



UNICAMP

**UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS
FACULDADE DE ENGENHARIA QUÍMICA
ÁREA DE CONCENTRAÇÃO: ENGENHARIA DE PROCESSOS**

**DESENVOLVIMENTO E CARACTERIZAÇÃO DE
BIOFILMES ATIVOS CONTENDO SORBATO DE
POTÁSSIO, FEITOS DE ALGINATO DE CÁLCIO
E ÁCIDOS GRAXOS**

Autora: Marcelle Fernanda Carulo

Orientador: Prof. Dr. Theo Guenter Kieckbusch

Dissertação de Mestrado apresentada à Faculdade de Engenharia Química como parte dos requisitos exigidos para a obtenção do título de Mestre em Engenharia Química.

Campinas – São Paulo

Fevereiro – 2005

UNICAMP
BIBLIOTECA CENTRAL
SEÇÃO CIRCULANTE

UNIDADE	BC
Nº CHAMADA	I UNICAMP C25d
V	EX
TOMBO BCI	63695
PROC.	16.00026.05
C	<input type="checkbox"/>
D	<input checked="" type="checkbox"/>
PREÇO	11,00
DATA	12/05/05
Nº CPD	B1118349222

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA
BIBLIOTECA DA ÁREA DE ENGENHARIA - BAE - UNICAMP

C25d Carulo, Marcelle Fernanda
Desenvolvimento e caracterização de biofilmes ativos contendo sorbato de potássio, feitos de alginato de cálcio e ácidos graxos / Marcelle Fernanda Carulo.--Campinas, SP: [s.n.], 2005.

Orientador: Theo Guenter Kieckbusch
Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual de Campinas, Faculdade de Engenharia Química.

1. Biofilme. 2. Alginatos. 3. Difusão. 4. Antimicóticos. 5. Ácidos graxos. I. Kieckbusch, Theo Guenter. II. Universidade Estadual de Campinas. Faculdade de Engenharia Química. III. Título.

Título em Inglês: Development and characterization of calcium alginate films with potassium sorbate as antimicrobial agent and fatty acids.

Palavras-chave em Inglês: Biofilms, Alginates, Diffusion, Antimicrobics e Fatty acids

Área de concentração: Engenharia de processos

Titulação: Mestre em Engenharia Química

Banca examinadora: Carlos Ferreira Grosso e Leila Peres

Data da defesa: 15/02/2005

**Este exemplar corresponde à versão final do Dissertação de Mestrado em
Engenharia Química**



Prof. Dr. Theo Guenter Kieckbusch

Dissertação de Mestrado defendida por Marcelle Fernanda Carulo e aprovada em 15 de fevereiro de 2005 pela banca examinadora constituída pelos doutores:



Prof. Dr. Theo Guenter Kieckbusch



Prof. Dr. Carlos Raimundo Ferreira Grosso



Profa. Dra. Leila Peres

“O Senhor é a minha fortaleza e faz os meus pés como os da corça, e me faz andar altaneiramente”.

Hc. 2.19

**Eu dedico este trabalho à minha mãe,
ao meu filho,
ao Prof. Dr. Theo Guenter K.
e ao Prof. Dr. Carlos Grosso.**

**Agradeço com todo o meu amor e consideração
ao Deus da minha vida,
à minha mãe querida,
e à minha irmã
Marina Ayala Carulo Martins que (mesmo à distância),
estiveram “ao meu lado” o tempo todo.**

**Sou grata também à FAPESP e ao CnPq,
à minha querida prima Jana,
ao querido Osvaldo, ao “Gu”, à Dani, ao “Bléia”,
à Prof^a. Leila Peres e à todos os demais professores,
alunos de iniciação científica, técnicos e colegas de laboratório
e ao Instituto de Química / UNICAMP.**

RESUMO

O desenvolvimento da tecnologia para a fabricação de embalagens biodegradáveis é recente e sua importância cresce com o consumidor mais preocupado com o meio ambiente. Filmes para embalagens biodegradáveis são obtidos a partir de polímeros naturais como polissacarídeos, proteínas e lipídios. Neste trabalho, o polissacarídeo utilizado foi o alginato de sódio e a reticulação foi obtida com íons Ca^{++} . Glicerol e sorbitol foram ensaiados como plastificantes. Para conferir hidrofobicidade ao filme, investigou-se a incorporação de ácidos graxos saturados (C:4 a C:18) tendo sido dada consideração especial ao ácido caprílico (C:8), por formar filmes transparentes (não emulsionados). As propriedades de filmes contendo 5% e 10% de ácido caprílico (em relação a massa de alginato) foram caracterizadas e comparadas com filmes sem o lipídio. A solubilidade em água aumentou ligeiramente em filmes contendo ácido caprílico e sua resistência mecânica (tensão na ruptura e alongação) diminuiu. A adição de ácido caprílico melhora as propriedades de barreira ao vapor d'água e reduziu o grau de intumescimento com água. A análise morfológica (MEV) de fratura dos filmes contendo lipídios confirmou sua estrutura interna contínua.

Para a confecção de filme ativo utilizou-se sorbato de potássio como agente antimicótico. Ensaios de liberação indicaram que a difusividade do sorbato é significativamente menor, na presença do ácido caprílico, tendência que foi confirmada em relação à permeabilidade desse soluto no filme.

Palavras-chave: Biofilmes, alginato, ácido caprílico, sorbato de potássio, difusividade, permeabilidade

ABSTRACT

The relevance of suitable developments of biodegradable packaging is becoming vital due to consumers awareness and demand for safer and cleaner environment. Biodegradable films used for food packaging can be produced from natural polymers, like proteins, polysaccharides and/or lipids. In this work sodium alginate was used and the reticulation of the polymeric matrix was strengthened with Ca^{++} . Glycerol and sorbitol were tested as plasticizers. To impart the hydrophobicity of the film, saturated fatty acids (C:4 to C:18) were incorporated in the film-forming solution, with special consideration to caprilic acid, (C:8), due to its ability to form transparent films (non emulsionated). The properties of films containing 5% or 10% caprilic acid (relative to the mass of alginate) were characterized and compared to films without the lipid. The water solubility increased slightly in films with caprilic acid and their mechanical resistance (tension and elongation at break) decreased. The addition of caprilic acid improved the water vapor barrier capacity and reduced the degree of swelling. Morphological analyses (SEM) of fractures of films with caprilic acid confirmed a continuous internal structure. Active films were manufactured with potassium sorbate as antimicrobial agent. Release tests indicate that the sorbate diffusivity inside the film is significantly reduced in the presence of caprilic acid and this tendency was confirmed with sorbate permeation data.

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	01
2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	04
2.1. Membranas e filmes biodegradáveis.....	04
2.2. Funcionalidade de membranas e filmes biodegradáveis.....	09
2.3. Plastificantes.....	12
2.4. Confeção de biofilmes.....	14
2.5. Alginato.....	15
2.5.1. Características.....	15
2.5.2. Obtenção de filmes e recobrimentos a partir do alginato.....	18
2.5.3. Vantagens e aplicações do alginato.....	20
2.6. Os filmes emulsionados.....	22
2.7. Filmes homogêneos hidrofóbicos.....	23
2.8. Filmes com atividade antimicrobiana.....	25
2.9. Aspectos da adição de lipídios em filmes e membranas bioativas.....	26
2.10. Transporte de substância antimicrobiana.....	27
2.10.1. Difusão.....	27
2.10.2. Permeabilidade.....	30
2.11. Espectrometria de ressonância magnética nuclear.....	31
2.11.1. Aspectos gerais.....	31
2.11.2. ¹ H – n.m.r. do alginato.....	32

3. MATERIAIS E MÉTODOS	34
3.1. Materiais.....	34
3.1.1. Matéria-prima.....	34
3.1.2. Componentes lipídicos.....	34
3.1.3. Plastificante.....	34
3.1.4. Agente emulsificante.....	35
3.1.5. Agente antimicótico.....	35
3.1.6. Soluções.....	35
3.1.7. Equipamentos para a confecção dos filmes.....	35
3.1.7.1. Estufas.....	35
3.1.7.2. Agitadores.....	36
3.2. Métodos.....	38
3.2.1. Metodologia de confecções dos filmes.....	38
3.2.1.1. Filmes de alginato de cálcio sem lipídios.....	38
3.2.1.2. Filmes de alginato de cálcio contendo lipídios.....	41
3.2.1.3. Filmes ativos.....	46
3.2.2. Ensaio preliminares.....	46
3.2.3. Caracterização dos filmes.....	48
3.2.3.1. Aspecto visual.....	48
3.2.3.2. Espessura versus densidade de matéria seca (da solução).....	49
3.2.3.3. Permeabilidade ao vapor d'água (PVA).....	49
3.2.4. Resistência mecânica.....	52

3.2.5. Solubilidade em água (SA).....	53
3.2.6. Grau de intumescimento (GI).....	53
3.2.7. Difusão do sorbato de potássio.....	54
3.2.8. Permeabilidade do sorbato de potássio.....	54
3.2.9. Concentração de sorbato.....	56
3.2.10. Microscopia óptica.....	56
3.2.11. Microscopia eletrônica de varredura.....	57
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	58
4.1. Caracterização do alginato.....	58
4.2. Ensaio preliminares.....	60
4.3. Caracterização dos filmes.....	65
4.3.1. Microscopia óptica.....	65
4.3.1.1. Microscopia óptica de filmes de alginato utilizando glicerol.....	65
4.3.1.2. Microscopia óptica de filmes de alginato utilizando sorbitol.....	68
4.3.1.3. Microscopia óptica de filmes de alginato utilizando glicerol e sorbitol.....	69
4.3.2. Microscopia eletrônica de varredura.....	70
4.3.2.1. Microscopia eletrônica de varredura para filmes de alginato simples e emulsionados utilizando glicerol como plastificante.....	70

4.3.2.2. Microscopia eletrônica de varredura para filmes de alginato simples e emulsionados utilizando sorbitol como plastificante.....	75
4.3.3. Espessura versus densidade de matéria seca (da solução).....	78
4.3.4. Permeabilidade ao vapor de água (PVA).....	78
4.3.5. Resistência mecânica.....	79
4.3.6. Solubilidade.....	81
4.3.7. Grau de intumescimento.....	82
4.3.8. Ensaio de liberação para obtenção da difusividade do sorbato de potássio.....	83
4.3.8.1. Filmes contendo lipídios e sorbato de potássio.....	83
4.3.8.2. Ensaio de liberação – Tempos curtos.....	83
4.3.8.3. Liberação de sorbato até o equilíbrio.....	87
4.3.9. Ensaio de permeabilidade.....	88
5. CONCLUSÕES E SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS.....	92
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	94
ANEXO A – Resultados de ensaios preliminares.....	101
ANEXO B – Curva de calibração para o sorbato de potássio.....	106
ANEXO C – Valores de intumescimento.....	108
ANEXO D – Dados de liberação	116
ANEXO E – Dados de ¹H.m.n.r.....	119

NOMENCLATURA

A	Área da seção transversal	m^2
A_e	Área exposta do filme	m^2
c	Concentração do soluto	mg/L
C:4 a 18	Ácido graxo de 4 carbonos a 18 carbonos	
d_r	Distância no momento da ruptura	cm
d_i	Distância inicial de separação	cm
d_p	Grau de polimerização	
D	Difusividade da substância ativa	cm^2/s
E	Elongação	%
F_m	Força máxima no momento da ruptura do filme	N
G	Ganho de massa do sistema	g
GI	Grau de intumescimento do filme	%
J	Fluxo da substância ativa no filme	$G/cm^2.s$
L	Espessura do filme	mm
SA	Solubilidade em água	%
m_i	Massa seca inicial da amostra	g
m_f	Massa seca final da amostra	g
M_{∞}	Massa de soluto que seria liberada em um tempo infinito	g
M_v	Massa molecular média viscosimétrica	kDa
m_u	Massa úmida do filme	g
n	Coefficiente difusional	
P	Permeabilidade do filme	cm^2/s
PVA	Permeabilidade ao vapor de água	$g.mm/m^2.dia.kPa$
t	Tempo	s
TR	Tensão na ruptura	MPa
V_A	Volume de líquido na Câmara A	mL
V_B	Volume de líquido na Câmara B	mL

CAPÍTULO 1

INTRODUÇÃO

Embalagens convencionais – constituídas por material polimérico sintético – têm sido amplamente utilizadas no processo de preservação e comercialização dos alimentos. Possuem excelentes propriedades mecânicas e de barreira, garantindo uma baixa transferência de massa entre o alimento e o meio ambiente.

Filmes e membranas também podem ser confeccionados a partir de polímeros naturais, como os polisacarídeos, lipídios e/ou proteínas. Esses filmes são comestíveis e biodegradáveis e portanto não poluem o meio ambiente (Mali *et al*, 2004). Além da preocupação com o meio ambiente e a sustentabilidade, a demanda por alimentos de maior qualidade e a oportunidade de criar novos mercados no setor de embalagem tem contribuído para aumentar o interesse no desenvolvimento de embalagens a partir de polímeros naturais.

Dentre as principais vantagens atribuídas a este tipo de embalagem estão: a redução da poluição ambiental, e a melhoria das características sensoriais dos alimentos embalados (como cor e sabor), além da diminuição da perda de água dos alimentos e o aumento do valor nutricional deles.

É sabido que uma das funções da embalagem é preservar ao máximo a qualidade do produto, criando condições que minimizem alterações químicas, bioquímicas e microbiológicas. Contudo, o conceito tradicional de que esta função deve ser exercida por meio de uma mínima interação entre a embalagem e o produto está sendo superado frente às várias tecnologias que vêm sendo desenvolvidas nas últimas décadas, que têm por princípio justamente uma interação embalagem/produto, como forma de preservar a qualidade e a segurança do alimento. Embalagens com estas características são conhecidas como embalagens ativas, pois além de atuarem como uma barreira à transferência de massa (umidade, gases e voláteis) podem servir como transportadores de aditivos alimentares incluindo agentes de sabor, antioxidantes, vitaminas dentre outros. A funcionalidade de filmes biodegradáveis pode ser expandida com a

incorporação de agentes antimicóticos. Recentemente foi feita uma revisão do “estado da arte” de filmes e revestimentos biodegradáveis incorporados com agentes antimicóticos (Cagri *et al.*, 2004).

Este tipo de embalagem chamada ativa, procura corrigir deficiências na embalagem convencional (Oliveira, 2003) e na maioria dos alimentos sólidos e semi-sólidos onde o crescimento microbiano é superficial. Os agentes antimicóticos são continuamente liberados do filme para a superfície do alimento, agindo como obstáculos ao crescimento dos microorganismos (Cagri *et al.*, 2004).

O Laboratório de Engenharia de Produtos e Processos em Biorrecursos da FEQ / UNICAMP desenvolveu uma metodologia para a confecção de filmes ativos de alginato de cálcio (Zactiti, 2004). O alginato é um polissacarídeo que se destaca dos demais, em virtude de sua natureza termoestável e característica reológica ajustável. Apesar de natureza altamente hidrofílica do alginato, os filmes ativos confeccionados apresentaram baixa solubilidade em água e características de permeabilidade ao vapor de água e difusividade do agente ativo (no caso do sorbato de potássio) semelhantes às de filmes produzidos com proteínas.

Uma forma de diminuir a migração de solutos em biofilmes é aumentar o grau de hidrofobicidade da estrutura, através da adição de lipídios. A literatura registra vários trabalhos com esse intuito e existem revisões oportunas sobre o assunto (Callegarin *et al.*, 1997; McHugh, 2000). As pesquisas tem se concentrado em filmes à base de proteínas (por ser um surfactante natural) e a adição de lipídios de alto peso molecular são incorporados ao filme na forma de emulsão. A menor permeação de soluto através dessa matriz tem sido atribuída à formação dessa segunda fase (lipídica) que aumenta a tortuosidade dos percursos para a difusão e diminui o potencial para a solubilização. Filmes emulsionados, entretanto, tendem a ter menor resistência mecânica, não tem a aparência atraente de filmes homogêneos transparentes e podem sofrer de exsudação da fase lipídica, tornando o manuseio e o sabor desagradáveis (oleoso).

O objetivo deste trabalho foi confeccionar e caracterizar filmes de alginato de cálcio contendo lipídios. Após ensaios preliminares que contemplaram vários ácidos graxos, a escolha recaiu sobre o ácido caprílico como componente

hidrofóbico. Filmes ativos de alginato contendo lipídios e sorbato de potássio foram submetidos a ensaio de liberação do agente antimicótico.

CAPÍTULO 2

REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1. Membranas e filmes biodegradáveis

Os filmes e membranas biodegradáveis, quando lançados no meio ambiente, convertem-se em compostos simples, mineralizados, que redistribuídos através dos ciclos de carbono, nitrogênio e enxofre não agredem o biosistema. A biodegradabilidade têm sido recentemente estudada em função da umidade e da composição de membranas e biofilmes (Romero-Bastida *et al.*, 2004).

Cada grupo de materiais utilizados na formulação de biofilmes tem suas vantagens e desvantagens. Necessariamente eles contêm pelo menos um dos três componentes formadores de uma estrutura tridimensional: proteínas, polissacarídeos ou lipídios. As principais proteínas usadas em filmes e membranas biodegradáveis incluem as do glúten de trigo, do colágeno, da zeína de milho, da soja e da caseína. Alginato, dextrina, pectina, e celulose e seus derivados são usados para produzir filmes à base de polissacarídeos. Diversos lipídios podem ser utilizados para obtenção destes filmes biodegradáveis, incluindo as ceras, acilgliceróis e ácidos graxos. Filmes compostos contendo lipídios e componentes hidrocolóides também tem sido desenvolvidos (Cagri *et al.*, 2004).

Embalagem ativa é um conceito inovador que pode ser definido como sendo um modo de revestimento no qual a embalagem, o alimento e a interação destes com o meio ambiente estendem a vida útil do produto enquanto melhoram a sua qualidade. Uma revisão do “estado da arte” destas embalagens foi publicada recentemente (Cagri *et al.*, 2004) e parte dela é apresentada nas Tabelas 2.1 e 2.2.

A Tabela 2.1 mostra o tipo de biofilme, sua correspondente formulação e os aditivos ou tratamentos empregados em cada um.

Tabela 2.1 Tipos de biofilmes (de Cagri *et al.*, 2004)

Tipo	Formulação	Substâncias adicionadas e tratamentos
Protéicos		
Caseína	Solução aquosa com glicerol e sorbitol	Lipídios, ácido láctico, ácido tânico, ou exposição a radiação UV e irradiação α para aumentar a PVA
Colágeno	Processo de secagem: tratamento alcalino, acidificação, mistura e adição de plastificante e agente de formação das ligações poliméricas, extrusão, secagem e neutralização	Gliceraldeído e alquil dióis para melhorar as propriedades mecânicas; UV para aumentar a tensão de ruptura; enzimas proteolíticas para melhorar a uniformidade na espessura; formaldeído e cromo para reduzir a permeabilidade ao gás
Zeína de milho	Solução de álcool ou acetona e glicerol, ácido oléico, ou ácido láctico	Aldeído para reduzir a PVA e a tensão de ruptura
Gelatina	Solução aquosa e glicerol	Ácido láctico ou tânico para reduzir a PVA
Glúten de trigo	Solução de etanol e glicerol, aquecimento em condições alcalinas	Queratina para reduzir a permeabilidade ao oxigênio, ao vapor de água e a tensão de ruptura; zeína de milho, proteína de soja, e cisteína para aumentar a tensão de ruptura
Glúten de soja	Solução aquosa e glicerol, aquecimento em condições alcalinas	Aquecimento diminui a tensão de ruptura, PVA e permeabilidade ao oxigênio; lipídios diminuem a PVA

Tabela 2.1. Continuação

Proteína de soja	Solução aquosa e glicerina, aquecimento sob condições alcalinas	UV e alfa-irradiação aumenta a tensão de ruptura, aquecimento reduz a PVA, a tensão de ruptura, e a permeabilidade ao oxigênio; cloreto de cálcio e sulfato de cálcio aumenta a tensão de ruptura
Carboidratos		
Alginato	Solução aquosa, íons cálcio, glicerol, aquecimento sob condições alcalinas	A imersão em soluções de cátion multivalentes melhora as propriedades mecânicas
Celulose	Soluções aquosas, adição devagar e agitação	Lipídios reduzem a PVA
Quitosana	Soluções aquosas acidificadas e glicerol	Lipídios reduzem a PVA
Amido	Soluções aquosas, glicerol e aquecimento	Suspensão em NaOH diminui a permeabilidade ao CO ₂ e ao O ₂ e a PVA.

Na Tabela 2.2 é possível acompanhar a aplicação dos principais biofilmes e seus benefícios.

Tabela 2.2 Biofilmes e suas principais aplicações em alimentos

TIPO	ALIMENTO	PRINCIPAIS BENEFÍCIOS
Caseína	Cenoura sem casca	Redução da desidratação e formação de <i>white blush</i>
Caseína, monoglicerídeos acetilados	Alface	Redução da desidratação
Caseinato de sódio	Pimentão verde	Redução da permeabilidade ao dióxido de carbono e ao oxigênio
Colágeno	Cachorro-quente e salsicha	Redução do custo e aumento da uniformidade
Zeína de milho	Nozes e tomates	Decaimento da rancidez e redução da mudança de cor, perda de firmeza e perda de peso
Glúten de trigo, proteína de soja	Casca de ovos	Aumento da resistência mecânica da casca e redução da contaminação microbiana
Proteína de soja	Salmão	Redução da perda de umidade e oxidação
Proteína de soja, monoglicerídeos e acetilato	Nozes	Decaimento da rancidez
Proteína de soja	Maçã <i>Fuji</i>	Extensão da vida de prateleira (mudanças na firmeza, cor e acidez da fruta)

Tabela 2.2. Continuação

Alginato	Carne fresca, frango, porco pré-cozido	Redução da rancidez oxidativa, da migração de umidade e da absorção de óleo
Celulose	Pimentões	Redução da permeabilidade ao dióxido de carbono e ao oxigênio
Celulose	Frango frito	Redução da degradação de óleo e perda de umidade
	Frituras em geral	Redução da absorção de óleo
	Casca de ovos	Aumento da resistência mecânica da casca e redução da contaminação microbiana
Quitosana	Pimentões e pepinos	Redução da respiração, da perda de cor e da infecção por fungos
	Morangos	Redução da contaminação
	Tomates	Extensão da vida de prateleira
Amido	Nozes	Decaimento da rancidez
	Ameixa seca	Extensão da vida de prateleira
Amido, alginato e ácido esteárico	Bolinhos de carne e bife pré-cozido	Controle da perda de umidade

Tabela 2.2. Continuação

Amido, alginato e ácido esteárico e tocoferol	Bolinho de carne e bife pré-cozido	Controle da oxidação lipídica
Dextrina	Maçã	Redução da oxidação
Goma xantana	cenouras	Melhora da cor da superfície
Cera ou ácidos graxos	Frutas e vegetais	Redução da contaminação e perda de água
	Queijo	Evita o crescimento de fungo
Monoglicerídio acetilado	Salmão	Redução da perda de água e oxidação lipídica

2.2. Funcionalidade de membranas e filmes biodegradáveis

A utilidade dos biofilmes como embalagem de alimentos pode ser atribuída a sua capacidade de melhorar a qualidade dos alimentos, prolongando a sua vida útil, e, quando agem em conjunto com outras substâncias (antimicóticos, antioxidantes, etc.), podem garantir a segurança alimentar além de melhorar a eficiência econômica das mesmas (Cagri *et al.*, 2004). Algumas propriedades seletivas de filmes estão sumarizadas na Figura 2.1.

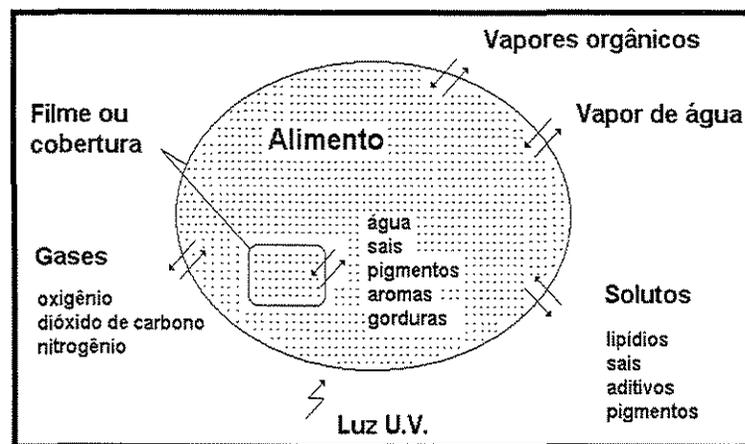


Figura 2.1. Funções seletivas de biofilmes e recobrimentos

(Debeaufort *et al.*, 1998)

O conteúdo de umidade em produtos alimentícios pode comprometer seriamente a qualidade, estabilidade e segurança microbiológica dos mesmos. Trocas no conteúdo de umidade de um alimento podem ocorrer internamente, entre diferentes fases do alimento ou entre o alimento e a atmosfera (Kester e Fennema, 1986).

A qualidade e a estabilidade dos alimentos é frequentemente afetada pela difusão. Em muitos casos, principalmente em produtos industrializados, os gradientes de concentração levam ao estado de não-equilíbrio, o qual resulta em movimento de transporte de água e outros solutos. Este fenômeno de transporte de massa conduz à indesejável mudança na textura, na cor e sabor dos alimentos, sendo, portanto, particularmente importante na determinação do tempo de estocagem (Rico Peña *et al.*, 1991).

Além da difusão em fase líquida causada por um gradiente de concentração, a umidade pode também migrar por outros mecanismos, como o movimento do líquido causado por forças capilares e a difusão superficial da água adsorvida na interface do sólido ou pela difusão na fase vapor (Debeaufort *et al.*, 1998).

Além do transporte da umidade, a transferência de aromas voláteis, oxigênio e dióxido de carbono, também podem influenciar na estabilidade dos alimentos durante o armazenamento e assim promover a deterioração mais rápida dos mesmos (Romero-Bastida *et al.*, 2004). Uma primeira forma de deterioração envolve a oxidação de lipídios, vitaminas, componentes de sabor e pigmentos. Em muitas situações deseja-se também diminuir a transferência de vapores orgânicos, além do vapor de água, com o intuito de reter compostos aromáticos no produto durante o armazenamento ou para prevenir a penetração de solventes, que podem envolver toxicidade ou perda do sabor (Kester e Fennema, 1986).

O intercâmbio de substâncias entre o alimento e a atmosfera pode ser reduzido através do revestimento do mesmo com filmes ou recobrimentos. Biofilmes têm sido utilizados por vários séculos para controlar a transferência de massa entre o alimento e o ambiente e também entre os vários componentes do produto alimentício, estendendo a vida útil e melhorando a qualidade do alimento

(Khwaldia *et al.*, 2004). Já no século XVI, os europeus protegiam a carne da perda de umidade através da aplicação de gordura animal .

A funcionalidade dos filmes confeccionados com biopolímeros é geralmente afetada pela estrutura molecular do polímero, que, por sua vez, depende da composição de sua formulação, do plastificante utilizado e da umidade relativa do meio (Banker, 1966).

A composição e a morfologia dos revestimentos e biofilmes são fatores muito importantes e que agem diretamente nas propriedades de absorção de água e de transporte de gases. Fatores de composição incluem a adição de plastificantes, as propriedades intrínsecas ao polímero (tais como grau de saturação, presença de cadeias laterais, e de *crosslinking*), além dos fatores que envolvem a heterogeneidade do polímero como cristalinidade e regiões amorfas (Romero-Bastida, 2004).

Biopolímeros apresentam excelentes propriedades de barreira ao oxigênio e ao dióxido de carbono quando comparados com muitas embalagens plásticas convencionais; entretanto, sua resistência ao vapor de água é limitada devido à sua natureza hidrofílica. Contrariamente, os lipídios e substâncias hidrofóbicas são geralmente boas barreiras à umidade, mas a adição de lipídios pode afetar negativamente as propriedades mecânicas (resistência à ruptura e capacidade de alongamento) do filme, e sensoriais (cor, brilho, transparência, rugosidade, etc.) dos alimentos cobertos (Khwaldia *et al.*, 2004).

A formação de filmes depende da solubilização da macromolécula no solvente (água, etanol, ácido acético, outros) e da adição de agente reticulante ou outro aditivo que se deseja, para a obtenção de um gel. Esse gel envolve ligações inter e intramoleculares cruzadas entre cadeias de polímeros, formando uma matriz tridimensional semi-rígida que envolve e imobiliza o solvente utilizado (Kester e Fennema, 1986).

O gel submetido à posterior secagem para a formação de um filme biodegradável, apresenta uma coesividade que esta diretamente ligada a estrutura do polímero, processo e parâmetros de fabricação (temperatura, tipo de solvente utilizado, técnica de aplicação e evaporação, entre outros), e da presença de

agentes plastificantes (Guilbert, 1986). Com a secagem do gel, o filme está formado e sua flexibilidade será tanto maior ou menor em função da interação entre as cadeias do polímero. Filmes mais rígidos são aqueles que apresentam interações intermoleculares mais fortes e como consequência disso, são menos permeáveis a gases, vapor de água e líquidos (Kester e Fennema, 1986). Para atenuar a alta rigidez é necessário adicionar ao filme um plastificante, a fim de torná-lo mais manuseável, menos quebradiço e mais flexível.

2.3. Plastificantes

Os plastificantes são definidos como substâncias com alto ponto de fusão e baixa volatilidade. Quando adicionados a outro material provocam mudanças nas propriedades físicas, químicas e mecânicas dos mesmos (McHugh; Krochta, 1994). Além disso, em sua maioria apresentam caráter hidrofílico, e por serem normalmente moléculas pequenas, são facilmente acoplados entre as cadeias poliméricas. A incorporação de plastificante em biopolímeros modifica a organização molecular tridimensional da rede protéica, devido à sua habilidade de reduzir a formação de pontes de hidrogênio entre as cadeias, causando um aumento do volume livre ou da mobilidade molecular do polímero (Bodmeier; Paeratakul, 1997).

A escolha do plastificante a ser adicionado na solução filmogênica 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, causando uma diminuição na flexibilidade do filme. Geralmente, a concentração de plastificante usado na elaboração de filmes varia de 10 a 60g/100g de matéria seca de polímero, dependendo da flexibilidade desejável no filme (Guilbert, 1986).

A caracterização de biofilmes à base de proteína de soja através da análise de suas propriedades físicas, têm sido recentemente realizada em função de diferentes tipos de plastificantes (glicerol, xilitol e sorbitol). O aumento da flexibilidade do filme com o consequente aumento do teor de plastificante é

acompanhado da diminuição da temperatura de transição vítrea e do aumento da umidade (Shaw et al., 2002).

As propriedades mecânicas de biofilmes à base de beta-lactoglobulinas foram investigadas em função de diferentes plastificantes (glicerol, sorbitol, polietileno-glicol e sacarose). Os filmes plastificados com propileno glicol apresentaram-se mais quebradiços com propriedades mecânicas independentes da quantidade de plastificante. O efeito do plastificante geralmente diminuiu na sequência de glicerol, polietileno glicol, sorbitol e sacarose. (Sothornvit, 2001; Krochta, 2000).

As propriedades de biofilmes à base de amido carboximetilado em função de diferentes plastificantes (glicerol, sorbitol, xilitol e manitol) foram avaliadas em estudos recentes (Kim *et al.*, 2003). A tensão de ruptura e a elongação dos filmes aumentou com a maior concentração de sorbitol. A permeabilidade ao vapor de água (PVA) dos filmes foi reduzida com o aumento da concentração de manitol, xilitol ou glicerol usados com plastificantes.

As propriedades mecânicas e físicas de biofilmes à base de glúten de trigo plastificados com glicerol e submetidos à diferentes temperaturas de secagem e umidade relativa, também foram estudadas. Observou-se que a maioria das propriedades mecânicas foi alterada pela diminuição da umidade relativa, entretanto o efeito da temperatura de secagem foi mais pronunciado que o efeito da umidade relativa. Na umidade relativa de 35%, a tensão de ruptura do filme aumentou com o aumento da temperatura de secagem. Entretanto, na umidade relativa de 70%, a tensão de ruptura diminuiu com o aumento da temperatura de secagem. A espessura dos filmes também diminuiu com o aumento da temperatura de secagem (Kayserilioglu *et al.*, 2003).

A permeabilidade ao vapor de água pode ser alterada utilizando formulações contendo lipídios e um plastificante adequado. Um estudo sobre a influência do tipo de plastificante sobre as propriedades de permeabilidade ao vapor de água e sobre a resistência mecânica em filmes de alginato de cálcio revela que os filmes preparados com sorbitol apresentam valores mais baixos de permeabilidade ao vapor de água do que com glicerol (Parris *et al.*, 1995). Para

um filme de alginato de 0,1 mm de espessura e 60% de glicerol foi determinado um valor de permeabilidade ao vapor d'água de 11,144 g.mm/Kpa.dia.m² e utilizando o sorbitol, a permeabilidade encontrada foi de 6,307 g.mm/K Pa.dia.m².

2.4.Confecção de biofilmes

Em processos industriais, as técnicas de extrusão ou coextrusão (filmes multicamadas), laminação e, principalmente, secagem para remoção do solvente da solução polimérica foram adaptadas e utilizadas para a fabricação de filmes biodegradáveis. Métodos tradicionais de recobrimento, como fluidização com atomização, painelas drageadoras, aspersão, imersão ou lavagem são utilizados industrialmente. Estes processos são seguidos pelas etapas de secagem para produtos aquosos ou resfriamento no caso de recobrimentos compostas por lipídios (Debeaufort *et al.*, 1998).

As substâncias que constituem os filmes são capazes de formar uma estrutura contínua através do estabelecimento de interações entre as moléculas, quando submetidas a tratamentos químico ou físico. A formação de filme e recobrimento envolve um dos seguintes processos (Debeaufort *et al.*, 1998).

- Fusão e solidificação de gorduras, ceras e resinas sólidas;
- Coacervação simples, onde um hidrocolóide disperso em solução aquosa é precipitado ou gelatinizado através da remoção de solvente, adição de um soluto não-eletrolítico em que o polímero não seja solúvel, adição de uma substância eletrolítica induzindo o efeito de *salting out* ou *crosslinking*, ou através da modificação do pH da solução;
- Coacervação complexa, quando duas soluções coloidais com cargas opostas são combinadas, induzindo interações e precipitação da mistura polimérica;
- Coagulação, através do aquecimento de uma solução formada por macromoléculas (por exemplo: albumina), causando sua desnaturação, gelificação, ou precipitação; ou pelo rápido resfriamento da solução de hidrocolóide para induzir uma transição sol-gel (por exemplo: gelatina).

Filmes têm sido obtidos em laboratórios através da distribuição da solução sobre um suporte (molde), seguida por um processo de secagem, e posteriormente pela retirada do filme. A aderência depende, sobretudo da natureza e do número de interações ou ligações entre o filme e o suporte, e pouco da aplicação ou técnicas de recobrimentos utilizadas. Para aplicação direta em alimentos (coberturas), o uso de substâncias tenso-ativas, como emulsificantes, torna possível a adesão de recobrimentos hidrofóbicos em produtos hidrofílicos.

Vários materiais podem ser incorporados a filmes comestíveis para influenciar as propriedades mecânicas, de proteção, sensoriais ou nutricionais (Han, 2000; Kester e Fennema, 1986). A espessura do filme, ao contrário, depende essencialmente das técnicas de aplicação e da viscosidade da solução (Debeaufort *et al.*, 1998).

2.5. Alginato

2.5.1. Características

Alginato é um copolímero extraído de algas (ver Figuras 2.2 e 2.3), composto por ligações 1-4 de ácido β -D-manurônico (M) e ácido α -L-gulurônico (G).

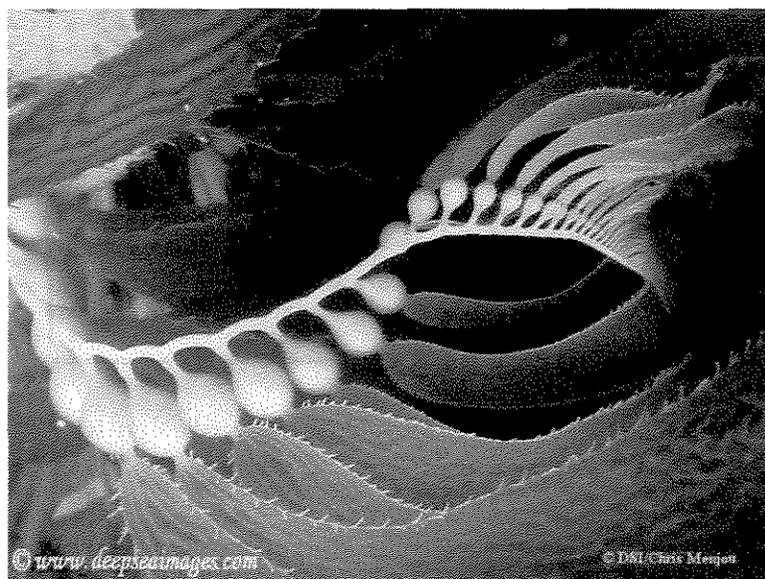


Figura 2.2. Kelp gigante (*Macrocystis pyrifera*), alga parda.

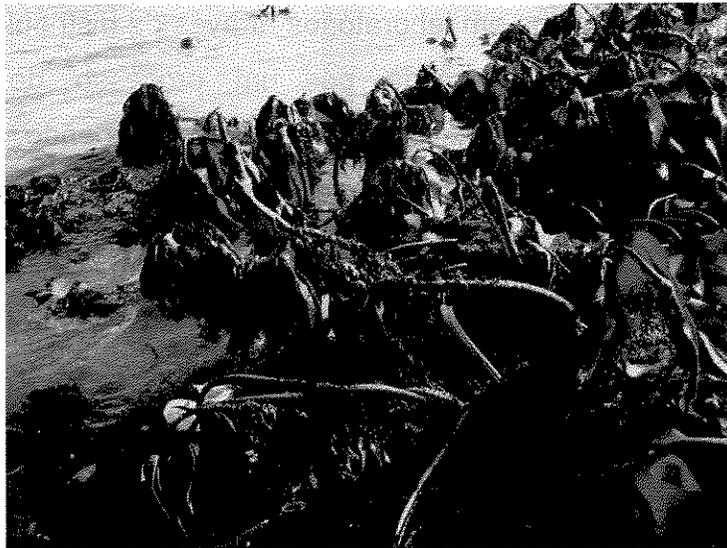


Figura 2.3. Dulse (*Laminaria hyperborea*), alga vermelha.

Os monômeros são organizados em blocos ao longo da cadeia, que podem ser compostos por dois blocos de homopolímeros (GG e MM) junto com blocos alternados (MG) na mesma molécula, como pode ser visto na Figura 2.4 (SMIDSRØD, 1974).

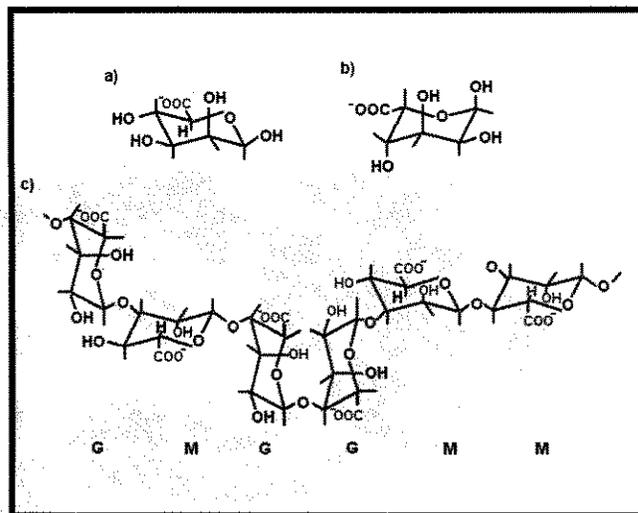


Figura 2.4. Estrutura do ácido β -D-manurônico (a), α -L-gulurônico (b) e alginato (c) (Ertesvåg, Valla, 1998).

Essa diferença na sequência e no conteúdo de blocos determinará a flexibilidade da cadeia, influenciando na solubilidade e estabilidade do gel que será formado. Blocos MG, por exemplo, formam cadeias mais flexíveis e mais

solúveis em pHs baixos e a estabilidade do gel está diretamente relacionada ao conteúdo de blocos G (Ertesvág e Valla, 1998).

O alginato de sódio em pó pode ser caracterizado através da determinação da porcentagem de blocos manurônicos (M) e gulurônicos (G) utilizando espectroscopia de ressonância magnética nuclear (NMR) e a viscosidade intrínseca $[\mu]$ em NaCl 0,1M. A partir da Equação [2.1], de Mark-Houwink, é possível prever a massa molecular média viscosimétrica (M_v) de qualquer tipo de alginato de sódio e conseqüentemente, seu grau de polimerização ($d_p=M_v/198$), como mostrado na Tabela 2.3 (Clementi *et al.*, 1999).

$$[\mu] = 1,228 \times 10^{-4} \times M_v^{0,963} \quad [2.1]$$

Conforme apresentado na Tabela 2.3, a composição molecular específica de uma amostra de alginato depende da alga de onde o mesmo é extraído, podendo ocorrer variações nas porcentagens de ácido manurônico (M) e gulurônico (G).

Tabela 2.3. Principais propriedades químicas e físicas do alginato (de Clementi *et al.*, 1999)

Alginato	μ (dL/g)	M_n (kDa)	X_G (%)	X_M (%)	M/G (%)
<i>Macrocystis pyrifera LV</i>	5,90	73	0,38	0,62	1,62
<i>Laminaria hyperborea</i>	6,40	79	0,63	0,37	0,59

Onde:

X_G (%) é a porcentagem de ácidos gulurônicos (G)

X_M (%) é a porcentagem de ácidos manurônicos (M)

M/G é a taxa entre ácido gulurônico (G) e manurônico (M)

μ (dL/g) é a viscosidade intrínseca em NaCl 0,1 M

M_n (kDa) é a massa molecular média

LV é baixa viscosidade

2.5.2. Obtenção de filmes e recobrimentos a partir de alginato

O alginato reage com diversos cátions polivalentes para formar géis, que poderão ser utilizados na formação de recobrimentos e filmes. O cloreto de cálcio foi classificado como o agente gelificante mais efetivo, tendo a função de estabelecer a associação cooperativa dos segmentos poliméricos M e G, formando estruturas agregadas (Allen *et al.*, 1963a). O efeito desses íons é estabelecer ligação entre as cadeias de alginato através de interações iônicas, após terem ocorrido as ligações de hidrogênio entre as mesmas.

A formação do filme, que pode ou não envolver gelificação, pode ser alcançada por evaporação, agente de reticulação eletrolítico, ou injeção de um não-solvente miscível em água. A resistência e permeabilidade do filme podem ser alteradas pela concentração de cátion polivalente, assim como pela taxa de sua adição e tempo de exposição, pH, temperatura, e a presença de outros constituintes (hidrocolóides, por exemplo) (Kester e Fennema, 1986).

Existem dois métodos mais utilizados para gelificação do alginato de sódio com cálcio. No primeiro método, íons de cálcio bivalentes são homoganeamente liberados dentro de uma solução de alginato para causar gelificação uniforme, que pode ser alcançada através da dispersão prévia de um sal de cálcio de baixa solubilidade. Um segundo método de formação de géis de alginato envolve a difusão de íons de cálcio no interior da solução. Quando o cálcio ionizado entra em contato com a solução de alginato, um gel desenvolve-se instantaneamente na interface. A frente de gelificação prossegue quando os íons de cálcio difundem através da interface gel-membrana (Glicksman, 1983).

A formação do gel de alginato de cálcio é uma operação complexa e depende do tipo de alginato utilizado, do grau de conversão entre o alginato e o

cálcio, da fonte de íons de cálcio (cloreto, fostato, lactato, etc.), e dos métodos de preparação. O grau de polimerização é também importante na formação do gel, e deve estar acima de 200 para se obter uma força ótima do gel.

No processo de gelificação de polissacarídeos, o solvente ocupa os interstícios de uma rede tridimensional ligada por “pontos de amarração”, que envolvem a associação cooperativa de regiões longas da cadeia do polímero.

Essas regiões de associação são conhecidas como pontos de junção e nos segmentos de polissacarídeos, apresentam-se na forma de ligações covalentes e existem em uma conformação ordenada. O processo de gelificação do alginato é baseado na afinidade do mesmo em relação a certos íons e na habilidade para estabelecer a ligação desses íons seletivamente e cooperativamente. A ligação seletiva destes íons está diretamente relacionada ao conteúdo de blocos G, ou mais precisamente, ao comprimento destes blocos. O aumento das ligações iônicas e, portanto, da rigidez mecânica, é verificado em alginatos com alto conteúdo de blocos G (Smidsrød, 1974). O mecanismo de formação do gel de alginato pode ser explicado pelo modelo da “caixa de ovos”, para as interações de segmentos G com íons de cálcio. As regiões de blocos G são alinhadas lado a lado, resultando na formação de uma cavidade, onde os íons cálcio fazem uma junção entre as cadeias, semelhante ao ovo numa caixa de ovos, formando uma rede tridimensional (Figura 2.5). A resistência do gel está diretamente relacionada com a quantidade de zonas de junção e a natureza das associações envolvidas nestas zonas.

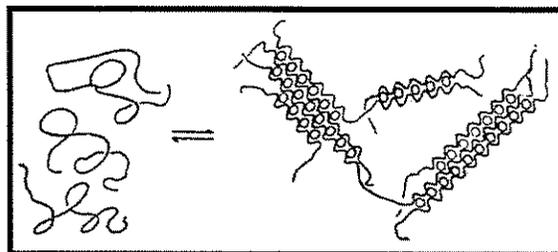


Figura 2.5. Representação esquemática da transição sol-gel para alginato, envolvendo zonas de junção tipo “caixa de ovos” (BRYCE *et al.*, 1974)

Estudos mostram que as trocas iônicas que ocorrem nos blocos GG são caracterizadas por uma ligação seletiva aos íons de cálcio presentes na solução, ligações autocooperativas fortes entre o cálcio e a cadeia no estado gel, e

histerese devido à dissociação lenta das ligações formadas entre as cadeias. Os outros dois blocos (MM e MG) apresentam seletividade muito menor aos íons de cálcio, não apresentam mecanismos de ligações autocooperativas e nem histerese. A elongação do gel de alginato de cálcio é devida principalmente às junções formadas pelos blocos GG. Estudos reológicos e de dispersão de luz com alginatos, sugerem que os blocos aumentam a rigidez na sequência $G > M > MG$. Estudos de ligações de íons e estudos de gelificação sugerem a presença de 20 resíduos de ácido poli- α -L-gulurônico na formação do bloco (G). Um polímero volumoso e rígido é encontrado nas regiões de blocos M, tendo as regiões MG rigidez intermediária (SMIDSRØD, 1974).

2.5.3. Vantagens e aplicações do alginato

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 um processamento térmico, incluindo todo tipo de cozimento, congelamento e descongelamento, uma propriedade desejável em muitos alimentos. Através do controle da liberação de cálcio, o tempo de formação do gel de alginato pode durar de poucos segundos até muitos minutos e a característica reológica ajustada para especificações particulares de produtos alimentares.

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 entendido, tanto na fase líquida como na 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 é facilmente caracterizado como acontece com alginatos. Alginato é muito utilizado e consumido por ser uma substância natural, sustentável, de origem vegetal, renovável e biodegradável.

Alginato tem sido aplicado não somente na indústria alimentícia, mas também nas indústrias de impressão em tecidos, farmacêutica e em processos para tratamento de água (Ertesvåg, Valla, 1998).

Recobrimentos gelatinosos de alginato têm sido aplicados em diversas carnes como de bovinos, porco, aves, e carcaças de cordeiros, através de um procedimento dividido em duas etapas. Os produtos são primeiramente aspergidos com solução aquosa de alginato de sódio, e a gelificação é induzida pela aplicação da solução de cloreto de cálcio. Todos os resultados indicam que a desidratação dos tecidos da carne tratada com alginato é significativamente menor do que a ocorrida em produtos não-recobertos (Allen *et al.*, 1963b).

Recobrimentos de alginato podem também melhorar a proteção contra oxidação de ingredientes alimentícios. Carnes pré-cozidas são particularmente suscetíveis ao desenvolvimento de rancidez, causada pela oxidação de lipídios. Foram recobertos pré-cozidos (partes de porco trituradas) com alginato de cálcio e foi observado que o tratamento retarda significativamente a oxidação de lipídios (Wanstedt *et al.*, 1981). Felizmente, não foi observada nenhuma alteração do sabor, provocada pela rancidez. Foram observadas também melhoras na integridade estrutural (textura) dos produtos recobertos.

A literatura técnica registra poucos trabalhos sobre filmes de alginato. Filmes de alginato de sódio são fáceis de fabricar (Parris *et al.*, 1995) porém são completamente solúveis (Zactiti, 2004). Foram utilizados também vários tipos de cátions divalentes para reticular filmes de ácido algínico, e concluíram que zinco e cálcio são capazes de formar filmes insolúveis em água (Paviah *et al.*, 1999). Diferentes técnicas para a reticulação com cálcio também são sugeridas (Rhim, 2004; Zactiti, 2004). Essa última autora potencializa o grau de reticulação através do contato com soluções de CaCl_2 a diferentes concentrações. Um resumo das características dos filmes encontrados é apresentado na Tabela 2.4. Esses filmes usaram glicerol como plastificante.

Tabela 2.4. Solubilidade em água (SA) e permeabilidade ao vapor de água (PVA) de filmes tratados com diferentes soluções de cálcio (Zactiti, 2004).

Filme	Espessura, mm	SA, %	PVA, g.mm/m ² .dia.KPa
2% CaCl ₂	0,095	4,74	11,18
3% CaCl ₂	0,093	4,80	6,46
4% CaCl ₂	0,087	4,70	6,65
5% CaCl ₂	0,090	4,69	6,46
7% CaCl ₂	0,089	4,37	6,55

2.6. Filmes emulsionados

A presença de lipídios na matriz polimérica torna a trajetória mais tortuosa para a difusão das moléculas quando comparadas com uma matriz composta apenas por substância hidrofílica (Fairley *et al.*, 1997). Os lipídios são utilizados devido ao seu caráter hidrofóbico e sua eficiência depende da estrutura química, do grau de saturação, estado físico (sólido ou líquido), tamanho da cadeia, dimensão dos cristais e homogeneidade dos filmes, características que determinam a interação da partícula lipídica com outros componentes do filme, como proteínas e polissacarídeos. O efeito das características físico-químicas do lipídios (hidrofobicidade e estado físico) e a sua distribuição dentro da matriz polimérica na permeabilidade ao vapor de água do filme foram estudados (Gallo *et al.* 2000; McHugh, 2000; Callegarin *et al.*, 1997, Gontard *et al.*, 1994).

Dentre os materiais lipídios que tem sido estudados por muitos pesquisadores, as ceras, os ácidos graxos saturados de cadeia longa triglicerídeos e álcoois graxos foram muito efetivos em promover propriedades de barreira à umidade em filmes de hidrocolóides (Yang, Paulson, 2000). A cera de abelhas provou ser o componente mais eficaz para melhorar a característica de barreira ao vapor d'água dentre mais de 22 lipídios adicionados à filmes de glúten do trigo (Gontard *et al.*, 1994).

Resultados da análise de permeabilidade ao vapor de água revelam que o aumento da cadeia carbônica do ácido graxo saturado utilizado na formulação dos filmes, promove uma diminuição da transferência de água nos filmes devido ao aumento da porção apolar (hidrocarboneto) de cada molécula, conferindo-lhes maior caráter hidrofóbico (Kamper e Fennema, 1984).

Por outro lado, trabalhando com filme de metilcelulose e ácidos graxos de cadeia C:14 a C:28, foi provado que o ácido esteárico (C:18) e em menor extensão, o palmítico (C:16) promovem a maior redução na PVA, por formar uma rede mais complexa e intrincada de micro-glóbulos (Koelsch e Labuza, 1992). Aumentando o número de carbonos os glóbulos formados eram maiores e menos compactados e a PVA aumentava consideravelmente.

A fase lipídica diminui a permeabilidade ao vapor d'água, mas também influi negativamente nas propriedades mecânicas. Biofilmes preparados de solução de caseinato de sódio e de emulsões desta proteína associadas ao leite anidro com alto teor de gordura foram estudados. O aumento da concentração de lipídios conduziu a uma queda nas propriedades mecânicas do filme, porém com pouca influência nas propriedades de barreira (Khwaldia *et al.*, 2004).

2.7. Filmes homogêneos hidrofóbicos

Filmes emulsionados tendem a ser opacos e quebradiços, prejudicando sua aplicação como embalagem de alimentos.

Foram obtidos filmes hidrofóbicos transparentes de proteína de glúten de trigo, adicionado éster diacetil tartárico de monoglicerídeos (Gontard *et al.*, 1994). O filme foi feito pela técnica de *casting*, e a solução filme-formadora continha ainda etanol, glicerol e ácido acético para ajustar o pH em 4,0. Os filmes exibiram excelentes propriedades de barreira ao vapor d'água e a adição do éster também melhorou as propriedades mecânicas. Esse efeito positivo foi atribuído pelos autores, ao fortalecimento da matriz estrutural da proteína devido à forte compatibilidade que estes ésteres tem com o glúten.

O estudo do efeito plastificante da série de ácidos graxos saturados de C:6 a C:18 em biofilmes de glúten, observaram a influência positiva destes lipídios na propriedade de barreira ao vapor de água (Pommet *et al.*, 2003).

Filmes contendo ácidos graxos apresentam uma complexidade adicional, pois alguns lipídios também podem ser considerados plastificantes, por enfraquecerem as forças intermoleculares entre as cadeias poliméricas adjacentes, influenciando, desta forma as propriedades mecânicas dos filmes (Callegarin *et al.*, 1997). Esse foi, na realidade, o objetivo primário ao utilizar um misturador de massa de pão a 80°C, para avaliar o efeito plastificante (Pommet *et al.*, 2003). Visando a complementação da pesquisa, foram produzidos filmes por compressão a 150 bar do material plastificado contido em um molde e submetido esse filme (sem a necessidade de uma secagem) a ensaios convencionais de PVA (Pommet *et al.*, 2003). Os resultados indicaram uma substancial diminuição da permeabilidade ao vapor d'água, em ordem decrescente em relação ao número de carbonos do ácido graxo.

Não há informações sobre a transparência do filme obtido, mas medidas calorimétricas e micrografias do filme fraturado indicam que, na composição usada (35% do peso total), os ácidos graxos até 10 carbonos se agregaram homogeneamente ao glúten e que acima de C:12, formaram-se heterogeneidades.

Embora não haja informações na literatura técnica, no caso de polissacarídeos, pode-se supor que filmes compostos formulados com ácidos graxos de menor cadeia carbônica também devem se apresentar transparentes e com maior facilidade para serem retirados do suporte após a secagem em estufa. Não há informações sobre seu efeito na liberação controlada dos antimicóticos.

2.8. Filmes com atividade antimicótica

Os filmes com atividade antimicótica apresentam uma habilidade de preservação por causa da sua própria atividade antimicrobiana. Desta forma, agem reduzindo o crescimento microbiano e prolongam a estabilidade de alimentos pasteurizados. A utilização desses filmes pode eliminar processos de esterilização química das embalagens comuns que usam peróxido, e simplificar a

assepsia necessária no processamento de embalagem. Esses filmes auto-preserváveis apresentam também uma gama de aplicações além das de alimentos tais como: uso clínico, em hospitais, laboratórios, equipamentos biotecnológicos e biomédicos dentre outros.

As substâncias antimicóticas incorporadas ao material da embalagem podem controlar a contaminação microbiana através da redução da taxa de crescimento e do máximo crescimento populacional, permitindo estender a *fase lag* do microorganismo alvo, melhorando a segurança alimentar. As substâncias químicas anti-microbianas normalmente incorporadas à embalagem são ácidos orgânicos e seus sais, sulfitos, nitritos, antibióticos, álcoois e antimicóticos (fungicidas). Outras substâncias químicas, gases, enzimas e componentes naturais tem sido testados como agentes preservantes e esterilizantes, destacando-se: ácido propiônico, peróxidos, ozônio, óxido clorídrico, eugenol, lisosima, nisina, EDTA, etc. Os preservantes tradicionais podem ter mais vantagens em embalagens anti-microbianas, por serem considerados componentes comestíveis.

O controle da quantidade de agente antimicótico utilizado e da taxa de migração da embalagem para o alimento é muito importante. Alguns fatores bioquímicos, tais como, a atividade antimicrobiana e a cinética das reações químicas envolvidas com as demais substâncias afetam esta transferência de massa característica de substâncias antimicóticas. O estudo destes fatores é muito importante para predizer a provável quantidade de adição de antimicótico necessária para produzir o efeito de esterilização que se deseja.

Em uma embalagem com funções antimicrobianas, os princípios ativos são incorporados à camada hidrofílica, e difundirão para o alimento. A análise do mecanismo da difusão na matriz do filme requer modelamento matemático utilizando-se de elaboradas soluções da Lei de Fick, para diferentes condições de contorno (Crank, 1975). A difusão depende, sobretudo do tamanho, forma e polaridade da molécula permeante, bem como das alterações causadas pela molécula permeante no volume livre da matriz polimérica. Fatores que afetam o movimento da cadeia do polímero incluem forças de atração entre as cadeias,

como pontes de hidrogênio e interações do tipo van der Waals, grau de *crosslinkings*, e cristalinidade.

Foi determinada a difusividade de sorbato de potássio, a temperatura ambiente, nos filmes de alginato de cálcio apresentados na Tabela 2.5 (Zactitii, 2004). Os valores encontrados indicam que o aumento do grau de reticulação diminui a mobilidade do soluto, conforme pode ser conferido pelos dados da Tabela 2.5.

Tabela 2.5. Coeficientes de difusão (D) de sorbato de potássio em filmes de alginato de cálcio

CaCl ₂ (%)	D x 10 ⁻⁷ , cm ² /s
3	3,32
5	3,01
7	2,54

2.9. Aspectos da adição de lipídios em filmes e membranas bioativas

Os filmes constituídos por polissacarídeos ou proteínas são hidrofílicos em sua maioria, isto é, apresentam boas propriedades mecânicas, funcionam como excelentes barreiras a gases, aromas e lipídios, mas apresentam barreiras pobres à umidade. Percebe-se que há uma relação inversa entre permeabilidade ao vapor de água e ao oxigênio, pois certos polissacarídeos podem conferir uma efetiva proteção contra oxidação de lipídios e outros componentes alimentícios (Banker, 1966).

Foi determinado o coeficiente de difusão do ácido sórbico em filmes de glúten de trigo com e sem a adição de lipídios (Redl *et al.*, 1996). Eles concluíram que a inclusão de lipídios nos filmes diminui o coeficiente de difusão. O coeficiente de difusão para filmes sem lipídios foi de $0,7 \times 10^{-7}$ cm²/s. Após a adição de lipídio o valor da difusividade foi reduzida em 50%. Similarmente, os autores mostraram que o tipo e concentração de ácido graxos usados na formulação dos filmes de polissacarídeos afetaram a permeabilidade do sorbato nesses filmes. A difusão do

sorbato diminuiu com o aumento da concentração de ácido graxo no filme. Os ácidos palmítico, esteárico e aracnídico agiram com eficiência na diminuição da difusão nesses filmes. A aplicação de material lipídico, como cera de abelhas, na forma de uma segunda camada, em filmes polissacarídeos contendo sorbato de potássio resultou em filmes com coeficientes de difusão extremamente baixos ($2,7 \times 10^{-12} \text{ cm}^2/\text{s}$).

2.10. Transporte de substância antimicrobiana

2.10.1. Difusão

O transporte de substâncias ativas em filmes poliméricos depende do tamanho e forma das moléculas da substância ativa, da estrutura do polímero, do volume livre presente na estrutura, da flexibilidade das cadeias poliméricas, dentre outros. O pH, a atividade de água, a temperatura, a concentração do polímero, do plastificante, dos lipídios, das substâncias ativas e outras substâncias, também são fatores que influenciam a difusão. Ela é uma propriedade cinética e descreve a facilidade com que as moléculas da substância ativa se movem dentro do filme.

A solubilidade da substância ativa é muito importante no processo de difusão, pois, quando dissolvida na estrutura polimérica do filme, sua movimentação pelo interior do mesmo ocorre de regiões de maior concentração para regiões de mais baixa concentração. Para um sistema unidimensional, este sistema de transporte difusivo pode ser quantificado pela Equação [2.2], conhecida com a Primeira Lei de Fick:

$$j = -D \frac{dC}{dz} \quad [2.2]$$

Onde: j é o fluxo da substância ativa no filme ($\text{g}/\text{cm}^2 \cdot \text{s}$)

D é a difusividade da substância ativa (cm^2/s)

dC/dz é gradiente de concentração da substância ativa no filme (g/cm^3)

A liberação do princípio ativo incorporado em um filme, em sistemas difusivos, acarreta a diminuição de sua concentração, conforme a Equação [2.3], a qual descreve a 2ª. Lei de Fick.

$$\frac{\partial C}{\partial t} = D \frac{\partial^2 C}{\partial z^2} \quad [2.3]$$

Esta equação diferencial pode ser integrada, e quando se considera a difusividade e a espessura do filme constantes e uma embalagem alimentícia, na qual transferência de soluto ocorre apenas por uma das faces do filme obtêm-se a massa total do soluto transferido no intervalo de tempo de $0 \rightarrow t$, M_t , pela Equação [2.4],

$$\frac{M_t}{M_\infty} = 1 - \frac{8}{\pi^2} \sum_{n=0}^{\infty} \frac{1}{(2n+1)^2} \exp \left[- \left(2n+1 \right)^2 \frac{\pi^2 D}{4L^2} t \right] \quad [2.4]$$

Onde: M_∞ é a massa de soluto que seria liberada em um tempo infinito

L é a espessura total do filme

O mecanismo de processo de difusão para um sistema plano pode ser identificado ao se plotar a curva de liberação inicial ($M_t/M_\infty < 0,60$) que segue o modelo da Lei de Potência descrita pela Equação [2.5]:

$$\frac{M_t}{M_\infty} = kt^n \quad [2.5]$$

Onde: n é o coeficiente difusional

k é a constante que caracteriza a matriz da molécula

Para n maior que 1.0, há uma aceleração na taxa de liberação do soluto nos últimos estágios dos experimentos do processo.

Para n igual a 1.0, a taxa de liberação é diretamente proporcional ao tempo.

Para n entre 0.5 e 1.0, a difusão é chamada de não-Fickiana, na qual a relaxação da estrutura polimérica é o mecanismo mais importante.

Para n igual a 0,5, a difusão é Fickiana e conhecendo-se a difusividade, a massa liberada no período inicial do processo pode ser calculada conforme o Modelo de Sólido Semi-infinito descrito pela Equação [2.6](Crank, 1975), pela qual a massa total transferida é proporcional a $t^{1/2}$.

$$\frac{M_t}{M_\infty} = \sqrt{\frac{4Dt}{\pi L^2}} \quad [2.6]$$

Para determinar a difusividade, os métodos transientes submetem uma amostra bem definida do filme a uma liberação controlada, geralmente em um fluido bem agitado.

A Equação [2.3] adaptada para a condição em que as duas faces do filme devem ser consideradas e que, portanto, o comprimento característico será a metade da espessura do filme, gera a Equação [2.7]:

$$\frac{M_t}{M_\infty} = 1 - \frac{8}{\pi^2} \sum_{n=0}^{\infty} \frac{1}{(2n+1)^2} \exp\left[-\left(2n+1\right)^2 \frac{\pi^2 D}{L^2} t\right] \quad [2.7]$$

A difusividade avaliada pode estar sendo afetada pela difusão da água para o interior do filme, que ocorre nos primeiros minutos de contato (tempos curtos).

Da mesma forma, a Equação [2.5] adaptada para a condição em que a saída do soluto ocorre pelas duas faces do filme, gera a Equação [2.8]:

$$\frac{M_t}{M_\infty} = \sqrt{\frac{16Dt}{\pi L^2}} \quad [2.8]$$

Nas Equações [2.7] e [2.8], L continua sendo a espessura total do filme.

2.10.2. Permeabilidade

A permeabilidade de um soluto através de um filme indica a facilidade com que ele migra de uma fase em contato com uma das faces do filme até a fase em contato com a outra face do filme. Fisicamente, portanto, a permeabilidade, P , é o produto da difusividade pela solubilidade de soluto no filme.

A permeabilidade de solutos em filmes pode ser determinada pelo método da célula de diafragma modificado (Axelsson e Persson, 1998).

Neste método o experimento é realizado utilizando-se duas câmaras que são separadas por um filme. Inicialmente, uma câmara (A) é preenchida com uma solução contendo o soluto de interesse e a outra câmara (B) com um solvente puro. Quando os solutos permeiam através do filme, as concentrações na Câmara B são medidas em função do tempo. Depois de um período de tempo, o estado quase-estacionário, é atingido, e a permeabilidade pode então ser estimada pelo chamado método do estado quase estacionário (QSS).

Um balanço que combina a variação temporal da concentração de soluto nas câmaras com a equação integrada do fluxo através do filme conduz à Equação [2.9], conhecida como a equação da célula de diafragma (Cussler, 1997).

$$\ln\left(\frac{c_A - c_B}{c_{A0} - c_{B0}}\right) = -\frac{P}{L} A \left(\frac{1}{V_A} + \frac{1}{V_B}\right) (t - t_0) \quad [2.9]$$

Onde: c_A e c_B é a concentração de soluto nas câmaras A e B, mg/L

V_A e V_B são os volumes de líquido nas câmaras A e B, cm^3

P é a permeabilidade do filme, cm^2/s

L é a espessura total do filme, cm

A é a área por onde ocorre difusão, cm^2

t é o tempo, s

Na maioria das determinações, somente a concentração na Câmara B é medida, sendo a da Câmara A calculada por balanço de massa. Contudo, esses cálculos podem causar erros significantes, particularmente quando a consideração de estado do estado quase estacionário não é satisfeita e quando erros na medida do soluto são altos. A metodologia de determinar a concentração também na Câmara (A) pode viabilizar resultados mais confiáveis. Uma análise crítica foi feita por Westrin e Axelsson (1991).

2.11. Espectrometria de ressonância magnética nuclear

2.11.1. Aspectos Gerais

A técnica de RMN estuda a interação da matéria com a radiação eletromagnética na faixa de radiofrequência quando a amostra é colocada na presença de um campo magnético. Núcleos atômicos com momento magnético diferentes de zero (por exemplo, ^1H , ^2H , ^{13}C , ^{15}N , ^{19}F , ...) interagem com o campo magnético do equipamento distribuindo-se em níveis de energia cujo número depende do valor do número quântico de *spin* (I) de cada núcleo e podem portanto serem observados através desta técnica.

A transição de um estado de *spin* nuclear a outro de energia imediatamente superior ocorre quando radiação eletromagnética de comprimento de onda adequado na região de radiofrequência é absorvida pela amostra. A relaxação do *spin* nuclear para a distribuição de Boltzmann vigente no equilíbrio induz uma voltagem no detector do aparelho, denominada de decaimento de indução livre – FID, que após amplificação e transformação matemática (transformada de Fourier) dá origem às linhas espectrais que são registradas (Grasdalen, 1983).

Trata-se de técnica não destrutiva que presta-se essencialmente para a elucidação estrutural de amostras orgânicas e inorgânicas e para o estudo de suas propriedades em solução e no estado sólido. É possível a utilização desta técnica em estudos semi-quantitativos para determinação da composição de misturas, mas a precisão dos resultados pode ficar limitada, entre outros, à razão sinal/ruído do espectro, erros inerentes ao processo de integração dos sinais,

diferenças nos tempos de relaxação dos núcleos observados e incrementos de intensidade de sinais devido à fenômenos como o efeito nuclear Overhauser.

2.11.2. ^1H – n.m.r. do alginato

As propriedades físicas do alginato dependem da relação existente entre a quantidade de blocos manurônico e gulurônico (M/G) e também da distribuição sequencial do monômero no copolímero. A composição e a distribuição dos alginatos dependem da localização da planta, e da grande variedade entre as diversas espécies. É importante dispor de métodos adequados para avaliar a composição e a distribuição do sequenciamento de blocos nas amostras de algas.

A espectroscopia de ressonância magnética nuclear tem sido utilizada para a caracterização de alginatos.

Existem quatro possíveis dubletes ao longo das cadeias do alginato, eles são, MM, MG, GM e GG. Assim, a partir do número e da área relativa das linhas observadas nos espectros, pode se avaliar quantitativamente a razão M/G através dos sinais associados a cada bloco. As áreas dos picos na região expandida (5,20 a 4,00 parte por milhão) referente a 5,05 ppm (G-1), 4,67 ppm (M-1 e GM-5) e 4,45 ppm (GG-5), contém informações sobre a razão M/G e frações de doubletes nas proximidades vizinhas ao longo das cadeias intactas. A composição e sequência de distribuição pode ser obtida; pois a fração molar de G é proporcional a área de 5,05 ppm. As intensidades podem ser consideradas as áreas e desta forma,

$$F_G = (I_{5,05}) / (I_{4,67} + I_{4,45}) \quad [2.10]$$

$$F_{GG} = (I_{4,45}) / (I_{4,67} + I_{4,45}) \quad [2.11]$$

A fração molar de M é então derivada das condições de normalização:

$$F_G + F_M = 1 \quad [2.12]$$

As relações entre as frações molares de doubletes são dadas por :

$$F_{GG} + F_{GM} = F_G \quad [2.13]$$

$$F_{MM} + F_{MG} = F_M \quad [2.14]$$

Portanto, as frações serão F_M , F_G , F_{MM} , F_{MG} , F_{GM} e F_{GG} .

Quanto maior é o pico 5,05 ppm, o alginato terá maior composição em G (Grasdalen, 1983).

O espectro de dois tipos de alginato de sódio fornecidos pela Sigma, USA foi levantado (Cruz, 2004). As diferentes frações calculadas através do uso das Equações [2.10] a [2.14] estão apresentadas na Tabela 2.6.

Tabela 2.6. Composição de alginatos de sódio extraído de *Macrocystis Pyrifera* (Sigma, USA). BV = baixa viscosidade; MV = média viscosidade (Cruz, 2004).

Composto	Frações e composição					
	F_M	F_G	F_{MM}	F_{MG}	F_{GM}	F_{GG}
Alginato - BV	0,58	0,42	0,41	0,17	0,17	0,25
Alginato - MV	0,67	0,33	0,51	0,16	0,16	0,17

$F_{GM} = F_{MG}$ (cadeias longas com $dp > 20$)

CAPÍTULO 3

MATERIAIS E MÉTODOS

3.1. MATERIAIS

3.1.1. Matéria-prima

Para a confecção dos filmes foi utilizado alginato de sódio (Synth), extraído da alga *Macrocystis Pyrifera* (Kelp) como componente matricial para formação da estrutura tridimensional. Conforme a classificação da Tabela 2.3, este tipo de alginato possui alto conteúdo de blocos M e excelentes propriedades de formação de filme. O alto conteúdo de blocos M foi confirmado por meio da análise de espectroscopia de ressonância magnética nuclear (RMN) do alginato em pó.

3.1.2. Componentes lipídicos

Os lipídios inicialmente selecionados para o estudo foram o ácido palmítico (C₁₆; P.F.63,1°C), o ácido esteárico (C₁₈; P.F.69,6°C) e as composições formadas pelos dois ácidos graxos (blenda). Nos ensaios definitivos deu-se preferência aos ácidos graxos de menor cadeia carbônica: ácido butírico (Vetec P.A), (C₄; P.F.-7,9°C), o ácido capróico (Vetec P.A), (C₆; P.F.-3,4°C) e o ácido caprílico (Vetec P.A), (C₈; P.F.16,7°C). As propriedades dos ácidos graxos podem ser consultados em Fatty acid Data Book - Unichema International. A triacetina (triacetato de glicerol; P.F.: -4,1 °C) foi avaliada como um componente lipídico, além de ser emulsificante e plastificante.

3.1.3. Plastificante

O plastificante utilizado foi o glicerol P.A. (Synth). Em ensaios preliminares, o sorbitol P.A. (Synth), também foi utilizado como plastificante.

3.1.4. Agente emulsificante

Em ensaios preliminares, o emulsificante utilizado foi a triacetina (cedida pela Rhodia, Ind. Química, Paulínia, S. P.).

3.1.5. Agente antimicótico

O agente antimicótico selecionado foi o sorbato de potássio (Sigma, USA).

3.1.6. Soluções

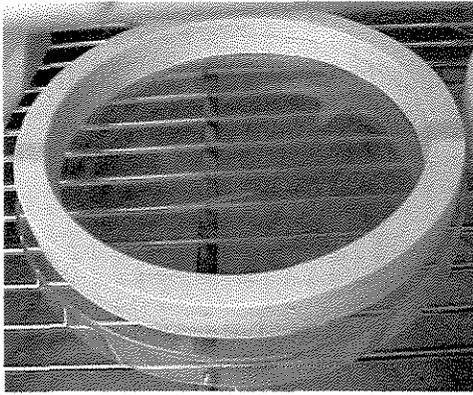
Na confecção dos filmes foi utilizada solução aquosa de 1,5% de alginato de sódio e solução de 0,4% de $\text{CaCl}_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$ (Merck). Após sua secagem (1º estágio), os filmes foram submetidos a um tratamento posterior de reticulação por meio de aspersão de uma solução de 2% ou 3% de $\text{CaCl}_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$ (ver Secção 3.2.1.1). A água utilizada era destilada.

Para manter controlada a umidade relativa (U.R.) no interior dos dessecadores foram utilizadas soluções saturadas de nitrato de magnésio (U.R. 52%) e de cloreto de sódio (U.R. 75%), para o condicionamento dos filmes e ensaios de permeabilidade ao vapor de água, respectivamente.

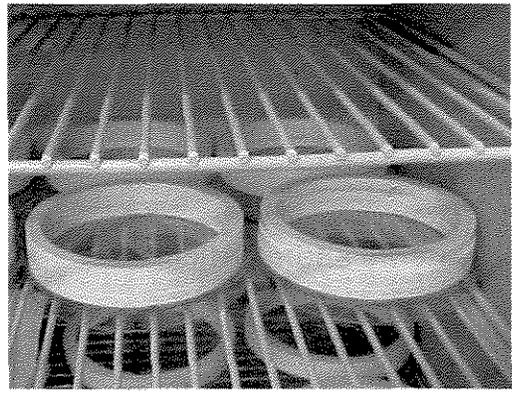
3.1.7. Equipamentos para a confecção dos filmes

3.1.7.1. Dispositivo de sustentação para secagem final dos filmes

As Figuras 3.1 a) e b) mostram, em detalhe, o dispositivo de sustentação dos filmes no interior da estufa utilizada para a secagem final dos filmes de alginato, no 2º estágio. Ela foi utilizada à temperatura de 30°C, por cerca de 18 horas.



(a)



(b)

Figuras 3.1. (a) e (b). Dispositivo de sustentação dos Filmes de alginato de cálcio durante a secagem (2°. Estágio) no interior da estufa a 30°C(FANEM mod.502).

3.1.7.2. Agitadores

A Figura 3.2 mostra o sistema de agitação com aquecimento utilizado para a preparação dos filmes de alginato de cálcio.

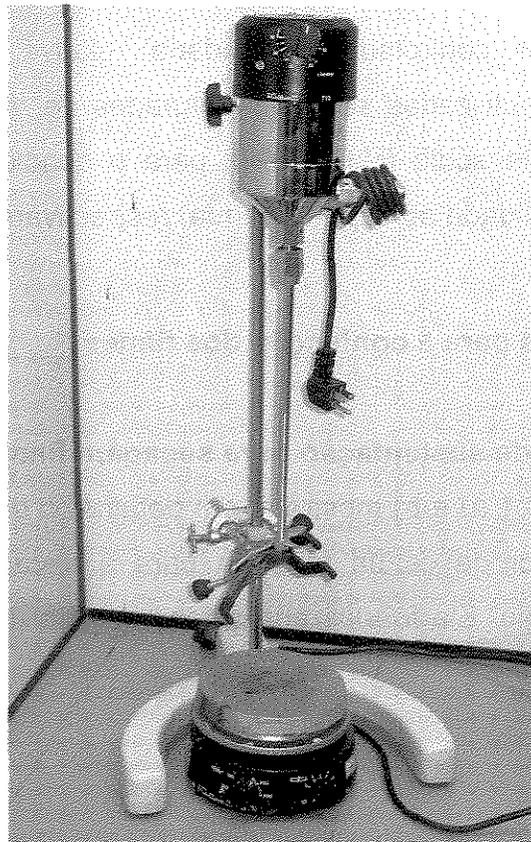
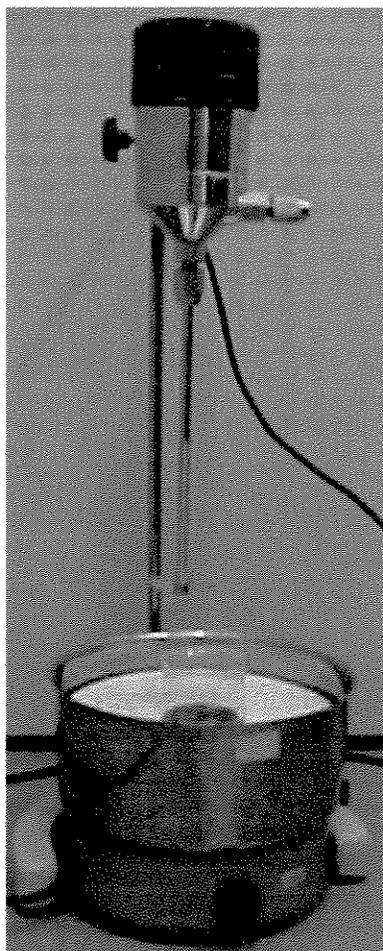
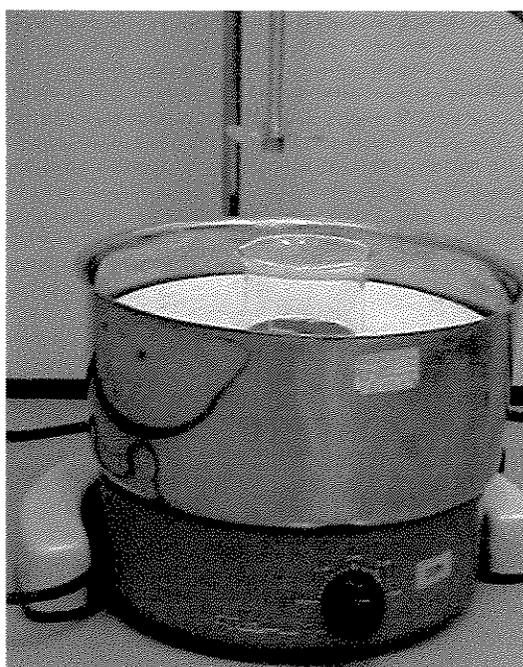


Figura 3.2. Sistema de agitação (FISATOM modelo 713) e aquecimento (FISATOM modelo 752) para preparação do filme.

As Figuras 3.3 a) e b) mostram o sistema de agitação e o banho-maria utilizados nos ensaios preliminares. O banho-maria foi utilizado por 30 min com o objetivo de tentar melhorar a incorporação dos ácidos esteárico e palmítico à solução filmogênica, buscando formar um filme homogêneo.



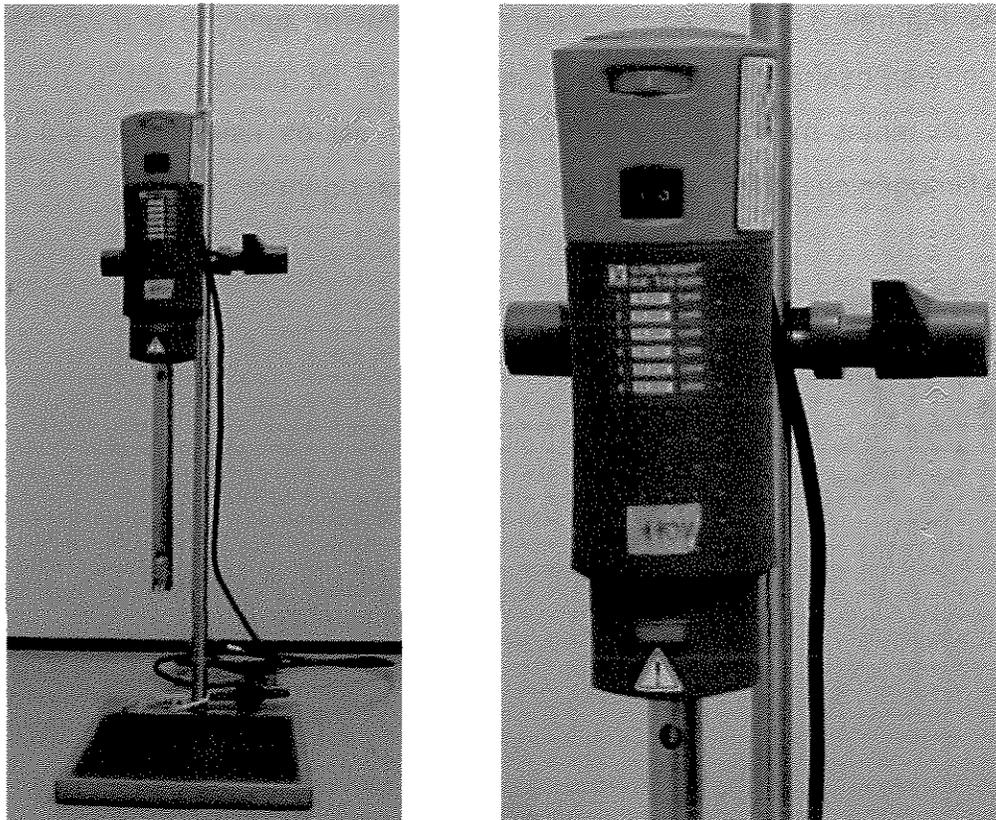
(a)



(b)

Figuras 3.3 (a) e (b). Sistema de agitação montado para banho-maria

As Figuras 3.4. a) e b) mostram o sistema utilizado para a homogeneização de lipídios. O homogeneizador TURRAX emulsificou os lipídios operando a uma velocidade de 6000 rpm durante 3 min.



a)

b)

Figuras 3.4. a) e b). Sistema de emulsificação de lipídios - Homogeneizador TURRAX

3.2. MÉTODOS

3.2.1. Metodologia de confecção dos filmes

3.2.1.1. Filmes de alginato de cálcio sem lipídios

Os filmes foram preparados conforme o procedimento em dois estágios (Zactiti, 2004). Como o cálcio é um agente reticulador extremamente potente, sua adição ao alginato de sódio promove a formação de zonas heterogêneas de gelificação, mesmo sob forte agitação resultando em filmes inadequados. É necessário portanto, preparar inicialmente um gel fraco (1º estágio) e então complementar a reticulação do filme formado (2º estágio). Resumidamente, considerando valores médios, o procedimento é o seguinte:

1° Estágio: Formação de um filme de alginato de cálcio com baixo grau de reticulação. Adiciona-se glicerol à água destilada, a 70°C, até uma concentração pré-determinada (0.9% do total ou 60% em relação a massa de alginato de sódio), agitando durante 5 minutos. O alginato é adicionado a esta solução e a solução mantida a 70°C, sob agitação de 900 rpm durante 10 min. Adiciona-se 30 mL de uma solução de 0.4% de CaCl_2 diretamente ao vórtex formado pelo agitador, mantendo a temperatura de 70°C. Alíquotas de 100 mL dessa solução são transferidas para placas de polipropileno de 150 mm de diâmetro, e levadas a uma estufa sem circulação de ar, a 40°C, por cerca de 50 horas, para gelificação incipiente e formação de um filme.

2° Estágio: Reticulação do filme. O filme produzido, removido da placa, sofre um tratamento adicional com uma solução contendo 2% de CaCl_2 para complementar a reticulação. A solução é borrifada sobre a superfície dos dois lados do filme, usando-se cerca de 100 mL em cada face. O filme umidificado permanece suspenso por 3 horas para permitir a difusão do cálcio para o interior do gel. Após drenar o excesso de solução de cálcio, as superfícies do filme foram rapidamente lavadas com água, e os filmes transferidos para uma estufa mantida a uma temperatura ambiente, por 18 a 20 horas, para completar a secagem.

O fluxograma da Figura 3.5 detalha as etapas do processo utilizadas para a preparação dos filmes de alginato de cálcio sem a adição de lipídios.

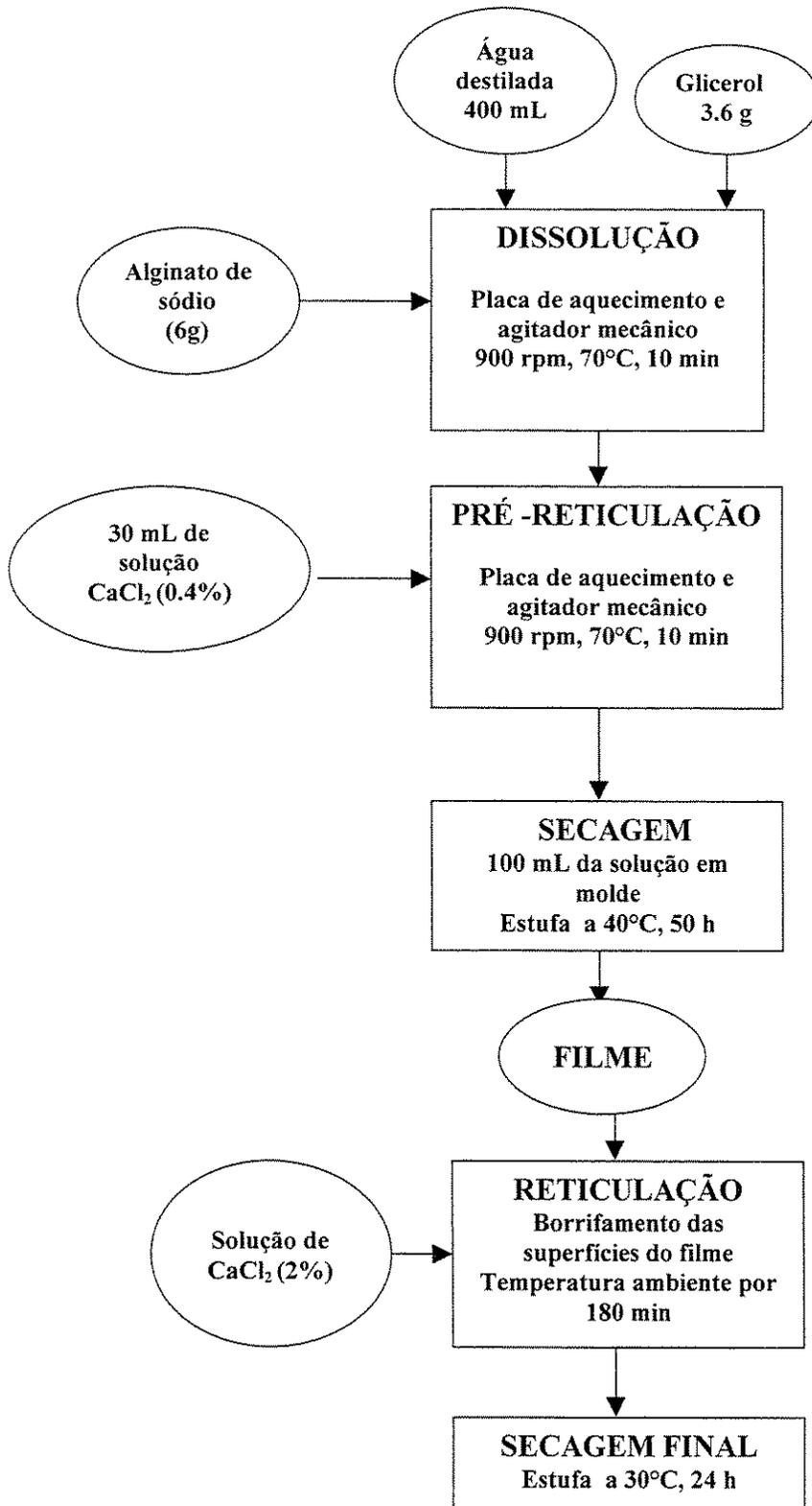


Figura 3.5. Fluxograma para preparação de filmes de alginato de cálcio sem a adição de lipídios

3.2.1.2. Filmes de alginato de cálcio contendo lipídios

A) Sem homogeneizador

Filmes contendo lipídios são preparados misturando-se duas soluções. A Solução A é a solução filmogênica preparada da mesma forma que na Seção 3.2.1.1.

A solução contendo lipídios, Solução B, é preparada em separado. Os lipídios são adicionados a 50 mL de água destilada aquecida a 70°C sob agitação magnética até garantir a fusão completa das partículas sólidas (ácidos esteárico e palmítico) ou a incorporação dos ácidos graxos líquido (ácidos butírico, capríco e caprílico).

Essa Solução B, é vertida, a 70 °C, lentamente sobre a Solução A, sob agitação contínua de no máximo 900 rpm, para evitar a formação de bolhas de ar no filme.

A mistura (A+B) recebe então 30 mL de uma solução de 0,4% de CaCl_2 , sob agitação mantendo-se a temperatura de 70°C.

Os procedimentos complementares seguem a metodologia descrita na Figura 3.5.

Após a secagem da solução filmogênica, os filmes foram submetidos ao tratamento com solução de cálcio a 2%. Foi verificado que esta é a máxima concentração de cálcio a ser utilizada, pois os filmes com lipídios ficam quebradiços, não sendo possível utilizar concentração mais alta no processo de reticulação.

Nos ensaios em que foram utilizados os ácido esteárico e palmítico, foi necessário o uso de um banho-maria com agitação lenta 100 rpm, mantendo a temperatura de 70°C durante 20 min antes da moldagem, a fim de favorecer a incorporação dos lipídios na matriz filmogênica.

A dificuldade na produção de filmes de alginato de cálcio com os ácidos esteárico e palmítico é devida à rápida solidificação desses ácidos graxos ao se reduzir a temperatura da água abaixo da temperatura de fusão dos mesmos,

provocando, inclusive, a adesão dos mesmos às paredes do béquer. A Figura 3.6 esquematiza esse procedimento através de um fluxograma.

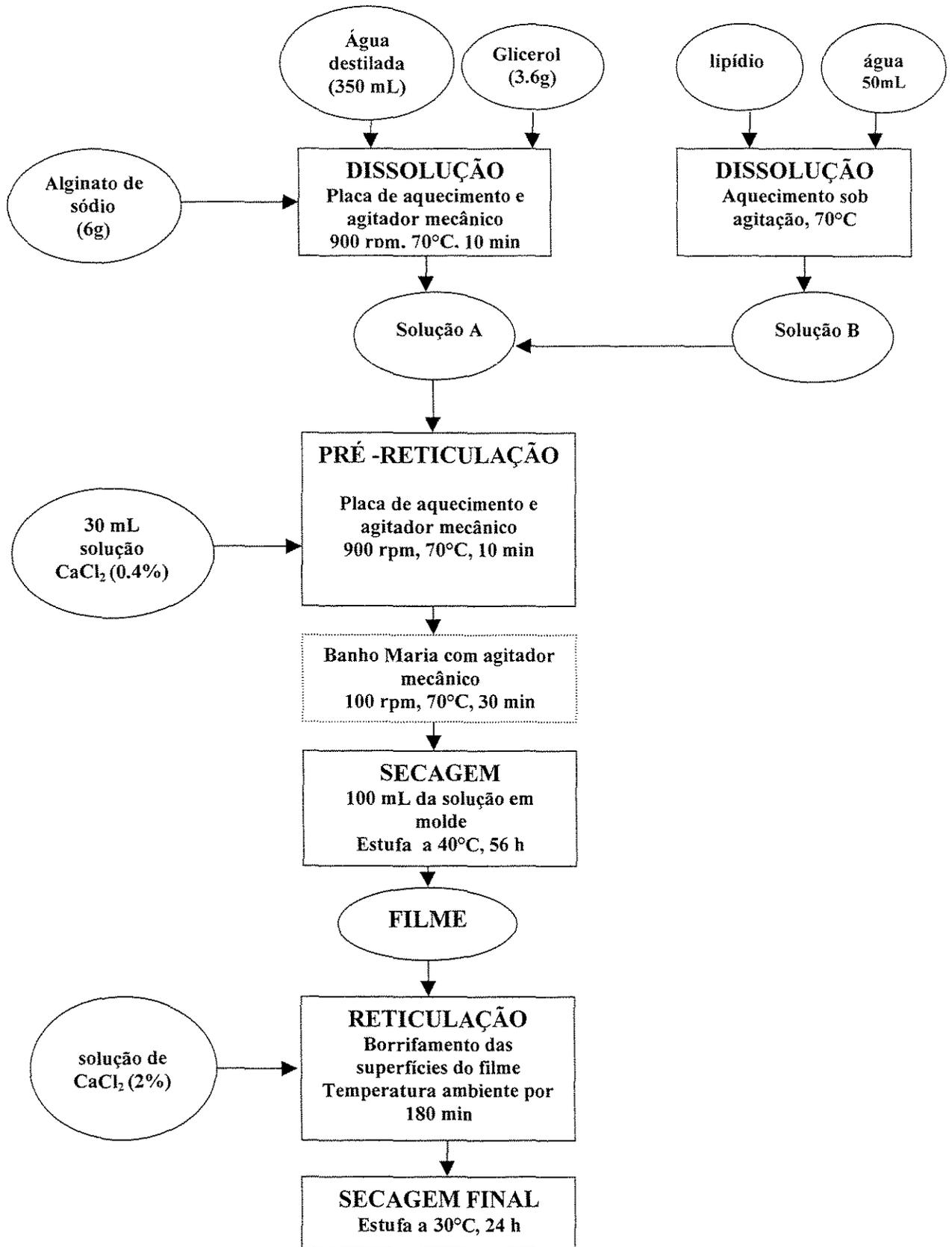


Figura 3.6. Fluxograma do processo para preparação de filmes contendo lipídios

B) com o uso de homogeneizador

A solução fílogênica, Solução A é preparada da mesma forma, como descrito anteriormente. A Solução B, contendo lipídios, é preparada separadamente adicionando o ácido graxo em água destilada a 70°C e submetida a uma emulsificação com um homogeneizador TURRAX a 6000 rpm durante 3 min até garantir a dispersão das moléculas de gordura.

Quando a triacetina é utilizada como agente tensoativo, a Solução B é preparada sem utilizar o Turrax, e a adição da mesma é feita em água quente com agitação magnética durante 2 min para favorecer a miscibilidade do lipídio e evitar a formação de espuma.

Os procedimentos complementares seguem a metodologia dos filmes de alginato de cálcio com lipídios descrita no fluxograma da Figura 3.6.

O fluxograma da Figura 3.7 detalha as temperaturas e as etapas do processo utilizadas para preparação dos filmes de alginato de cálcio com a adição de lipídio usando o homogeneizador Turrax.

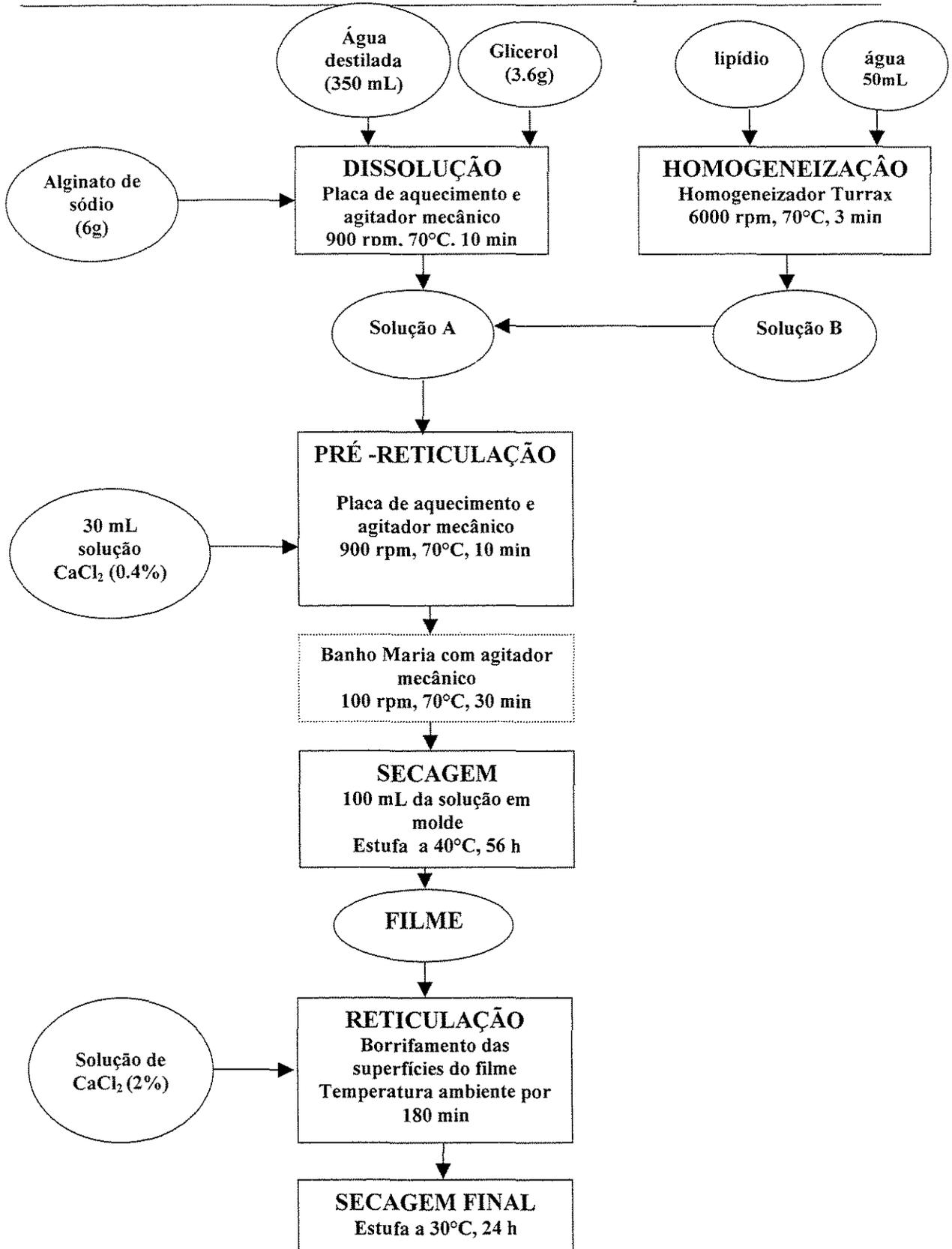


Figura 3.7. Fluxograma para preparação dos filmes com lipídios e Turrax

3.2.1.3. Filmes ativos

Filmes ativos, contendo sorbato de potássio foram confeccionados segundo os fluxogramas da Figura 3.5 (padrão, sem lipídio) ou da Figura 3.7 (com lipídio).

O sorbato de potássio (0,4 g) era adicionado à Solução A, logo após a adição de plastificante.

3.2.2. Ensaio preliminares

Ensaio preliminares, além de promover a familiarização com a metodologia de confecção de filmes, definiram a melhor forma de incorporar o ácido graxo à solução de alginato e também, a seleção do plastificante mais adequado. Três formulações foram testadas com a finalidade de obter um filme homogêneo, transparente e de fácil manuseio. Os filmes obtidos com essas formulações foram denominados de Filme A a Filme C.

Em uma segunda fase, quando se optou pelo uso do homogeneizador TURRAX e se selecionou o ácido caprílico como lipídio de maior potencial, confeccionou-se os filmes denominados de Filme D a Filme I, tendo os mesmos sido caracterizados em relação a PVA e ensaios mecânicos.

A Tabela 3.1. sintetiza a composição e a metodologia usada em cada um dos ensaios. As formulações dos Filmes C, D, e E produziram filmes de difícil manuseio, e o processo foi interrompido no final do 1º estágio.

Tabela 3.1. Metodologia e Formulações dos Ensaios Preliminares

Filme	Plastificante	Ác. graxo	Emulsificante	Fluxograma	Objetivos	Resultados
A	glicerol	-	-	Fig. 3.10	Filme de referência e familiarização com a metodologia	Concordam com a literatura
B	glicerol	C ₄ , C ₆ , C ₈ , C ₁₆ e C ₁₈	-	Fig. 3.11	Escolha de ácidos graxos adequados	C ₁₆ e C ₁₈ : filmes heterogêneos C ₄ , C ₆ e C ₈ : filmes com alta PVA
C	-	-	triacetina	Fig. 3.10	Triacetina na função de plastificante	Filmes quebradiços
D	-	C ₈	-	Fig. 3.12	Ácido caprílico na função de plastificante	Filmes quebradiços e aderidos ao molde
E	glicerol	C ₈	triacetina	Fig. 3.12	Triacetina como emulsificante/ plastificante/ componente lipídico	Filmes quebradiços e aderidos ao molde
F	sorbitol	-	-	Fig. 3.12	Substituição do glicerol	Filmes com maior solubilidade e menor resistência mecânica

Tabela 3.1. Continuação

G	sorbitol	C ₈	triacetina	Fig. 3.12	Triacetina para auxiliar a emulsificação/ plastificante/ componente lipídico	Filmes opacos
H	glicerol e/ou sorbitol	C ₈	-	Fig. 3.12	Substituição do glicerol	Alta solubilidade
I	sorbitol	C ₈	-	Fig. 3.12	Substituição do glicerol	Alta solubilidade
J	glicerol	C ₈	-	Fig. 3.12	Definição da formulação de trabalho	Filmes transparentes e manuseáveis

3.2.3. Caracterização dos filmes

3.2.3.1. Aspecto visual

Para cada tipo de filme produzido foram realizadas análises visuais e tácteis, visando identificar filmes homogêneos (avaliação quanto à presença de partículas insolúveis e coloração uniforme) que apresentassem continuidade (sem fissuras ou zonas quebradiças) e possibilitassem o manuseio (facilidade em retirar os filmes do suporte). Os filmes que não apresentaram tais características foram desconsiderados para análises posteriores. As Figuras 3.8 a) e b) apresentam fotografias de filmes de alginato de cálcio com lipídio (1,5% alginato, 0,4% CaCl₂, 0,15% ácido caprílico e 0,7% glicerol), de bom aspecto.



a)



b)

Figuras 3.8. a) e b) Filmes de alginato de cálcio, glicerol e ácido caprílico

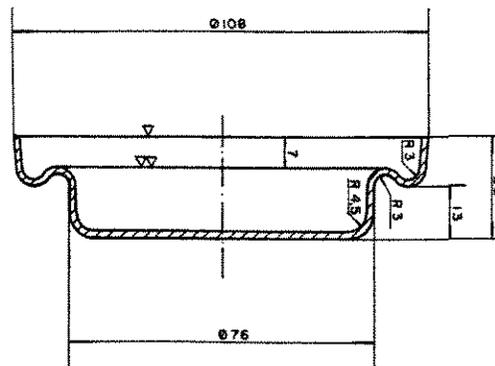
3.2.3.2. Espessura *versus* densidade de matéria seca (da solução)

Para obter uma espessura constante, determinou-se a massa de sólidos solúveis na solução para cada formulação, tendo como referência a solução filmogênica de alginato simples (sem lipídios). Desta forma, foi possível adequar a massa de solução filmogênica a ser vertida sobre os moldes para obter filmes de mesma espessura.

A espessura dos filmes foi determinada utilizando-se um micrômetro digital (resolução 0.001 mm, MITUTOYO). A espessura final foi calculada a partir da média aritmética de quinze medidas aleatórias sobre uma área circular de 80 mm de diâmetro do filme.

3.2.3.3. Permeabilidade ao vapor de água (PVA)

A permeabilidade ao vapor de água dos filmes foi determinada gravimetricamente, de acordo com o método E96-95 (ASTM, 1995), utilizando-se a célula esquematizada na Figura 3.9.



Nota: Dimensões em mm

Figura 3.9. Célula de alumínio utilizada nos testes de permeabilidade ao vapor de água (Carvalho, 2002)

O filme, de aproximadamente 80mm de diâmetro, é fixado à célula (76mm de diâmetro interno e 18 mm de altura) utilizando-se parafina. Cloreto de cálcio anidro granulado preenche o fundo da célula e a umidade relativa no seu interior é assumida como 0%. A massa do sistema é quantificada e o conjunto é transferido para um dessecador com umidade relativa de 75%. Em intervalos de 24h e durante 7dias, determina-se a massa do sistema. Em seguida, a permeabilidade ao vapor de água é calculada usando equações desenvolvidas através de balanços de massa (Carvalho, 2002).

$$PVA = \frac{M_p}{t} \frac{L}{A \cdot \Delta P} \quad [3.1]$$

Onde:

PVA é a permeabilidade ao vapor de água (g.mm/K.Pa.dia.m²)

M_p é massa de umidade absorvida (g)

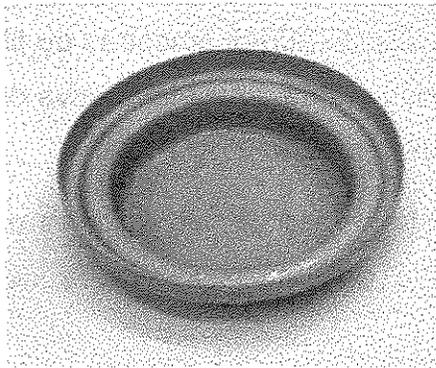
t é o tempo total do teste (dias)

L é a espessura do filme (mm)

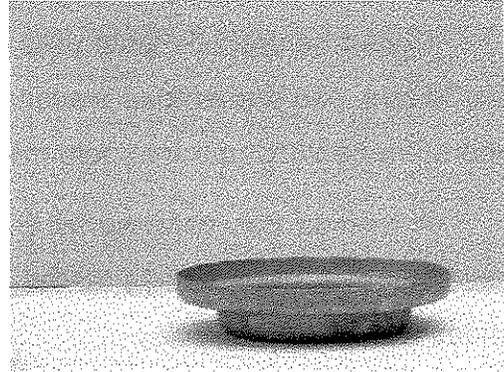
A é a área da superfície exposta do filme (m²)

ΔP é a diferença de pressão parcial através do filme.

As Figuras 3.10 a) e b) mostram fotos da célula de alumínio.



a)



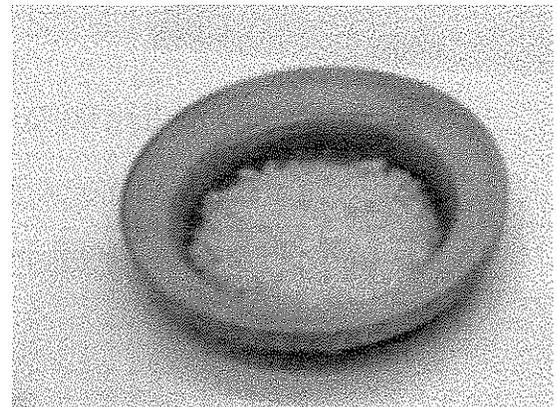
b)

Figuras 3.10. Fotos da célula de alumínio utilizada nos testes de permeabilidade ao vapor de água

As Figuras 3.11 a) e b) mostram o conjunto células de alumínio e dessecador utilizados.



a)



b)

Figuras 3.11. Fotografias do conjunto células e dessecador e célula utilizados nos testes de permeabilidade ao vapor de água

3.2.4. Resistência Mecânica

Conforme procedimento utilizado por Zactiti (2004), amostras de filmes, de 105 x 30 mm, são preparadas e acondicionadas a uma umidade relativa de 52% e temperatura de 25°C, durante pelo menos 48h.

A medida das espessuras é requerida para o cálculo da área da seção transversal e é determinada antes do início das análises através de quinze medidas aleatórias.

Para os ensaios mecânicos dos filmes, uma tira de 10,5 x 3,0 cm é fixada por duas garras, distantes inicialmente 50 mm entre si, e que se movimentavam a uma velocidade de 1mm/s em um texturômetro TA.XT2 (*Stable Microsystems SMD*), existente no Laboratório de Materiais, da FEQ/UNICAMP.

A tensão de ruptura é calculada utilizando-se a Equação [3.2], na qual a força máxima no rompimento do filme é dividida pela área da seção transversal. A alongação na ruptura foi determinada pela Equação [3.3], na qual a distância final de separação do *probe* é dividida pela distância inicial de separação e multiplicada por 100.

$$TR = \frac{F_m}{A} \quad [3.2]$$

onde:

TR = tensão na ruptura [MPa]

F_m = força máxima no momento da ruptura do filme [N]

A = área da seção transversal [m²]

$$E = \frac{d_r}{d_i} \cdot 100 \quad [3.3]$$

onde:

E = alongação [%]

d_r = distância no momento da ruptura [cm] (=diferença entre a distância de separação no momento da ruptura e a distância inicial)

d_i = distância inicial de separação [cm]

3.2.5. Solubilidade em água (SA)

Conforme procedimento adotado a massa seca inicial (m_i) de uma amostra de filme de 25,0mm de diâmetro é determinada em função de sua umidade em uma estufa mantida a 105,0°C, durante 24h (Zactiti, 2004). A amostra é imersa em 50,0mL de água destilada e o sistema é mantido sob agitação (175rpm) e temperatura de 25°C, utilizando-se um Shaker Bath Orbit (Lab-Line), durante 24h. Para a determinação da massa seca final (m_f) a amostra é submetida à secagem em estufa sob as mesmas condições descritas para obtenção da massa inicial. A matéria solúvel é calculada em função da massa dissolvida pela Equação [3.4].

$$SA = \frac{(m_i - m_f)}{m_i} \times 100 \quad [3.4]$$

3.2.6. Grau de intumescimento (GI)

O grau de intumescimento dos filmes foi determinado conforme metodologia já utilizada (Zactiti, 2004).

A massa inicial de uma amostra de filme de 2,5 cm de diâmetro foi quantificada e imersa em água destilada durante diferentes períodos de tempo. O excesso de umidade na superfície das amostras foi retirado, utilizando-se papel de filtro, antes de cada pesagem, tomando o cuidado para não alterar a estrutura do filme com o possível esmagamento. O GI foi calculado em função da água absorvida conforme a Equação [3.5],

$$GI = \left(\frac{m_u - m_i}{m_u} \right) \times 100 \quad [3.5]$$

Onde:

GI é o grau de intumescimento

m_u é a massa úmida do filme (g)

m_i é a massa inicial do filme (g)

3.2.7. Difusão do sorbato de potássio

A difusão do sorbato de potássio no filme foi avaliada por meio dos ensaios de liberação controlada em água. Os ensaios de liberação foram realizados utilizando-se amostras de filmes de alginato de cálcio com e sem lipídios contendo sorbato de potássio, de dimensões 4 x 4 cm (massa média de 0,1800 g).

Água destilada à temperatura ambiente foi utilizada como sorvedouro para liberação. As amostras dos filmes foram imersas em copos de plástico contendo 25 mL de água destilada e dispostas em um *shaker* a 125 rpm, por intervalos de tempo de 5, 15, 25, 35, 45, 55, 85, 145, 235, 355, 655, 1255, 2155, 3355 e 4855 segundos. Nesses tempos fixados, as amostras eram rapidamente transferidas de um copo para outro até o período de tempo total.

A concentração de sorbato na solução foi determinada por espectrofotometria.

A massa de sorbato liberada no tempo t (M_t) e os valores de sorbato liberado (M_t/M_∞) foram calculados e plotados em função do tempo. A quantidade de sorbato que poderia ser liberada em um tempo infinito (M_∞) foi considerada como a massa total difundida para a água em um tempo a partir do qual não houve mais variação detectável de concentração.

O valor da difusividade foi determinado por meio do ajuste dos dados experimentais à Equação [3.6], durante o período de tempo total de 4855 s.

$$\frac{M_t}{M_\infty} = 1 - \frac{8}{\pi^2} \sum_{n=0}^{\infty} \frac{1}{(2n+1)^2} \exp\left[-\left(2n+1\right)^2 \frac{\pi^2 D}{L^2} t\right] \quad [3.6.]$$

Onde;

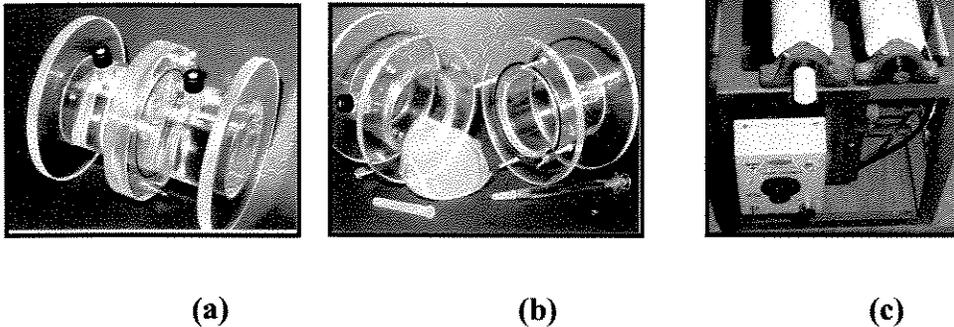
L é a média entre a espessura inicial e final do filme

3.2.8. Permeabilidade do sorbato de potássio

Para a determinação da permeabilidade do sorbato de potássio, foi utilizada a célula de diafragma de vidro sinterizado (Cussler, 1997) adaptada para

medir a permeabilidade através do filme de alginato de cálcio (Zhang e Franco, 1999).

A célula (Figuras 3.12 a) e b)) foi construída em acrílico, com duas câmaras cilíndricas (capacidade de aproximadamente 111 mL e dimensões: 5,4 cm de diâmetro interno e 5,0 cm de comprimento), justapostas horizontalmente mantendo-se o filme de alginato de cálcio hermeticamente selado entre elas. O líquido é continuamente agitado através da rotação da célula, utilizando-se o sistema da Figura 3.12 c), com possibilidade de amostragem durante o período de ensaio.



Figuras 3.12. a), b) e c) Célula de difusão (a) e (b) e sistema de agitação (c)

Os ensaios para a determinação da permeabilidade foram realizados à temperatura ambiente. Um compartimento da célula continha água destilada e o outro compartimento, solução de sorbato de potássio à concentração de 150 mg/L, g de sorbato/g de alginato.

Foram retiradas amostras de 1 mL dos dois compartimentos, em intervalos de 24 h, durante 7 dias. A variação de concentração foi correlacionada com o tempo e volume das câmaras, fornecendo a permeabilidade, segundo a Equação [3.7], onde o índice “0” significa condições iniciais (Cussler, 1997).

$$\ln\left(\frac{c_A - c_B}{c_{A0} - c_{B0}}\right) = -\frac{P}{L}A\left(\frac{1}{V_A} + \frac{1}{V_B}\right)(t - t_0) \quad [3.7]$$

Onde:

c é a concentração do soluto nas câmaras A e B, mg/L

P é a permeabilidade do filme, cm^2/s

L é a espessura final média do filme, cm

A é a área onde ocorre a difusão, cm^2

V_A e V_B são os volumes de líquido nas câmaras A e B, cm^3

t é o tempo, s

A permeabilidade é calculada após uma linearização da Equação [3.7], elevando-se em conta a diminuição de V_A e de V_B após cada amostragem.

Para a obtenção da espessura final média de cada filme, foram feitas dez medidas aleatórias ao final de 7 dias de ensaio de permeabilidade, após a secagem do excesso de água sobre o filme.

3.2.9. Concentração de sorbato

Para a determinação da concentração de sorbato de potássio foi utilizado um espectrofotômetro (HP, modelo 8453, EUA), equipado com controlador de temperatura HP 89090A e software *UV-Visible ChemStation*. Foi obtida uma curva de calibração utilizando padrões de concentração de sorbato de potássio (os valores e a curva estão apresentados no Anexo C). Foi considerada a faixa onde a Lei de Beer é aplicável, ou seja, faixa em que a concentração é diretamente proporcional à absorbância. A partir da obtenção da curva de calibração, é possível determinar as concentrações obtidas nos ensaios de permeabilidade e também as obtidas nos ensaios de liberação.

3.2.10. Microscopia Óptica

O Microscópio óptico utilizado pertence ao Laboratório de Uso Comum da FEQ/UNICAMP, é da marca Cole Parmer, modelo Vernon Hills, USA, acoplado ao computador, possibilita aumento de até 40x.

Os filmes foram armazenados em dessecador a temperatura ambiente e umidade relativa de 52%, por 7 dias antes das análises.

3.2.11. Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)

O estudo da micro-estrutura do biofilme foi feita por meio da microscopia eletrônica de varredura.

Por meio desta técnica é possível obter informações sobre a superfície dos biofilmes e também da qualidade da emulsão no interior do filme (microscopia após crio-fratura da amostra).

O Microscópio utilizado pertence ao Laboratório de Recursos Analíticos e de Calibração da FEQ/UNICAMP, é da marca LEO, modelo LEO440i.

Os filmes foram armazenados em dessecador à vácuo e temperatura ambiente, com umidade relativa de 0% durante pelo o menos 7 dias após os quais foram fraturados. Foram realizadas observações na superfície dos filmes e também em seu interior (após a fratura dos mesmos).

As amostras foram fixadas em suportes (*stubs*) de alumínio, com fita condutiva de cobre. Após este período, as amostras foram recobertas com ouro a 25°C por 180s, no equipamento metalizador da marca POLARON, modelo SC7620 sputter coater.

CAPÍTULO 4

RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1. Caracterização do alginato

A espectroscopia de ressonância magnética nuclear de próton 500 MHz, foi realizada no Laboratório de Química Analítica, do Instituto de Química / UNICAMP, usando o NMP Inova – 500, para a caracterização de alginato de sódio (Synth). A dissolução da amostra foi feita em água deuterada (para evitar os traços de cátions bivalentes provenientes da interação com o ácido gulurônico) e as condições de análise estão descritas nos espectros que seguem. Os resultados obtidos estão apresentados no anexo E, na Tabela E.1 e nas Figuras 4.1 (a), (b), e (c).

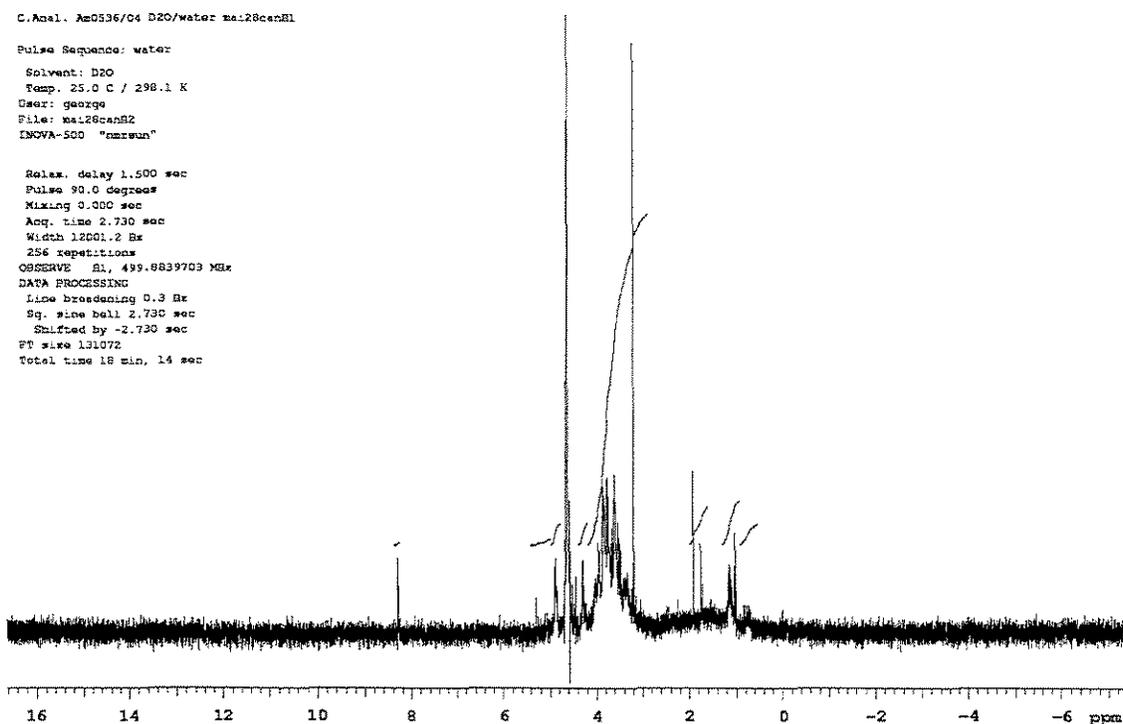


Figura 4.1. (a) Espectro ^1H -n.m.r de alginato de sódio no intervalo total (de 16 até -6 ppm).

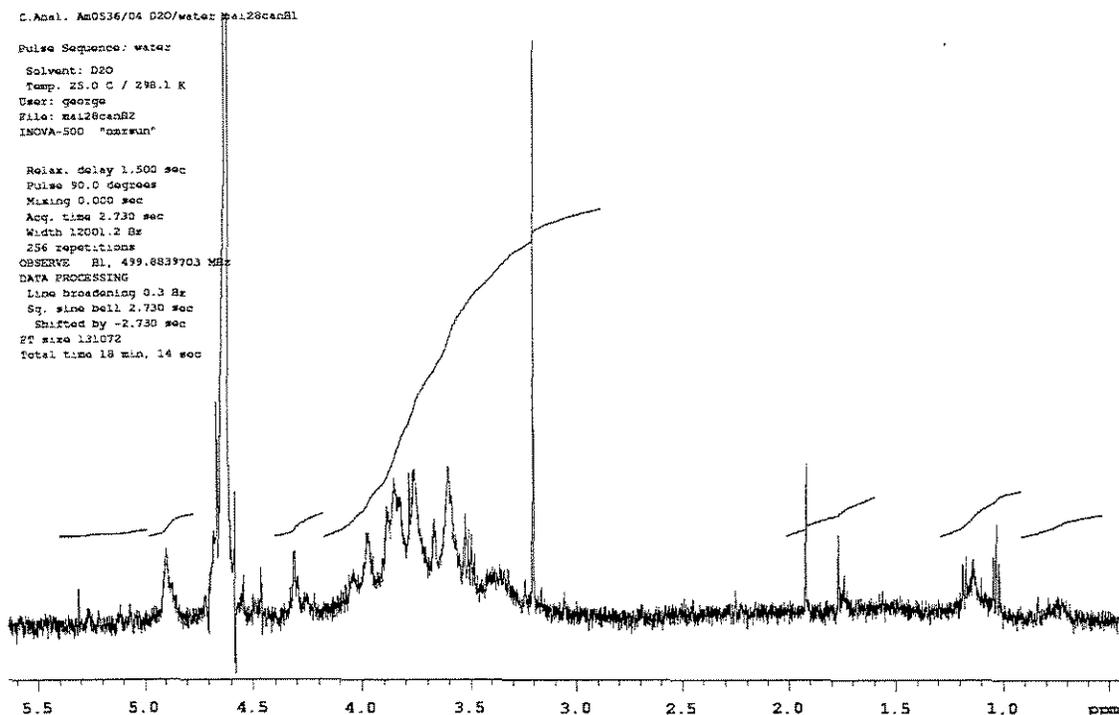


Figura 4.1. (b) Espectro ^1H - n.m.r de alginato de sódio no intervalo de 5,5 até 1 ppm.

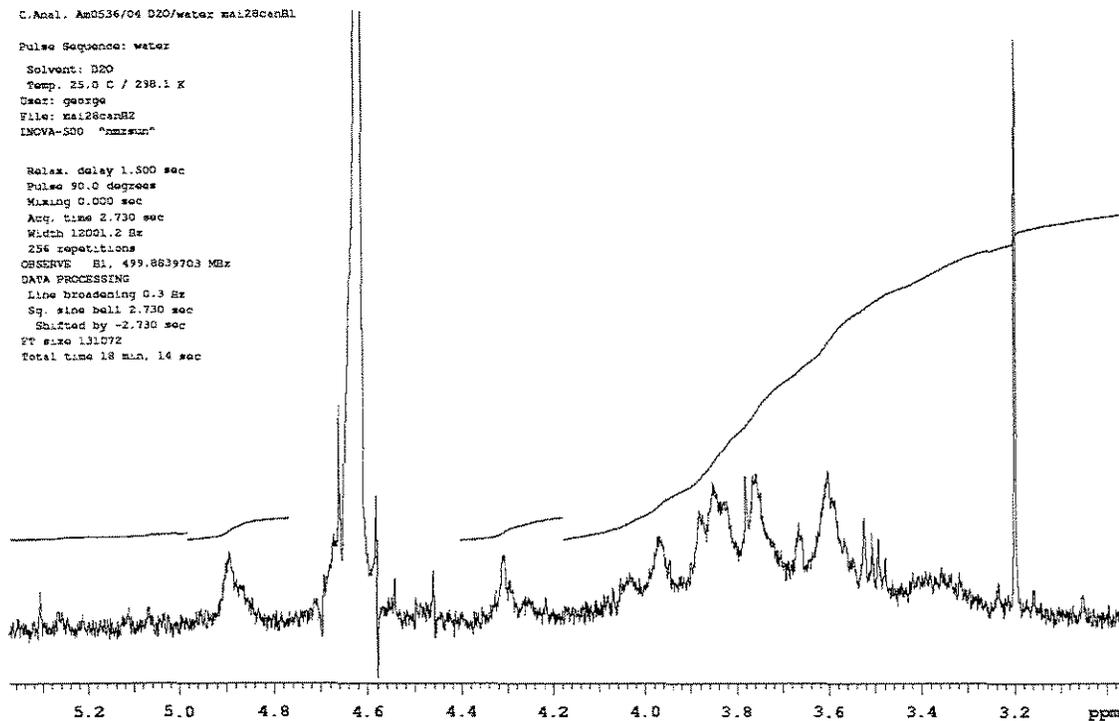


Figura 4.1. (c) Espectro ^1H - n.m.r de alginato de sódio no intervalo de 5,2 até 3,2 ppm.

A interpretação dos espectros avaliando os picos obtidos para a região compreendida entre 5,05 e 4,45, mostrou o maior pico em 4,62 ppm com maior fração de blocos M, conforme Figuras 4.1 b) e c). A alga *Laminaria Hyperborea* é caracterizada pela predominância de G (0,70) e a *Macrocystis Pyrifera* por blocos M (0,62). Portanto, a amostra de alginato analisada é da alga *Macrocystis Pyrifera* apresentando M (0,58) e G (0,42).

Os valores das frações F_G , F_{GG} , F_M , F_{GM} , F_{MM} e F_{MG} apresentados na Tabela 4.1 foram calculados a partir das Equações [2.10] a [2.14].

Tabela 4.1. Espectro de ^1H - n.m.r do alginato de sódio

Frações e composição					
F_M	F_G	F_{MM}	F_{MG}	F_{GM}	F_{GG}
0,58	0,42	0,57	0,02	0,02	0,40

$F_{GM}=F_{MG}$ (cadeias longas com $dp > 20$)

Uma comparação com os valores das frações equivalentes do alginato de sódio de baixa viscosidade da Sigma apresentados na Tabela 2.4, indica uma semelhança que permite confirmar que o produto utilizado nessa pesquisa é proveniente da alga *Macrocystis Pyrifera*.

4.2. Ensaio preliminares

Os ensaios preliminares visavam estabelecer a metodologia de fabricação de um filme homogêneo (transparente) e um filme emulsionado contendo lipídios, para então, no decorrer da pesquisa, poder-se caracterizar e comparar esses dois filmes com o filme sem lipídio, com relação a PVA e liberação de agentes antimicóticos.

Os filmes de alginato de cálcio simples (Filme A) foram preparados conforme metodologia já desenvolvida (ZACTITI, 2004). A familiarização com a técnica de confecção dos filmes sem lipídios foi rápida.

Os valores de PVA, resistência mecânica e solubilidade em água dos filmes obtidos está apresentado na Tabela 4.2. Nesta mesma Tabela 4.2, estão apresentados os resultados obtidos para os filmes confeccionados com alginato fornecido pela SIGMA (Zactiti, 2004).

Tabela 4.2. Resultados de permeabilidade, resistência à tração, alongação e solubilidade dos filmes sem ácido caprílico

Ensaio	Neste trabalho	Zactiti (2004)
Permeabilidade	11,50 ± 0,62 g.mm/KPa.dia.m ²	11,18 ± 0,21 g.mm/KPa.dia.m ²
Resistência à tração	103,46 ± 9,91 MPa	85,67 ± 7,75 MPa
Elongação	4,44 ± 0,50%	4,08 ± 0,76%
Solubilidade	4,33 ± 0,10%	4,74 ± 0,87%

Uma comparação entre os valores obtidos nas duas pesquisas indica que não existe diferença significativa entre os mesmos e que as duas fontes de alginato tem um potencial de estruturação equivalente.

As dificuldades começaram a surgir quando os ácidos graxos foram incorporados ao processo (Filmes B – I).

Inicialmente foram realizados vários ensaios visando a incorporação de lipídios (ácido esteárico, ácido palmítico e blenda dos ácidos) com diferentes formulações e envolvendo a confecção de filme. Além das diversas concentrações de plastificante, lipídios e alginato testadas, também foi avaliada a influência do modo de incorporação dos lipídios na mistura, para a obtenção de um filme de alginato de boa aparência e com baixa PVA. Primeiramente, adicionou-se o ácido graxo (ácidos palmítico ou esteárico) diretamente à solução de alginato e plastificante e a 70°C, sob agitação contínua, mas as duas fases permaneciam imiscíveis. Foram então avaliadas duas outras formas de adição do lipídio à solução filmogênica. Na primeira delas, foi preparada a Solução A (lipídio e água

destilada a 70°C) a ser adicionada à Solução B (alginato, água destilada a 70°C e plastificante). Na segunda forma, a Solução B foi adicionada à Solução A.

Porém, as tentativas de usar os ácidos palmítico e esteárico para a obtenção de um filme de alginato composto de boa qualidade foram infrutíferas, pois não se dispunha de equipamento adequado para garantir a formação de emulsões. Os filmes não tinham boa aparência com visível formação de duas fases com exsudação de aspecto oleoso. Esse mesmo problema foi encontrado trabalhando com metilcelulose e parafinas (Debeaufort, Voilley, 1995).

Apesar desse inconveniente, a PVA dos filmes com 15% de blenda de ácido esteárico e palmítico, com espessura constante (0,089-0,1 mm), apresentou valores baixos (4,45 g.mm/KPa.dia.m²). Valores de PVA das outras composições estão apresentados no Anexo A.

A microscopia óptica comprovou a heterogeneidade da emulsão (grande dispersão de tamanho de gotas da fase lipídica, e formação de agregados irregularmente dispersos). Considerando que a otimização do processo de fabricação destes filmes emulsionados exigiria, além de um homogeneizador mais potente, um estudo detalhado de emulsificantes e temperaturas de operação, optou-se por limitar a pesquisa na comparação de filmes transparentes, com e sem lipídios.

Baseando-se no estudo de Pommet *et al.* (2003), foram ensaiados os ácidos graxos de cadeia carbônica de menor tamanho, a saber, o ácido butírico (C4), o ácido capróico (C6) e o ácido caprílico (C8). Os ensaios preliminares com estes ácidos menores, produziu filmes de boa aparência, porém com um aumento da PVA (18,24 g.mm/KPa.dia.m²) mantida a espessura constante. Os valores de PVA também constam no Anexo A.

Foram então, realizados ensaios com a triacetina, para auxiliar na emulsificação. A ação emulsificante contribuiu para uma redução da PVA do filme e também da solubilidade em água. A adição da triacetina, porém, resultou num aumento da opacidade (emulsificação) dos filmes (análise visual) e diminuição da tensão de ruptura do filme com a adição do ácido graxo.

Esse resultado indica que, dentro dos limites de concentração, o ácido caprílico sozinho tem uma compatibilidade adequada com o alginato, e se mantém solubilizado na fase aquosa. A ação emulsificante da triacetina reduz o nível de energia livre para a formação de uma segunda fase, e a emulsão formada (ver Figura 4.7). Valores de PVA e de resistência mecânica estão apresentados no Anexo A.

Com os conhecimentos adquiridos, decidiu-se concentrar a pesquisa no ácido caprílico (C8), pois os ácidos butírico e capróico eram de difícil manuseio, e exalando forte cheiro (odor rançoso), e partir desta etapa da pesquisa, realizar a homogeneização da Solução B com o homogeneizador TURRAX (Filmes D-I). Também foi avaliada a possibilidade de utilizar a triacetina visando uma melhor incorporação do lipídio.

Ao estudar filmes de alginato, foi observado que os filmes preparados com sorbitol apresentaram menor permeabilidade ao vapor de água do que os preparados com glicerol (Parris *et al.*, 1995). Decidiu-se, então, investigar a possibilidade de utilizar o sorbitol como plastificante, visando obter um filme de alginato com lipídios que apresentasse baixa permeabilidade ao vapor de água, sem comprometimento da aparência, da resistência mecânica e da solubilidade em água (Filmes F-I).

A homogeneidade do filme produzido com sorbitol e ácido caprílico foi confirmada com a microscopia óptica e depois por meio da microscopia eletrônica de varredura da superfície e também do interior do filme (fratura do filme).

A possibilidade de substituir o glicerol pelo sorbitol como plastificante, foi descartada com bastante critério, depois de confirmada a sua atuação positiva na propriedade de barreira ao vapor d'água. Este comportamento é esperado já que a temperatura de transição vítrea do sorbitol é -2°C e a do glicerol é de 32°C . A solubilidade em água dos filmes formulados com sorbitol, entretanto, aumentou consideravelmente quando comparados aos filmes preparados com glicerol nas mesmas condições (de 4% para 13%), mesmo nos ensaios com o sorbitol combinado com o glicerol.

A utilização de glicerol como plastificante se mostrou vantajosa, porque, em menor concentração, resulta em um filme com características similares ao filme produzido com sorbitol, porém sem o comprometimento da solubilidade do filme em água. Para produzir biofilmes de alginato de adequada resistência mecânica utilizando o sorbitol como plastificante, seria recomendável uma concentração maior do que 0,9% enquanto que com o glicerol o teor mínimo foi de 0,4%. O valor da concentração de agente de reticulação também deve ser maior do que 2% para não afetar a solubilidade do filme em água.

Assim, definida a forma mais adequada de incorporação do ácido caprílico ao filme de alginato de cálcio, através da sua homogeneização em solução a 70°C e utilizando-se o glicerol como plastificante, foram realizados os ensaios para avaliar o teor máximo possível de lipídio a ser adicionado ao filme. A concentração máxima possível de ácido caprílico adicionada à solução filmogênica para produzir filmes com boa aparência e com redução de PVA, sem alterar significativamente a resistência mecânica dos mesmos foi de 10% em relação a massa de alginato.

O filme de alginato de melhor aparência visual e manuseabilidade foi o formulado com o teor de 5% de ácido caprílico. O filme com 10% de ácido caprílico mostrou maior proteção contra a transferência de umidade.

As três composições básicas de solução filmogênica para a confecção dos filmes avaliados neste estudo estão apresentadas na Tabela 4.3.

O filme obtido no 1º estágio foi reticulado com uma solução 2% de CaCl_2 . Os filmes com 20% de ácido caprílico (denominados Filmes 20%) mostraram-se emulsionados. Comportamento semelhante foi observado que em filmes de gelatina, ao observar um aumento na opacidade dos filmes de gelatina proporcional à concentração de ácidos graxos (YANG e PAULSON, 2000b). Alguns resultados obtidos com Filme 20% também são apresentados, para efeito de comparação.

Tabela 4.3. Composições básicas da solução filmogênica para a confecção dos filmes avaliados neste estudo

Filme	Solução A			Solução B
	Alginato de sódio (%) ¹	CaCl ₂ (%) ²	Glicerol (%) ²	Ácido caprílico (%) ²
Padrão	1,5	2	60	0
Filme 5%	1,5	2	60	5
Filme 10%	1,5	2	60	10

¹. % em relação à solução A

². % em relação à solução B

4.3. CARACTERIZAÇÃO DOS FILMES

4.3.1. Microscopia Óptica

4.3.1.1. Microscopia óptica de filmes de alginato utilizando glicerol

Foram obtidas imagens fotográficas através do Microscópio (Cole Parmer, modelo *Vernon Hills*, USA), com ampliação máxima de 40X, para facilitar a seleção preliminar de filmes. Foram avaliadas a superfície dos filmes de alginato de cálcio e glicerol simples (sem a incorporação de lipídios) e a superfície dos filmes de alginato de cálcio e glicerol emulsificados (incorporados com ácido esteárico e palmítico na concentração de 10%).

Inicialmente foi avaliada a superfície do filme de alginato simples e a imagem fotográfica está apresentada na Figura 4.2. Observa-se que a superfície do filme é homogênea.

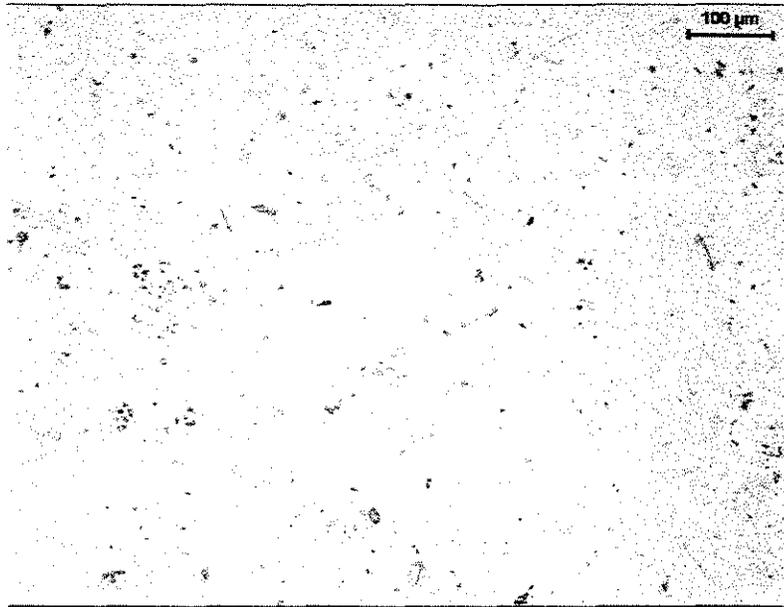


Figura 4.2. Filme de alginato e glicerol simples (sem lipídios)

Micrografias da superfície de filmes de alginato emulsificados de ácidos esteárico e palmítico, estão apresentados nas Figuras 4.3 e 4.4 respectivamente.

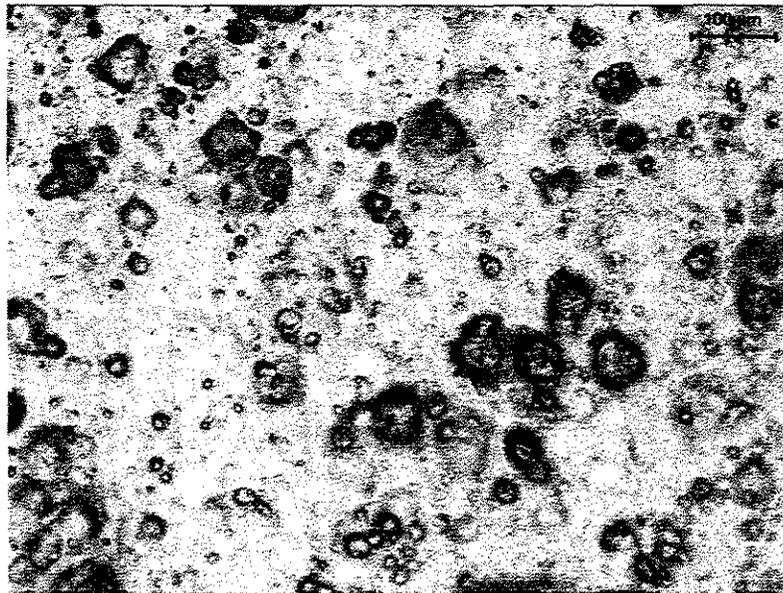


Figura 4.3. Filme de alginato, glicerol e ácido esteárico (10% em relação ao alginato)

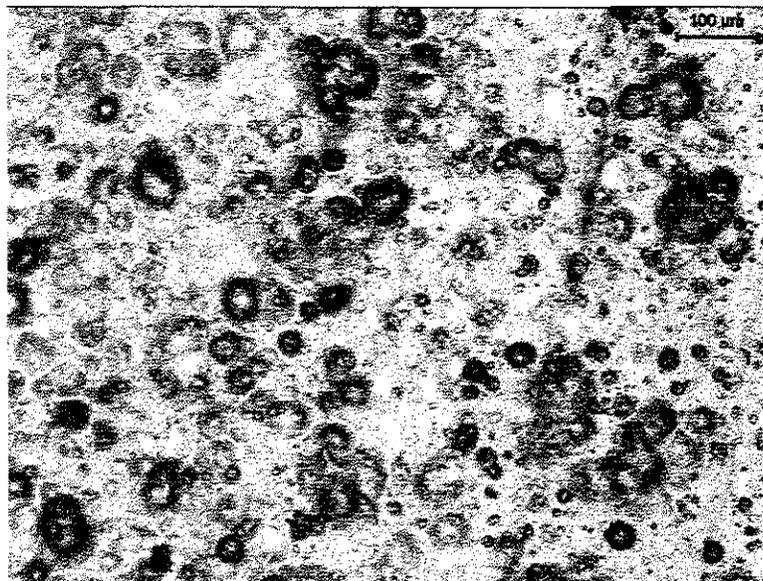


Figura 4.4. Filme de alginato, glicerol e ácido palmítico (10% em relação ao alginato)

As superfícies dos filmes de alginato compostos com ácidos palmítico e esteárico apresentam glóbulos de lipídios em destaque. Esses glóbulos tem diâmetros variáveis, alguns deles estão isolados, mas a maioria forma agregados irregulares. A distribuição dos glóbulos de ácido palmítico aparenta ser mais uniforme do que a do ácido esteárico. Fotografia obtida de filmes de alginato formulados com 10% de ácido caprílico, pode ser visualizado nas Figura 4.5.

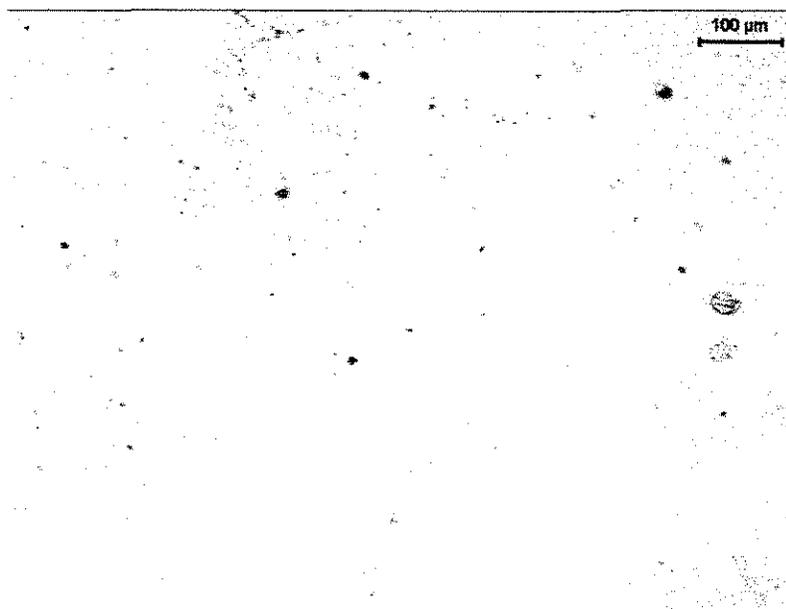


Figura 4.5. Filme de alginato e glicerol com ácido caprílico (10% em relação ao alginato)

Confirmando a prévia análise visual, o filme mostra-se praticamente homogêneo e portanto com boa incorporação dos lipídios na matriz. As microfotografias de filmes com 5% de ácido caprílico não apresentaram heterogeneidades.

4.3.1.2. Microscopia óptica de filmes de alginato utilizando sorbitol

Os filmes de alginato simples (sem lipídios) e filmes com ácido caprílico, utilizando sorbitol como plastificante, também foram avaliados preliminarmente por meio da microscopia óptica. O filme de alginato e sorbitol simples (sem a adição de lipídio) pode ser visualizado na Figura 4.6 e assim como os de glicerol (Fig.4.2) indicam uma perfeita uniformização dos compostos.

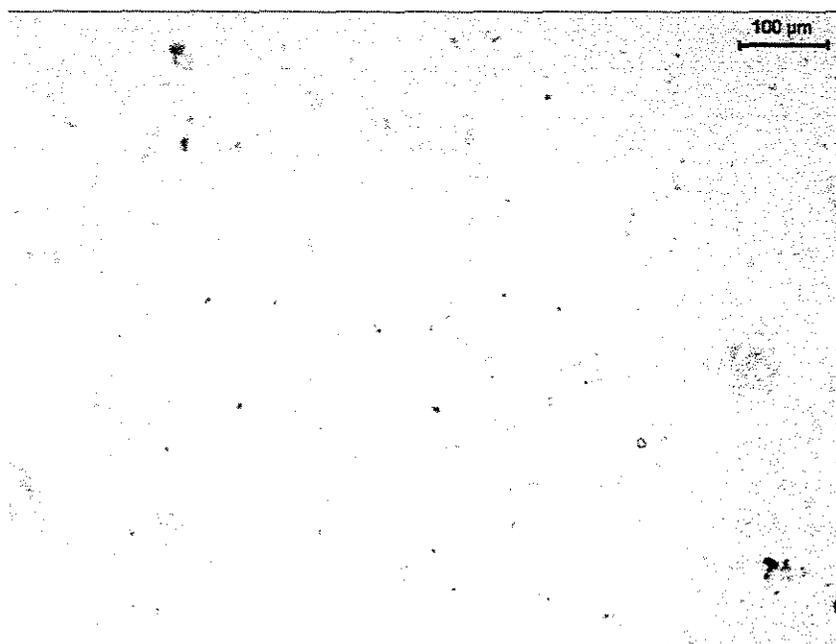


Figura 4.6. Filme de alginato e sorbitol simples (sem lipídio)

O filme de alginato e sorbitol emulsificado com ácido caprílico e triacetina pode ser visualizado na Figura 4.7. O resultado contrasta com o equivalente que usa glicerol (Fig.4.6), pois a triacetina, um tensoativo de baixa atividade, consegue emulsificar o sistema.

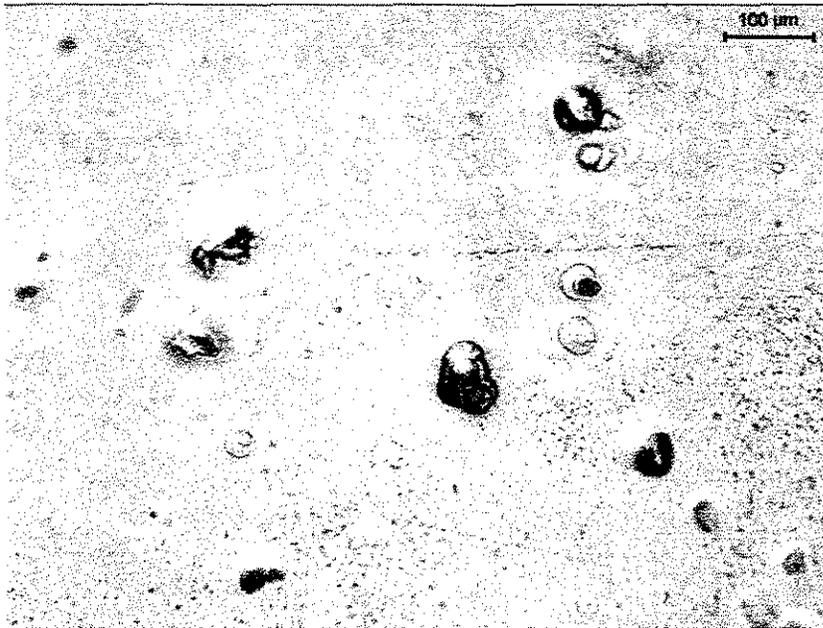


Figura 4.7. Filme de alginato emulsificado e sorbitol com ácido caprílico e triacetina

4.3.1.3 Microscopia óptica de filmes de alginato utilizando glicerol e sorbitol

Os filmes de alginato simples e emulsificados com ácido caprílico e triacetina, utilizando sorbitol e glicerol como plastificantes, nas concentrações de 60% e 10% respectivamente, podem ser visualizados na Figura 4.8. Observa-se que a presença de glicerol amenizou o volume de formação de uma fase lipídica.

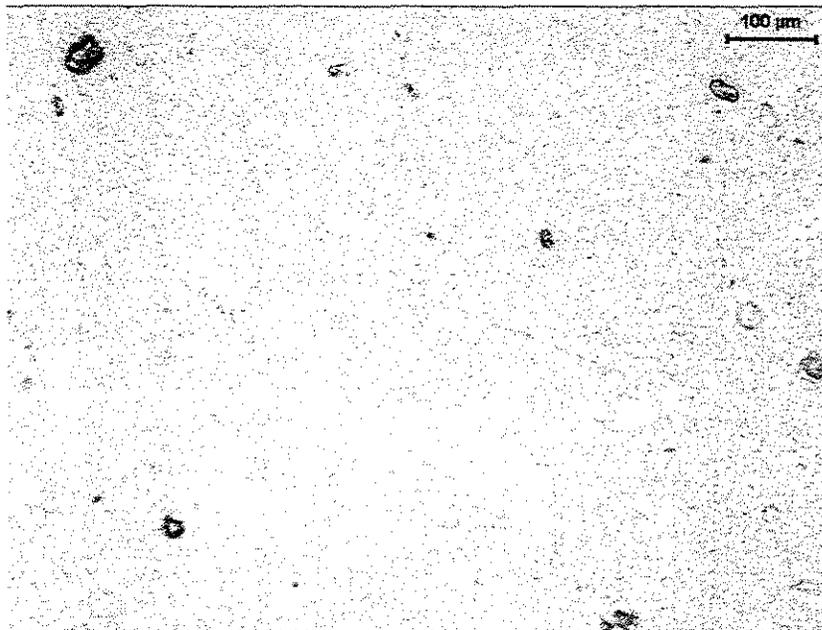


Figura 4.8. Filme de alginato, sorbitol e glicerol emulsificado com ácido caprílico e triacetina

4.3.2. Microscopia eletrônica de varredura (MEV)

4.3.2.1. Microscopia eletrônica de varredura para filmes de alginato com glicerol

A microscopia eletrônica de varredura, tanto da superfície como de criofraturas, foi utilizada para auxiliar a interpretar a estrutura do filme. A superfície do lado do filme que não esteve em contato com a placa durante o processo de secagem era examinado, pois há uma tendência de o mesmo se apresentar mais heterogêneo pela presença de lipídios, menos densos que tendem a migrar para a parte superior (Kamper e Fennema, 1984).

As Figuras 4.9 e 4.10 apresentam micrografias eletrônicas de filmes confeccionados sem lipídios. Observa-se que a estrutura é perfeitamente homogênea. A superfície apresenta-se com pequenas irregularidades (Fig.4.9) e o interior é uniformemente estriado. (Fig.4.10).

Micrografias de filmes com conteúdo crescente de ácido caprílico estão apresentadas nas Figuras 4.12 a 4.16. As micrografias mostram a presença de glóbulos de ácido caprílico concentrados na superfície superior do filme, mas uma estrutura interna (corte) estriada, semelhante a do filme sem lipídio (Figura 4.10). Se os diferentes graus de ampliação forem considerados, pode-se concluir que, o número e tamanho dos glóbulos tende a aumentar com o número da quantidade de lipídio adicionado (a exceção da grande deformidade captada na Figura 4.14). Os Filmes 20% (Figura 4.15 e Figura 4.16) deixam evidente a presença de uma camada de glóbulos junto à superfície superior que justificam o descarte deste tipo de filme. Outro detalhe que deve ser considerado, é que nos filmes com glicerol a fase lipídica promove uma depressão na superfície, e o glóbulo fica, preferencialmente, ocluído dentro do mesmo.

Infelizmente, as micrografias dos filmes de 5% e de 10% de ácido caprílico não confirmam o excelente aspecto visual do filme, feito a olho nú, e não se pode descartar a existência de alguns glóbulos de lipídios que migram para a superfície superior.

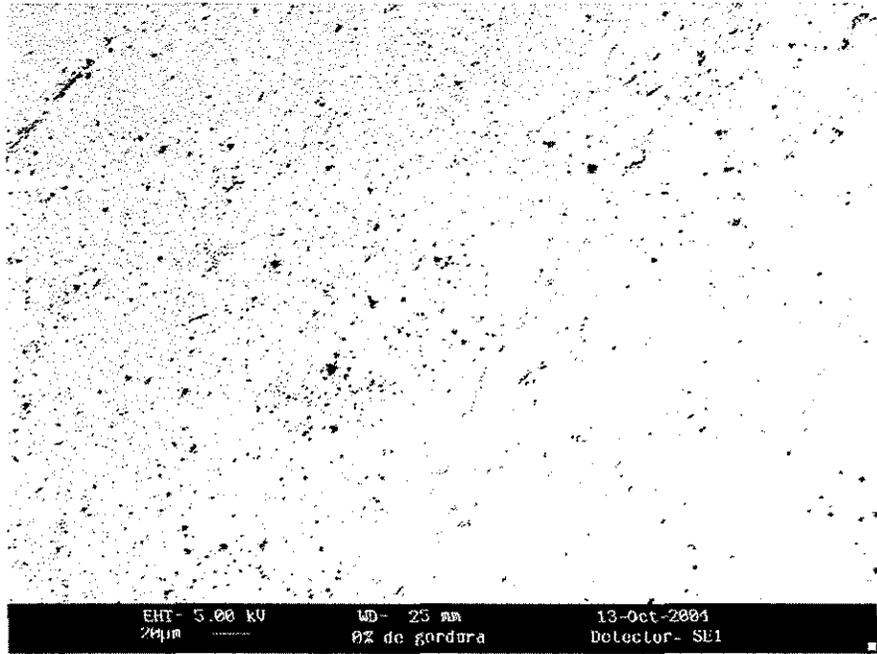


Figura 4.9. Superfície do filme de alginato com glicerol (2000X)

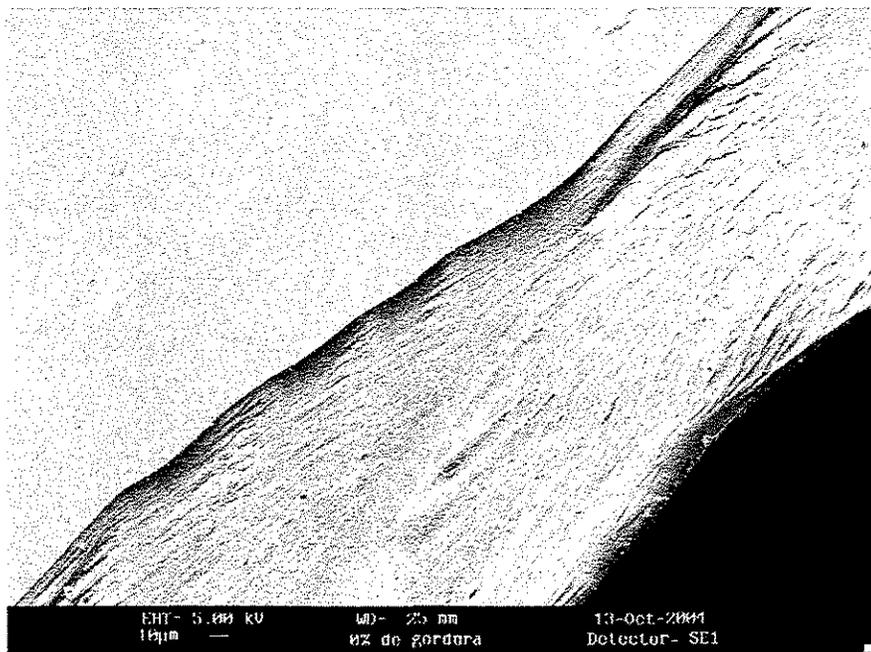


Figura 4.10. Crio-fratura do filme de alginato com glicerol (2000X)

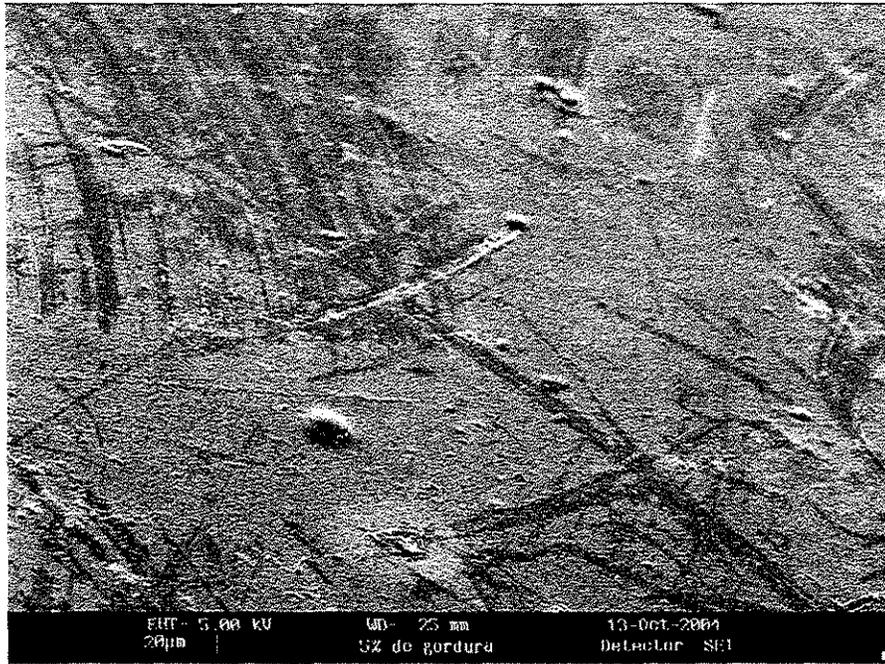


Figura 4.11. Superfície do filme de alginato com glicerol e ácido caprílico (Filme 5%) (1000X)

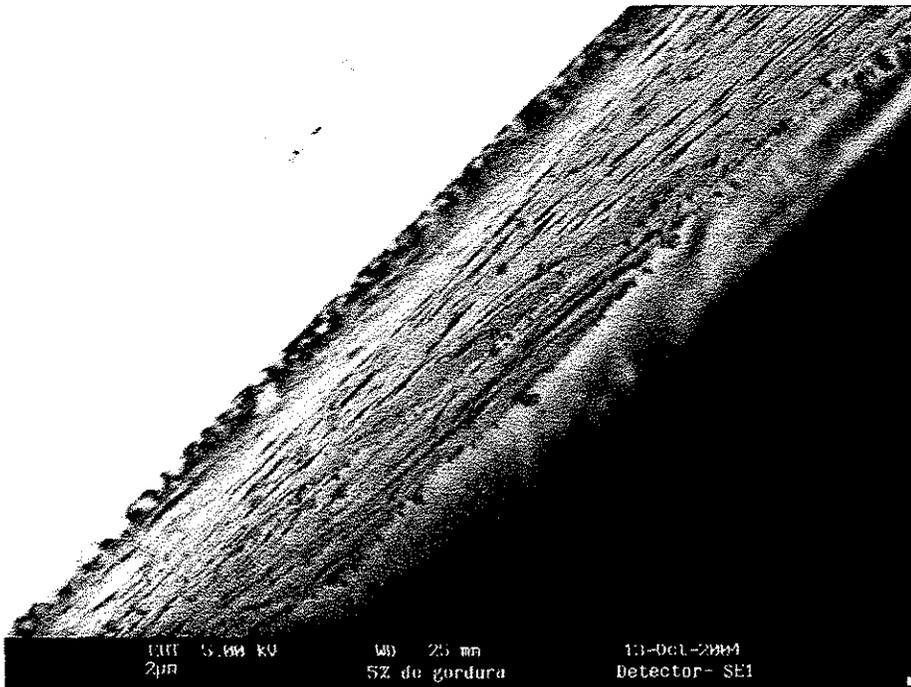


Figura 4.12. Crio-fratura do filme de alginato com glicerol e ácido caprílico (Filme 5%) (5000X)

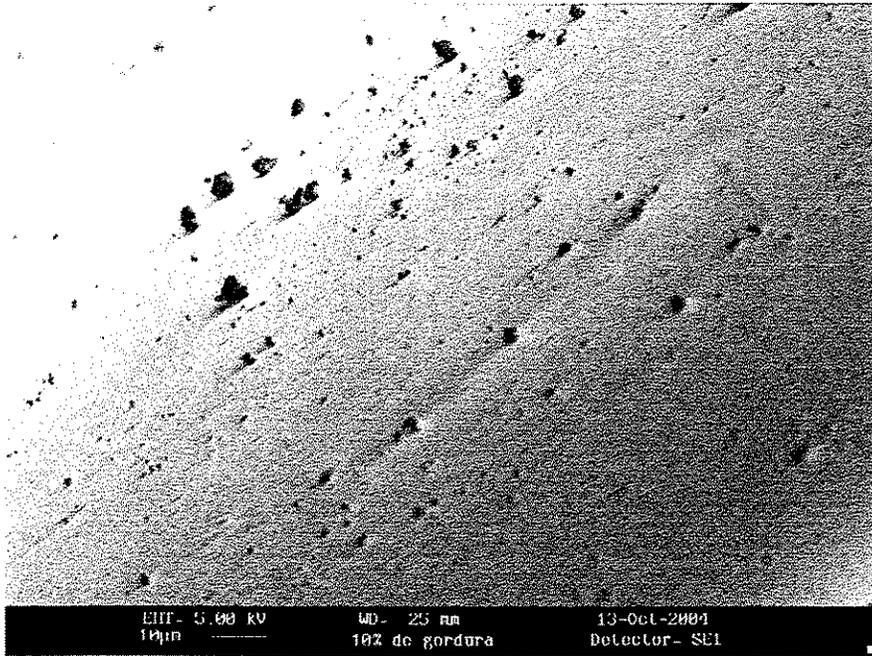


Figura 4.13. Superfície do filme de alginato com glicerol e ácido caprílico (Filme 10%) (2000X)

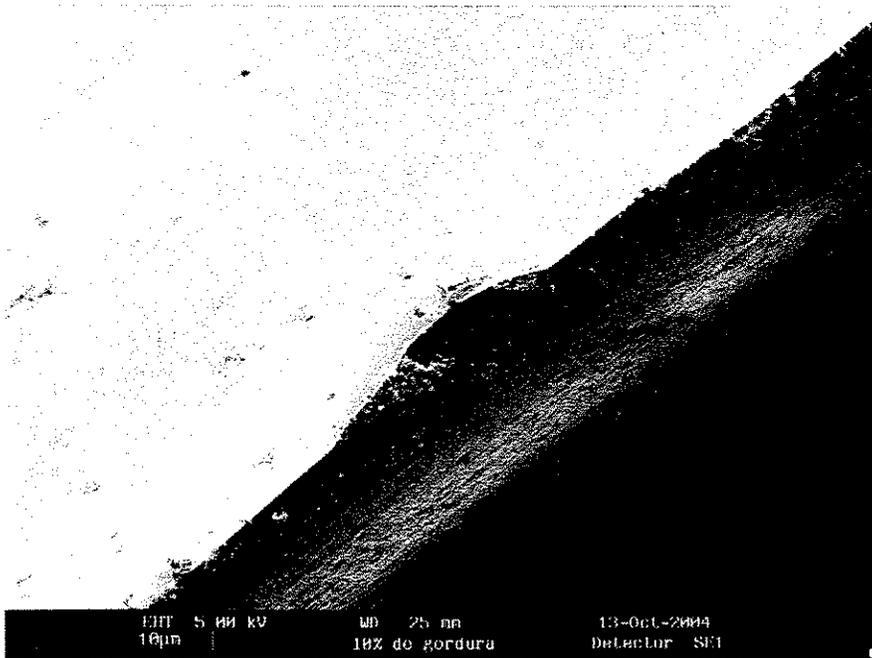


Figura 4.14. Crio-fratura do filme de alginato com glicerol e ácido caprílico (Filme 10%) (2000X)

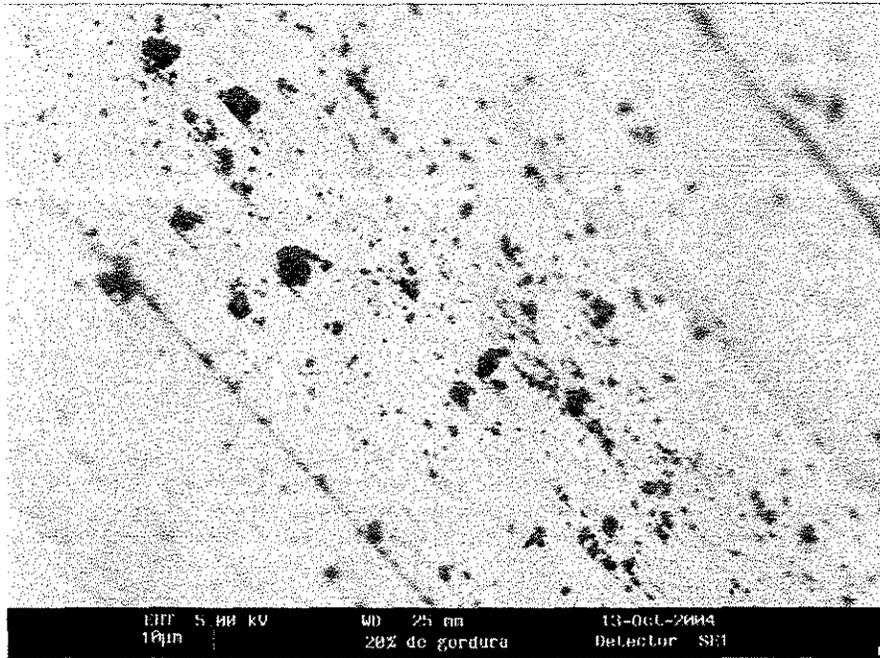


Figura 4.15. Superfície do filme de alginato com glicerol e ácido caprílico
(Filme 20%) (3000X)

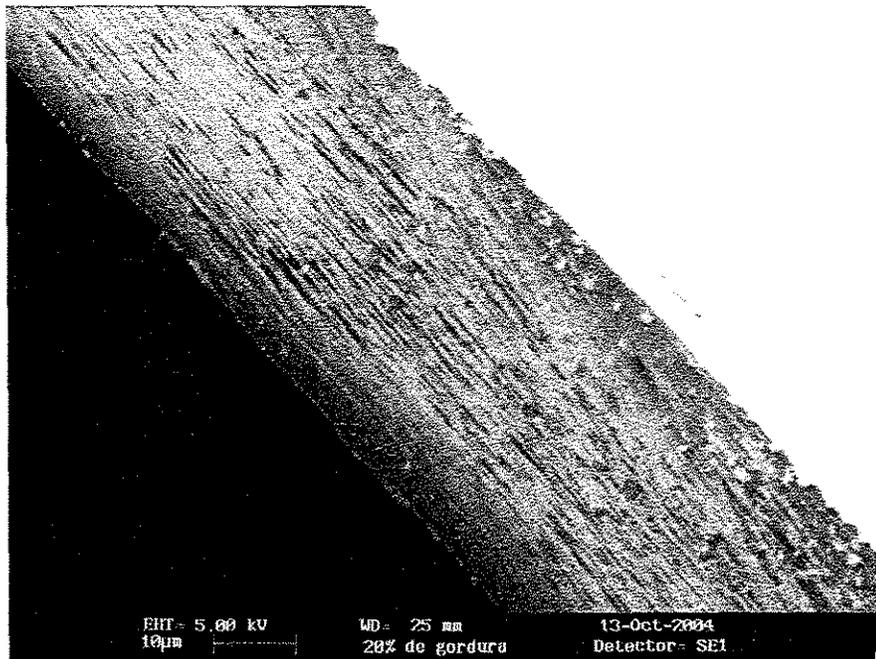


Figura 4.16. Crio-fratura do filme de alginato com glicerol e ácido caprílico
(Filme 20%) (3000X)

4.3.2.2. Filmes de alginato com sorbitol

Micrografia eletrônica do filme de alginato sem lipídios está apresentada na Figura 4.17. Micrografia do filme composto utilizando o sorbitol e o glicerol estão nas Figuras 4.18 e 4.20. Uma comparação com as micrografias de filmes feitos com glicerol é dificultada devido aos diferentes graus de ampliação.

As micrografias de filmes com ácido caprílico estão nas Figuras 4.18 a 4.21. Com exceção de situações pontuais, os filmes com sorbitol tendem a apresentar uma conformação semelhante aos filmes com glicerol. Uma grande diferença, entretanto, diz respeito ao posicionamento dos glóbulos de lipídio, pois nos filmes com sorbitol, esses glóbulos tendem a emergir da matriz polimérica, formando esferas que permanecem em contato com a superfície do filme (ver Fig.4.19). Essa observação confirma a constatação de que filmes com sorbitol tendem a conferir uma sensação táctil oleosa.

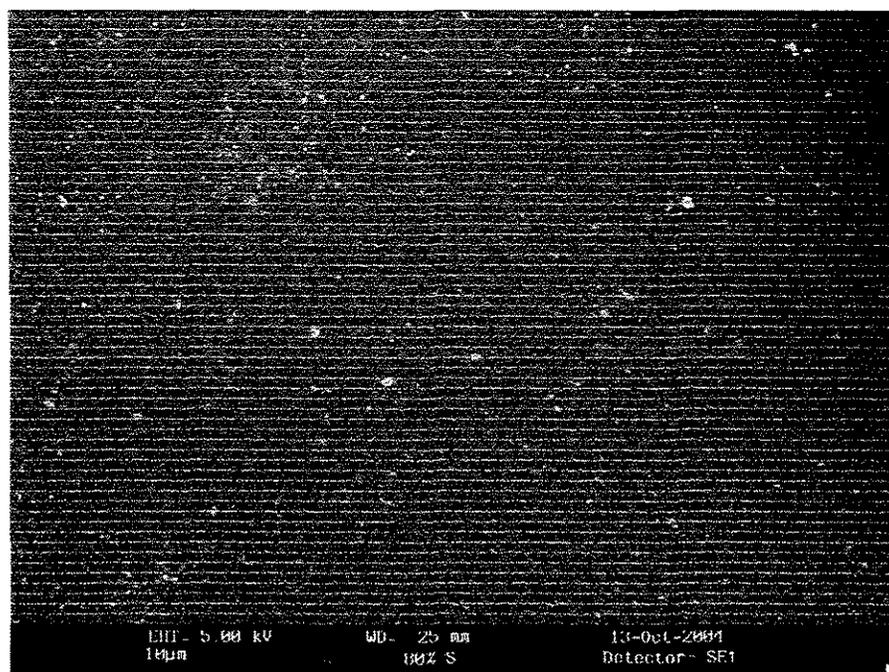


Figura 4.17. Superfície do filme de alginato e sorbitol (80%) (1000X)

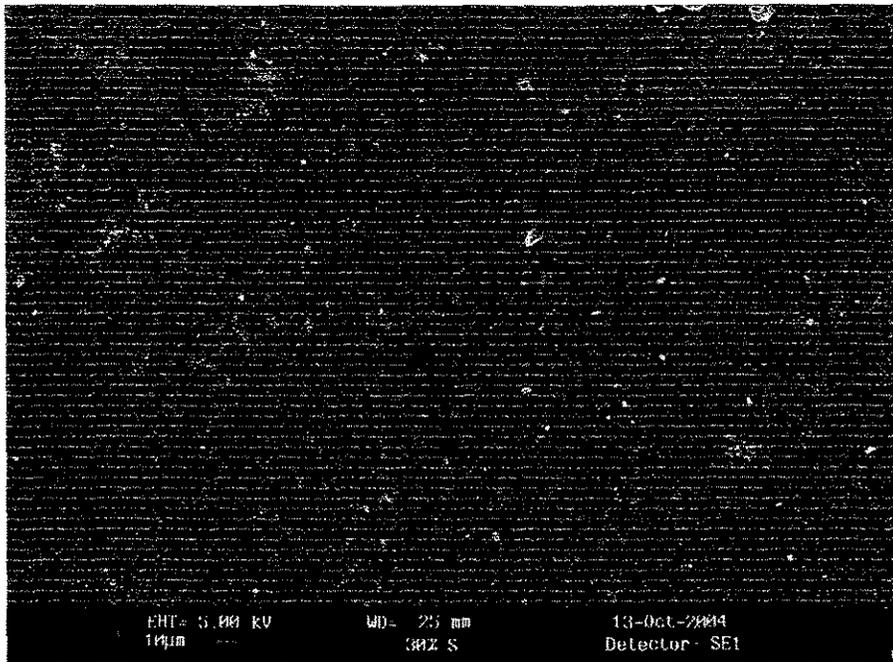


Figura 4.18. Superfície do filme de alginato e sorbitol (30%), glicerol (30%) e ácido caprílico (Filme 10%) (1000X)

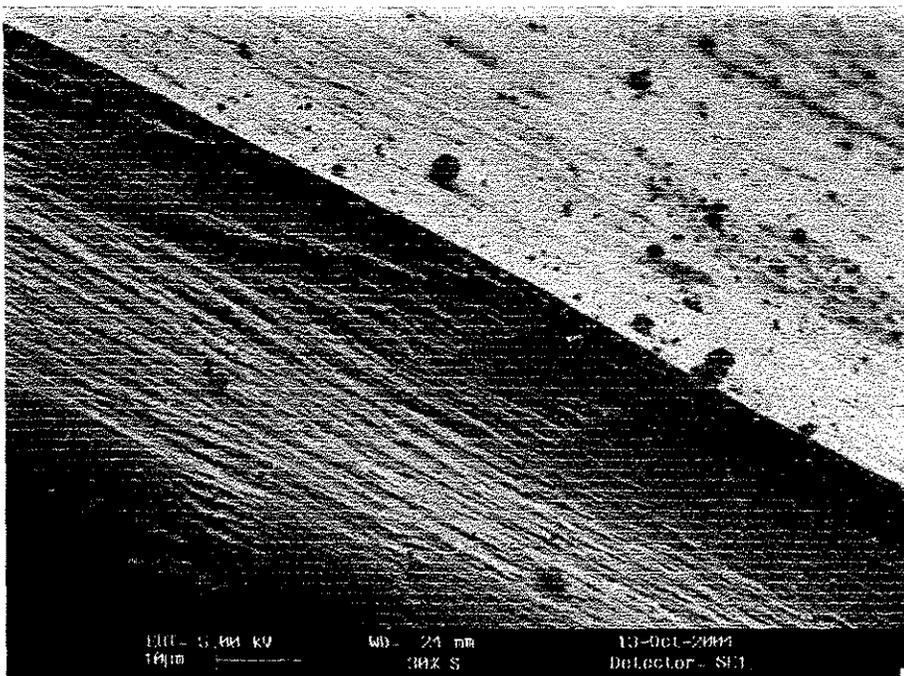


Figura 4.19. Crio-fratura do filme de alginato e sorbitol (30%), glicerol (30%) e ácido caprílico (Filme 10%) (3000X)

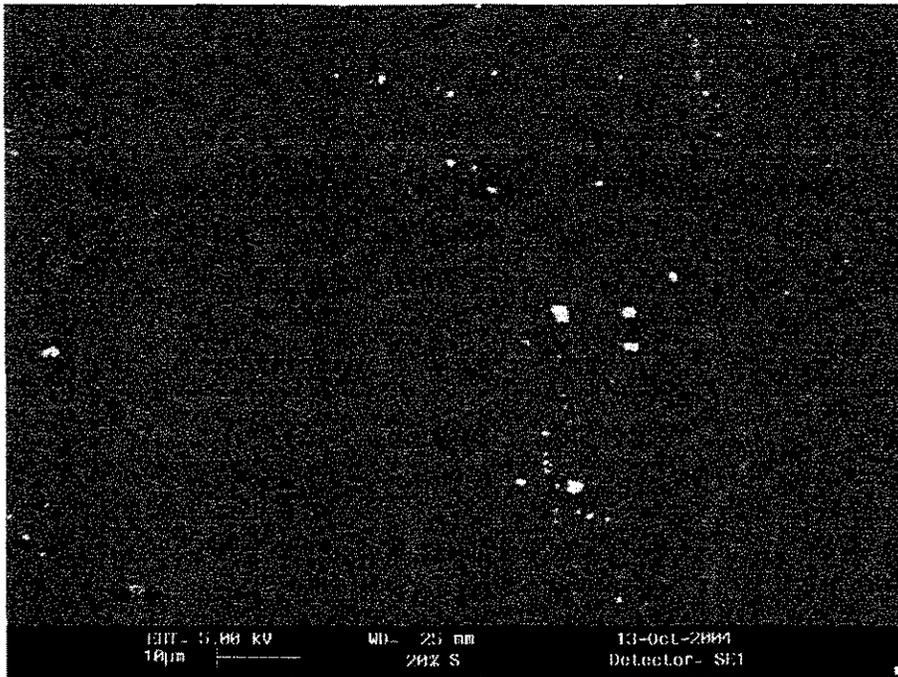


Figura 4.20. Superfície do filme de alginato e sorbitol (20%), glicerol (40%) e ácido caprílico (Filme 10%) (1000X)

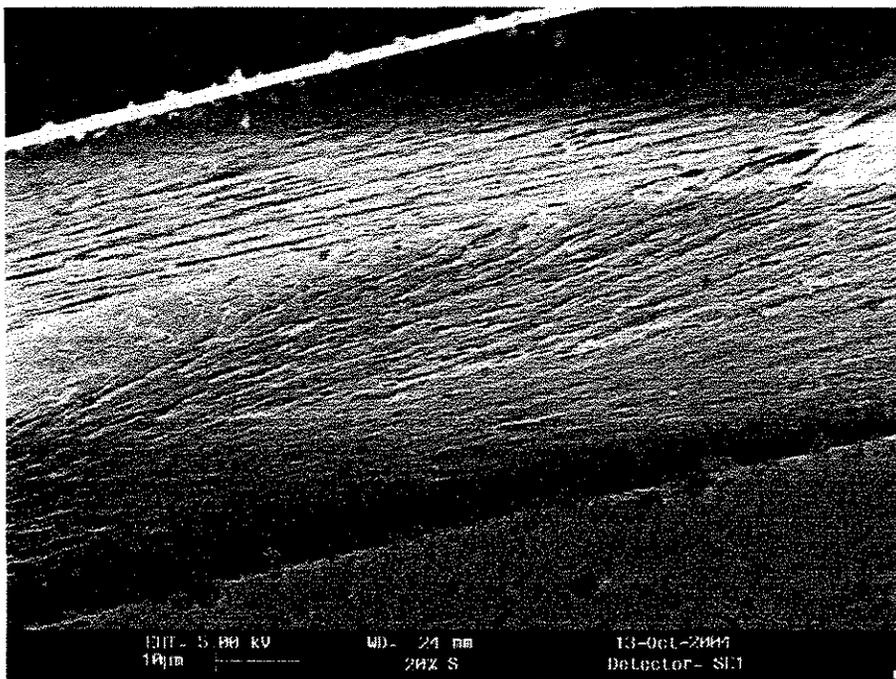


Figura 4.21. Crio-fratura do filme de alginato e sorbitol (20%), glicerol (40%) e ácido caprílico (Filme 10%) (3000X)

4.3.3. Espessura *versus* densidade de matéria seca (da solução)

Para os filmes produzidos sem os ácidos graxos foi fixada massa constante de solução filmogênica de alginato sobre as placas (100g) para posterior secagem e obtenção de um espessura de $0,095 \pm 0,021$ mm, conforme Zactiti (2004).

Para os filmes produzidos com os ácidos graxos, houve grande variação da espessura quando foi fixada uma massa constante de solução para secagem. Os filmes produzidos inicialmente com os ácidos graxos de cadeia carbônica maiores que oito carbonos (ácido esteárico, palmítico e a blenda dos dois ácidos) apresentaram-se espessos e volumosos. Comportamento semelhante foi observado por Fakhouri (2002) relatando que a adição de ácidos graxos aos filmes de gelatina e triacetina causou um aumento na espessura (0,019 para 0,068 mm).

Já para os filmes produzidos com os ácidos graxos de cadeia carbônica menor que dez carbonos (ácido caprílico (C8), ácido capróico (C6) e ácido butírico (C4) a diferença foi menos significativa, porém os filmes apresentaram-se mais finos ao invés de tornarem-se mais volumosos. Esse adensamento do filme pode promover uma diminuição da difusividade de agentes ativos.

4.3.4. Permeabilidade ao vapor de água (PVA)

A Tabela 4.5. apresenta a média dos valores de permeabilidade ao vapor de água obtidos com ensaios conforme descrito na Seção 3.2.3.

Os filmes foram formulados e confeccionados conforme fluxograma apresentado na Figura 3.12. A Tabela 4.5 apresenta a espessura média de cada filme e os valores de PVA obtidos.

Tabela 4.5: Espessura, PVA e umidade de filmes de alginato com ácido caprílico

Concentração de ácido caprílico, %	Espessura, mm	PVA, g.mm/KPa.dia.m ²	Umidade, %
0	0,089±0,001	11,50 ± 0,62 ^a	20,13 ± 0,01 ^{Ab}
5	0,088±0,006	10,58 ± 0,52 ^a	22,96 ± 0,02 ^b
10	0,094±0,008	8,87 ± 0,48 ^b	18,73 ± 0,02 ^a

Nota: letras diferentes representam diferença significativa ($p < 0,05$) entre as médias obtidas através do teste TUKEY.

A adição de ácido caprílico ao filme de alginato causou uma pequena diminuição na permeabilidade ao vapor d'água, sem entretanto definir uma tendência significativa em relação ao aumento da concentração do lipídio.

Filmes com teores de ácido caprílico de 15% e 20% também foram avaliados, porém, acima de 10% ocorreu exsudação lipídica da matriz do filme. Foi avaliado o efeito de ácidos graxos na permeabilidade ao vapor de água de filmes emulsionados de gelana e obtiveram resultados similares (Yang e Paulson, 2000).

A diminuição da permeabilidade ao vapor d'água pode ser atribuída ao aumento do grau de hidrofobicidade da matriz que incorporou o ácido caprílico, e que promoveu menor solubilização (absorção) de umidade no mesmo, como pode ser confirmado pelo grau de intumescimento (ver Seção 4.3.8).

4.3.5. Resistência Mecânica

Os resultados da tensão de ruptura nos ensaios com filmes de alginato contendo ácido caprílico estão apresentados na Tabela 4.6.

Com a adição de lipídio aos filmes, foram observadas modificações nas propriedades mecânicas dos mesmos. A tensão de ruptura dos filmes diminuiu proporcionalmente ao aumento da concentração de lipídio. Esse comportamento é típico de filmes emulsionados. No trabalho realizado por Debeaufot *et al.*, (1995),

por exemplo, é afirmado que a adição de lipídios aos filmes de polissacarídeos é necessária para melhorar a propriedade de barreira ao vapor de água, mas resulta na diminuição das propriedades mecânicas do filme. Yang e Paulson, (2000), estudando filmes de gelatina emulsionados (blenda de ácido esteárico-palmitico) também encontraram valores mais baixos de tensão na ruptura quando comparados aos filmes de gelatina simples (sem lipídios).

Tabela 4.6.: Tensão na ruptura de filmes de alginato com ácido caprílico

Concentração de ácido caprílico, %	Tensão na ruptura, MPa
0	103,46 ± 9,91 ^a
5	65,26 ± 10,11 ^b
10	44,08 ± 11,84 ^b

Nota: letras diferentes representam diferença significativa ($p < 0,05$) entre as médias obtidas através do teste TUKEY.

A porcentagem de alongação média obtida para os filmes incorporados com ácido caprílico foi menor do que para os filmes de alginato simples conforme pode ser visto na Tabela 4.7.

Tabela 4.7.: Alongação na ruptura de filmes de alginato com ácido caprílico

Concentração de ácido caprílico, %	Alongação, %
0	4,44 ± 0,50 ^a
5	2,15 ± 0,71 ^b
10	1,79 ± 0,73 ^b

Nota: letras diferentes representam diferença significativa ($p < 0,05$) entre as médias obtidas através do teste TUKEY.

Essa tendência também foi encontrada em filmes emulsionados. Péroval (2002) estudando o efeito da incorporação de lipídios e éster de sacarose contendo um emulsificante em filmes de arabinosilanas argumentaram que não foi formado um filme com uma matriz contínua e coesa, resultando em menores valores de alongação na ruptura destes filmes comparados aos filmes sem a adição de lipídios.

Bertran (2003) estudando filmes contendo gelatina, triacetina, blenda ácido-esteárico-palmitico e ácido láurico, observou que a adição crescente de ácido láurico diminuiu de maneira significativa a resistência à tração, mas aumentou a alongação na ruptura destes filmes compostos.

Esse efeito no comportamento mecânico do filme com a adição de ácido caprílico não era esperado. A perspectiva era que o filme homogêneo mantivesse uma resistência mecânica próxima a de um filme sem lipídio, ou então, que o ácido caprílico funcionasse como plastificante, aumentando a alongação até a ruptura e diminuísse a coesividade da matriz polimérica. Aparentemente o efeito plastificante do ácido caprílico está restrito ao glúten de trigo pelo qual tem grande afinidade (Pommet *et al.*, 2003). Gontard *et al.* (1992) obtiveram resultado semelhante em filmes transparentes de glúten e monoglicerídios acetilados. Eles atribuíram esse comportamento ao fato dos monoglicerídios enfraquecerem as forças intramoleculares, mas produzirem uma rede mais compacta.

4.3.6. Solubilidade

A solubilidade de filmes de alginato de cálcio simples e compostos (contendo lipídio) foi determinada e os resultados representativos estão apresentados na Tabela 4.8.

Observa-se que os valores de solubilidade obtidos para os filmes de alginato de cálcio (máximo de 6%) apresentaram-se baixos em comparação com outros trabalhos realizados com biofilmes. Turhan *et al.*, 2004, argumentam que a baixa solubilidade de filmes de metilcelulose (de 10 a 20%) indica a existência de alta coesividade da matriz polimérica através das fortes ligações entre as cadeias poliméricas. Um possível aumento do grau de solubilização, seria devido à

desestabilização da matriz com a adição de substância(s) e consequente exposição de compostos hidrofílicos. Resultados encontrados por Bertan (2003) para biofilmes de gelatina emulsionados refletem maior solubilização (dispersão) destes filmes na presença de água.

A Tabela 4.8 apresenta as variações ocorridas nos valores de solubilidade dos filmes de alginato ao adicionar ácido caprílico à solução filmogênica.

Tabela 4.8: Solubilidade de filmes de alginato com ácido caprílico

Concentração de ácido caprílico, %	Solubilidade, %	Umidade, %
0	4,33 ± 0,01 ^a	20,81 ± 0,01 ^a
5	5,28 ± 0,03 ^a	20,16 ± 0,01 ^a
10	5,99 ± 0,01 ^a	19,65 ± 0,02 ^a

Nota: letras iguais representam que não há diferença significativa ($p < 0,05$) entre as médias obtidas através do teste TUKEY.

4.3.7. Grau de intumescimento

Foram realizados ensaios de intumescimento nos filmes produzidos com diferentes concentrações de ácido caprílico e os resultados estão apresentados na Figura 4.22.

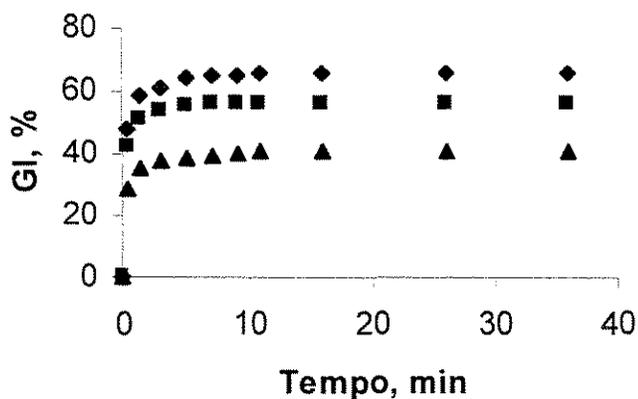


Figura 4.22. Intumescimento de filmes de alginato de cálcio com ácido caprílico: ◆ 0% de lipídios; ■ 5% de lipídios; ▲ 10% de lipídios.

O grau de intumescimento observado é menor para os filmes de alginato de cálcio com lipídios. É possível observar que a concentração de lipídios teve grande influência no intumescimento dos filmes, embora o equilíbrio tenha sido atingido praticamente ao mesmo tempo em todas as situações estudadas (aproximadamente 5 min). Esses resultados podem ser melhor visualizados nas Tabelas C1 e C2. do Anexo C. Os filmes mantiveram sua integridade física e aparente, após o ensaio.

A avaliação do grau de intumescimento é essencial também para a determinação da espessura que será utilizada nos cálculos do coeficiente de difusão.

A diminuição do intumescimento é consequência da maior hidrofobicidade de filmes com ácido caprílico, mas também pode indicar uma maior compactação da matriz polimérica.

4.3.8. Ensaio de liberação de sorbato de potássio

4.3.8.1. Filmes ativos contendo lipídios e sorbato de potássio

Filmes ativos foram fabricados conforme descrito na Seção 3.2.1.3.

A determinação da concentração de sorbato a ser adicionada na solução filmogênica foi feita por meio de ensaios preliminares que permitiram estabelecer a concentração máxima possível incorporável pelo filme. Acima de 1000 mg/L, os filmes com lipídios apresentaram-se opacos e esbranquiçados.

Para os ensaios de liberação, os filmes foram cortados em amostras de 4 x 4 cm e imersos em água por um tempo pré-determinado, conforme descrito na Seção 3.2.7.

4.3.8.2. Ensaio de liberação – Tempos curtos

Considerando o modelo da Lei de Potência descrita pela Equação [2.4], o expoente difusional n foi calculado a partir do coeficiente angular das retas obtidas

plotando-se $\ln(M_t/M_\infty)$ versus $\ln(t)$, enquanto a constante difusional foi calculada a partir do coeficiente linear.

Na Figura 4.23 são apresentadas as linearizações para as três situações estudadas. M_∞ foi obtido pela soma da massa de sorbato liberada após 1 hora de contato com a água.

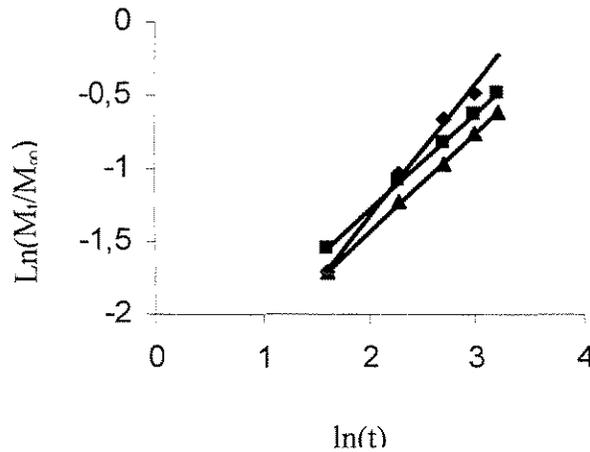


Figura 4.23. $\ln(M_t/M_\infty)$ vs $\ln(t)$ para os filmes ativos contendo ácido caprílico: \blacklozenge 0% \blacksquare 5% ; \blacktriangle 10%.

Os valores do expoente difusional, da constante difusional e do coeficiente de correlação encontrados são apresentados na Tabela 4.9. Verifica-se que o parâmetro n encontra-se entre 0,5 e 1,0, indicando um comportamento não-Fickiano.

Tabela 4.9. Expoente difusional (n), constante difusional (k), e coeficiente de correlação (R^2) da liberação de sorbato em filme de alginato

Filme Ativo	n	$k \times 10^2, s$	R^2
0% de ácido caprílico	0,9081	4,2604	0,9950
5% de ácido caprílico	0,6603	7,3733	0,9998
10% de ácido caprílico	0,6822	6,0391	0,9995

O desvio em relação ao comportamento Fickiano, isto é, $n=0,5$, indica que a relaxação do polímero é preponderante e poderá afetar a liberação de sorbato de potássio dos filmes nos primeiros instantes do processo. Como a reticulação do filme (2º estágio) foi feita com solução 2% de CaCl_2 , o valor do expoente difusional de 0,908 está coerente com uma extrapolação dos valores de n obtidos por Zactiti (2004), para filmes de maior estruturação.

O valor do expoente difusional dos filmes com ácido caprílico é mais próximo de 0,5, indicando um comportamento quase Fickiano. Essa conclusão é corroborada pelos resultados de grau de intumescimento, que foram consideravelmente menores para filmes emulsificados, indicando menor relaxação da matriz polimérica e, portanto, menor efeito dessa desestruturação na difusividade.

A fim de poder comparar os valores de difusividade obtidos nos ensaios de liberação até o equilíbrio, com a difusividade efetiva de sorbato nos instantes iniciais de liberação, adequou-se os dados obtidos nos ensaios ao modelo de difusão em sólidos semi-infinitos (tempos curtos). Neste caso, a liberação segue a cinética de ordem $\frac{1}{2}$, e os valores obtidos para a fração de massa liberada deve exibir ajuste linear em função de raiz quadrada de t .

A Figura 4.24 apresenta o gráfico obtido para as três situações estudadas e na Tabela 4.10 são mostrados os parâmetros obtidos após o ajuste linear dos pontos experimentais.

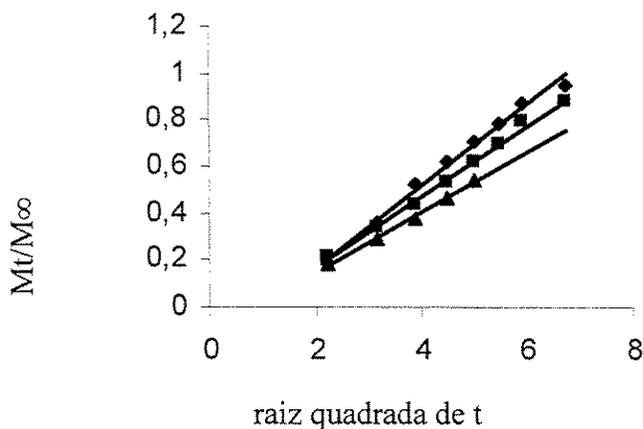


Figura 4.24. Ajuste ao Modelo de Sólidos Semi-infinitos para filme ativo contendo ácido caprílico: ◆0% ; ■ 5% ; ▲10%.

Tabela 4.10. Coeficiente angular (a), coeficiente linear (b) e coeficiente de correlação (R^2) obtidos a partir dos ensaios em tempo curto realizados para o filme ativo contendo ácido caprílico

Filme Ativo	a	b	R^2
0% de ácido caprílico	0,1861	-0,2255	0,9969
5% de ácido caprílico	0,1532	-0,1418	0,9968
10% de ácido caprílico	0,1299	-0,1145	0,9989

Os resultados apresentados indicam um bom coeficiente de correlação. Segundo o modelo (Equação 2.8), o coeficiente linear deveria ser zero. Os valores encontrados indicam uma diferença no tempo e isso pode ser justificado pela própria dificuldade na realização do experimento, que mantém uma camada úmida sobre o filme, na transferência do mesmo de um copo para outro. Utilizando os valores do coeficiente angular e conhecendo-se a espessura do filme pode-se calcular a difusividade do sorbato no filme e a difusividade efetiva pode ser calculada, assumida como constante.

A Tabela 4.11 apresenta os valores de espessura inicial e final do filme e a espessura média do filme que foi usada nos cálculos do coeficiente de difusão, bem como a difusividade obtida em cada situação.

Tabela 4.11. Espessuras inicial (L_i), final (L_f) e média (L_m) obtidos durante os ensaios de liberação e coeficiente de difusão (D) do agente através dos filmes.

Filme Ativo	L_i , mm	L_f , mm	L_m , mm	$D \times 10^{-7}$, cm^2/s
0% de ácido caprílico	0,062	0,110	0,086	5,02
5% de ácido caprílico	0,061	0,095	0,078	2,38
10% de ácido caprílico	0,070	0,085	0,077	2,02

Fazendo-se uma comparação entre os valores de difusividade obtidos, observa-se que há uma tendência em diminuir a difusividade do sorbato de potássio com o aumento da concentração de ácidos graxos no filme ativo. O valor da difusividade obtida para filmes sem ácido caprílico está coerente com os valores encontrados por Zactiti (2004).

4.3.8.3. Liberação de sorbato até o equilíbrio

O histórico de liberação de sorbato de potássio nas três situações estudadas, é mostrado na Figura 4.25. No Anexo D estão apresentadas as tabelas contendo os dados de variação da massa de sorbato durante o período de tempo do ensaio.

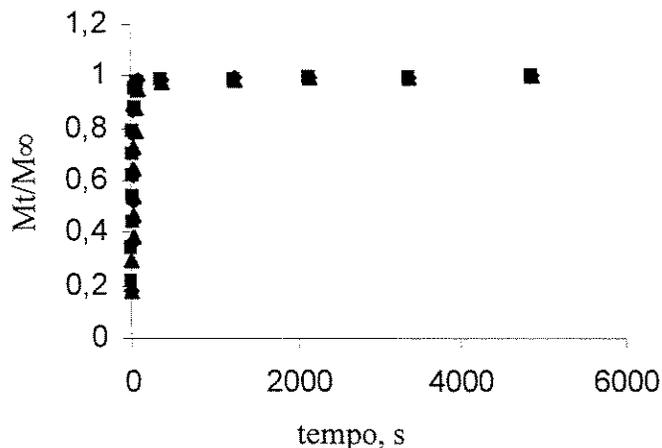


Figura 4.25. Fração de sorbato liberada a partir de filme ativo contendo ácido caprílico: ◆0% ; ■ 5% ; ▲10%.

A curva de liberação segue uma cinética de 1ª Ordem com uma taxa inicial extremamente alta. A Figura 4.25 indica que 95% da massa é transferida nos primeiros 5 min isto é, ainda durante o período de intumescimento, podendo-se concluir, portanto que o filme produzido tem baixo controle de liberação. A adição de lipídios nos biofilmes ativos é interessante porque há uma tendência em aumentar a possibilidade de controlar tal liberação.

A Tabela 4.12 apresenta os valores da espessura média do filme que foi usada nos cálculos do coeficiente de difusão, bem como a difusividade obtida em cada situação.

Tabela 4.12. Espessuras final (L_f) obtidos durante os ensaios de liberação e coeficiente de difusão (D) do agente através dos filmes.

Filme Ativo	L_f , mm	$D \times 10^{-7}$, cm^2/s
0% de lipídio	0,110	4,91
5% de lipídio	0,095	2,74
10% de lipídio	0,085	2,19

Esses valores estão em concordância com valores obtidos por Zactiti (2004), e apresentados na Tabela 2.4. A presença do lipídio na matriz polimérica aparentemente promove uma compactação da estrutura, dificultando a mobilidade do soluto.

4.3.9. Ensaios de permeabilidade

Os ensaios de permeabilidade foram realizados utilizando as células e o sistema de agitação das mesmas, conforme as Figuras 3.14 a), b) e c). Em todos os ensaios a Câmara A continha inicialmente, 111 mL de uma solução de sorbato de potássio de 150 mg/L e a Câmara B, continha água destilada. Com a finalidade de avaliar o efeito da incorporação do sorbato de potássio na estrutura do filme, durante sua confecção foram realizados dois tipos de ensaios a) Ensaios de permeabilidade com filmes de alginato contendo lipídios (5% e 10%); b) Ensaios de permeabilidade com filmes de alginato ativos contendo lipídios (5% e 10%).

A variação temporal da concentração de sorbato de potássio nas câmaras A e B é apresentada nas Figuras 4.26 e 4.27, correspondendo a filmes confeccionados com 5% e 10% de ácido caprílico, respectivamente.

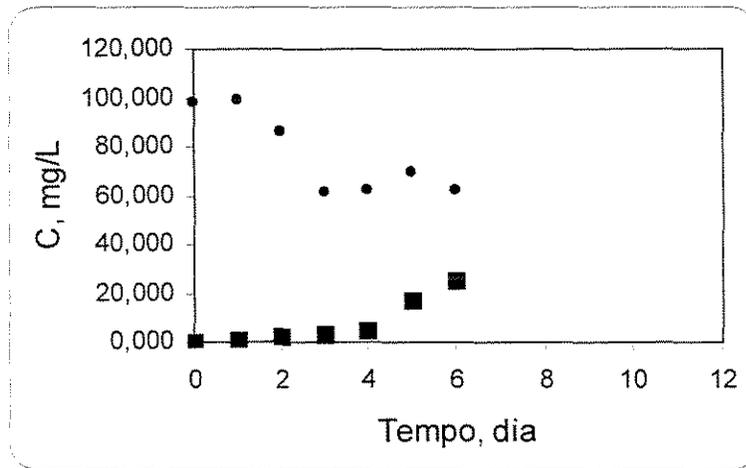


Figura 4.26. Variação da concentração de sorbato de potássio nas Câmaras A (●) e B(■): Filme de alginato com 5% de ácido caprílico sem sorbato.

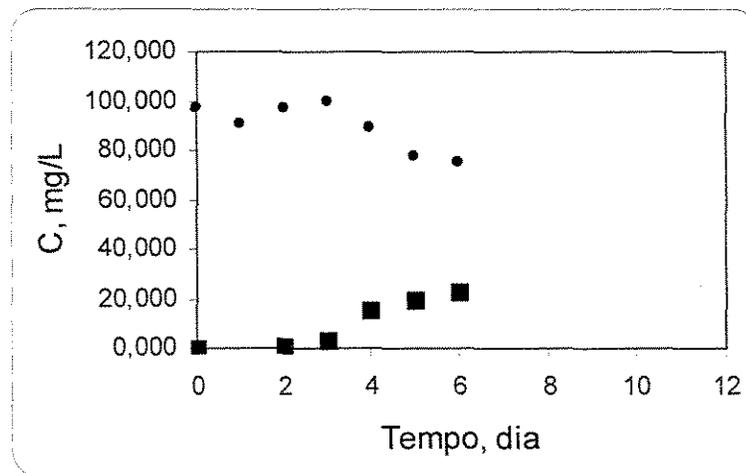


Figura 4.27. Variação da concentração de sorbato de potássio nas Câmaras A (●) e B(■). Filme de alginato com 10% de ácido caprílico, sem sorbato.

A variação da concentração das Câmaras A e B quando se usou filmes contendo sorbato de potássio está apresentada nas Figuras 4.28 e 4.29. .

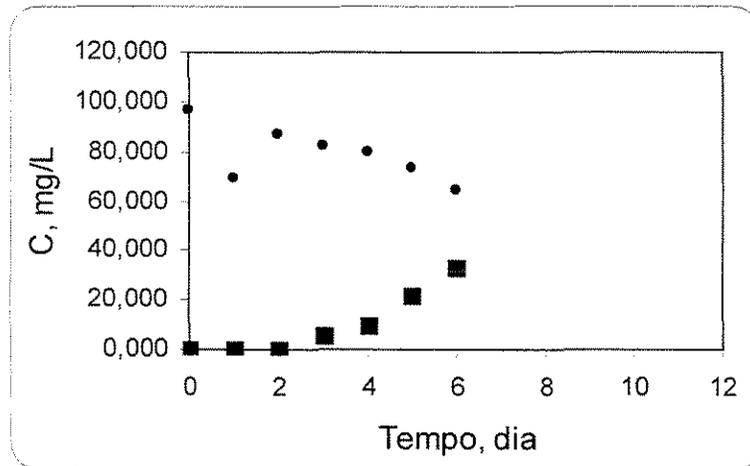


Figura 4.28. Variação da concentração de sorbato de potássio nas Câmaras A (●) e B(■) em função do tempo: Filme de alginato com 5% de ácido caprílico e com sorbato.

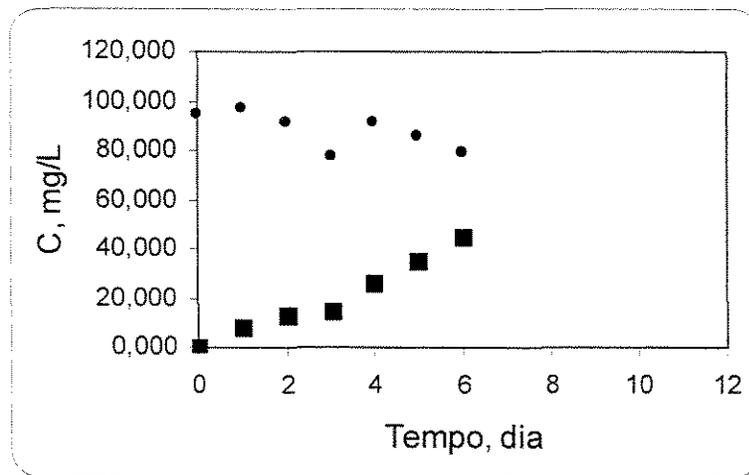


Figura 4.29. Variação da concentração de sorbato de potássio nas Câmaras A (●) e B(■): Filme de alginato com 10% de ácido caprílico, com sorbato.

Para o cálculo do valor da permeabilidade a partir do coeficiente angular das retas obtidas com a linearização dos valores experimentais, foi necessário desconsiderar alguns pontos afim de se obter um adequado coeficiente de correlação linear (R^2).

Utilizando-se o coeficiente angular obtido a partir das linearizações, juntamente com os valores de espessura final dos filmes e da área onde ocorre a permeação (22,90 cm²), foi possível calcular a permeabilidade para as condições estudadas. Os resultados estão apresentados na Tabela 4.13.

Tabela 4.13. Permeabilidade ao sorbato de potássio, espessura final do filme e coeficiente de correlação (R²) obtidos para filmes ativos e sem atividade contendo ácido caprílico (5% e 10%), com e sem sorbato de potássio.

Filme	P x10 ⁷ , cm ² /s	L _f , mm	R ²
Sem sorbato com 5%	1,81	0,396	0,9328
Sem sorbato com 10%	1,24	0,273	0,9515
Com sorbato com 5%	1,95	0,308	0,9011
Com sorbato com 10%	1,15	0,255	0,9564

Zactiti (2004), para filmes de alginato reticulados com uma solução de 2% de CaCl₂ (isto é, igual aos filmes estudados neste trabalho) achou uma permeabilidade de 2,45 x 10⁻⁷ cm²/s. Aumentando-se a concentração de ácido caprílico nos filmes, a permeabilidade diminuiu consideravelmente, como pode ser verificado na Tabela 4.13. A presença de lipídio na estrutura filmogênica faz com que a permeação do agente ativo seja mais lenta, provavelmente devido à uma menor solubilidade de sorbato no filme. Esses resultados concordam com o fato de que os filmes com maior teor de ácido caprílico (10%) apresentam menor grau de intumescimento, dificultando assim a permeação do soluto através dos mesmos.

A Tabela 4.13 indica ainda que a presença de sorbato de potássio, que segundo alguns autores pode ser considerado um plastificante (Zactiti, 2004), não exerce influência significativa sobre a permeabilidade.

CAPÍTULO 5

CONCLUSÕES E SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS

- Filmes de alginato de cálcio contendo até 10% de ácido caprílico (com relação à massa de alginato) são transparentes (não-emulsionados), atraentes e de boa manuseabilidade
- Filmes de alginato contendo ácido caprílico são ligeiramente mais solúveis em água e tem resistência a tensão de ruptura e alongação sensivelmente diminuídas em relação aos filmes sem o lipídio
- A adição de ácido caprílico à filmes de alginato diminui a permeabilidade ao vapor d'água
- O ácido caprílico diminui consideravelmente o intumescimento do filme com água
- O ácido caprílico diminui a difusividade de sorbato de potássio em filmes de alginato, podendo assim prolongar sua ação antimicótica
- A permeabilidade de sorbato de potássio em filmes de alginato contendo ácido caprílico é menor do que em filmes sem ácido caprílico

Sugestões para trabalhos futuros

- Melhorar o processo de reticulação dos filmes, principalmente quando se trata de filmes ativos
- Utilizar outro agente ativo e avaliar o comportamento no processo de difusão e de confecção de filmes ativos, com o possível aumento da concentração do agente ativo na presença de ácido graxo, valores acima do que foi verificado neste trabalho (máximo de 1000 mg/L para 10% de ácido caprílico)
- Melhorar o controle e o processo de difusão levando em consideração a variação da espessura do filme

- Confeccionar e avaliar filmes incorporando, além do ácido caprílico na fase contínua, uma fase dispersa com os ácidos graxos com cadeia maior do que 10 carbonos

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALLEN, L., NELSON, A. I., STEINBERG, M. P., MCGILL, J. N., Edible corn-carbohydrate food coatings. I. Development and physical testing of a starch-algin coating, *Food Technology*, v.17, p.1437, 1963a.

ALLEN, L., NELSON, A. I., STEINBERG, M. P., MCGILL, J. N., Edible corn-carbohydrate food coatings. II. Evaluation on fresh meat products, *Food Technology*, v.17, p.1442, 1963b.

ASTM. *Tensile properties of thin plastic sheeting*. Annual Book of ASTM Standards, American Society for Testing and Materials, D882, 1995.

AXELSSON, A. e PERSSON, B. Determination of effective diffusion coefficients in calcium alginate gel plates with varying yeast cell content. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, v.18, p.231-250, 1988.

BANKER, G. S., Film Coating Theory and Practice, *J. Pharm Science*, v.55, n.1, p.81-89, 1966.

BERTAN, L. C. *Desenvolvimento e caracterização de filmes simples e compostos a base de gelatina, ácidos graxos e breu branco*. Campinas: Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, 2003. 157p. Dissertação (Mestrado).

BODMEIER, R., PAERATAKUL, O. Plasticizer uptake by aqueous colloidal polymer dispersions used for the coating of solid dosage forms. *Int. J. Pharm.*, Amsterdam, v.152, p.17-20, 1997.

BRYCE, T. A., MCKINNON, A. A., MORRIS, E. R., RESS, D. A. e THOM, D. Chain conformations in the sol-gel transitions for polyssacharide systems, and their characterization by spectroscopy methods. *Faraday Discussions. Chemical Society*, v.57, p.221-229, 1974.

CAGRI, A., ZEYNEP, U. e RYSER, E. T. Antimicrobial edible films and coatings. *J. Food Protection*, v.67, n.4, p.833-848, 2004.

CALLEGARIN, F.; GALLO, J-A Q; DEBEAUFORT, F.; VOILLEY, A Lipids and Biopackaging. *J. American Oil Chemistry Society*, v.74, n.10, p.1183-1192, 1997.

CARVALHO, R. A., *Elaboração e Caracterização de Filmes à Base de Gelatina Modificada Enzimática e Quimicamente*. Campinas: Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, 2002. 227p. Tese (Doutorado)

CLEMENTI, F., CRUDELE, M. A., PARENTE, E., MANCINI, M., MORESI, M., Production and Characterization of Alginate from *Azotobacter Vinelandii*, *J. Sci. Food Agr*, v.79, n.4, p.602-610, 1999.

CRANK, J., *The Mathematics of Diffusion*, Oxford University Press, 2ª Edição, 1975.

CRUZ, M. C. P. *Influência do polietileno glicol (PEG) no processo de microencapsulação da oxitetraciclina no sistema alginato/quitosana: modelamento "in vitro" da liberação oral*. Campinas: Faculdade de Engenharia Química, Universidade Estadual de Campinas, 2004. Tese (Doutorado).

CUSSLER, E. L. *Diffusion Mass Transfer in Fluid Systems*. Cambridge University Press, 2ª Edição, 1997.

DEBEAUFORT, F. e VOILLEY, A. Effect of surfactants and drying rate on barrier properties of emulsified edible films. *Int. J. Food Sci. and Technology*, v.30, p.183-190, 1995.

DEBEAUFORT, F., QUEDAZA-GALLO, J. A., VOILLEY, A., Edible films and coatings: Tomorrow's packagings: A Review, *Critical Reviews in Food Sci.*, v. 38, n.4, p.299-313, 1998.

ERTESVÁG, H., VALLA, S., Biosynthesis and applications of alginates, *Polymer Degradation and Stability*, v.59, p.85-91, 1998.

FAIRLEY, P.; MOMAHAN, F.J.; GERMAN, Interfacial interactions in edible emulsion films from whey protein isolate. *Food Hydrocolloids*, Oxford, v.11, n.3, p.245-252, 1997.

FAKHOURI, F. M. Coberturas comestíveis aplicadas na preservação de goiabas in natura (*Psidium guajava* L.), Campinas: Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, 2002. Dissertação (Mestrado).

GALLO, J-A Q., DEBEAUFORT, F.; CALLEGARIN, F. e VOILLEY Lipid hydrophobicity, physical state and distribution effects on the properties of emulsion-based films *Journal of Membrane Science*, Amsterdam, v.180, p.37-46, 2000.

GLICKSMAN, M. Red seaweed extracts. *Food Hydrocolloids*, v. 2, p.73, 1983.

GONTARD, N., GUILBERT, S., CUQ, J., L. Edible wheat gluten films: influence of the main process variables on film properties using response surface methodology. *J. Food Sci.*, v.57, n. 1, p.190-195, 1992.

GONTARD, N., GUILBERT, S., DUCHEZ, C., CUQ, J., L. Edible composite films of wheat gluten and lipids: water vapor permeability and other physical properties. *International J. Food Sci. and Technology*, v.29, p.39-50, 1994.

GRASDALEN, H., High-field, ^1H -n.m.r. spectroscopy of alginate: sequential structure and linkage conformations. *Carbohydrate Research*, v.118 p.255-260, 1983.

GUILBERT, S., Technology and application of edible protective film. *Food Packaging and Preservation*, New York, Ed. M. Mathlouth, Elsevier Applied Science Publishers, v.19, p.371-394, 1986.

HAN, J. H., Antimicrobial Food Packaging, *Food Technology*, v.54, n.3, p. 56-65, 2000.

KAMPER, S. L., FENNEMA, O. Water vapor permeability of edible bilayer films. *J. Food Sci.*, v.49, p.1478-1485, 1984.

KAYSERILIOGLU, B. S., BAKIR, U., YILMAZ, L., AKKAS, N. Drying temperature and relative humidity effects on wheat gluten film properties. *J. Agric. Food Chem.*, v.51, p.964-968, 2003.

KESTER, J. J., FENNEMA, O. R., Edible Films and Coatings: a Review, *Food Technology*, v.40, n.12, p.47-59, 1986.

KESTER, J. J., FENNEMA, O. R., Resistance of lipid films to oxygen transmission, *JAOCS*, v.66, n.8, p.1129-1138, 1989a.

KESTER, J. J., FENNEMA, O. R., Resistance of lipid films to water vapor transmission, *JAOCS*, v.66, n.8, p.1139-1146, 1989b.

KHWALDIA, K., BANON, S., DESOBRY, S. e HARDY, J. Mechanical and barrier properties of sodium caseinate- anhydrous milk fat edible films. *Int. J. Food Sci. and Techn.*, v.39, p.403-411, 2004.

KIM, M. K., MARX, D. B., WELLER, C. L., HANNA, M. A. Influence of sorghum wax, glycerin and sorbitol on physical properties of soy protein isolate films. *JAOCS*, v.80, n.1, p.71-76, 2003.

KOELSCH, C. M., LABUZA, T. P. Functional, physical and morphological properties of methyl cellulose and fatty acid-based edible barriers. *Lebensm.-Wiss. u.-Technol.*, v.25, p. 404-411, 1992.

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

McHUGH, T. H. Protein-lipid interactions in edible films and coatings. *Nahrung*, v. 44, n.3, p.148-151, 2000.

McHUGH, T. H., KROCHTA, J. M. Sorbitol –vs Glycerol –Plasticized whey protein edible films: integrated oxygen permeability and tensile property evaluation. *J. Agric. Food Chem.*, v. 42, n.4, p. 841-845, 1994.

OLIVEIRA, L. M., *Filmes Plásticos Incorporados de Agentes Antimicrobianos*, Informativo do CETEA, www.cetea.ital.org.br, v.14:2, 2003.

PARRIS, N.; COFFIN, D.R.; JOUBRAN, R.F.; PESSEN, H. Composition Factors Affecting the Water Vapor Permeability and Tensile Properties of Hydrophilic Films. *J. Agric. Food Chem.*, v.43, p.1432-1435, 1995.

PAVIATH, A. E., GOSSETT, C., CAMIRAND, W., ROBERTSON, G. H. Ionomeric films of alginic acid. *Journal Food Sci.*, v.64, n.1, p.61-74, 1999.

POMMET, M.; REDL, A.; MOREL, M-H; GUILBERT, S. Study of wheat plasticization with fatty acids. *Polymer*, v.44, p.115-122, 2003.

REDL, A., GONTARD, N., GUILBERT, S., Determination of Sorbic Acid Diffusivity in Edible Wheat Gluten and Lipid Based Films, *J. Food Sci.*, v. 61, n.1, p. 116-120, 1996.

RHIM, J. W. Physical and mechanical properties of water resistant sodium alginate films. *Lebensm.-Wiss. u.-Technol.*, v.37, p.323-330, 2004.

RICO-PEÑA, D. C. e TORRES, J. A. Sorbic acid and potassium sorbate permeability of na edible methylcellulose-palmitic acid film: water activity and pH effects. *J. Food Sci.*, v.56, n.2, p.497-499, 1991.

ROMERO-BASTIDA, C. A, FLORES-HUICOCHEA, E., MARTIN-POLO, M.O, VELAZQUEZ, G., TORRES, A. Compositional and moisture contents effects on the biodegradability of zein/ethylcellulose films. *J.Agric. Food Chem.*, v.52, p.2230-2235, 2004.

SGARBIERI, V. *Proteínas em Alimentos Protéicos: Propriedades, Degradação e Modificação*. São Paulo, Ed. Varela, p.517, 1996.

SHAW, N. B., MONAHAN, F. J., O' RIORDAN, E. D. e O' SULLIVAN, Physical properties of WPI films plasticized with glycerol, xylitol, or sorbitol. *J. Food Sci.*, v.67, n.1, p.164-167, 2002.

SMIDSRØD, O., Molecular basis for some physical properties of alginates in the gel state. *Faraday Discuss. Chemical Society*, v.57, p.263-274, 1974.

SOTHORNVIT, R.; KROCHTA, J. M. Plasticizer effect on oxygen permeability of lactoglobulina films. *J. Agric. Food Chem.*, v. 48, n.12, p. 6298-6302, 2000.

SOTHORNVIT, R.; KROCHTA, J. M. Plasticizer effect on mechanical properties of lactoglobulin films. *J. Agric. Food Chem.*, v.50, n.149-155, 2001.

UNICHEMA INTERNATIONAL, *Fatty acid Data Book*, 2^a Edition.

WANSTEDT, K. G., SEIDEMAN, S. C., DONNELLY, L. S., QUENZER, N. M., Sensory attributes of precooked, calcium alginate-coated pork patties, *J. Food Protec.* v.44, p.732, 1981.

WESTRIN, B. A. e AXELSSON, A. Diffusion in gels containing immobilized cells: A critical review. *Biotechnology and Bioengineering*, v.38, p.439-446, 1991.

WU, L. C., BATES, R. P. Soy protein-lipid films. 2. Optimization of film formation. *J. Food Eng.*, v.22, p.225-239, 1994.

YANG, L., PAULSON, A. T., Effects of lipids on mechanical and moisture barrier properties of edible gellan film, *Food Techn.*, 33: 571-578, 2000.

ZACTITI, E. M., *Desenvolvimento e caracterização de filmes biodegradáveis de alginato de cálcio sem e com sorbato de potássio*, Campinas: Faculdade de Engenharia Química, Universidade Estadual de Campinas, Tese (Doutorado), 2004.

ZHANG, W. e FRANCO, C. M. M., Critical assessment of quasi-steady-state method to determine effective diffusivities in alginate gel membranes. *Biochemical Engineering Journal*, v. 4, p.55-63, 1999.

ANEXO A

RESULTADOS DE ENSAIOS PRELIMINARES

Valores de permeabilidade ao vapor de água (PVA)

Os resultados representativos de permeabilidade ao vapor de água dos filmes de alginato com e sem lipídios e glicerol, estão apresentados nas Tabelas A.1. a A.8.

Tabela A.1: Permeabilidade ao vapor d'água (PVA) do filme de alginato sem lipídios (Filme A)

Características			
Lipídios (%)	Glicerol (%)	Espessura (mm)	Permeabilidade (g.mm/KPa.dia.m ²)
0	60	0,100	10,57

Tabela A.2: Permeabilidade ao vapor d'água (PVA) de filmes de de alginato contendo ácido esteárico / palmítico (Filme B)

Características			
Lipídios (%)	Glicerol (%)	Espessura (mm)	Permeabilidade (g.mm/KPa.dia.m)
15	45	0,102	4,45
10	50	0,111	7,59
5	55	0,092	7,96

Tabela A.3: Permeabilidade ao vapor d'água (PVA) de filmes de alginato contendo ácido caprílico (Filme B)

Características			
Lipídios (%)	Glicerol (%)	Espessura (mm)	Permeabilidade (g.mm/KPa.dia.m ²)
7,5	40	0,086	15,68
15	40	0,080	18,41
15	30	0,083	17,05

Tabela A.4: Permeabilidade ao vapor d'água (PVA) de filmes de alginato contendo ácido capróico (Filme B)

Características			
Lipídios (%)	Glicerol (%)	Espessura (mm)	Permeabilidade (g.mm/KPa.dia.m ²)
20	40	0,114	12,96
10	50	0,120	12,31
5	55	0,086	11,08

Os resultados representativos de permeabilidade ao vapor de água dos filmes de alginato contendo lipídios e sorbitol, estão apresentados nas Tabelas A.5 e A.6 .

Tabela A.5: Valores de permeabilidade ao vapor d'água (PVA) dos filmes de alginato contendo triacetina (Filme G)

Características			
Lipídios (%)	Sorbitol (%)	Espessura (mm)	Permeabilidade (g.mm/KPa.dia.m ²)
5	60	0,998	4,84

Tabela A.6: Valores de permeabilidade ao vapor d'água (PVA) dos filmes de alginato contendo ácido caprílico (Filme H)

Características			
Glicerol (%)	Sorbitol (%)	Espessura (mm)	Permeabilidade (g.mm/KPa.dia.m)
20	50	0,096	7,61
30	50	0,097	9,35
40	50	0,096	10,21
20	40	0,095	6,78
40	20	0,090	8,29

Tabela A.7: Valores de permeabilidade ao vapor d'água (PVA) dos filmes de alginato contendo ácido caprílico (Filme I)

Características			
Glicerol (%)	Sorbitol (%)	Espessura (mm)	Permeabilidade (g.mm/KPa.dia.m)
0	80	0,094	7,59

Tabela A.8: Valores de permeabilidade ao vapor d'água (PVA) dos filmes de alginato contendo ácido caprílico (Filme J)

Características			
Glicerol (%)	Sorbitol (%)	Espessura (mm)	Permeabilidade (g.mm/KPa.dia.m)
40	0	0,091	7,83

RESISTÊNCIA MECÂNICA

Os resultados representativos de resistência mecânica dos filmes de alginato sem lipídios e também com lipídios, estão apresentados nas Tabelas A.9. e A.10.

Tabela A.9.: Valor de resistência mecânica do filme de alginato sem lipídio (Filme A)

Tipo de FILME	Características		
	Espessura (mm)	Tensão na Ruptura (MPa)	Elongação (%)
Glicerol (60%)	0,097	88,33	4,12

Tabela A.10.: Valores de resistência mecânica dos filmes de alginato contendo lipídios (Filme G)

Tipo de FILME	Características		
	Espessura (mm)	Tensão na Ruptura (MPa)	Elongação (%)
1) Sorbitol (60%) /triacetina (5%) / ácido caprílico (1%)	0,076	46,89	1,78
2) Sorbitol (45%) /triacetina (15%) / ácido caprílico C8 (1%)	0,070	93,94	2,75

SOLUBILIDADE

Os resultados representativos de solubilidade dos filmes de alginato sem lipídios e também com lipídios, estão apresentados nas Tabelas A.11. e A.12.

Tabela A.11.: Valor de solubilidade do filme de alginato sem lipídios (Filme A)

Tipo de FILME	Características	
	Espessura (mm)	Solubilidade (%)
Glicerol (60%)	0,097	4,12

Tabela A.12.: Valores de solubilidade dos filmes de alginato contendo lipídios (Filme G)

Tipo de FILME	Características			
	Espessura (mm)	Tensão na Ruptura (MPa)	Elongação (%)	Solubilidade (%)
1) Sorbitol (60%) /triacetina (5%) / ácido caprílico (1%)	0,076	46,89	1,78	20,27
2) Sorbitol (45%) /triacetina (15%) / ácido caprílico C8 (1%)	0,070	93,94	2,75	22,73

ANEXO B

CURVA DE CALIBRAÇÃO PARA O SORBATO DE POTÁSSIO

A curva de calibração foi construída utilizando-se 12 soluções-padrão, preparadas a partir da solução-mãe de concentração de 50 mg/L de sorbato de potássio. Para a determinação da concentração de sorbato de potássio foi utilizado um espectrofotômetro (HP, modelo 8453, EUA), equipado com controlador de temperatura HP 89090A e software *UV-Visible ChemStation*. Foi obtida uma curva de calibração utilizando-se padrões de concentração de 1,0; 2,5; 4,0; 5,0; 7,0; 10,0 e 15,0 mg/L de sorbato de potássio.

Tabela B.1: Valores de absorvância de sorbato de potássio em água, 254 nm.

Padrão	Sorbato (mg/L)	Abs (254 nm)	Erro (%)
1	0,10	0,01626	3,84
2	0,25	0,04169	2,57
3	0,40	0,06317	3,29
4	0,50	0,07962	-0,66
5	0,70	0,11356	-0,14
6	1,0	0,16306	-1,62
7	2,5	0,40480	-1,34
8	4,0	0,62950	-1,13
9	5,0	0,80057	-1,63
10	7,0	1,07603	-0,11
11	10,0	1,62114	-0,79
12	15,0	2,34336	0,26

Na Figura B.1 é apresentada a curva de calibração obtida e na Tabela B.2 os valores dos parâmetros obtidos.

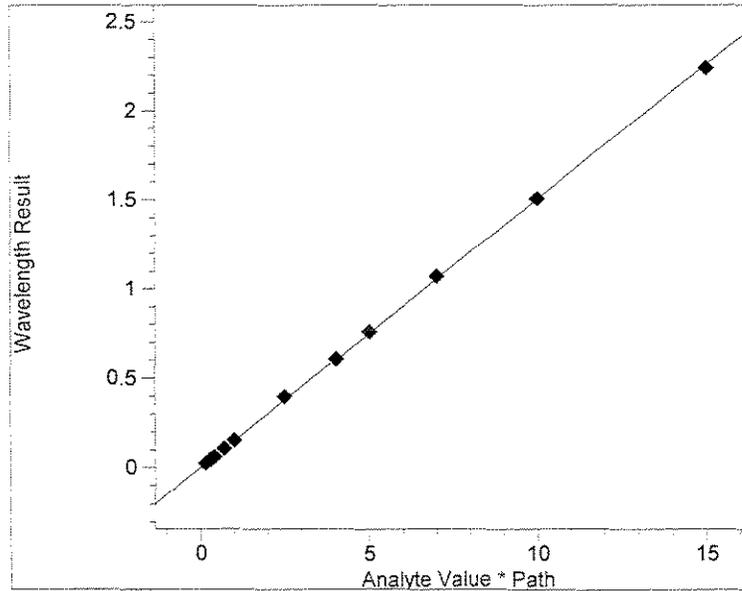


Figura B.1: Curva de calibração

Tabela B.2: Valores das constantes, do desvio padrão e do coeficiente de correlação (R2) obtidos da curva de calibração

Número de padrões	12
Curva de calibração	$C(\text{mg/L}) = k_1 \times \text{Abs}$
Coeficiente k_1	6,3678
Desvio padrão de k_1	1,81E-2
Desvio padrão da calibração	5,76E-2
Coeficiente de correlação	0,99992

ANEXO C

VALORES DE INTUMESCIMENTO

Os ensaios de intumescimento dos filmes de alginato com lipídio foram realizados de duas formas distintas: em água pura a 25°C e em solução contendo sorbato de potássio nas seguintes concentrações de 750 mg/L, 1000 mg/L e 2000 mg/L. Foram avaliados os graus de intumescimento de filmes de alginato contendo 0% , 5% e 10% de lipídio e confeccionado com uma concentração de 1000 mg/L de sorbato de potássio na solução filmogênica, na presença de água e também quando em imersos em solução contendo sorbato de potássio.

A variação da massa e do grau de intumescimento estão apresentados nas Tabelas C.1, C.2, C.3, C.4, C.5, C.6

Tabela C.1.: Variação da massa do Filme Ativo com lipídio, durante os ensaios de intumescimento com água pura

Tempo, min	Massa do filme, g		
	Concentração de lipídio		
	0%	5%	10%
0	0,0653	0,0558	0,0729
0,5	0,1454	0,1135	0,1023
1,5	0,1795	0,1356	0,1122
3	0,1925	0,1429	0,1174
5	0,2103	0,1467	0,1190
7	0,2132	0,1486	0,1205
9	0,2153	0,1492	0,1213
11	0,2174	0,1493	0,1225
16	0,2188	0,1492	0,1228
26	0,2186	0,149	0,1226
36	0,2189	0,1491	0,1225

Tabela C.2.: Grau de intumescimento de Filme ativo com lipídio, durante os ensaios de intumescimento com água pura

Tempo, min	Grau de intumescimento,%		
	Concentração de lipídio		
	0%	5%	10%
0	0	0	0
0,5	48,2118	42,0264	28,7391
1,5	58,0501	51,4749	35,0267
3	60,8831	53,9538	37,9056
5	64,1940	55,1465	38,7395
7	64,6810	55,7200	39,5021
9	65,0255	55,8981	39,9011
11	65,3634	55,9276	40,4898
16	65,5850	55,8981	40,6352
26	65,5535	55,8389	40,5383
36	65,6007	55,8685	40,4898

Tabela C.3.: Variação da massa do filme sem lipídio, durante os ensaios de intumescimento em solução de sorbato nas concentrações de 750 mg/L, 1000 mg/L e 2000 mg/L.

Tempo, min	Massa do filme, g		
	0% de lipídio		
	750 mg/L	1000 mg/L	2000 mg/L
0	0,0382	0,0467	0,0547
0,5	0,0516	0,0677	0,0882
1,5	0,0544	0,0705	0,0916
3	0,0552	0,0706	0,0943
5	0,0559	0,0715	0,0977
7	0,0559	0,0753	0,1003
9	0,0585	0,0760	0,1006
11	0,0587	0,0781	0,1039
16	0,0588	0,0782	0,1149
26	0,0645	0,0871	0,1437
36	0,0652	0,0886	0,1525
66	0,0740	0,1036	0,169
186	0,0817	0,1126	0,1879
246	0,0820	0,1163	0,1954
306	0,0832	0,1152	0,1969
426	0,0831	0,1150	0,1970

Tabela C.4.: Grau de intumescimento de filme sem lipídio em soluções de sorbato de 750 mg/L, 1000 mg/L e 2000 mg/L.

Tempo, min	Grau de intumescimento 0% de lipídio		
	750 mg/L	1000 mg/L	2000 mg/L
0	0	0	0
0,5	25,9690	31,0192	37,9819
1,5	29,7794	33,7589	40,2838
3	30,7971	33,8527	41,9936
5	31,6637	34,6853	44,0123
7	31,6637	37,9814	45,4636
9	34,7009	38,5526	45,6262
11	34,9233	40,2049	47,3532
16	35,0340	40,2813	52,3934
26	40,7752	46,3835	61,9345
36	41,4110	47,2912	64,1311
66	48,3784	54,9228	67,6331
186	53,2436	58,5258	70,8888
246	53,4146	59,8452	71,9199
306	53,9759	59,4618	71,8621
426	54,0313	59,3913	71,9775

Tabela C.5.: Variação da massa do filme com lipídio durante os ensaios de intumescimento em solução de sorbato nas concentrações de 750 mg/L, 1000 mg/L e 2000 mg/L.

Tempo, min	Massa do filme, g 5% de lipídio		
	750 mg/L	1000 mg/L	2000 mg/L
0	0,0704	0,0488	0,0385
0,5	0,0969	0,0749	0,0544
1,5	0,1127	0,0806	0,0602
3	0,1220	0,0837	0,0630
5	0,1314	0,0833	0,0743
7	0,1350	0,0842	0,0818
9	0,1354	0,0856	0,0822
11	0,1383	0,0864	0,0894
16	0,1360	0,0874	0,1010
26	0,1442	0,0940	0,1112
36	0,1480	0,0940	0,1144
66	0,1578	0,1145	0,1210
186	0,1688	0,1290	0,1320
246	0,1690	0,1311	0,1332
306	0,1711	0,1332	0,1345
426	0,1715	0,1333	0,1340

Tabela C.6.: Grau de intumescimento de filme com lipídio em soluções de sorbato de 750 mg/L, 1000 mg/L e 2000 mg/L.

Tempo, min	Grau de intumescimento 5% de lipídio		
	750 mg/L	1000 mg/L	2000 mg/L
0	0	0	0
0,5	27,3478	34,8465	29,2279
1,5	37,5333	39,4541	36,0465
3	42,2951	41,6965	38,8889
5	46,4231	41,4166	48,1830
7	47,8519	42,0428	52,9340
9	48,0059	42,9907	53,1630
11	49,0962	43,5185	56,9351
16	48,2353	44,1648	61,8812
26	51,1789	48,0851	65,3777
36	52,4324	48,0851	66,3462
66	55,3866	57,3799	68,1818
186	58,2938	62,1705	70,8333
246	58,3432	62,7765	71,0961
306	58,8545	63,3634	71,3755
426	58,9504	63,3908	71,2687

Tabela C.7.: Variação da massa do filme com lipídio durante os ensaios de intumescimento em solução de sorbato nas concentrações de 750 mg/L, 1000 mg/L e 2000 mg/L.

Tempo, min	Massa do filme, g 10% de lipídio		
	750 mg/L	1000 mg/L	2000 mg/L
0	0,0523	0,0470	0,0494
0,5	0,0900	0,0723	0,0749
1,5	0,0939	0,0798	0,0772
3	0,0974	0,0837	0,0837
5	0,0995	0,0865	0,0928
7	0,1019	0,0880	0,1019
9	0,102	0,0895	0,1090
11	0,1037	0,0904	0,1119
16	0,1071	0,095	0,1285
26	0,112	0,101	0,1518
36	0,1193	0,1083	0,1582
66	0,1288	0,1221	0,1690
186	0,1502	0,1340	0,1721
246	0,1539	0,1452	0,1725
306	0,1611	0,1487	0,1728
426	0,1632	0,1475	0,1733

Tabela C.8.: Grau de intumescimento de filme com lipídio em soluções de sorbato de 750 mg/L, 1000 mg/L e 2000 mg/L.

Tempo, min	Grau de intumescimento 10% de lipídio		
	750 mg/L	1000 mg/L	2000 mg/L
0	0	0	0
0,5	41,8889	34,9931	34,0454
1,5	44,3024	41,1028	36,0104
3	46,3039	43,8471	40,9797
5	47,4372	45,6647	46,7672
7	48,6752	46,5909	51,5211
9	48,7255	47,4860	54,6789
11	49,5661	48,0088	55,8534
16	51,1671	50,5263	61,5564
26	53,3036	53,4653	67,4572
36	56,1609	56,6020	68,7737
66	59,3944	61,5070	70,7692
186	65,1798	66,9247	71,2958
246	66,0169	67,6309	71,3623
306	67,5357	68,3927	71,4120
426	67,9534	68,1356	71,4945

ANEXO D

DADOS DE LIBERAÇÃO

O histórico de liberação de sorbato de potássio do Filme ativo com 0%, 5% e 10% de lipídio, durante um período total de tempo de 4855 s, é apresentado nas Tabelas D.1, D.2 e D.3.

**Tabela D.1.: Variação da massa de sorbato de potássio durante 4855 s
Filme ativo sem lipídio**

Tempo total, s	Massa total, mg	Mt/M α
5	0,06871	0,17995
10	0,13539	0,35458
15	0,19774	0,41788
20	0,23682	0,52023
25	0,26953	0,60589
30	0,29792	0,78026
35	0,33201	0,86955
45	0,36356	0,95218
55	0,37352	0,97826
85	0,37641	0,98581
355	0,37776	0,98935
1255	0,37909	0,99284
2155	0,38014	0,99560
3355	0,38114	0,99822
4855	0,38182	1

**Tabela D.2.: Variação da massa de sorbato de potássio durante 4855 s
Filme ativo com 5% de lipídio**

Tempo total, s	Massa total, mg	Mt/Mα
5	0,06119	0,21269
10	0,09773	0,33968
15	0,12607	0,43822
20	0,15401	0,53533
25	0,17702	0,61530
30	0,20005	0,65537
35	0,22705	0,78922
45	0,25259	0,87797
55	0,27263	0,94765
85	0,28067	0,97559
355	0,28275	0,98283
1255	0,28429	0,98818
2155	0,28546	0,99224
3355	0,28657	0,99610
4855	0,28770	1

Tabela D.3.: Variação da massa de sorbato de potássio durante 4855 s
Filme ativo com 10% de lipídio

Tempo total, s	Massa total, mg	Mt/Mα
5	0,07541	0,17958
10	0,12377	0,29478
15	0,15992	0,38088
20	0,19643	0,46781
25	0,22613	0,53855
30	0,27047	0,64416
35	0,30347	0,72275
45	0,32980	0,78545
55	0,36708	0,87424
85	0,39839	0,94880
355	0,41006	0,97661
1255	0,41357	0,98495
2155	0,41613	0,99106
3355	0,41838	0,99641
4855	0,41988	1

ANEXO E

DADOS DE RESSONÂNCIA MAGNÉTICA NUCLEAR

Os resultados obtidos com a análise de espectroscopia de ressonância magnética nuclear de próton 500 MHz, do alginato de sódio em pó (Synth), estão apresentados na Tabela E.1.

Tabela E.1. Espectro de ^1H - n.m.r de alginato de sódio

Índice	Frequência	Concentração (ppm)	Altura do pico
1	4148,879	8,300	9,0
2	2652,552	5,306	4,3
3	2445,802	4,893	9,0
4	2329,516	4,660	26,3
5	2309,556	4,620	3005,8
6	2289,595	4,580	15,7
7	2288,496	4,578	-5,7
8	2269,451	4,540	5,9
9	2230,079	4,461	6,8
10	2152,616	4,306	8,8
11	1983,041	3,967	10,9
12	1939,274	3,879	14,0
13	1924,623	3,850	17,3
14	1889,646	3,780	17,9
15	1878,659	3,758	18,4
16	1831,412	3,664	12,5

Tabela E.1. Continuação

17	1799,914	3,601	18,6
18	1761,091	3,523	13,1
19	1752,668	3,506	11,4
20	1745,709	3,492	10,7
21	1738,201	3,477	8,5
22	1677,586	3,356	7,3
23	1617,337	3,235	5,5
24	1599,208	3,199	69,1
25	956,800	1,914	19,1
26	879,703	1,760	10,7
27	867,251	1,735	5,9
28	588,898	1,178	7,3
29	581,939	1,164	8,2
30	565,641	1,132	7,9
31	520,775	1,042	8,1
32	513,816	1,028	12,0
33	506,674	1,014	7,4