [59] Considera-se que este processo ocorre através dos espaços intermoleculares do material por: a) sorção e solubilização do permeante na superfície do material; b) difusão do permeante através do material devido à ação de um gradiente de concentração; c) desorção e evaporação de permeante na outra face do material [60].

Muitos efeitos indesejáveis nos produtos alimentícios como o crescimento de microrganismos, alterações de cor, sabor e textura e ressecamento são ocasionados devido ao ganho ou a perda de umidade. Para esses alimentos a embalagem deve funcionar como uma barreira à passagem de vapor de água, de modo a lhes assegurar a estabilidade [60].

Essa característica de barreira pode ser avaliada pela taxa de permeabilidade ao vapor de água, definida como a taxa de transmissão de vapor de água através de um filme de espessura conhecida, por unidade de área, induzida por um gradiente de pressão parcial de vapor de água entre as superfícies do material. Uma das formas de se avaliar a taxa de PVA de filmes é através do método gravimétrico, o qual é baseado no aumento de peso de um material higroscópico colocado no interior de uma cápsula impermeável e isolado do meio ambiente pelo material de embalagem, cuja taxa de permeabilidade se deseja conhecer. A cápsula é colocada em um ambiente com umidade relativa e temperatura constante e o ganho de peso da cápsula ao longo do tempo é usado para calcular a taxa de permeabilidade através do material [15].

Um material pode ser considerado como de alta barreira ao vapor de água, quando apresenta uma taxa de permeabilidade menor que $8 \text{ g (m}^2 \cdot \text{dia)}$ e de altíssima barreira quando menor que $0,8 \text{ g (m}^2 \cdot \text{dia)}$ [60]. De acordo com Bertuzzi, Armanda e Gottifredi [61], a PVA tende a aumentar com a adição de plastificantes hidrofílicos, pois, observaram um aumento linear com o aumento da concentração de glicerol em filmes de amido de milho obtidos por *casting*.

Fabra [62] estudou filmes de alginato de cálcio plastificados com glicerol encontrando uma variação de permeabilidade ao vapor de água em torno de $3,39$ a $8,23 \text{ g} \cdot \text{mm/m}^2 \cdot \text{dia} \cdot \text{KPa}$.

3.5.6 Propriedades Mecânicas

As principais propriedades mecânicas dos biofilmes poliméricos são a tensão de ruptura, alongamento ou deformação e o módulo de Young. A tensão de ruptura é a máxima força suportada pelo filme até o momento da quebra. O alongamento é a habilidade do filme em se estender (elasticidade) e o módulo de Young é uma grandeza que é proporcional à rigidez de um material quando este é submetido a uma tensão externa de tração ou compressão, quanto maior o módulo, mais rígido é o material. Os filmes obtidos devem ser resistentes à ruptura e a abrasão, fazendo com que o alimento não perca sua integridade e proteção por manuseio e transporte. Além disso, ele deve possuir flexibilidade suficiente para se adaptar a eventuais deformações no alimento, sem dano mecânico [9].

A propriedade desejada de um material para embalagem de alimento depende da aplicação. Geralmente, uma embalagem de alimento pode ser um material indeformável para fornecer integridade estrutural ou reforçar a estrutura do alimento, ou uma película deformável para outras aplicações [63]. O conhecimento das propriedades mecânicas de materiais poliméricos é de fundamental importância já que destas dependem muitas das aplicações industriais. As propriedades mecânicas são aquelas que determinam a resposta destes materiais às influências mecânicas externas e estão associadas à capacidade de desenvolver deformações reversíveis e irreversíveis e de apresentar resistência à ruptura ou fratura. Ainda, de acordo com os autores, as propriedades mecânicas são consequências da composição da matriz polimérica e de sua estrutura nos níveis moleculares [64]. Lourdin *et al.* [65] compararam as propriedades mecânicas de filmes de amido plastificado com glicerol e filmes de amido puro e concluíram que a resistência à tração de filmes de amido diminui com a adição de plastificantes. As películas de amido puro têm valores de resistência à tração de 45 MPa, enquanto as películas de amido contendo glicerol têm valores de resistência à tração de 10 MPa.

A resistência à tração de filmes compósitos alginato de sódio / sílica aumenta ligeiramente com o aumento do carregamento de sílica, no entanto, a adição de sílica promove a diminuição do alongamento à ruptura [9].

3.5.7 Textura ou homogeneidade

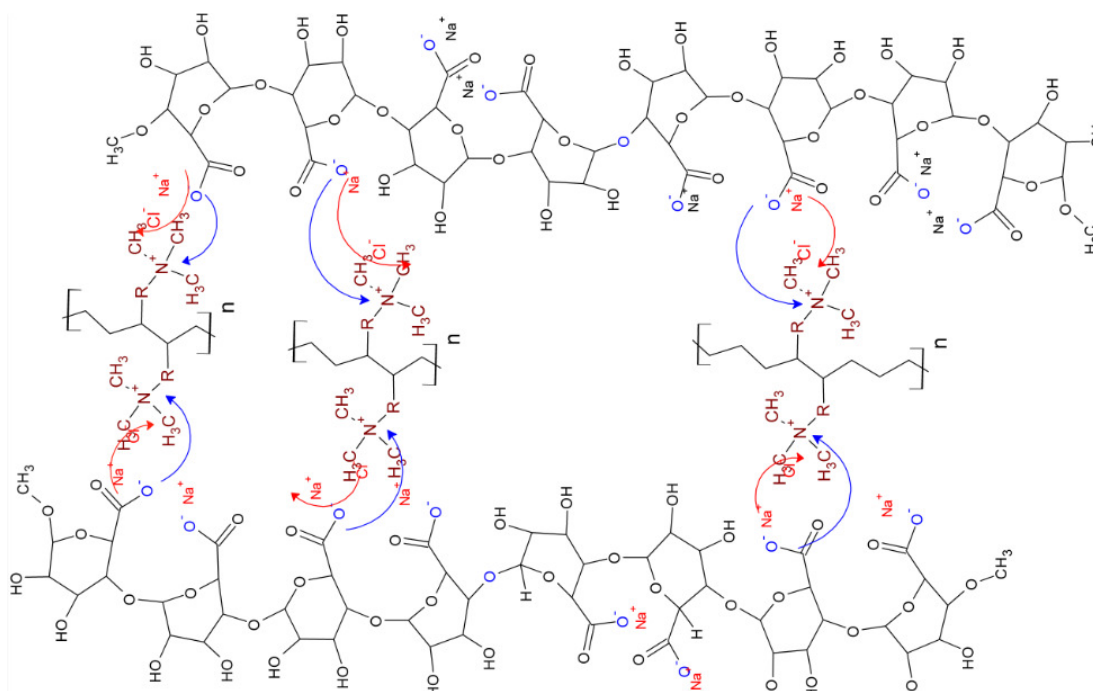
A textura ou homogeneidade está relacionada com a aparência do filme e pode ser avaliada por observações visuais e tácteis. Os filmes após o processo de secagem devem ter uma superfície contínua e homogênea, ou seja, não apresentar rupturas, ausência de partículas insolúveis, poros abertos, zonas de opacidade ou diferenças de coloração [23].

3.6 Biofilmes de alginato de sódio e poliacrilamida catiônica como reticulante

Na literatura, registram-se muitos trabalhos de biofilmes de alginato de sódio utilizando como reticulante, o cloreto de cálcio [21, 66-70], íons (Mn^{2+} e Zn^{2+}) [64]. A opção por utilizar a poliacrilamida catiônica (PAMc) como agente reticulante, está em virtude de ser um polímero sintético biodegradável de baixo custo, atóxico e principalmente por apresentar grupos funcionais como o íon quaternário de amônio que poderá interagir com os íons carboxilatos do alginato de sódio.

O processo de reticulação ocorre pela interação química eletrostática entre os íons do nitrogênio quaternário de amônio e carboxilatos com a substituição dos íons Cl^- (cloreto) e Na^+ (sódio) nas cadeias de PAMc e alginato de sódio (AS), respectivamente, como mostra a Figura 4.

Figura 4. Esquema de interação química entre o alginato de sódio e a poliacrilamida catiônica.



Fonte: O autor, 2017.

4. MATERIAIS E MÉTODOS

4.1 Reagentes e instrumentação

Para a execução deste trabalho experimental, fez-se uso dos reagentes químicos e equipamentos, relacionados nas tabelas 1 e 2, respectivamente.

Tabela 1. Reagentes utilizados.

REAGENTES	PROCEDÊNCIA
Alginato de sódio	Sigma-Aldrich®
Poliacrilamida catiônica	Merck ACS, USA
Glicerol	Synth, Brasil
Cloreto de sódio	Merck ACS, USA
Cloreto de cálcio	Merck ACS, USA

A Tabela 2 relaciona os equipamentos utilizados e seus respectivos fabricantes.

Tabela 2. Equipamentos e materiais utilizados.

EQUIPAMENTOS E MATERIAIS	MODELO	FABRICANTE
Agitador mecânico	Modelo RW20	IKA, Brasil
Agitador magnético	Modelo 752	FISATOM, Brasil
Dessecador	-	PROLAB, Brasil
Estufa	Modelo 515	FANEM, Brasil
Espectrofotômetro de FTIR	Shimadzu IR-Prestige	-
Mesa agitadora orbital refrigerada	OXY-35	OXYLAB, Brasil
Micrômetro externo	-	CARBOGRAFITE, Brasil
Microscópio eletrônico de varredura	Modelo Phenom PRO-X/PRO/PURE	-
Matlab® R2013a	The Mathworksks Inc.	Natick, MA, USA
Máquina universal de ensaios	MBIO - II	BIOPDI, Brasil

4.2 Planejamento experimental

Para estudar o efeito da concentração de poliacrilamida catiônica (%) e da massa de glicerol (g) da solução filmogênica sobre os fatores respostas dos biofilmes usou-se delineamento experimental central composto rotacional de 2^a ordem com três repetições no ponto central, quatro axiais e quatro fatoriais. As variáveis foram estabelecidas com três níveis codificados -1, 0, +1. O delineamento apresenta quatro níveis de variáveis axiais codificadas como $-\alpha$ e $+\alpha$. O valor de α depende do número fatorial ($f=2^k$) do delineamento e do número de variáveis independentes ($k=2$) [71], sendo definido pela Equação 1:

Equação 1. Níveis de variáveis axiais codificadas (α).

$$\alpha = (f)^{1/4} = (2^k)^{1/4} = (2^2)^{1/4} = 1,41 \quad [1]$$

Foram realizados 11 ensaios, sendo quatro fatoriais (combinação dos níveis -1 e +1), quatro axiais (uma variável no nível $\pm\alpha$ e outra no nível 0) e três centrais servindo como estimativa do erro experimental e para determinar a precisão da equação polinomial. Tanto os níveis codificados (-1, 0, +1) quanto os axiais ($-\alpha, +\alpha$) e os fatores têm seus valores reais apresentados na Tabela 3 e delineamento completo na Tabela 4.

Tabela 3. Variáveis independentes e seus respectivos níveis.

	$-\alpha$			$+\alpha$	
Variáveis independentes	-1,41	-1	0	+1	+1,41
Glicerol (g)	1,0	2,0	3,0	4,0	5,0
Poliacrilamida (% m/v)	0,0	1,5	2,5	3,5	5,0

Fonte: O autor, 2017.

Na Tabela 4 apresentam-se os valores codificados e reais do delineamento experimental completo para duas variáveis independentes: glicerol (GLI) e poliacrilamida catiônica (PAMc), mantendo como valor fixo a massa de alginato de sódio (AS). As variáveis respostas analisadas foram: umidade, solubilidade em água e permeabilidade ao vapor de água (PVA).

Tabela 4. Delineamento completo do processo de elaboração de biofilme de alginato de sódio e poliacrilamida catiônica.

Variáveis independentes			
ENSAIO	Alginato de sódio (g)	Glicerol (g)	Poliacrilamida (% m/v)
1	6,0	2,0 (-1)	1,5 (-1)
2	6,0	4,0 (+1)	1,5 (-1)
3	6,0	2,0 (-1)	3,5 (+1)
4	6,0	4,0 (+1)	3,5 (+1)
5	6,0	1,0 (-1,41)	2,5 (0)
6	6,0	5,0 (+1,41)	2,5 (0)
7	6,0	3,0 (0)	0,0 (-1,41)
8	6,0	3,0 (0)	5,0 (+1,41)
9	6,0	3,0 (0)	2,5 (0)
10	6,0	3,0 (0)	2,5 (0)
11	6,0	3,0 (0)	2,5 (0)

Fonte: O autor, 2017.

4.3 Preparação dos biofilmes

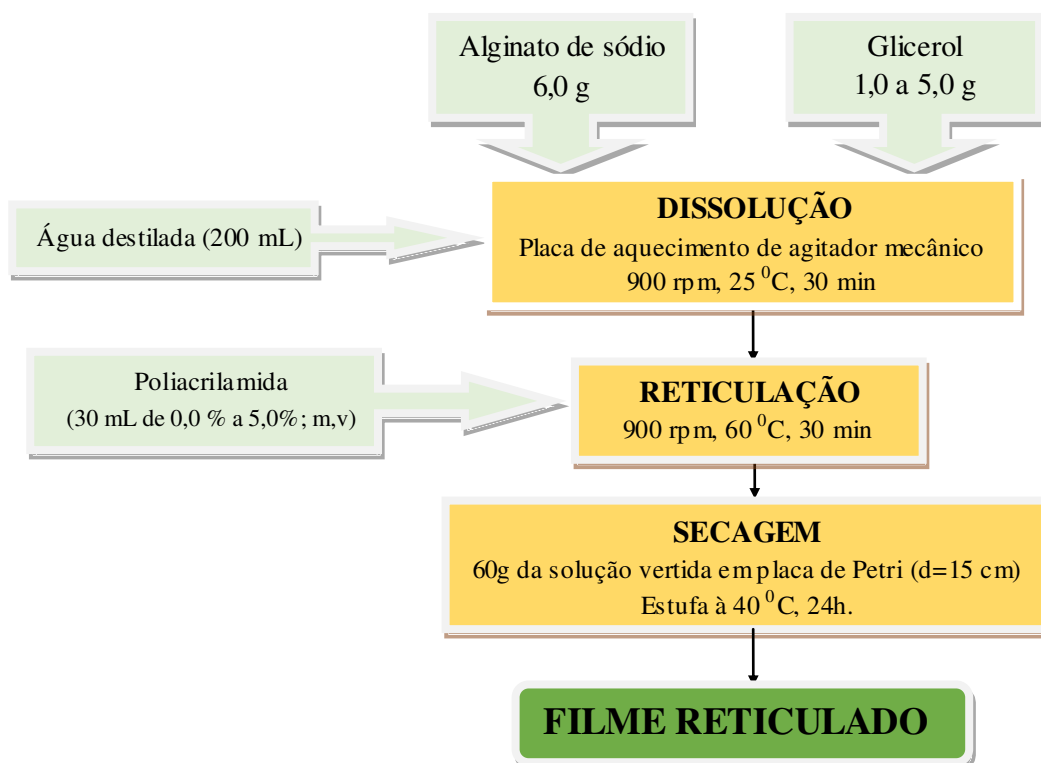
A elaboração dos biofilmes seguiu o método desenvolvido por Zactiti e Kieckbusch [72], segundo a técnica *casting*, que consiste na preparação da solução filmogênica e na aplicação da mesma em um suporte, sendo que estes experimentos foram realizados em um único estágio de reticulação com a adição da poliacrilamida catiônica (PAMc).

Em um Becker dissolveu-se 6,0g de alginato de sódio (AS) em 200 mL de água destilada sob agitação mecânica constante a 900 rpm. Em seguida foi adicionado o glicerol (GLI) com variações de 1,0 a 5,0 g, mantendo a mistura AS/GLI sob agitação mecânica durante 30 minutos à temperatura ambiente. Após este período, adicionou-se 30 mL de PAMc (0,0 a 5,0%, m, v) lentamente, com o auxílio de uma bureta, mantendo a solução filmogênica a 60 °C por 30 minutos sob agitação mecânica de 900 rpm, obtendo-se as misturas AS/GLI/PAMc. Ao final desse procedimento, pesou-se 60g

dessa mistura e verteu-se em uma placa de petri de 15,0 cm de diâmetro e colocou-se em uma estufa para evaporação do solvente (*casting*) à temperatura de 40 °C por 24 h. Após a secagem dos filmes, deixou-se os mesmos em um dessecador durante 24 horas, mantendo-se a umidade relativa (UR) em 52%, usando solução saturada de cloreto de sódio (NaCl) para manter a umidade dos biofilmes, após esse período, removeu-se com auxílio de uma espátula, acondicionando-os em papel manteiga e os armazenando num dessecador para as realizações das análises.

A Figura 5 mostra o fluxograma para a confecção dos biofilmes de alginato de sódio.

Figura 5. Fluxograma para a elaboração dos biofilmes.



Fonte: Adaptado de (Zactiti e Kieckbusch [72]).

4.4 Caracterização dos biofilmes

4.4.1 Aspecto visual

Foi realizada uma avaliação subjetiva pelas observações visuais e táteis, visando biofilmes homogêneos (ausência de partículas insolúveis e coloração uniforme), contínuos (sem a presença de rupturas ou zonas quebradiças), com uma superfície lisa,

que facilite o manuseio (facilidade de desprendimento do suporte) e que apresentem boa flexibilidade.

4.4.2 Umidade (ω)

O conteúdo de umidade foi realizado pela dessecação até peso constante da amostra, em estufa a 105 °C durante 24 h. Foram feitas em triplicata com pedaços de 2,5 cm² dos biofilmes de alginato de sódio. O cálculo da umidade foi realizado pela Equação 2, e expresso em fração de massa.

Equação 2. Equação para determinar a umidade (ω).

$$\omega = \frac{m_i - m_s}{m_i} \cdot 100 \quad [2]$$

Onde: ω é a fração de massa de umidade do filme;

m_i é a massa total inicial do filme (g);

m_s é a massa seca do filme (g).

4.4.3 Solubilidade (S)

A massa solubilizável em água dos filmes (S) foi determinada segundo metodologia proposta por Irissin-Mangata *et al.* [73]. A massa (m_u) de uma amostra dos filmes foi quantificada e imersa em 50 mL de água destilada sob agitação (175 rpm) à 25 °C por 24 h. Após esse tratamento o filme foi levado à estufa para a determinação da massa seca final, m_f . A matéria solubilizada foi expressa em função da massa seca inicial e de ω (valor centesimal) sendo os valores obtidos por aplicação da Equação 3:

Equação 3. Equação para determinar a solubilidade (S).

$$S = \left[\frac{m_u(1-\omega) - m_f}{m_u(1-\omega)} \right] \cdot 100 \quad [3]$$

4.4.4 Espessura (σ)

A espessura foi medida com um micrômetro externo com resolução 0,001 mm. A espessura final foi calculada pela média aritmética de 10 medidas aleatórias para os ensaios de permeabilidade ao vapor de água. Essas medidas foram obtidas após o período de acondicionamento dos filmes (52% UR à 25 °C \pm 1 °C).

4.4.5 Permeabilidade ao Vapor de Água (PVA)

A PVA foi determinada gravimetricamente, em ambiente a $25\text{ °C} \pm 1\text{ °C}$, de acordo com o método E95-96 (ASTM, 1995a) [74], utilizando uma pequena célula de acrílico com uma tampa, dotada de uma abertura central, na qual se fixou o filme. O fundo da célula foi preenchido com cloreto de cálcio granulado para manter 0% de UR. Essa célula foi colocada dentro de outro recipiente de material acrílico, hermeticamente fechado. O interior desse segundo recipiente contém uma solução saturada de NaCl (cloreto de sódio) para manter o ambiente a 75% de UR (umidade relativa), obtendo-se assim uma diferença constante de pressão de vapor d'água, ΔP_{ω} . O aumento de massa total da célula monitorado ao longo do tempo (48 horas), corresponde à taxa de água que permeou pelo filme (G) e que foi introduzida na Equação 4 para calcular a PVA:

Equação 4. Para determinar a permeabilidade ao vapor de água (PVA).

$$PVA = \left[\frac{24}{A_e \cdot \Delta P_{\omega} \cdot UR} \right] \cdot G \cdot \delta \quad [4]$$

Onde: PVA é a permeabilidade de vapor de água do filme [(g.mm)/(m².dia.kPa)];

δ é a espessura do filme (mm);

A_e é a área da superfície exposta do filme ($= 38,50 \times 10^{-4} \text{ m}^2$);

ΔP_{ω} é a diferença de pressão parcial através do filme (kPa);

G é o coeficiente angular da reta de ajuste aos pontos experimentais em um gráfico da massa *versus* tempo (g/dia).

UR é a umidade relativa do segundo recipiente (75 %).

4.4.6 Espectroscopia na região do infravermelho com transformada de Fourier (FTIR)

Os espectros de absorção na região do infravermelho foram obtidos mediante a técnica de transformada de Fourier em um aparelho da marca Shimadzu IR-Prestige, com limite de 2% de transmitância e resolução de 1 cm^{-1} . A região espectral compreendida foi de 4000 e 400 cm^{-1} , as amostras analisadas foram dispersas em KBr (2%), sob uma pressão de 10 ton.

4.4.7 Microscopia eletrônica de varredura (MEV)

As amostras foram visualizadas em um microscópio eletrônico de varredura marca Phenom modelo PRO-X/PRO/PURE. Este equipamento permite a visualização da morfologia de amostras trabalhando sob diferentes voltagens e com detectores distintos com condições de análise de voltagem de aceleração de elétrons igual 20 kV e ampliações de 1000 vezes. A preparação das amostras compreende a adesão de suas partículas em porta amostra com fita adesiva de carbono e metalizada com ouro para condução de elétrons e para evitar acúmulo de cargas e consequente destruição das amostras.

4.4.8 Propriedades mecânicas

As propriedades mecânicas dos filmes foram avaliadas pelo ensaio de tração utilizando-se uma máquina universal de ensaios. Amostras de 8,0 cm de comprimento x 2,5 cm de largura foram fixadas nas garras do equipamento (separação inicial das garras de 30 mm, em média), com velocidade fixada em 25 mm/min. A deformação ou alongamento na ruptura (ϵ), a tensão na ruptura (TR) e o módulo de Young (E) foram determinados de acordo com as normas ASTM D882-8 (ASTM, 1995b) [75]. Foram realizadas três repetições para obter as médias e desvios-padrão para cada ensaio.

A tensão de ruptura (TR) é calculada utilizando-se a Equação 5, onde a força máxima de rompimento do filme é dividida pela área da seção transversal inicial da amostra de filme.

Equação 5. Para determinar a tensão na ruptura (MPa).

$$TR = Fm / A \quad [5]$$

Onde: TR é a tensão na ruptura (MPa);

Fm é a força máxima no momento da ruptura (N);

A é a área da seção transversal do filme (m^2).

A deformação ou alongamento na ruptura (ϵ) foi determinado pela Equação 6, na qual a distância final de separação da garra é dividida pela distância inicial de separação.

Equação 6. Para determinar a deformação elástica longitudinal (%).

$$\varepsilon = (\Delta l/l_0) * 100 \quad [6]$$

Onde: ε é a deformação elástica longitudinal (%);

Δl é a distância final de separação da garra (mm);

l_0 é a distância inicial de separação (mm).

O módulo de elasticidade ou módulo de Young (E) é uma grandeza que é proporcional à rigidez de um material quando este é submetido a uma tensão externa de tração ou compressão. Basicamente, é a razão entre a tensão aplicada e a deformação sofrida pelo corpo, quando o comportamento é linear, como mostra a Equação 7.

Equação 7. Para determinar o módulo de Young (MPa).

$$E = TR/\varepsilon \quad [7]$$

Onde: E é o módulo de elasticidade ou módulo de Young (MPa);

TR é a tensão na ruptura (MPa);

ε é a deformação elástica longitudinal (%).

4.4.9 Abordagens matemáticas e estatísticas dos dados

Nesta pesquisa, todas as abordagens matemáticas e estatísticas empregadas no desenvolvimento dos melhores modelos foram realizadas através das funções do programa Matlab® R2013a (The Mathworks Inc., Natick, MA, USA).

Para o estudo dos filmes biodegradáveis de alginato de sódio reticulados com poli(acrilamida catiônica) foi determinada a significância estatística entre a umidade, solubilidade e PVA para cada resposta através do Teste de Tukey, empregando a função “multicompare”. A função “multicompare” permite ver a diferença entre as médias de um determinado grupo de dados com um intervalo de confiança de 95%. Além disso, foi realizada uma análise de variância para determinar a significância dos termos ($p < 0,05$) empregando a função “anovan” de regressão múltipla.

Uma vez avaliada a interação e a significância entre variáveis para cada resposta foi realizada a modelagem matemática para cada resposta usando o método “passo a passo” ou “stepwise regression”, através da função “stepwisefit”, usando a melhor combinação dos fatores com base na adição ou exclusão de termos para estabelecer um

modelo, sendo avaliados a partir de um teste de significância ($p < 0,05$) [76]. Assim, o modelo estabelecido pelo método “passo a passo” compreende o conjunto de indicadores que têm um importante efeito sobre as variáveis dependentes e que melhor explica a resposta, de acordo com as interações que devem ser consideradas [77, 78].

Na validação estatística da modelagem e simulação foi empregado o coeficiente de determinação (R^2) (Equação 8) e o erro médio relativo (MRE) (Equação 9). O R^2 determina a eficiência dos modelos propostos frente à variação dos dados. Já o parâmetro estatístico MRE é um critério que avalia a precisão das estimativas. Um modelo com um *MRE* menor a 10% é considerado como um modelo com boa precisão [79], enquanto que um modelo com um *MRE* entre 10% e 15% pode ser considerado aceitável [80].

Equação 8. Coeficiente de determinação dos modelos propostos.

$$R^2 = \frac{\sum_{k=1}^n (y_k^* - \bar{y})^2}{\sum_{k=1}^n (y_k - \bar{y})^2} \quad [8]$$

Equação 9. Erro médio relativo dos modelos propostos.

$$MRE = \frac{100}{n} \sum_{k=1}^n \frac{|y_k - y_k^*|}{y_k^*} \quad [9]$$

Nas Equações [8] – [9], y representa os valores experimentais, y^* representa os valores calculados, \bar{y} é a média dos valores experimentais e n é o número de valores experimentais.

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 Aspecto visual dos biofilmes elaborados

Após a realização da síntese e secagem dos biofilmes via técnica *casting*, observou-se que a aparência destes, apesar de ser uma análise subjetiva, fornecia elementos que ajudam a qualificar as formulações para cada ensaio de acordo com as concentrações de cada composto utilizado.

A poliacrilamida catiônica (PAMc) quando utilizada em concentrações maiores, dificultava o processo de remoção dos biofilmes das placas de petri, enquanto ao se utilizar o glicerol os biofilmes eram removidos com facilidade, devido à ação de lubrificação [23]. Outro aspecto subjetivo importante quanto à PAMc está em relação à baixa flexibilidade dos biofilmes quando usada em concentrações superiores.

Verificou-se que os biofilmes apresentaram brilho plástico e aspectos homogêneos quanto à cor e textura. Todos os biofilmes apresentaram uma coloração que variou de branca opaca a amarela em virtude das características naturais do alginato de sódio. Notou-se, também, boa flexibilidade dos filmes, facilitando o manuseio dos mesmos sem risco de ruptura, principalmente, aos que tinham maiores concentrações de glicerol. Os resultados foram parecidos com os obtidos em filmes de alginato de cálcio reticulados com cloreto de cálcio [23].

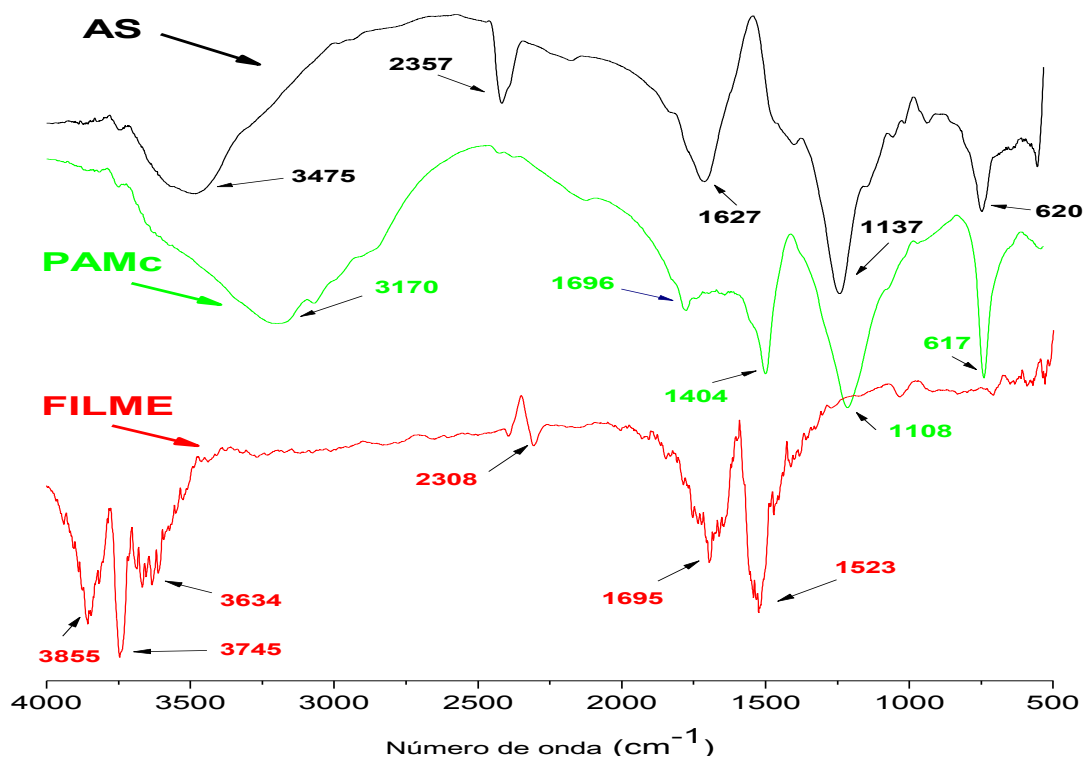
5.2 Espectroscopia na região do infravermelho com transformada de Fourier (FTIR)

Com o objetivo de analisar as interações químicas entre os compostos utilizados para a obtenção dos biofilmes, a Figura 6 apresenta os espectros de absorção na região do infravermelho das amostras de alginato de sódio (AS), poliacrilamida catiônica (PAMc) e do filme de alginato de sódio reticulado com poliacrilamida catiônica e glicerol como plastificante (AS/PAMc/GLI).

No espectro do alginato de sódio (AS) se observa uma banda larga de absorção em 3475 cm^{-1} relacionada com o estiramento de grupos -OH presentes nos meros da cadeia polimérica, referentes às ligações de hidrogênio inter e intramolecular. É possível verificar que na região espectral de 1137 cm^{-1} , ocorre uma deformação axial assimétrica da ligação C-O-C e em 1627 cm^{-1} devido à ligação de COO^- do íon carboxilato presente nos meros do alginato de sódio. Em 2357 cm^{-1} observa-se banda de absorção referente à

deformação axial assimétrica da ligação C-O. Na região do espectro compreendida entre 3200 a 3700 cm^{-1} é possível observar uma deformação axial intensa de -OH da carboxila [81].

Figura 6. Espectro de FTIR de AS, PAMc e do filme (AS/PAMc/GLI).



Fonte: O autor, 2017.

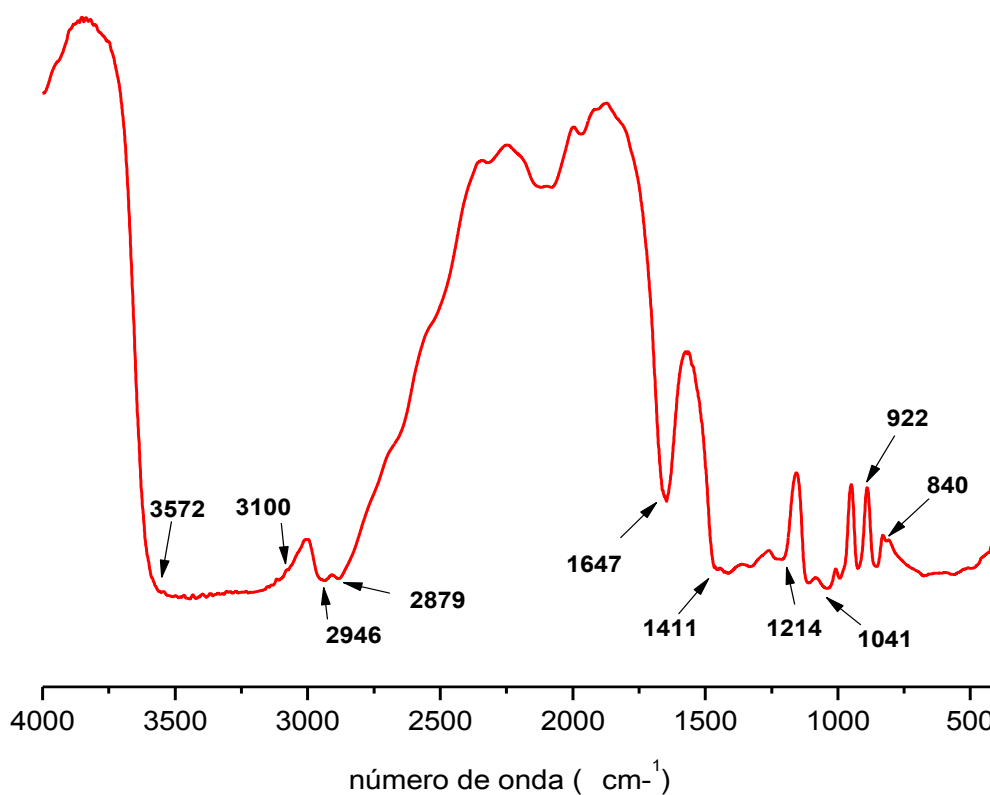
Nos espectros de infravermelho da PAMc, é possível observar em 617 cm^{-1} uma banda de deformação angular simétrica fora do plano do grupo NH; em 1404 cm^{-1} há uma deformação axial de C-N e em 1696 cm^{-1} há uma deformação angular de NH_2 . Na região compreendida entre 2060 e 2790 cm^{-1} nota-se uma deformação axial assimétrica e simétrica do grupo NH_3^+ . Observa-se também uma deformação axial de NH do íon amônio em 3170 cm^{-1} que está de acordo com Sadicoff [82].

Os espectros dos ensaios apresentaram resultados iguais, portanto, foi utilizado o ensaio 3 (AS 6,0 g; GLI 2,0g; PAMc 3,5%) a partir dos biofilmes formados para interpretação das interações químicas entre o alginato de sódio e a poliacrilamida catiônica. O filme apresenta em seus espectros bandas características do íon carboxilato (COO^-) em deformação assimétrica na região compreendida entre 1523 e 1695 cm^{-1} , e em 2308 cm^{-1} , bandas de absorção do íon quaternário de amônio devido à interação destes com os íons carboxilatos presentes nas cadeias do alginato de sódio. Podem ser

observadas bandas de absorção em 3745 e 3855 cm^{-1} referentes ao estiramento do grupo OH- do glicerol. Também é possível observar que na região do espectro compreendida entre 3634 a 3670 cm^{-1} ocorre vibração de deformação axial do grupo H-N⁺ do sal quaternário de amônio, confirmando a reticulação do alginato de sódio pela poli(acrilamida) catiônica [81].

No espectro de absorção na região do infravermelho obtido a partir do glicerol (Figura 7), nota-se a presença de deformação fora do plano C-H em 840 e 1411 cm^{-1} , banda de estiramento do grupo -OH do glicerol em 922 cm^{-1} [81]. Bandas próximas de 1214 e 1041 cm^{-1} referentes ao estiramento de C-O de álcool secundário simétrico e estiramento da ligação C-O de álcool primário [83]. Banda forte em 1647 cm^{-1} referente ao C=O oriundo do ácido graxo para obtenção do glicerol. Bandas fracas em 2879 e em 2946 cm^{-1} , devido o estiramento de C-H. Na região de 3100 a 3572 cm^{-1} observam-se uma banda de absorção do estiramento de grupo -OH do glicerol e possivelmente de água [81].

Figura 7. Espectro de FTIR do glicerol.



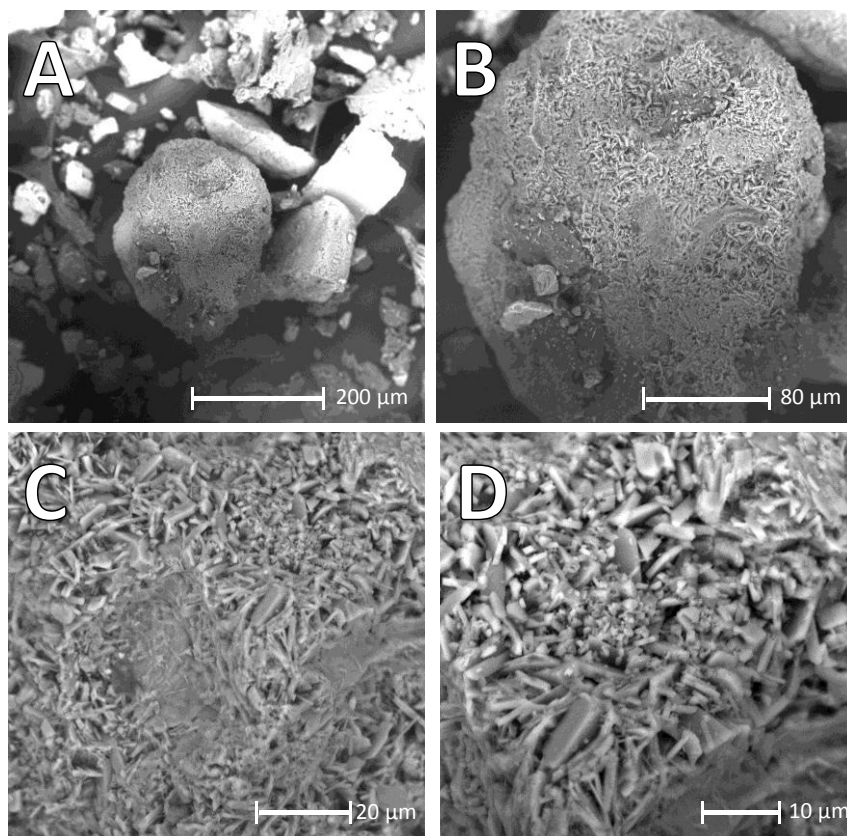
Fonte: O autor, 2017.

Por meio das análises dos espectros de FTIR das Figuras 6 e 7 confirmou-se a interação entre o alginato de sódio e a poliacrilamida catiônica usada para a confecção dos biofilmes.

5.3 Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)

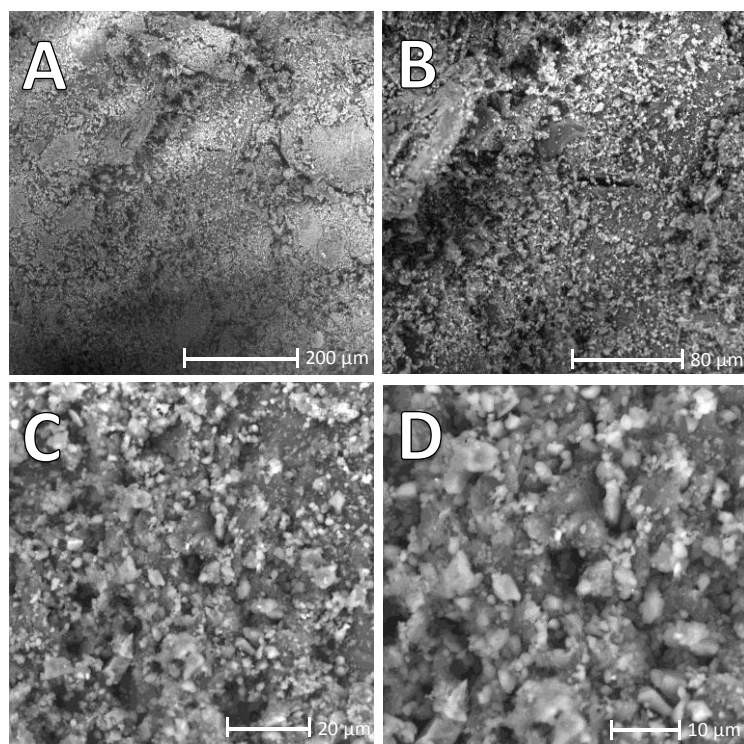
Foram realizadas as análises de microscopia eletrônica de varredura para o alginato de sódio (AS) (Figura 8) e poliacrilamida catiônica (PAMc) (Figura 9) com resoluções de aumento de 420, 1000, 3000 e 5000 vezes e para os ensaios 1 (A), 4 (B), 7 (C) e 11 (D) com aumento de 1000X (Figura 10). Por meio das imagens MEV foi possível avaliar os filmes formados em diferentes concentrações de alginato de sódio, poliacrilamida catiônica e glicerol.

Figura 8. Micrografias do Alginato de sódio (AS) (A), (B), (C) e (D) com aumento de 420, 1000, 3000 e 5000 X, respectivamente.



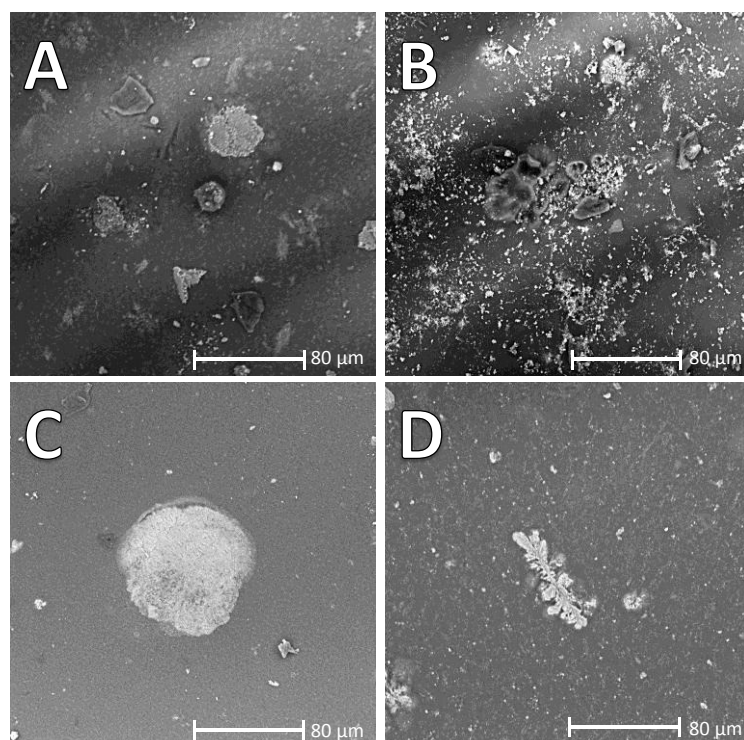
Fonte: O autor, 2017.

Figura 9. Micrografias da poliacrilamida catiônica (PAMc) (A), (B), (C) e (D) com aumento de 420, 1000, 3000 e 5000 X, respectivamente.



Fonte: O autor, 2017.

Figura 10. Micrografias dos biofilmes: (A) ensaio 1 (AS 6,0g; GLI 2,0g; PAMc 1,5%); (B) ensaio 4 (AS 6,0g; GLI 4,0g; PAMc 3,5%); (C) ensaio 7 (AS 6,0g; GLI 3,0g; PAMc 0,0%); (D): ensaio 11 (AS 6,0g; GLI 3,0g; PAMc 2,5%) com aumento de 1000 X.



Fonte: O autor, 2017.

Observa-se que o AS e a PAMc, são substâncias amorfas (Figura 8 e 9). Para o biofilme reticulado com maior percentual de PAMc (Figura 10D, ensaio 4: AS 6,0g; GLI 4,0g; PAMc 3,5%) observa-se que há um maior domínio de agregado disperso no filme quando comparado ao ensaio 1 (Figura 10A: AS 6,0g; GLI 2,0g; PAMc 1,5%), que forma preparados com menores concentrações de PAMc. Além disso, pode-se observar que a adição do agente reticulante PAMc causa uma modificação na microestrutura do filme, tornando a matriz mais heterogênea. Resultados semelhantes foram reportados por Zolkefpeli [84] em matrizes de alginato e celulose microcristalina. As moléculas da PAMc funcionam como agentes de reforço, além de diminuir a interação da matriz com a água, tornando o filme mais hidrofóbico, esta característica é de primordial importância nessa área, pois com a adição de plastificantes, os biofilmes se tornam muito hidrofílicos, prejudicando algumas aplicações nos setores alimentícios [85].

O biofilme contendo somente alginato de sódio e glicerol (Figura 10C: ensaio 7 - AS 6,0g; GLI 3,0g; PAMc 0,0%), apresenta uma superfície mais homogênea quando comparado aos que contém poliacrilamida catiônica. Geralmente, uma separação de fases é observada quando há a incorporação de grande quantidade de plastificante ou incorporação de compostos hidrofóbicos como ácidos graxos [86]. Lambrech *et al.* [87] estudaram a morfologia de filmes de pectina BTM, alginato e a mistura dos dois biopolímeros (1:1) e verificaram que a blenda apresentou menor porosidade do que os respectivos filmes puros.

5.4 Propriedades mecânicas

Na Tabela 5 são apresentados os valores de espessura (σ), tensão na ruptura (TR), deformação na ruptura (ϵ) e módulo de Young (E) para os biofilmes referentes aos ensaios de 1 a 11, com diferentes composições de glicerol e poliacrilamida catiônica (PAMc).

Tabela 5. Espessura, tensão e deformação na ruptura dos biofilmes.

Ensaio	Glicerol (g)	Poliacrilamida (g)	Espessura/ σ (mm)	Tensão na ruptura/ TR (MPa)	Deformação/ ϵ (%)	Módulo de Young/ E (MPa)
1	2	0,45	0,11±0,00	4,02± 1,59	36,03± 8,34	12,27±7,10
2	4	0,45	0,11±0,03	2,68± 0,43	52,76±16,78	4,86±1,32
3	2	1,05	0,13±0,01	5,18± 1,38	56,51±19,73	10,05±1,52
4	4	1,05	0,11±0,01	4,30± 0,49	81,00±22,84	5,52±1,03
5	1	0,75	0,10±0,02	5,05± 1,26	95,00±11,98	5,05±0,74
6	5	0,75	0,12±0,02	4,21± 0,26	79,16±22,24	5,98±1,66
7	3	0	0,12±0,03	3,24± 0,92	56,63±12,71	5,84±0,40
8	3	1,5	0,12±0,03	8,50± 2,64	48,55±4,25	15,30±6,51
9	3	0,75	0,12±0,01	3,68 ± 0,94	42,50±14,23	10,92±4,61
10	3	0,75	0,13±0,02	9,00± 2,62	55,27±9,21	18,24±7,24
11	3	0,75	0,12±0,02	14,06± 1,70	64,04±24,12	21,17±8,68

Nota: Média \pm desvio-padrão. Fonte: O autor, 2017.

Observa-se na Tabela 5 que a espessura dos biofilmes teve pouca variação em relação aos ensaios, portanto, não influenciou significativamente nos valores das propriedades mecânicas. A TR variou de 2,68 (ensaio 2) a 14,06 MPa (ensaio 11), pois as concentrações de poliacrilamida (PAMc) e glicerol influenciam nesta propriedade, em menores valores de PAMc têm-se menores TR e E , e em maiores valores de glicerol nota-se maiores valores de ϵ . Kim *et al.* [88], estudando filmes à base de amido plastificados com glicerol, xilitol e manitol, encontraram valores de tensão e alongamento na ruptura na faixa de 9,7 - 15,3 MPa, ou seja, valores próximos aos deste trabalho.

Ao aumentar a concentração de glicerol de 2,0 para 4,0g nas mesmas proporções de PAMc (0,45g) há uma diminuição na tensão à ruptura (TR) de 4,02 para 2,68 MPa e, conseqüentemente os valores de deformação sofrem o inverso com um aumento de 36,03 para 52,76%, este comportamento sugere que as moléculas do glicerol enfraquecem as forças intermoleculares entre as cadeias, aumentando o volume livre do sistema e facilitando a absorção de água. A tensão na ruptura foi influenciada pela

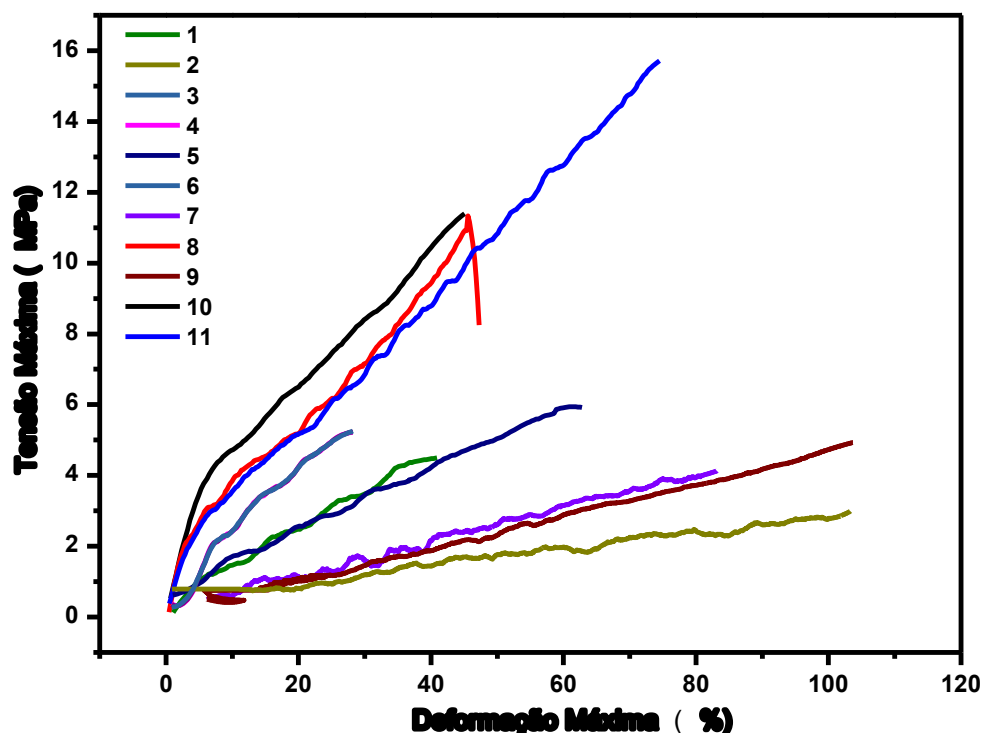
concentração do plastificante e do agente reticulante, de forma que altas concentrações de reticulante combinadas com baixos conteúdos de plastificante induz a formação de filmes com elevada força de ruptura. A literatura registra que a adição de plastificantes promove uma redução na resistência à tração. Com relação ao módulo de Young, houve uma variação proporcional à tensão na ruptura, com valores de 4,86 (ensaio 2) a 21,17 MPa (ensaio 11). Kloster *et al.* [89] mostrou que a adição de glicerol às soluções de formação de filme leva a uma diminuição significativa no estresse de tração de 20,0 para 6,3 MPa e no módulo de Young de 673,0 para 113,0 MPa com 0,0 e 30,0% de glicerol, respectivamente, em filmes de alginato de sódio com óxido de nano-ferro. A resistência à tração para filmes de alginato puro diminuiu de 49 para 18 MPa com o aumento na concentração de sorbitol de 0 para 30% [25].

Zactiti [72] obteve valores de 17,75 a 23,70 MPa para tensão na ruptura e 27,35 a 36,81 % para deformação em filmes de alginato de sódio reticulados com cloreto de cálcio, estes valores são ligeiramente maiores em relação ao deste trabalho.

Mali *et al.* [41] estudando filmes de amido observaram que o alongamento é afetado pela concentração de glicerol, ou seja, o alongamento aumentou com o aumento da concentração do glicerol. Isto se deve à modificação estrutural da rede de amido quando o glicerol é adicionado, pois a matriz se torna menos densa e sob tensão os movimentos das cadeias dos polímeros são facilitados.

Na Figura 11 têm-se os dados com base na Tabela 5 para ilustrar os valores máximos de TR e ϵ . O ensaio 5 apresentou maior deformação e o ensaio 11, maior tensão à ruptura demonstrando que a PAMc teve grande influência quanto a TR e o glicerol quanto à deformação de acordo com as concentrações dos fatores analisados.

Figura 11. Tensão máxima *versus* deformação máxima na ruptura.



Fonte: O autor, 2017.

5.5 Resultados experimentais do estudo dos biofilmes

Na Tabela 6 são mostrados os resultados do estudo dos biofilmes de alginato de sódio (AS) com glicerol e poliacrilamida catiônica (PAMc), onde foi analisada a umidade, solubilidade e PVA por meio do teste de Tukey como o objetivo de verificar significância estatística e a diferença entre as médias destas respostas.

Tabela 6. Análise de médias por meio do teste de Tukey* para as respostas em função dos ensaios.

Ensaio	Glicerol (g)	Poliacrilamida (g)	Umidade (%)	Solubilidade (%)	PVA g.mm/(m ² .dia.kPa)
1	2	0,45	23,777 ± 3,717 ^d	23,565 ± 1,015 ^{bc}	5,700 ± 0,440 ^c
2	4	0,45	34,038 ± 3,656 ^{cd}	26,487 ± 4,315 ^{bc}	7,330 ± 0,680 ^b
3	2	1,05	36,968 ± 3,920 ^c	37,301 ± 6,026 ^{bc}	5,830 ± 0,180 ^c
4	4	1,05	47,152 ± 3,894 ^{ab}	35,694 ± 5,680 ^{bc}	9,275 ± 0,725 ^a
5	1	0,75	23,672 ± 3,323 ^d	25,950 ± 14,654 ^{bc}	4,355 ± 0,565 ^d

Ensaio	Glicerol (g)	Poliacrilamida (g)	Umidade (%)	Solubilidade (%)	PVA g.mm/(m ² .dia.kPa)
6	5	0,75	52,559 ± 1,458 ^a	21,012 ± 14,507 ^b	5,715 ± 0,465 ^c
7	3	0	39,583 ± 3,971 ^{bc}	37,310 ± 4,424 ^{bc}	5,950 ± 0,120 ^c
8	3	1,5	36,293 ± 4,274 ^{bc}	44,854 ± 7,087 ^{bc}	6,175 ± 0,155 ^{bc}
9	3	0,75	39,081 ± 5,086 ^{bc}	41,921 ± 7,974 ^{bc}	6,380 ± 0,050 ^{bc}
10	3	0,75	34,501 ± 5,091 ^{cd}	47,930 ± 8,608 ^{ac}	6,110 ± 0,240 ^c
11	3	0,75	36,639 ± 0,358 ^{bc}	43,792 ± 6,931 ^{bc}	6,350 ± 0,180 ^{bc}

* Resultados descritos como a média e desvio padrão da triplicata. Mesma letra para cada coluna indica que não há diferença significativa entre as médias dos ensaios experimentais ($\alpha = 95\%$). Fonte: O autor, 2017.

Como pode ser observado na Tabela 5, o conteúdo de umidade variou de 23,672% (ensaio 5) a 52,559% (ensaio 6), isto se justifica devido à variação de glicerol nas formulações dos biofilmes, pois, a alta hidrofilicidade ocasiona aumento na absorção de umidade, ou seja, a quantidade de glicerol foi diretamente proporcional ao percentual de umidade nos ensaios realizados. Segundo CHIVRAC *et al.* [90] um fator que tem grande influência sobre a umidade dos filmes é a umidade relativa de armazenamento das amostras e o teor de glicerol, já que esse é um composto higroscópico e, portanto, incrementa a umidade do filme conforme sua concentração.

Valores na ordem de 18,7 % de umidade foram encontrados em filmes de alginato de sódio reticulado com benzoato de cálcio e 19,5% para estes filmes reticulados com cloreto de cálcio [21].

A solubilidade variou de 21,012% (ensaio 6) a 47,930% (ensaio 10). A grande variação obtida e altos desvios padrão, podem ser devido as diferentes concentrações de poliácridamida catiônica nas formulações.

A elevada solubilidade não desqualifica o filme, pois a adequação da solubilidade dependerá da aplicação do produto. Uma alternativa para aplicação de biofilmes com elevada solubilidade é a sua utilização em produtos que necessitem de hidratação prévia ao consumo, como exemplo, pode-se citar a encapsulação de aditivos alimentares ou uso na cobertura de sementes agrícolas que necessitem de rápida germinação no campo [91].

Os valores correspondentes à permeabilidade ao vapor de água variou de 4,355 (ensaio 5) a 9,275 g.mm/(m².dia.kPa) (ensaio 4), mostrando que houve diferenças significativas entre os ensaios realizados. Krochta e de Mulder-Johnston [91] qualificaram os biofilmes de acordo com uma faixa de valores para a permeabilidade ao vapor de água, classificando os filmes como pobres ($10 \leq PVA \leq 100$ g.mm/m².dia.kPa), moderados ($0,10 \leq PVA \leq 10$ g.mm/m².dia.kPa) ou bons ($0,01 \leq PVA \leq 0,10$ g.mm/m².dia.kPa). De acordo com esta classificação, todos os filmes na faixa estudada apresentam moderada barreira ao vapor de água.

Os resultados obtidos para a PVA são melhores do que os obtidos por Zactiti e Kieckbusch [72], que apresentaram valores para os filmes de alginato em torno de 56,4 g.mm/m².dia.kPa. Além da maior espessura, que influencia diretamente na propriedade, as diferentes condições de temperatura e umidade relativa podem ter contribuído para este resultado. Além disso, os autores não utilizaram agentes reticulantes. Este mesmo trabalho ressalta a dificuldade em obter filmes hidrofílicos com propriedades semelhantes às dos filmes sintéticos. Filmes de polietileno, por exemplo, com 0,008 mm de espessura possuem PVA de apenas 0,05 g.mm/m².dia.kPa [72].

Nesic [92], ao adicionar polivinilpirrolidona em diferentes proporções aos filmes de pectina, obteve PVA em torno de 3,92 a 7,36 g.mm/m².dia.kPa. Em outro trabalho, filmes de alginato de sódio revestido com alginato de cálcio com espessuras variando de 0,22 a 0,44 mm apresentaram PVA de 2,32 a 6,77 g.mm/m².dia.kPa [93].

5.6 Influência das composições de glicerol e poliacrilamida catiônica sobre as variáveis respostas dos biofilmes

Além do teste de Tukey, foi realizado um teste de análise de variância múltipla para identificar a influência das variáveis sobre cada uma das respostas no estudo dos filmes. Para todas as respostas, foi testada uma relação linear, quadrática e interativa das variáveis: glicerol e poliacrilamida catiônica (PAMc), sendo os resultados apresentados na Tabela 7.

Tabela 7. Análise de variância de dois fatores para as respostas: umidade, solubilidade e PVA.

Propriedade	Fator	SQ	GL	MQ	Fator F	p (<0,05)
Umidade	Glicerol	1571,97	3	523,99	37,95	$1,85 \times 10^{-9}$
	Poliacrilamida catiônica	540,37	3	180,12	13,05	$2,52 \times 10^{-9}$
	Erro	345,19	25	13,807		
	Total	2484,45	32			
Solubilidade	Glicerol	1635,64	3	545,21	8,47	$5,00 \times 10^{-4}$
	Poliacrilamida catiônica	523,42	3	174,47	2,71	0,06
	Erro	1610,04	25	64,40		
	Total	4182,04	32			
PVA	Glicerol	27,67	3	9,22	36,24	0,00
	Poliacrilamida catiônica	3,47	3	1,15	4,55	0,01
	Erro	6,36	25	0,25		
	Total	48,16	32			

SQ: soma dos quadrados, GL: graus de liberdade, MQ: média quadrática, F: fator F, p: probabilidade do fator F ($\alpha = 95\%$) e, PVA : permeabilidade ao vapor de água. Fonte: O autor, 2017.

Por meio da análise de variância (ANOVA) feita no programa Matlab® R2013a, pode-se observar que para todas as respostas os efeitos lineares e interativos de primeira ordem entre as variáveis foram os mais representativos estatisticamente. Dessa forma, para a resposta umidade, o glicerol e a PAMc foram estatisticamente significativas, com valores de p de $1,85 \times 10^{-9}$ e $2,52 \times 10^{-9}$, respectivamente. Para a solubilidade, a resposta encontrada teve um efeito significativo da variável glicerol, com valor de p de $5,00 \times 10^{-4}$, e não significativo para PAMc com p igual a 0,06, isto ocorre devido ao processo de reticulação, que diminuiu a solubilidade com concentrações maiores de PAMc. Para a PVA observou-se um efeito significativo de ambas as variáveis com valores de p de 0,00 e 0,01 para glicerol e PAMc, respectivamente.

5.7 Modelagens matemáticas das respostas com relação às concentrações do glicerol e poliácridamida catiônica para a confecção dos biofilmes

Os resultados da regressão mostraram modelos interativos lineares que podem ser simples de construir, mas exigem grandes conjuntos de dados experimentais. Na Tabela 8, avaliações estatísticas foram obtidas através do método passo a passo, os quais podem ser considerados aceitáveis para o estudo. O uso do método passo a passo ofereceu uma melhor alternativa de otimização das respostas em função das variáveis: glicerol e poliácridamida quando comparado com o método de regressão estatístico múltiplo (RSM), comumente realizado para desenhos experimentais centrais [94, 95]. Villa-Vélez *et al.* [96] empregou o método passo a passo para a otimização de hidrolisados de resíduos da banana por ultrassom de potência, obtendo melhoras do coeficiente de determinação bastante significativas comparado como o método RSM.

O modelo estabelecido pelo método “passo a passo” compreende o conjunto de indicadores que têm um importante efeito sobre as variáveis dependentes e que melhor explica a resposta. Para a validação estatística da modelagem e simulação observa-se que as variáveis respostas têm coeficiente de determinação (R^2) de 0,906 para umidade o erro médio relativo (MRE) de 9,003, para a solubilidade (R^2) de 0,904 e (MRE) de 25,481, enquanto que para a PVA (R^2) de 0,940 e (MRE) de 3,947, mostrando ter uma melhor precisão para o modelo [80].

Tabela 8. Parâmetros de regressão pelo método passo a passo para as respostas em função da quantidade de glicerol e poliácridamida.

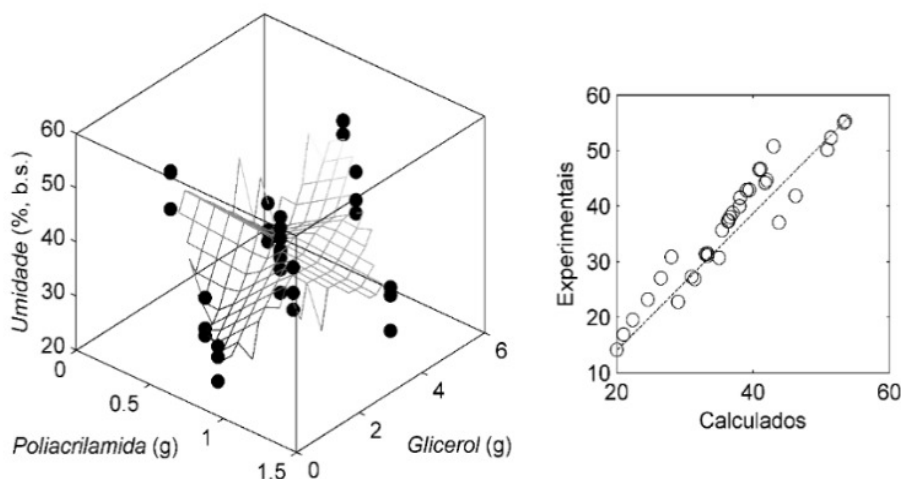
Propriedade	Parâmetro	Valor	$p < 0,05$	R^2	MRE (%)
Umidade	Intercepto	36,619	---	0,906	9,003
	G ³	0,098	$5,938 \times 10^{-2}$		
	P	-79,613	$3,159 \times 10^{-6}$		
	P ²	119,110	$6,451 \times 10^{-6}$		
	P ³	-51,035	$8,948 \times 10^{-6}$		
	G×P	4,527	$3,832 \times 10^{-2}$		
Solubilidade	Intercepto	2,516	---	0,904	25,481
	G	15,287	$3,826 \times 10^{-4}$		
	G ³	-0,533	$8,721 \times 10^{-5}$		
	P	8,445	$5,191 \times 10^{-2}$		

Propriedade	Parâmetro	Valor	$p < 0,05$	R^2	MRE (%)
PVA	Intercepto	15,859	---	0,940	3,947
	1/G	-43,992	$1,255 \times 10^{-7}$		
	G^2	7,657	$8,606 \times 10^{-9}$		
	G^3	-2,376	$2,320 \times 10^{-8}$		
	P	95,523	$3,534 \times 10^{-8}$		
	P^3	42,796	$4,120 \times 10^{-7}$		
	G×P	-80,950	$4,136 \times 10^{-8}$		
	$G \times P^2$	-32,226	$3,579 \times 10^{-7}$		
	$G^2 \times P$	21,8	$7,011 \times 10^{-8}$		

G: glicerol (g); P: poliacrilamida (g); ---: não aplica. Fonte: O autor, 2017.

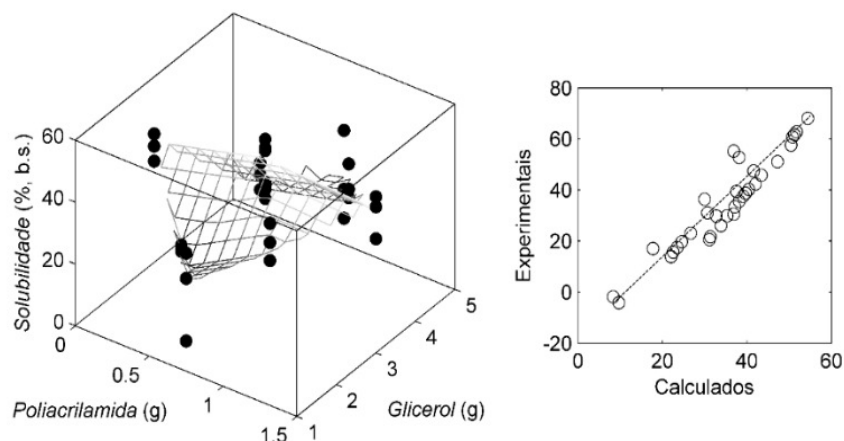
As Figuras 12, 13 e 14, mostram as simulações para as respostas de umidade, solubilidade e PVA, respectivamente. Através destas simulações podemos obter os modelos preditivos quanto às variáveis independentes estudadas, com o propósito de obter as condições ótimas dentro dos parâmetros predeterminados para a formulação de biofilmes baseados em alginato de sódio como matriz formadora, poliacrilamida catiônica como reticulante e glicerol como plastificante.

Figura 12. Simulação da umidade dos biofilmes de glicerol + poliacrilamida catiônica através do modelo de regressão.



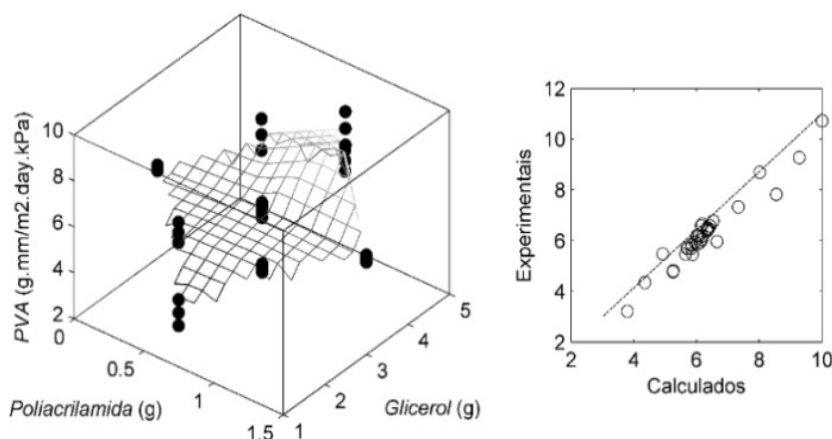
Fonte: O autor, 2017.

Figura 13. Simulação da solubilidade dos biofilmes de glicerol + poliacrilamida catiônica através do modelo de regressão.



Fonte: O autor, 2017.

Figura 14. Simulação da PVA dos biofilmes de glicerol + poliacrilamida catiônica através do modelo de regressão.



Fonte: O autor, 2017.

Por meio dos parâmetros de regressão pelo método passo a passo para as respostas em função da quantidade de glicerol e poliacrilamida catiônica (PAMc) é possível obter as Equações 10, 11 e 12. Estas equações representam os modelos de regressão para as respostas das composições dos fatores independentes para a obtenção dos biofilmes, onde temos os parâmetros de umidade, solubilidade e PVA. Os modelos de regressão obtidos permitem obter os valores quanto as variáveis respostas para a preparação de biofilmes de alginato de sódio em função das concentrações de glicerol e PAMc.

Equação 10. Modelo de regressão para as respostas para a umidade.

$$Umidade [\%] = 36,619 + 0,098G^3 - 79,613P + 119,110P^2 - 51,035P^3 + 4,527 G \times P \quad [10]$$

Equação 11. Modelo de regressão para as respostas de solubilidade.

$$\text{Solubilidade [\%]} = 2,516 + 15,287G - 0,533G^3 + 8,445 P \quad [11]$$

Equação 12. Modelo de regressão para as respostas de PVA.

$$\text{PVA [\%]} = 15,859 - 43,992x1/G + 7,657G^2 - 2,376 G^3 + 95,523P + 42,796 P^3 - 80,950 G \times P - 32,226G \times P^2 \quad [12]$$

Onde: G e P são as concentrações de glicerol e poliacrilamida catiônica, respectivamente, representando as variáveis independentes.

6. CONCLUSÕES

- ✓ Os biofilmes apresentaram brilho plástico e aspectos homogêneos na textura e coloração branco-amarelada demonstrando as características do alginato de sódio;
- ✓ Os resultados obtidos por meio das análises de FTIR confirmam a interação entre o alginato de sódio e a poliacrilamida catiônica (PAMc);
- ✓ A microscopia eletrônica de varredura mostra que os biofilmes com menores concentrações de PAMc são mais homogêneos, devido a alta dispersão da PAMc sobre a solução filmogênica no processo de reticulação;
- ✓ As concentrações de glicerol influenciaram no conteúdo de umidade dos biofilmes com maiores concentrações, elevando os valores destes, devido à alta hidrofiliabilidade do glicerol;
- ✓ A análise de análise de variância dos fatores resposta mostra que para a umidade e PVA, o nível de significância foi de $p < 0,05$, enquanto que para a solubilidade somente a PAMc teve valor não significativo de $p > 0,05$ com relação as concentrações de glicerol e PAMc;
- ✓ Através dos resultados da regressão obtiveram-se os modelos preditivos e eficientes segundo os parâmetros empregados, permitindo prever resultados experimentais futuros. A espessura teve pouca variação em relação aos ensaios, portanto, não influenciou significativamente nos valores das propriedades mecânicas;
- ✓ As concentrações de PAMc e glicerol influenciam nas propriedades mecânicas. Concentrações menores de PAMc promove menor tensão à ruptura e módulo de Young, enquanto que em maiores valores de concentração de glicerol observa-se maiores valores de deformação. O ensaio 11 (AS 6,0g; GLI 3,0g; PAMc 2,5%) apresentou maior resistência à ruptura e rigidez, possibilitando a sua aplicação como sacolas biodegradáveis;
- ✓ Dentre as formulações estudadas, o ensaio 5 (AS 6,0g; GLI 1,0g; PAMc 2,5%) apresentou menor conteúdo de umidade e PVA, podendo ser utilizado como filmes para cobertura de alimentos e o ensaio 10 (AS 6,0g; GLI 3,0g; PAMc 2,5%) com maior solubilidade, com potencial para produção de embalagens biodegradáveis.

REFERÊNCIAS

- [1] K. KHWALDIA, E. ARAB-TEHRANYX e S. DESOBRY, “Biopolymer coatings on paper packaging materials,” *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, vol. 9, pp. 82-91, 2010.
- [2] W. J. ADAMS, G. R. BIDDINGER, K. A. ROBILLARD e J. GORSUCH, “A summary of the acute toxicity of 14 phthalate esters to representative aquatic organisms,” *Environmental Toxicology and Chemistry*, vol. 14, pp. 1569–1574, 1995.
- [3] G. SERETOUDI, D. BIKIARIS e C. PANAYIOTOU, “Synthesis, characterization and biodegradability of poly(ethylene succinate)/poly(caprolactone) block copolymers,” *Polymer*, vol. 43, pp. 5405–5415, 2002.
- [4] G. O. ROCHA, “Filmes compostos biodegradáveis a base de amido de mandioca e proteína de soja,” *Polímeros*, vol. 24, pp. 587-595, 2014.
- [5] S. MALI, F. DEBIAGI e M. V. GROSSMANN, “Starch, sugarcane bagasse fibre, and polyvinyl alcohol effects on extruded foam properties: a mixture design approach,” *Industrial Crops and Products*, vol. 32, pp. 353-350, 2010.
- [6] K. SATYANARAYANA, L. P. RAMOS e F. WYPYCH, “Comparative study of Brazilian natural fibers and their composites with others,” em *Natural Fibre Reinforced Polymer Composites*, Kottayam, Kerala (India), S. Thomas, L.A. Pothan, 2009, pp. 473-522.
- [7] C. M. HENRIQUE, M. P. CEREDA e S. B. SARMENTO, “Características físicas de filmes biodegradáveis produzidos a partir de amidos modificados de mandioca,” *Ciências e Tecnologia de Alimentos*, vol. 28, pp. 231-240, 2008.
- [8] M. R. YATES e Y. B. CLAIRE, “Life cycle assessments of biodegradable, commercial biopolymers—A critical review,” *Resources, Conservation and Recycling*, vol. 78, pp. 54-66, 2013.
- [9] S. LIU, L. YONG e L. LIN, “Enhanced stability and mechanical strength of sodium alginate composite films,” *Carbohydrate Polymers*, vol. 160, pp. 62-70, 2017.
- [10] A. AKIN e N. ISIKLAN, “Microwave assisted synthesis and characterization of sodium alginate-graft-poly (N,N'-dimethylacrylamide),” *International Journal of Biological Macromolecules*, vol. 82, pp. 530-540, 2016.
- [11] C. A. SEYBOLD, “Polyacrylamide review: soil conditioning and environmental fate,” *Communications in Soil Science and Plant Analysis*, vol. 25, pp. 2171-2185, 1994.
- [12] P. CHMIELARZ, P. SANGWOO, S. ANTONINA e M. KRZSZTOF, “Electrochemically mediated ATRP of acrylamides in water,” *Polymer*, vol. 60, pp. 302-307, 2015.
- [13] Z. L. YANG, Y. G. BAO, X. L. CHUN, Y. Y. QIN e L. BIN, “Synthesis and characterization of hydrophobically associating cationic polyacrylamide,”

Chemical Engineering Journal, vol. 161, pp. 27-33, 2010.

- [14] L. XIANG, Z. HUAILI, G. BAOYU, Z. CHUN e S. YONGJUN, "UV-initiated polymerization of acid- and alkali-resistant cationic flocculant P(AM-MAPTAC): Synthesis, characterization, and application in sludge dewatering," *Separation and Purification Technology*, vol. 187, pp. 244-254, 2017.
- [15] F. DEBEAUFORT, J. A. QUEZADA-GALLO e A. VOILLEY, "Edible films and coatings: Tomorrow's packagings: A review," *Critical Reviews in Food Science*, vol. 38, pp. 299-312, 1998.
- [16] M. A. ORTIZ-ZARAMA, A. JIMÉNEZ-APARICIO, M. J. PEREA-FLORES e J. SOLORZA-FERIA, "Barriers, mechanical and morpho-structural properties of gelatin films with carbon nanotubes addition," *Journal of Food Engineering*, vol. 120, pp. 223-232, 2014.
- [17] S. LIMA, "Reciclagem e biodegradação de plásticos," *Revista Científica do IMAPES*, vol. 1, pp. 28-34, 2004.
- [18] A. GENNADIOS e C. L. WELLER, "Edible films and coatings from wheat and corn proteins," *Food Technology*, vol. 44, pp. 63-69, 1990.
- [19] T. SIVAROOBAN, N. S. HETTIARACHCHY e M. G. JOHNSON, "Physical and antimicrobial properties of grape seed extract, nisin, and EDTA incorporated soy protein edible films," *Food Research International*, vol. 41, pp. 781-785, 2008.
- [20] R. N. THARANATHAN, "Biodegradable films and composite coatings: past, present and future," *Trends in Food Science & Technology*, vol. 14, pp. 71-78, 2003.
- [21] F. R. B. TURBIANI, "Mechanical and barrier properties of sodium alginate films obtained using calcium benzoate and/or calcium chloride as the crosslinking agent," *Brazilian journal of food technology*, vol. 14, pp. 82-90, 2011.
- [22] F. SEN, I. UZUNSOY, E. BATURK e M. V. KAHRAMAN, "Antimicrobial agente-free hybrid cationic starch/sodium alginate polyelectrolyte films for food packaging materials," *Carbohydrate Polymers*, vol. 170, pp. 264-270, 2017.
- [23] A. SANTANA, *Influência de características físicas e químicas de plastificantes na confecção e no comportamento estrutural e higroscópico de filmes de alginato de cálcio: Dissertação de Mestrado em Engenharia Química*, Campinas: Universidade Estadual de Campinas, 2010.
- [24] T. MATSUMOTO, M. KAWAI e T. MASUDA, "Influence of chain stiffness on gelation and gel structure of aqueous alginate systems," *Journal of the Chemical Society, Faraday Transactions*, vol. 88, pp. 2673-2676, 1992.
- [25] A. M. F. LIMA, L. ANDREANI e V. SOLDI, "Influence of the addition of plasticizer and the crosslinking process on the morphology, water absorption and mechanical properties of sodium alginate films," *Química Nova*, vol. 30, pp. 832-837, 2007.
- [26] B. ZHANG, Y. YAYUAN, S. QIUJUAN, M. DONG, H. LANGHUAN, C. XIANG e T. SHAOZAO, "A colon targeted drug delivery system based on alginate

- modified graphene oxide for colorectal liver metastasis,” *Materials Science and Engineering: C*, vol. 79, pp. 185-190, 2017.
- [27] I. CACCIOTTI, C. CECI, A. BIANCO e P. GIUSEPPA, “Neuro-differentiated Ntera2 cancer stem cells encapsulated in alginate beads: First evidence of biological functionality,” *Materials Science and Engineering: C*, vol. 81, pp. 32-38, 2017.
- [28] C. GARCIA, H. CRISPINFOGGETTI e A. N. SILVA, “Alginato bacteriano: Aspectos tecnológicos, características e produção,” *Química Nova*, vol. 31, pp. 1800-1806, 2008.
- [29] W. PAUL e C. P. SHARMA, “Chitosan and alginate wound dressings: a short review,” *Trends in Biomaterials & Artificial Organs*, vol. 18, pp. 18-23, 2004.
- [30] L. FAMA, S. K. FLORES, L. GERSCHENSON e S. GOYANES, “Physical characterization of cassava starch biofilms with special reference to dynamic mechanical properties at low temperatures,” *Carbohydrate Polymers*, vol. 66, pp. 8-15, 2006.
- [31] R. SOTHORNVIT e J. M. KROCHTA, “Plasticizer effect on oxygen permeability of α -lactoglobulina films,” *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, vol. 48, pp. 6298-6302, 2000.
- [32] M. STEVENS, “Polymer additives. Part I. Mechanical property modifiers,” *Journal of Chemical Education*, vol. 70, pp. 444-448, 1993.
- [33] C. GAO, E. POLLET e L. AVÉROUS, “Properties of glycerol-plasticized alginate films obtained by thermo-mechanical mixing,” *Food Hydrocolloids*, vol. 63, pp. 414-420, 2017.
- [34] N. GONTARD, C. DUCHEZ, J. L. CUQ e S. GUILBERT, “Edible composite films of wheat and lipids: water vapour permeability and other physical properties,” *International Journal of Food Science and Technology*, vol. 29, pp. 39-50, 1994.
- [35] N. GONTARD, S. MARCHESSEAU, J. A. CUQ e S. GUILBERT, “Water vapor permeability of edible bilayer films of wheat gluten and lipids,” *International Journal Food Science Technology*, vol. 30, pp. 49-56, 1995.
- [36] S. FLORES, A. CONTE, C. CAMPOS, L. GERSCHENSON e N. DEL, “Mass transport properties of tapioca-based active edible films,” *Journal of Food Engineering*, vol. 81, pp. 580-586, 2007.
- [37] A. FARHAN e N. H. MOHD, “Characterization of edible packaging films based on semi-refined kappa-carrageenan plasticized with glycerol and sorbitol,” *Food Hydrocolloids*, vol. 64, pp. 48-58, 2017.
- [38] P. J. A. SOBRAL, “Propriedades funcionais de biofilmes de gelatina em função da espessura,” *Ciência e Engenharia*, vol. 8, pp. 60-67, 1999.
- [39] A. AGUIRRE, R. BORNEO e A. E. LÉON, “Properties of triticale protein films and their relation to plasticizing–antiplasticizing effects of glycerol and sorbitol,” *Industrial Crops and Products*, vol. 50, pp. 297-303, 2013.

- [40] M. ANKER, M. STADING e A. HERMANSSON, "Relationship between the microstructure and the mechanical and barrier properties of whey protein films," *Journal Agric. Food Chem.*, vol. 48, pp. 3806-3816, 2000.
- [41] S. MALI, L. S. SAKANAKA, F. YAMASHITA e M. V. GROSSMANN, "Water sorption and mechanical properties of cassava starch films and their relation to plasticizing effect," *Carbohydrate Polymers*, vol. 60, pp. 283-289, 2005.
- [42] R. A. TALJA, H. HÉLEN, Y. H. ROOS e K. JOUPPILA, "Effect of type and content of binary polyol mixtures on physical and mechanical properties of starch-based edible films," *Carbohydrate Polymers*, vol. 71, pp. 269-276, 2008.
- [43] A. BEATRIZ, Y. J. ARAÚJO e D. P. LIMA, "Glicerol: um breve histórico e aplicação em sínteses estereosseletivas," *Química Nova*, vol. 34, pp. 306-319, 2011.
- [44] P. V. ARRUDA e R. C. RODRIGUES, "Glicerol: um subproduto com grande capacidade industrial e metabólica," *Revista Analytica*, vol. 26, pp. 56-62, 2007.
- [45] N. LAOHAKUNJIT e A. NOOMHORM, "Effect of plasticizer on mechanical and barrier properties of rice starch film," *Starch/Starke, Weinheim*, vol. 56, pp. 348-356, 2002.
- [46] F. GARAVAND, R. MILAD, S. H. RAZAVI, C. ILARIA e R. MOHAMMADI, "Improving the integrity of natural biopolymer films used in food packaging by crosslinking approach: A review," *International Journal of Biological Macromolecules*, vol. 104, pp. 687-707, 2017.
- [47] X. YANG, Y. SHEN e P. LI, "Intrinsic viscosity, surface active, and flocculation of cationic polyacrylamide modified with fluorinated acrylamide," *Polymer Bulletin*, vol. 65, pp. 111-122, 2010.
- [48] H. D. G. TURRER, A. C. ARAUJO, R. M. PAPINI e A. E. PERES, "Iron ore flotation in the presence of polyacrylamides," *Mineral Processing and Extractive Metallurgy*, vol. 116, pp. 81-84, 2013.
- [49] B. SARSENBEKULY, W. KANG, H. FAN, H. YANG, C. DAI, B. ZHAO e S. B. AIDAROVA, "Study of salt tolerance and temperature resistance of a hydrophobically modified polyacrylamide based novel functional polymer for EOR," *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, vol. 514, pp. 91-97, 2017.
- [50] K. DIDEHBAN, M. ABDI e F. SHARIF, "Synthesis and Electrochemical Evaluation of Conductive Polyacrylamide Nanocomposite Hydrogels," *Advances in Polymer Technology*, vol. 35, pp. 369-377, 2016.
- [51] G. MOODY, "The use of polyacrylamides in mineral processing," *Minerals Engineering*, vol. 5, pp. 479-492, 1992.
- [52] A. SUBRAMANIAN e L. R. SAONA, "Chapter 7 – Fourier Transform Infrared (FTIR) Spectroscopy," *Infrared Spectroscopy for Food Quality Analysis and Control*, pp. 145-178, 2009.
- [53] P. VEIGA-SANTOS, L. M. OLIVEIRA, M. P. CEREDA e A. SCAMPARINI,

- “Sucrose and inverted sugar as plasticizer. Effect on cassava starch gelatin film mechanical properties, hydrophilicity and water activity,” *Food Chemistry*, vol. 103, pp. 255-262, 2007.
- [54] E. M. ZACTITI e T. G. KIECKBUSCH, “Processo de produção de filmes plásticos ativos biodegradáveis de alginato de cálcio de baixa solubilidade”. Brasil Patente 01850064015, 12, 2005.
- [55] Y. ZHAO, H. XU, B. MU, L. XU e Y. YANG, “Biodegradable soy protein films with controllable water solubility and enhanced mechanical properties via graft polymerization,” *Polymer Degradation and Stability*, vol. 133, pp. 75–84, 2016.
- [56] P. G e J. M. KROCHTA, “Denaturation time and temperature affects on solubility, tensile properties, and oxygen permeability of whey protein edible films,” *Journal of Food Science*, vol. 66, pp. 705-710, 2001.
- [57] N. RIQUELME, M. L. HERRERA e S. C. MATIA, “Active films based on alginate containing lemongrass essential oil encapsulated: Effect of process and storage conditions,” *Food and Bioproducts Processing*, vol. 104, pp. 94-103, 2017.
- [58] P. SOBRAL, “Influência da espessura de biofilmes feitos à base de proteínas miofibrilares sobre suas propriedades funcionais,” *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, vol. 35, pp. 1251-1259, 2000.
- [59] A. S. F. T. A. M. (ASTM), “Standard test methods for water vapor transmission of materials (E96-80),” *Annual Book of ASTM Standards*, pp. 730–739, 1989.
- [60] S. LIU, P. CAI, X. LILING, C. LING, L. LI e B. LI, “Effect of film multi-scale structure on the water vapor permeability in hydroxypropyl starch (HPS)/Na-MMT nanocomposites,” *Carbohydrate Polymers*, vol. 154, pp. 186-193, 2016.
- [61] M. A. BERTUZZI, M. ARMANDA e J. C. GOTTIFREDI, “Physicochemical characterization of starch based films,” *Journal of Food Engineering*, vol. 82, pp. 17-25, 2007.
- [62] M. J. FABRA, P. TALENS e A. CHIRALT, “Effect of alginate and λ -carrageenan on tensile properties and water vapour permeability of sodium caseinate–lipid based films,” *Carbohydrate Polymers*, vol. 74, pp. 419-426, 2008.
- [63] N. GONTARD, S. GUILBERT e J. L. CUQ, “Edible wheat gluten films: influence of the main processes variables on films properties using response surface methodology,” *Journal of Food Science*, vol. 57, pp. 190-195, 1992.
- [64] G. LILING, Z. DI, X. JIACHAO, G. XIN, F. XIAOTING e Q. ZHANG, “Effects of ionic crosslinking on physical and mechanical properties of alginate mulching films,” *Carbohydrate Polymers*, vol. 136, pp. 259-265, 2016.
- [65] D. LOURDIN, G. D. VALLE e P. COLONNA, “Influence of amilose content on starch films and foams,” *Carbohydrate Polymers*, vol. 27, pp. 261-270, 1995.
- [66] J. W. RHIM, “Physical and mechanical properties of water resistant sodium alginate films,” *Lebensmittel-Wissenschaft und Technologi, Kidlington*, vol. 37, pp. 323-330, 2004.
- [67] D. ROGER, D. TALBOT e A. BEE, “Preparation and effect of Ca^{2+} on water

- solubility, particle release and swelling properties of magnetic alginate films,” *Journal of Magnetism and Magnetic Materials*, vol. 305, pp. 221-227, 2006.
- [68] R. RUSSO, M. MALINCONICO e G. SANTAGATA, “Effect of cross-linking with calcium ions on the physical properties of alginate films,” *Biomacromolecules*, vol. 8, pp. 3193-3197, 2007.
- [69] G. I. OLIVAS e G. V. BARBOSA-CÁNOVAS, “Alginate-calcium films: water vapor permeability and mechanical properties as affected by plasticizer and relative humidity,” *Lebensmittel-Wissenschaft und Technologie, Kidlington*, vol. 41, pp. 359-366, 2008.
- [70] W. H. N. S. ASHIKIN, T. W. WONG e G. SABTAGATA, “Plasticity of hot air-dried mannuronate- and gulurone-rich alginate films,” *Carbohydrate Polymers*, vol. 81, pp. 104-113, 2010.
- [71] G. BOX, W. G. HUNTER e J. S. HUNTER, *Statistics for experimenters: An introduction to desing, data analysis and model building*, New York: John Wiley & Sons, 1978.
- [72] E. M. ZACTITI e T. G. KIECKBUSCH, “Potassium sorbate permeability in biodegradable alginate films: Effect of the antimicrobial agent concentration and crosslinking degree,” *Journal of Food Engineering*, vol. 77, pp. 462-467, 2006.
- [73] J. IRISSIN-MANGATA, G. BAUDUIN, B. BOUTEVIN e N. GONTARD, “New plasticizers for wheat gluten films,” *European Polymer Journal*, vol. 37, pp. 1533-1541, 2001.
- [74] American Society for Testing and Materials (ASTM) , *Standard Test Methods of Water Vapor Transmission of Materials (E 96-95)*, Philadelphia, 1995.
- [75] AMERICAN SOCIETY FOR TESTING AND MATERIALS (ASTM) D882-8, *Standard Test Methods for Tensile Properties of Thin Plastic Sheeting*, Philadelphia, 1995b.
- [76] A. CEVIK, “Unified formulation for web crippling strength of cold-formed steel sheeting using stepwise regresion,” *Journal of Constructional Steel Research*, vol. 63, pp. 1305-1316, 2007.
- [77] Y. CHEN, R. SHI, S. SHU e W. GAO, “Ensemble and enhanced PM10 concentration forecast model based on stepwise regression and wavelet analysis,” *Atmospheric Environment*, vol. 74, pp. 346-359, 2013.
- [78] A. GOODENOUGH, A. G. HART e R. STAFFORD, “Regression with empirical variable selection: description of a new method and application to ecological datasets,” *Plos One*, vol. 7, pp. 1-10, 2012.
- [79] A. CASTELL-PALOU, H. A. VÁQUIRO, J. A. CÁRCEL, C. ROSSELLÓ, A. FEMENIA e S. SIMAL, “Mathematical Modeling of Moisture Distribution and Kinetics in Cheese Drying,” *Drying Technology*, vol. 30, pp. 1247-1255, 2012.
- [80] S. SABLANI, O. D. BAIK e M. MARCOTTE, “Neural networks for predicting thermal conductivity of bakery products,” *Journal of Food Engineering*, vol. 52, pp. 299-304, 2002.

- [81] M. R. SILVERSTEIN, X. F. WEBSTER e J. D. KIEMLE, *Spectrometric indentifications of organic compouds*, New York: Wiley, 2005.
- [82] B. L. SADICOFF, E. M. BRANDÃO, E. F. LUCAS e M. C. AMORIM, “Copolimerização micelar de poli(acrilamida-g-óxido de propileno): Avaliação reológica e caracterização de suas soluções,” *Polímeros: Ciência e Tecnologia*, vol. 11, pp. 41-50, 2001.
- [83] M. A. MEDEIROS, J. R. C, M. H. A e R. L. M, “Influência da temperatura e da natureza do catalisador na polimerização do glicerol,” *Polímeros*, vol. 20, pp. 188-193, 2010.
- [84] S. M. ZOLKEFPELI e T. W. WONG, “Design of microcrystalline cellulose-free alginate spheroids by extrusion-spheronization technique,” *Chemical Engineering Research and Design*, vol. 91, pp. 2437-2446, 2013.
- [85] P. T. S. MELO, F. A. AOUADA e M. R. DE MOURA, “Fabricação de filmes bionanocompósitos à base de pectina e polpa de cacau com potencial uso como embalagem para alimentos,” *Química Nova*, vol. 40, pp. 247-251, 2017.
- [86] J. A. BATISTA, P. S. TANADA-PALMU e C. R. GROSSO, “Efeito da adição de ácidos graxos em filmes à base de pectina,” *Food Science and Technology*, vol. 25, pp. 781-788, 2005.
- [87] M. V. P. LAMBRECH, V. SORRIVAS, M. A. VILLAR e J. E. LOZANO, “Structure and permeability of low-methoxylpectin (LMP)–sodium alginates (NaAlg) films,” *Chemical Engineering Transactions*, vol. 17, pp. 1765-1770, 2009.
- [88] K. W. KIM, K. J. KO e H. J. PARK, “Mechanical properties, water vapor permeabilities and solubilities of highly carboxymethylated starch-based edible films,” *Journal Food Science*, vol. 67, pp. 218-22, 2002.
- [89] G. A. KLOSTER, D. MURACA, M. A. MOSIEWICKI e N. E. MARCOVICH, “Magnetic composite films based on alginate and nano-iron oxide particles obtained by synthesis “in situ”,” *European Polymer Journal*, vol. 94, pp. 43-55, 2017.
- [90] F. CHIVRAC, E. POLLET, P. DOLE e L. AVEROUS, “Starch-based nanobiocomposites: Plasticizer impact on the montmorillonite exfoliation process,” *Carbohydrate polymers*, vol. 79, pp. 941-947, 2010.
- [91] J. M. KROCHTA e C. DE MULDER-JOHNSTON, “Edible and biodegradable polymer films: challenges and opportunities,” *Food Technology*, vol. 51, pp. 61–74, 1997.
- [92] A. NESIC, J. RUZIC, M. GORDIC, S. OSTOJIC, D. MICIC e A. ONJIA, “Pectin-polyvinylpyrrolidone films: A sustainable approach to the development of biobased packaging materials,” *Composites Part B: Engineering*, vol. 110, pp. 56-61, 2017.
- [93] J. COMAPOSADA, P. GOU e J. ARNAU, “Physical properties of sodium alginate solutions and edible wet calcium alginate coatings,” *LWT - Food Science and Technology*, vol. 64, pp. 212-219, 2015.
- [94] E. P. DAGNINO, E. R. CHAMORRO, S. D. ROMANO e F. E. FELISSIA,

- “Optimization of the pretreatment of *prosopis nigra* sawdust for the production of fermentable sugars,” *Bioresources*, vol. 8, pp. 499-514, 2013.
- [95] M. HAN, G. W. CHOI, Y. KIM, B. C. KOO, "Bioethanol production by miscanthus as a lignocellulosic biomass: focus on high efficiency conversion to glucose and ethanol," *Bioresources*, vol. 6, pp. 1939-1953, 2011.
- [96] H. A. VILLA-VÉLEZ, H. A. VÁQUIRO e J. TELIS-ROMERO, “The effect of power-ultrasound on the pretreatment of acidified aqueous solutions of banana flower-stalk: structural, chemical and statistical analysis,” *Industrial Crops and Products*, vol. 66, pp. 52-61, 2015.
- [97] G. A. KLOSTER, D. MURACA, M. A. MOSIEWICKI, N. E. MARCOVICH, Magnetic composite films based on alginate and nano-iron oxide particles obtained by synthesis “in situ’,” *European Polymer Journal*, vol. 94, pp. 43-55, 2017.