



Universidade Estadual de Campinas
Faculdade de Engenharia Química
Área de Concentração: Engenharia de Processos

**DESENVOLVIMENTO E CARACTERIZAÇÃO DE FILMES
ATIVOS DE ALGINATO DE SÓDIO RETICULADOS COM
BENZOATO DE CÁLCIO**

Autora: Franciele Rezende Barbosa Turbiani

Orientador: Prof. Dr.Theo Güenter Kieckbusch

Campinas – São Paulo

Fevereiro de 2007



Universidade Estadual de Campinas
Faculdade de Engenharia Química
Área de Concentração: Engenharia de Processos

DESENVOLVIMENTO E CARACTERIZAÇÃO DE FILMES ATIVOS DE ALGINATO DE SÓDIO RETICULADOS COM BENZOATO DE CÁLCIO

Autora: Franciele Rezende Barbosa Turbiani

Orientador: Prof. Dr.Theo Güenter 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 de 2007

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

T841d	Turbiani, Franciele Rezende Barbosa Desenvolvimento e caracterização de filmes ativos de alginato de sódio reticulados com benzoato de cálcio / Franciele Rezende Barbosa Turbiani.--Campinas, SP: [s.n.], 2007. Orientador: Theo Güenter Kieckbusch Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual de Campinas, Faculdade de Engenharia Química. 1. Alginatos. 2. Biofilme. 3. Antimicóticos. I. Kieckbusch, Theo Güenter. II. Universidade Estadual de Campinas. Faculdade de Engenharia Química. III. Título.
-------	---

Título em Inglês: Development and characterization of sodium alginate active films using calcium benzoate as cross-linking agent.

Palavras-chave em Inglês: Alginate, Biofilms, Antimicrobial.

Área de concentração: Engenharia de Processos

Titulação: Mestre em Engenharia Química

Banca examinadora: Fernanda Paula Collares e Marco Aurélio Cremasco.

Data da defesa: 26/02/2007

Programa de Pós-Graduação: Engenharia Química

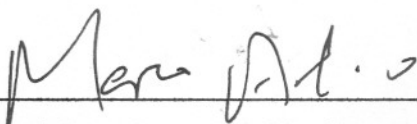
Dissertação de Mestrado defendida por Franciele Rezende Barbosa Turbiani e aprovada em
26 de fevereiro de 2007 pela banca examinadora constituída pelos doutores:



Prof. Dr. Theo Guenter Kieckbusch
(FEQ-UNICAMP)
Orientador



Profa. Dra. Fernanda Paula Collares
FEA-UNICAMP
(Titular)



Prof. Dr. Marco Aurélio Cremasco
FEQ-UNICAMP
(Titular)

Este exemplar corresponde à versão final da Dissertação de Mestrado em Engenharia Química, defendida por Franciele Rezende Barbosa Turbiani e aprovada pela comissão julgadora em 26 de fevereiro de 2007. ✓



Prof. Dr. Theo Güenter Kieckbusch (Orientador) ✓

Dissertação de Mestrado defendida por Franciele Rezende Barbosa Turbiani e aprovada em
26 de fevereiro de 2007 pela banca examinadora constituída pelos doutores:

Prof. Dr. Theo Günter Kieckbusch – Orientador

Profa. Dra. Fernanda Paula Collares (Titular)

Prof. Dr. Marco Aurélio Cremasco (Titular)

Este exemplar corresponde à versão final da Dissertação de Mestrado em Engenharia Química, defendida por Franciele Rezende Barbosa Turbiani e aprovada pela comissão julgadora em 26 de fevereiro de 2007.

Prof. Dr. Theo Günter Kieckbusch (Orientador)

*Ao meu marido Eduardo e ao meu
filho Lucas, por estarem sempre
presentes nesta caminhada de minha
vida.*

AGRADECIMENTOS

Ao Prof. Theo Guenter Kieckbusch, pela orientação e ensinamentos transmitidos com muita profissionalidade e tranquilidade.

Ao CNPq, pela concessão da bolsa de mestrado que permitiram a realização deste trabalho.

Ao Prof. Carlos R. F. Grosso, do Departamento de Planejamento Alimentar e Nutrição da FEA/UNICAMP, por disponibilizar seu laboratório e boa vontade em ajudar.

Ao técnico Celso Camargo da FEQ/UNICAMP, pela disposição em ajudar.

À todos professores da FEQ/UNICAMP, que de alguma forma contribuíram para o meu crescimento e desenvolvimento deste trabalho.

Ao pessoal do CECI/UNICAMP, que me proporcionaram bons momentos com as crianças, sentirei saudades.

Aos amigos do LEPPbio, Mariana, Rosalinda, Leda, Pierre e Uiram, pela amizade e bons momentos proporcionados.

Aos amigos da pós graduação, Camila, Grínia, Paula Pavanelli, Paula Delgado, Márcio, Vanessa, Daniel, Érico e Aline, pela força, determinação e amizade.

À aluna de iniciação científica Renata Paulo Barbosa, pela grande ajuda, boa vontade e amizade.

Aos meus pais Silvio e Elizete, e às minhas irmãs Fernanda e Flávia pela paciência e incentivo constantes durante a caminhada.

Ao meu marido Eduardo e ao meu filho Lucas, por estarem ao meu lado em todos os momentos que precisei.

RESUMO

Filmes biodegradáveis são produzidos a partir de polímeros naturais, principalmente polissacarídeos e proteínas, e tem potencial aplicação na área médica, farmacêutica e alimentícia. A incorporação de agentes ativos pode ampliar suas funções como embalagens antimicrobianas, por exemplo. Filmes foram confeccionados à base de alginato de sódio usando cloreto de cálcio como agente reticulante e glicerol como plastificante. O uso de benzoato de cálcio foi investigado como agente ativo (íons benzoato) e como auxiliar na reticulação (íons cálcio). Devido ao alto poder gelificante do Ca^{++} , confeccionou-se, inicialmente, um filme de baixa reticulação a partir de soluções filmogênicas contendo até 0,54% de Ca^{++} (1º estágio). Esse filme sofreu uma reticulação complementar com excesso de Ca^{++} (2º estágio). Dentre os vários procedimentos avaliados (contato do filme com tecido e/ou esponja umedecidas, pincel ou rolo de pintura e imersão do filme em solução reticuladora), a simples imersão em solução contendo de 3 a 7% de CaCl_2 no 2º estágio produziu filmes com alto grau de reticulação. O aumento da concentração de glicerol nessa solução melhora a manuseabilidade e plasticidade dos filmes, porém aumenta a solubilidade em água e o conteúdo de umidade dos mesmos e um adequado compromisso foi obtido usando 5% desse plastificante. Ensaios nos quais o CaCl_2 foi substituído, total ou parcialmente, por benzoato de cálcio indicou que o mesmo não pode ser usado na solução do 2º estágio por favorecer a precipitação de cristais sobre o filme. Filmes ativos de 0,06 mm de espessura, pré-reticulados apenas com benzoato de cálcio e 0,7% de glicerol na solução do 1º estágio e imersos por 30 minutos em banho contendo 3% de CaCl_2 e 5% de glicerol no 2º estágio, apresentaram baixa solubilidade em água (até 20% da matéria seca). Estes filmes têm baixo grau de intumescimento ($< 50\%$ da massa inicial), boa resistência mecânica à tração, mas baixa elasticidade. A permeabilidade ao vapor de água é moderada e os valores encontrados são típicos de biofilmes hidrofílicos. Ensaios de liberação de benzoato utilizando água como sorvedouro, apresentaram bom ajuste as soluções da 2ª Lei de Fick, com valores de difusividade efetiva do benzoato variando de 3 a $5 \cdot 10^{-7} \text{ cm}^2/\text{s}$. Os valores de difusividade diminuíram com o aumento da reticulação e aumentaram com o aumento da concentração de benzoato no filme.

Palavras-chave: alginato, biofilmes, benzoato de cálcio, antimicótico, liberação.

ABSTRACT

Biodegradable films are produced from natural polymers, structurized mainly by polysaccharides or proteins, and have potential applications in the medical, pharmaceutical or food area. The incorporation of active agents can extend their application as antimicrobial packaging, for instance. Films were manufactured with sodium alginate, using calcium chloride as cross-linking agent and glycerol as plasticizer. The use of calcium benzoate as active agent (benzoate ions) and as crosslinking agent (calcium ions) was investigated. Due to the strong gelling power of Ca^{++} ions, impeding smooth casting procedures, films with low reticulation are initially manufactured, using less than 0.54% Ca^{++} in the filmogenic solutions (1st stage). These films are further crosslinked with an excess of Ca^{++} by immersion in a solution of 3% to 7% of CaCl_2 (2nd stage). Increasing the glycerol concentration in this solution improves the handling and plasticity of the films but increase water solubility and moisture content and an adequate compromise was obtained using 5% plasticizer. Tests conducted with partial or total substitution of CaCl_2 by calcium benzoate indicated that the later could not be used in the 2nd stage solution since it promoted crystals precipitation on film surface. Active films, 0.06mm thick, pre-reticulated with calcium benzoate only and with 0.7% glycerol in the solution of the 1st stage, immersed for 30 minutes in a 3% CaCl_2 and 5% glycerol solution (2nd stage) had around 17% moisture content and low water solubility (up to 20% of total dry mass). These films show low swelling degree (<50% of initial mass), good tension strength but low elongation ability. The water vapor permeability is moderate, typical of highly hydrophilic films. Benzoate liberation tests, using pure water as sink, presented good fit to solutions of Fick's 2nd law and effective diffusivities found varied from 4.2 to $6.3 \times 10^{-7} \text{ cm}^2/\text{s}$. The diffusivity values decreased with the degree of reticulation and increase with benzoate concentration in the film.

Key words: alginate, biofilms, calcium benzoate, antimicrobial, liberation.

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	1
 2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	5
2.1- Filmes comestíveis e/ou biodegradáveis	5
2.1.1- Propriedades funcionais de membranas e filmes biodegradáveis	7
2.2- Alginato	8
2.2.1- Características	8
2.2.2. Obtenção de filmes e recobrimentos a partir de alginato	11
2.2.3- Vantagens e aplicações do alginato	13
2.3- Plastificantes	15
2.4- Filmes com atividade antimicrobiana	17
2.4.1. Substâncias antimicrobianas	18
2.5- Transporte de substâncias ativas em filmes poliméricos	21
2.5.1. Liberação do antimicrobiano	21
2.5.2- Taxa de liberação de antimicrobianos em filmes – modelagem	21
2.6- Determinação da difusividade em filmes	24
2.7- Caracterização de filmes biodegradáveis ativos	25
2.7.1- Propriedades de barreira	25
2.7.2- Características mecânicas	26
2.7.3- Solubilidade em água	27
2.7.4- Intumescimento	28

3. MATERIAIS E MÉTODOS	31
3.1. Materiais	31
3.2. Métodos	31
3.2.1 Concentrações de benzoato de cálcio	31
3.2.2 Metodologia de preparação de filmes de alginato	32
3.2.3 Caracterização dos filmes	33
3.2.3.1. Espessura	33
3.2.3.2. Aspecto visual	33
3.2.3.3. Limite de incorporação de benzoato	33
3.2.3.4. Conteúdo de umidade (W)	34
3.2.3.5. Solubilidade em água (S)	34
3.2.3.6. Grau de intumescimento (<i>swelling</i>)	35
3.2.3.7. Tensão e elongação na ruptura	36
3.2.3.8. Permeabilidade ao vapor de água (PVA)	37
3.2.3.9. Cinética da liberação de benzoato	38
3.3. Ensaio	39
3.3.1. Ensaio preliminar: metodologia para reticulação no 2º estágio	39
3.3.1.1. Contato do filme com tecido ou esponja umedecidas	39
3.3.1.2. Contato do filme com tecido + esponja umedecidas	40
3.3.1.3. Recobrimento do filme usando pincel ou rolo de pintura	40
3.3.1.4. Recobrimento do filme usando pincel de pintura variando o conteúdo de glicerol	41
3.3.1.5. Contato por imersão do filme em 50 mL de solução	41

3.3.2. Ensaio preliminares: definição da concentração de CaCl_2 no 1º estágio	42
3.3.3. Ensaio preliminares: definição da concentração de glicerol	42
3.3.4. Ensaio definitivos	42
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO	45
4.1. Definição do modo de contato no tratamento do 2º estágio	45
4.1.1. Contato do filme com tecido ou esponja umedecidas	45
4.1.2. Contato do filme com tecido + esponja umedecidas	47
4.1.3. Recobrimento do filme usando pincel ou rolo de pintura	50
4.1.4. Recobrimento do filme usando pincel de pintura variando o conteúdo de glicerol	52
4.1.5. Contato por imersão do filme em 50 mL de solução	54
4.2. Influência do grau de reticulação	56
4.2.1. Filmes pré-reticulados com 1,0 % CaCl_2	56
4.2.2. Filmes pré-reticulados com 0,8 % e 0,4% CaCl_2	58
4.3. Definição da concentração de glicerol no 2º estágio	59
4.4. Ensaio com cloreto e benzoato de cálcio	61
4.4.1. Umidade e solubilidade em água	62
4.4.2. Grau de intumescimento	64
4.4.3. Tensão e alongação na ruptura	69
4.4.4. Permeabilidade ao vapor de água	71
4.5. Otimização dos resultados	73
4.6. Cinética de liberação do benzoato	77
4.6.1. Filmes reticulados com 3% de cloreto de cálcio no 2º estágio	78

4.6.2. Filmes reticulados com 7% de cloreto de cálcio no 2º estágio	85
5. CONCLUSÕES	93
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	95
ANEXO A – Curva de calibração para o benzoato de cálcio	107
ANEXO B – Dados de intumescimento	109
ANEXO C – Dados de liberação	113

CAPÍTULO 1

INTRODUÇÃO

Os alimentos, de forma geral, são altamente perecíveis. Deste modo, inúmeros são os problemas relacionados à conservação dos mesmos, seja na forma *in natura* ou como produtos processados. Diversas são as técnicas de conservação de alimentos utilizadas, destacando-se: o uso de aditivos químicos, a salga e a defumação, a pasteurização, esterilização, refrigeração, congelamento, desidratação osmótica e a secagem. Geralmente, métodos combinados são utilizados, sendo indispensável a proteção física do alimento, na forma de embalagens adequadas.

A indústria de polímeros sintéticos trouxe grandes benefícios à sociedade moderna, principalmente no setor de embalagem, e em particular de alimentos e outros produtos perecíveis, pois os polímeros termoplásticos comerciais por serem hidrofóbicos e biologicamente inertes tornaram-se essenciais para o comércio desses produtos no varejo, inclusive substituindo o vidro e embalagens metálicas (SCOTT, 2000).

Na década de 1970, ficou evidente que as características técnicas que fizeram dos polímeros materiais versáteis e de ampla utilização tornaram-se um problema no momento do descarte devido aos efeitos nocivos causados ao meio ambiente (SCOTT, 2000). Plásticos como o polietileno, que são utilizados como embalagem e outras aplicações na agricultura se acumulam no ambiente a uma taxa de 25 milhões de toneladas por ano (ORHAN e BÜYÜKGÜNGÖR, 2000).

A preocupação com o descarte de embalagens sintéticas e a diminuição das reservas de petróleo deu um impulso para o desenvolvimento de embalagens com filmes biodegradáveis, a qual é degradada no meio pela ação de microorganismos no solo, usando biopolímeros renováveis tais como polissacarídeos, proteínas, lipídios e outros componentes (KESTER e FENNEMA, 1986; KROCHTA e MULDER-JOHNSTON, 1997; DEBEAUFORT *et al.*, 1998).

A utilização de embalagens biodegradáveis pode aumentar o valor agregado do produto embalado e evitar problemas com as legislações cada vez mais rígidas na questão ambiental dos países importadores, principalmente europeus (PETERSEN *et al.*, 1999; THARANATHAN, 2003).

Os filmes comestíveis e/ou biodegradáveis são produzidos basicamente a partir de macromoléculas capazes de formar matrizes contínuas e coesas. Dentre os diversos materiais pesquisados para a produção de filmes biodegradáveis, o alginato é um polissacarídeo que se destaca dos demais, em virtude de sua natureza termoestável e característica reológica ajustável. Ele tem sido aplicado não somente no setor alimentício, mas também no farmacêutico e químico (ERTESVÁG e VALLA, 1998).

A produção de filmes comestíveis e/ou biodegradáveis tem despertado interesse em função das possíveis aplicações adicionais tais como a habilidade de funcionar como suporte de substâncias ativas (antioxidantes, agentes antimicrobianos, etc) para ser utilizado no interior de alimentos heterogêneos (ex: bolo com recheio, hambúrguer), funcionando como barreira ao transporte de gases e solutos (CHERIAN *et al.*, 1995; HAN, 2000).

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 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. A embalagem ativa procura corrigir deficiências na embalagem convencional. Neste segmento, tem-se destacado o desenvolvimento envolvendo o uso de agentes antimicrobianos na embalagem (OLIVEIRA, 2003). Durante o armazenamento, esses agentes irão difundir até a superfície do alimento.

Embalagens com atividade antimicrobiana são formas promissoras de embalagens ativas. Embora a maioria dos produtos alimentícios perecíveis embalados seja esterilizada através de aquecimento ou possuam um sistema de auto proteção, a contaminação microbiana pode ocorrer na superfície ou em áreas danificadas do alimento, através de

defeitos na embalagem ou durante o armazenamento após a mesma estar aberta (HAN, 2000).

A proposta principal dessa pesquisa foi avaliar a possibilidade de combinar as duas etapas necessárias para a confecção de filmes ativos de alginato. A reticulação (com cloreto de cálcio) e a adição de agente antimicótico (benzoato de sódio) foram parcial ou totalmente substituídos pela adição de benzoato de cálcio que exerceu as duas funções. O íon cálcio como o agente reticulador e o íon benzoato como o agente anti-micótico. Também foram avaliados a influência do grau de pré-reticulação, o modo de contato no tratamento do 2º estágio (contato do filme com tecido e/ou esponja umedecidas, pincel ou rolo de pintura e imersão do filme em solução reticuladora) e a concentração de glicerol no 2º estágio. A caracterização destes filmes envolveu a determinação da espessura, a umidade, a permeabilidade ao vapor d água, a solubilidade em água, o grau de intumescimento, propriedades mecânicas e a taxa de liberação do benzoato.

CAPÍTULO 2

REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1- Filmes comestíveis e/ou biodegradáveis

Os filmes e recobrimentos biodegradáveis são aqueles formados a partir de polímeros naturais, de origem animal ou vegetal, como polissacarídeos, lipídios e proteínas e que quando lançados no meio ambiente, convertem-se em compostos simples, mineralizados, que, redistribuídos através dos ciclos de carbono, nitrogênio e enxofre não agredem o biossistema (CHANDRA e RUSTGI, 1998). Existem alguns requisitos específicos para o seu uso, tais como: boa aceitabilidade sensorial, propriedades de barreira e mecânicas adequadas, estabilidade bioquímica, físico-química e microbiológica, ser inócua, não-poluente, de processamento simples e de baixo custo (DEBEAUFORT *et al.*, 1998). Esses filmes também devem ser, de preferência, transparentes, ter aderência suficiente para serem facilmente removíveis no manuseio e não introduzir alterações no gosto. Embora atributos de qualidade física e de proteção ao alimento sejam os objetivos principais de um revestimento, dá-se uma ênfase natural às características visuais (ASSIS e LEONI, 2003).

A elaboração de filmes comestíveis e/ou biodegradáveis requer a utilização de pelo menos um constituinte capaz de formar uma matriz contínua e de coesão adequada, sendo este uma macromolécula (GUILBERT *et al.*, 1997).

O uso de filmes comestíveis tem sido proposto para proteger produtos alimentícios. Os principais grupos utilizados na formulação de filmes são: proteínas (caseínas, proteínas do soro do leite, proteína do milho como a zeína, proteína do trigo como o glúten, colágeno e gelatina); polissacarídeos e seus derivados (derivados da celulose, quitosana, amido, alginatos, pectinas e gomas); e lipídios (monoglicerídeos, ácidos graxos, ceras naturais, etc.) têm sido usados para aplicações em alimentos (GUILBERT, 1986; CUQ *et al.*, 1995; KESTER e FENNEMA, 1986).

Embalagem ativa é um conceito inovador que pode ser definido como sendo uma forma de revestimento no qual a embalagem, o alimento e a interação destes com o meio ambiente estendem a vida de prateleira do alimento enquanto melhoram a qualidade do produto (SUPPAKUL *et al.*, 2003).

As embalagens (plásticas) derivadas do petróleo, como as poliolefinas, poliésteres, poliamidas, etc, são muito utilizadas. Elas são viáveis economicamente, sendo produzidas em grande quantidade por um baixo custo, possuem boas propriedades mecânicas (tensão de ruptura e alongamento) e de barreira a gases e compostos aromáticos, além da estabilidade térmica. Apresentam baixa taxa de transmissão ao vapor d'água, mas, infelizmente, são totalmente não-biodegradáveis, o que acarreta sérios problemas quanto à sua utilização. Instala-se aqui um paradigma embalagem *versus* meio ambiente (THARANATHAN, 2003).

Recobrimentos são aplicados ou confeccionados diretamente sobre o produto ou alimento a ser protegido enquanto filmes são estruturas independentes que podem ser utilizadas para envolvê-los, após sua fabricação (DONHOWE e FENNEMA, 1993). Os filmes podem localizar-se na superfície ou como finas camadas entre diferentes partes do produto (DEBEAUFORT *et al.*, 1998).

O processo de produção dos biofilmes a partir de uma solução filme-formadora envolve uma primeira etapa de solubilização da macromolécula em um solvente (água, etanol, solução de ácido acético, etc.) ao qual podem ser incorporados diversos aditivos (plastificantes, agentes reticulantes, etc.); na segunda etapa, a solução formadora do filme é vertida sobre um suporte e, usualmente, submetida à secagem até uma condição que permita um fácil desprendimento do molde (CUQ *et al.*, 1995).

As características finais dos filmes comestíveis e/ou biodegradáveis são resultantes de diversos parâmetros, tais como: características físico-químicas e concentração da macromolécula e dos demais constituintes (solvente, plastificante, etc.), pH, condições de secagem e condições ambientais (temperatura e umidade).

As propriedades das macromoléculas influenciam diretamente nas características finais dos filmes e/ou coberturas comestíveis. Filmes baseados em macromoléculas com características hidrofílicas apresentam razoáveis propriedades de barreira ao oxigênio e ao

gás carbônico, enquanto filmes baseados em lipídios possuem boas propriedades de barreira ao vapor d'água, mas apresentam resistência mecânica insuficiente (PARK *et al.*, 1994).

2.1.1- Propriedades funcionais de membranas e filmes biodegradáveis

As vantagens dos filmes biodegradáveis podem ser justificadas com base na funcionalidade das mesmas: controle da migração de água; permeabilidade ao oxigênio e ao dióxido de carbono e migração lipídica em um sistema alimentício multifásico (KESTER e FENNEMA, 1986).

A funcionalidade destas embalagens 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).

O conteúdo de umidade em produtos alimentícios pode comprometer seriamente a qualidade, estabilidade e segurança microbiológica dos mesmos. Mudanças no conteúdo de umidade de um alimento podem ocorrer internamente ou entre o alimento e a atmosfera. Em ambas as situações, o mecanismo primário para a transferência de água é a difusão em fase líquida ou fase vapor causado por um gradiente no potencial químico da água em diferentes posições (SALWIN e SLAWSON, 1959; KING, 1968; LABUZA, 1984).

A utilização de revestimentos com o intuito de retardar a desidratação não é recente. Já no século XVI, os europeus protegiam a carne da perda de umidade através da aplicação de gordura animal (LABUZA e CONTRERAS, 1981).

O transporte de gases, tais como oxigênio e dióxido de carbono, também pode influenciar na estabilidade dos alimentos armazenados. Uma primeira forma de deterioração envolve a oxidação de lipídios, vitaminas, componentes de sabor e pigmentos. Em muitas situações deseja-se diminuir a transferência de vapores orgânicos 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). Na estocagem de frutas é essencial diminuir seu metabolismo controlando a respiração através de embalagens que modifiquem a micro-atmosfera de O₂ e CO₂ (KADER *et al.*, 1989).

2.2- Alginatos

2.2.1. Características

Alginatos são de grande interesse como potencial componente estrutural de filmes e coberturas por causa de suas propriedades coloidais únicas, na qual incluem compactação, estabilização, suspensão, formação do filme, produção do gel, e estabilização da emulsão (KING, 1983; MOE *et al.*, 1995). Ele é um carboidrato coloidal hidrofílico extraído com álcali diluído de várias espécies de algas *Phaeophyceae*.

Em termos moleculares, o alginato é da família de copolímeros binários, composto por ligações 1-4 de ácido β -D-manurônico (M) e ácido α -L-gulurônico (G), de larga variação na composição e estrutura sequencial (KING, 1983; MOE *et al.*, 1995). Estes monômeros são organizados em blocos ao longo da cadeia, que podem ser compostos por blocos de homopolímeros (GG e MM) junto com blocos alternados (MG) na mesma molécula, como pode ser visto na Figura 2.1 (SMIDSRØD, 1974).

A 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).

Ácido algínico é o único polissacarídeo que contém, naturalmente, grupos carboxílicos em cada constituinte residual, e possui várias habilidades funcionais (IKEDA *et al.*, 2000). A propriedade mais usada e única em alginatos é sua habilidade de reagir com cátions polivalentes, especialmente íons cálcio, para produzir géis fortes ou polímeros insolúveis (GRANT *et al.*, 1973; KING, 1983).

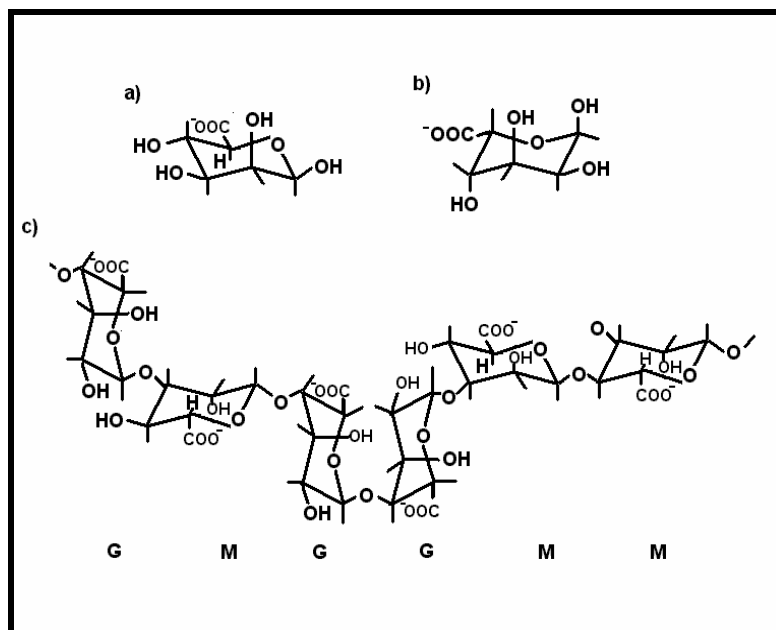


Figura 2.1. Estrutura do ácido β-D-manurônico (a), α-L-gulurônico (b) e alginato (c) (ERTESVÁG e VALLA, 1998).

Considerando a importância potencial como uma fonte natural e renovável do ácido algínico, ele é usado para o desenvolvimento como uma fonte para filmes comestíveis ou biodegradáveis (LAZARUS *et al.*, 1976; WILLIAMS *et al.*, 1978; PARRIS *et al.*, 1995; PAVLATH *et al.*, 1999).

A principal aplicação comercial do alginato é na forma de sal, sendo largamente utilizado nas indústrias alimentícia, farmacêutica, têxtil e de papel (MANCINI *et al.*, 1996). Derivados de alginato também são usados na indústria de processamento de alimentos para a produção de produtos de carnes, anéis de cebola, recheios de azeitona, *sticks* de caranguejo, e aperitivos de lagosta (MOE *et al.*, 1995) e na indústria de biotecnologia para produção de pérolas para imobilização de células e enzimas (BRODELIUS, 1984).

Sais formados por íons monovalentes (sódio, potássio, amônio) formam alginatos solúveis em água e por íons multivalentes (cálcio, magnésio, cromo, bário, alumínio), insolúveis em água.

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 viscosidade de soluções de alginato depende dos arranjos dos blocos M e G e a Tabela 2.1 apresenta características de alginatos obtidos dos dois principais tipos de algas, uma rica em grupos M e outra em grupos G. Comercialmente eles são divididos em três classes de acordo com a viscosidade: baixa viscosidade (LV), média viscosidade (MV) e alta viscosidade (HV).

A relação entre viscosidade intrínseca e a massa molecular média (M_n) de qualquer tipo de alginato de sódio é calculada pela Equação de Mark-Houwink (CLEMENTI *et al.*, 1999), conforme a Equação [2.1].

$$[\mu] = 1,228 \cdot 10^4 \cdot M_n^{0,963} \quad [2.1]$$

O grau de polimerização, d_p , é obtido pela relação $d_p = M_n / 198$.

Tabela 2.1. Principais propriedades químicas (X_G e X_M) e físicas (μ , M_n , d_p) do alginato (Clementi *et al.*, 1999)

Alga	Tipo	Nº	X_G (%)	X_M (%)	μ (dL/g)	M_n (kDa)	d_p
<i>Macrocystis pyrifera</i>	Alto-M	LV	0,38	0,62	5,9	72,7	367
		MV	0,35	0,65	9,6	119,9	606
		HV	0,37	0,63	10,7	134,5	679
<i>Laminaria hyperborea</i>	Alto-G	LV	0,63	0,37	5,9	73,1	369
		MV	0,57	0,43	6,8	84,6	427
		HV	0,63	0,37	17,0	217,7	1099

Nº é a codificação para viscosidade do alginato; X_G (%) é a porcentagem de ácidos gulurônicos (G); X_M (%) é a porcentagem de ácidos manurônicos (M); μ (dL/g) é a viscosidade intrínseca em NaCl 0,1 M; M_n (kDa) é a massa molecular média; d_p é o grau de polimerização.

Conforme apresentado na Tabela 2.1, 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).

A estrutura do gel de alginato é governada não somente pela concentração e estrutura química do material do gel, mas também pela cinética de formação do mesmo, que depende da concentração de cátions, da força iônica e do pH.

A formação do gel de alginato de cálcio é uma operação complexa e depende do tipo de alginato utilizado, do grau de associação entre o alginato e o cálcio, da fonte de íons de cálcio (cloreto, fosfato, lactado ou acetato de cálcio) e dos métodos de preparação.

2.2.2. Obtenção de filmes e recobrimentos a partir de alginato

A confecção de filmes ou coberturas de alginato de cálcio geralmente exige primeiro a formação de um gel. O alginato reage rapidamente com diversos cátions polivalentes para formar géis, que serão utilizados na formação de recobrimentos e filmes. Allen *et al.* (1963) classificaram o cloreto de cálcio como o agente gelificante mais efetivo, tendo a função de estabelecer a associação cooperativa dos segmentos poliméricos M e G, formando estruturas agregadas. 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. Essa estrutura reticulada tridimensional formada tem uma grande capacidade de reter água, formando assim um gel muito estável.

Ao se adicionar diretamente íons cálcio a uma solução de alginato de sódio, a gelificação ocorre instantaneamente na região de contato e o gel formado não pode mais ser manuseado e vertido em um molde para a formação de um filme homogêneo.

Existem dois métodos para gelificação do alginato de sódio com cálcio. No primeiro método, íons de cálcio bivalentes são homogeneamente 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. À medida que o cálcio ionizado na solução interage com polímeros de ácido algínico, mais sal será solubilizado, resultando eventualmente na formação de um gel homogêneo. Alterações no pH ou temperatura também podem ser utilizadas para controlar a liberação de íons de cálcio por toda a solução de alginato (KESTER e FENNEMA, 1986). 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 o alginato em solução, um gel desenvolve-se instantaneamente na interface. A gelificação prossegue quando os íons de cálcio difundem através da interface gel-membrana (GLICKSMAN, 1983).

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, apresenta-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 “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 a junção entre as cadeias, semelhante ao ovo numa embalagem de ovos, formando uma rede tridimensional (ver Figura 2.2). A resistência do gel está diretamente relacionada com a quantidade de zonas de junção e a natureza das associações envolvidas nestas zonas.

A resistência e a permeabilidade do filme podem ser alteradas pela concentração do 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).

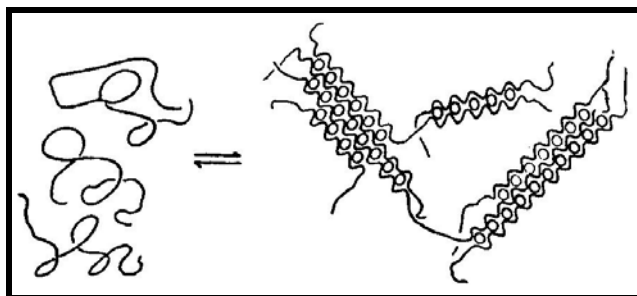


Figura 2.2. Representação esquemática da transição sol-gel para alginato, envolvendo zonas de junção tipo “caixa de ovos” (Bryce *et al.*, 1974)

A Figura 2.3 apresenta um fluxograma quantitativo para a fabricação de filmes de alginato, desenvolvido no LEPPbio/FEQ, as quantidades de constituintes indicadas na figura corresponde à formulação de um filme padrão (ZACTITI e KIECKBUSCH, 2005).

O processo deve ser conduzido em duas etapas, pois, conforme já mencionado, a rápida reação com cálcio forma géis que não podem mais ser moldados em forma de filmes homogêneos. No 1º estágio parte-se de uma solução filmogênica com baixa concentração de íons cálcio que é vertida em um molde e, após secagem, produz um filme de baixo grau de reticulação. Esse filme é manuseável, tem certa resistência mecânica, mas é solúvel em água e precisa sofrer uma reticulação complementar. O filme recebe então um excesso de Ca^{++} e é novamente submetido à secagem (2º estágio).

2.2.3- Vantagens e aplicações do alginato

A principal vantagem do gel de alginato é a sua habilidade de ser termoe estável podendo ser armazenado à temperatura ambiente. Uma vez formado, o gel de alginato mantém sua forma e propriedades reológicas durante o processamento térmico, incluindo todo tipo de cozimento, congelamento e descongelamento, uma propriedade desejável em muitos alimentos. 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.

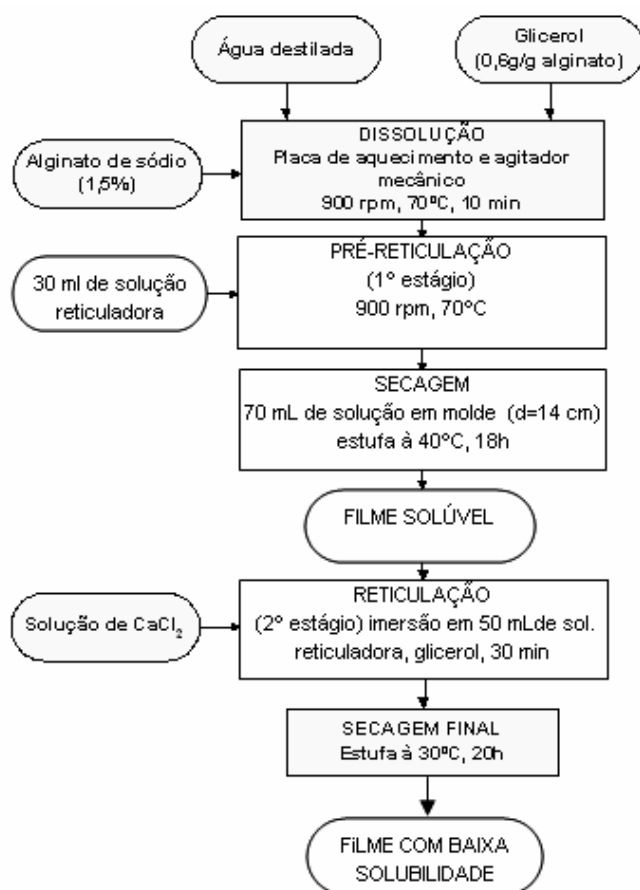


Figura 2.3. Fluxograma da confecção de filmes de alginato desenvolvido pelo Laboratório de Engenharia de Produtos e Processos em Biorrecursos /FEQ (Zactiti, 2004).

Alginato de sódio pode ser dissolvido em água, com ou sem aquecimento, resultando em soluções com uma grande faixa de viscosidade e diferentes perfis reológicos. Em contato com cátions multivalentes ocorre uma transição sol/gel. Essas características, combinadas ao fato do alginato ser um produto muito bem caracterizado e seu comportamento físico-químico entendido, tanto na fase líquida como na fase gel, fazem desse biopolímero um material de trabalho único, comparado aos outros polissacarídeos. Somente a pectina se assemelha ao alginato no que se refere ao comportamento de transição sol/gel, mas este sistema não está tão bem caracterizado como acontece com alginatos. Alginatos são muito utilizados e consumidos por ser uma substância natural, sustentável, de origem vegetal, renovável e biodegradável.

Alginatos têm sido aplicados não somente na indústria alimentícia, mas também nas indústrias de impressão em tecidos, farmacêutica e em processos para tratamento de água (ERTESVÁG e VALLA, 1998).

2.3- Plastificantes

A formação de filmes depende da solubilização da macromolécula no solvente (água, etanol, ácido acético, outros), da adição de plastificante e/ou 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 à 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 mais fortes interações 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.

Os plastificantes são definidos como substâncias com alto ponto de fusão e baixa volatilidade que quando adicionados a outro material provocam mudanças nas propriedades físicas, químicas e mecânicas dos mesmos (McHUGH e KROCHTA, 1994). Além disso, em sua maioria apresentam caráter hidrofílico, e por serem normalmente moléculas pequenas, são facilmente acoplados entre as cadeias poliméricas devido à sua habilidade de reduzir a formação de pontes de hidrogênio entre elas, diminuindo as forças de atração intermoleculares, causando um aumento do volume livre ou da mobilidade molecular do polímero (BODMEIER e PAERATAKUL, 1997).

A escolha do plastificante a ser adicionado aos filmes 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. A concentração de plastificante usado na elaboração de filmes geralmente varia de 10 a 60g/100g de matéria seca de polímero, dependendo da flexibilidade desejável no filme (GUILBERT, 1986).

Um projeto de doutorado desenvolvido no Laboratório de Produtos e Processos em Biorrecursos da FEQ/UNICAMP avaliou a difusividade de alguns agentes antimicóticos em membranas e filmes de alginato de cálcio e tem utilizado o glicerol como plastificante. Os filmes obtidos são pouco solúveis, adequadamente resistentes, porém com valores de permeabilidade ao vapor de água acima dos níveis desejáveis (ZACTITI, 2004).

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 de água de 11,1 g.mm/kPa.dia.m² e utilizando o sorbitol, a permeabilidade encontrada foi de 6,3 g.mm/kPa.dia.m².

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).

Segundo Pommet *et al.* (2003) o efeito de plastificação do filme pode ser conseguido através da utilização de ácidos graxos com comprimentos de cadeia carbônica de seis a dez carbonos. Pesquisadores reportam que o efeito da plastificação do trigo de glúten estaria associado ao reduzido comprimento da cadeia carbônica do lipídio. A incorporação de lipídios com até dez carbonos abre novas perspectivas na formulação de filmes biodegradáveis (CARULO, 2005).

2.4- Filmes com atividade antimicótica

Os filmes com atividade antimicótica apresentam uma habilidade de auto-esterilização por causa de seu próprio potencial antimicrobiano. Desta forma, esses filmes ativos agem reduzindo o crescimento microbiano e garantem a estabilidade de alimentos pasteurizados. A utilização desses filmes pode eliminar processos de esterilização química das embalagens comuns, que usam peróxidos, e simplificar a assepsia necessária no processamento de embalagem. Esses filmes auto-esterilizáveis apresentam também uma gama de aplicações além das em alimentos tais como: uso clínico, em hospitais, laboratórios, equipamentos biotecnológicos e biomédicos dentre outros.

A produção e o uso de filmes com atividade antimicrobiana é, conceitualmente, uma tecnologia de liberação controlada.

Tecnologias de liberação controlada são utilizadas para suprir compostos como drogas, pesticidas ou fragrâncias a taxas determinadas, melhorando a eficácia, a segurança e a conveniência da utilização dos mesmos.

A cinética de liberação está relacionada com a formulação das substâncias ativas e com suas propriedades (ex. solubilidade ou volatilidade) no meio em que estão inseridas. Em muitos casos, a liberação da substância ativa é controlada pela taxa de difusão através do material.

A liberação na maioria dos sistemas, que depende da difusão no filme, pode ser caracterizada em três tipos de cinética. 1) liberação de ordem zero: Para este tipo de sistema, a taxa de liberação permanece constante até que toda substância ativa tenha sido distribuída. Esta é a meta a ser alcançada com essa tecnologia, mas só é possível no caso de filmes se o mesmo envolver um reservatório de soluto a uma concentração constante; liberação $t^{1/2}$: nestes sistemas, a taxa de liberação diminui proporcionalmente com a raiz quadrada do tempo. Esse, normalmente, é o mecanismo inicial de liberação do soluto contido em filmes; liberação de primeira ordem: ocorre em sistemas onde a taxa de liberação é proporcional a quantidade de substância que permanece no sistema. É comum em sistemas convencionais de liberação não-controlada, bem como em alguns sistemas de liberação controlada e é caracterizado por uma diminuição exponencial na taxa de liberação

em função do tempo. Ele ocorre nos estágios finais de liberação por difusão do agente incorporado a filmes (CUSSLER, 1997).

As equações e as condições para a aplicação de modelos matemáticos de transferência de massa foram bem classificadas por Han (2000), baseando-se em soluções clássicas da 2ª Lei de Fick. É possível aplicar modelos matemáticos para prever a taxa de liberação controlada de substâncias ativas do material da embalagem para o produto alimentício conhecendo-se a difusividade do soluto, tanto no filme como no alimento. Isto permitirá uma estimativa do perfil de concentração no sistema e possibilitará a determinação do período no qual a concentração do elemento antimicrobiano se manterá acima da concentração crítica inibitória ao desenvolvimento microbiano.

2.4.1. Substâncias antimicrobicas

As substâncias antimicrobicas 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 antimicrobianas normalmente incorporadas a embalagens são ácidos orgânicos e seus sais, sulfitos, nitritos, antibióticos, álcoois e antimicrobicos (fungicidas). Outras substâncias químicas, gases, enzimas e componentes naturais têm sido testados como agentes preservantes e esterilizantes, destacando-se: ácido propiônico, peróxidos, ozônio, óxido clorídrico, eugenol, lisogima, nisina, EDTA, etc. Os preservantes tradicionais podem ter mais vantagens em embalagens antimicrobianas, por serem considerados componentes comestíveis (HAN, 2000).

O benzoato, na forma de benzoato de sódio ou de ácido benzóico, é um dos mais antigos conservadores químicos utilizados nas indústrias cosméticas, farmacêuticas e de alimentos, apresentando um amplo uso em uma grande variedade de alimentos. O ácido benzóico, os benzoatos e os ésteres de ácido benzóico encontram-se facilmente na maior parte dos frutos, especialmente em bagas. As uvas-dos-montes são uma fonte muito rica em ácido benzóico. Além das frutas, os benzoatos ocorrem naturalmente em cogumelos, canela, bolbos e em alguns produtos de laticínios (devido à fermentação bacteriana). Para propósitos comerciais, é preparado quimicamente a partir do tolueno. Sua ação

conservadora foi descrita pela primeira vez por H. Fleck em 1875 (TFOUNI e TOLEDO, 2001). A estrutura química do ácido benzóico está apresentada na Figura 2.4.

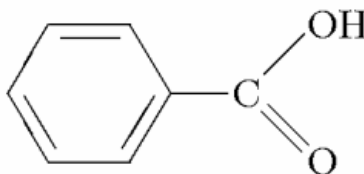
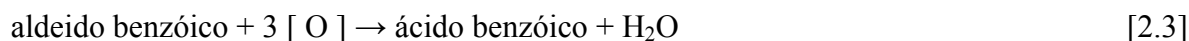
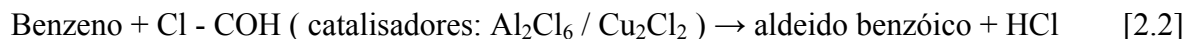


Figura 2.4. Fórmula estrutural do ácido benzóico.

O ácido benzóico de fórmula molecular $C_6H_5C(O)OH$, um composto aromático classificado como ácido carboxílico, é um sólido cristalino branco apresentando ponto de fusão de $+122^{\circ}C$ e ponto de ebulição de $+250^{\circ}C$. Entre os derivados do ácido benzóico se encontram o ácido salicílico e o ácido 2-O-acetilsalicílico, também conhecido como aspirina. Seu anel aromático é o radical fenila, sendo obtido a partir do benzeno:



O ácido benzóico e os benzoatos são utilizados como conservantes contra fungos, leveduras e bactérias, sendo mais eficiente contra bactérias e leveduras do que contra fungos, e são ineficazes em produtos com um pH acima de 5 (levemente ácidos ou neutros). As faixas de concentração mínima para inibição variam de 50 a 1800ppm (bactérias), 20 a 700ppm (leveduras) e 20 a 500ppm (fungos). Quando comparado ao sorbato, o benzoato apresenta menor eficiência em pH acima de 4,5.

Concentrações altas resultam num gosto amargo, que limita a sua aplicação. O benzoato de sódio é o aditivo mais utilizado como fonte de benzoato, devido a sua melhor solubilidade do que a forma ácida. Em algumas pessoas o ácido benzóico e benzoatos podem liberar histamina e assim causar reações pseudo-alérgicas.

Devido ao seu baixo custo, facilidade de incorporação aos produtos, ausência de cor e toxicidade relativamente baixa, o benzoato tornou-se um dos conservantes mais utilizados no mundo.

O benzoato não se acumula no organismo humano. Ele combina com a glicina e transforma-se em ácido hipúrico, que é facilmente excretado por via renal, sendo este um dos motivos da ausência de efeitos tóxicos.

Segundo a avaliação do JECFA (Comitê Conjunto de Organização para Agricultura e Alimentação, FAO/Organização Mundial de Saúde, OMS), os estudos de intolerância idiossincrática a benzoatos em humanos não são relevantes para o estabelecimento da IDA (ingestão diária aceitável) de grupo, sendo a rotulagem adequada uma maneira possível de oferecer proteção a indivíduos susceptíveis.

O benzoato de cálcio de fórmula molecular $C_{14}H_{10}CaO_4$ e massa molecular 282.31 dalton (anidro), também ocorre naturalmente em certas plantas, é conhecido, sobretudo pela sua utilização como conservante alimentar, já que também possui propriedades antibacteriais e antifúngicas (Figura 2.5). É um produto cristalino de cor branca ou incolor ou pulverulento de cor branca. Seu limite de incorporação como conservante é de 0,20g/100mL.

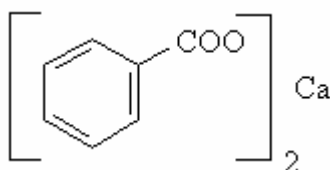


Figura 2.5. Fórmula estrutural do benzoato de cálcio.

2.5- Transporte de substâncias ativas em filmes poliméricos

2.5.1. Liberação do antimicótico

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 prever a provável quantidade de adição de antimicótico necessária para produzir o efeito de inibição 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 reticulação e cristalinidade.

2.5.2- Taxa de liberação de antimicóticos em filmes – modelagem

A liberação do princípio ativo incorporado em um filme, em sistemas difusivos, promove a diminuição de sua concentração, C , conforme a 2ª Lei de Fick (CUSSLER, 1997).

$$\frac{\partial C}{\partial t} = D \frac{\partial^2 C}{\partial z^2} \quad [2.4]$$

onde t é o tempo, z a coordenada espacial e D a difusividade do soluto no filme.

A metodologia para a integração dessa equação diferencial está bem estabelecida, caso se assuma que a difusividade e a espessura do filme permanecem constantes. Quando o filme é usado como embalagem, pode-se assumir que não há transferência de soluto pela face em contato com o ambiente ($z = 0; \partial C / \partial z = 0$), conforme indicado no esquema da Figura 2.6.

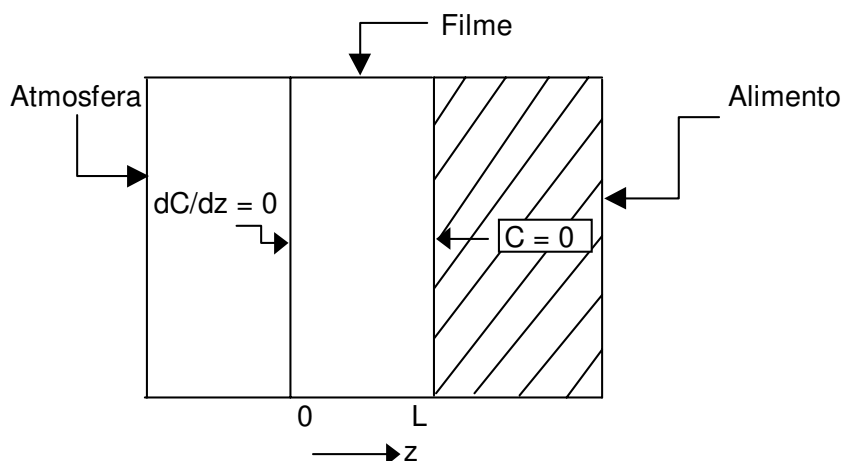


Figura 2.6. Diagrama do alimento e do filme.

A condição de concentração na face em contato com o alimento ($z = L$) é função das características do alimento. Alimentos com alta atividade de água tendem a ter uma difusividade dos solutos da ordem de $10^{-5} \text{ cm}^2/\text{s}$. Como a difusividade dos solutos no filme é cerca de duas ordens de grandeza menor, Han (2000) simplificou a situação assumindo que o alimento funciona como um sorvedouro quase perfeito, mantendo uma concentração muito baixa na superfície do filme ($z = L, C = 0$). Essa simplificação torna desnecessário o uso de condições de equilíbrio de fases, como por exemplo, do coeficiente de partição do soluto entre o alimento e o filme.

A integração da Equação [2.4] nessas condições conduz ao perfil de concentração dentro do filme e a integração desse perfil fornecerá a concentração média residual no

filme. Um balanço de massa permitirá calcular a massa total de soluto liberada (M_t), no intervalo de tempo de 0 a t através da Equação [2.5] (CRANK, 1975).

$$\frac{M_t}{M_\infty} = 1 - \frac{8}{\pi^2} \sum_{n=0}^{\infty} \frac{1}{(2n+1)^2} \exp\left(- (2n+1)^2 \frac{\pi^2 D}{4L^2} t\right) \quad [2.5]$$

onde: M_∞ é a massa inicial total de soluto no filme que pode ser liberada em um tempo infinito.

L é a espessura total do filme, pois ela representa o percurso máximo da difusão.

Uma maneira comum de se identificar o mecanismo envolvido no processo de difusão para um sistema plano é locando a curva de liberação inicial ($M_t / M_\infty < 0,60$) com o tempo, que segue o Modelo da Lei de Potência.

$$\frac{M_t}{M_\infty} = kt^n \quad [2.6]$$

onde: n é o coeficiente difusional,

k é a constante que caracteriza a matriz da macromolécula.

Um valor de n maior que 1, define o Super Caso II, onde ocorre uma aceleração na taxa de liberação do soluto nos últimos estágios dos experimentos. Quando n é igual a 1, a taxa de liberação é diretamente proporcional ao tempo (Caso II). Para valores de n entre 0,5 e 1 a difusão é chamada de não-Fickiana (anômala). Quando n é igual a 0,5, a difusão é Fickiana e o coeficiente de difusão pode ser calculado pela Equação [2.7], chamada de solução do Modelo de Sólido Semi-Infinito (CRANK, 1975).

$$\frac{M_t}{M_\infty} = \sqrt{\frac{4Dt}{\pi L^2}} \quad [2.7]$$

Na Equação [2.7], a massa transferida é proporcional a $t^{1/2}$ e essa condição só é válida no intervalo de tempo em que a variação de C em $z = 0$ é desprezível.

2.6- Determinação da difusividade em filmes

As duas técnicas mais comuns para a determinação da difusividade são a medida da variação da massa liberada (regime transiente) e o método da célula de diafragma (regime permanente). O último, particularmente modificado para determinação da difusividade dentro do filme, é avaliado como um método preciso para se obter diretamente a permeabilidade (AXELSSON e PERSSON, 1998).

Os métodos transientes submetem uma amostra bem definida do filme a uma liberação controlada, geralmente para um fluido bem agitado. Os pontos experimentais são ajustados pela Equação [2.5], tendo-se o cuidado de usar como comprimento característico, a metade da espessura do filme, uma vez que nesses ensaios a transferência de soluto ocorre pelas duas faces do filme. Mantendo-se a notação acima, isto é, L como a espessura total do filme, a equação adaptada é:

$$\frac{M_t}{M_\infty} = 1 - \frac{8}{\pi^2} \sum_{n=0}^{\infty} \frac{1}{(2n+1)^2} \exp\left(- (2n+1)^2 \frac{\pi^2 D}{L^2} t\right) \quad [2.8]$$

Alguns autores utilizam a solução para tempos curtos ($M_t / M_\infty < 0,60$) (Equação [2.7]) para o ajuste dos pontos experimentais iniciais. São determinações muito rápidas, mas a difusividade avaliada pode estar sendo afetada pela difusão da água para o interior do filme (intumescimento), que ocorre nos primeiros minutos de contato. Como nesse caso a difusão também ocorre pelas duas faces, e se L for a espessura total, deve-se usar a Equação [2.9].

$$\frac{M_t}{M_\infty} = \sqrt{\frac{16Dt}{\pi L^2}} \quad [2.9]$$

2.7- Caracterização de filmes biodegradáveis ativos

Os principais parâmetros determinantes das características e aplicabilidade dos filmes comestíveis e/ou biodegradáveis são propriedades de barreira, propriedades mecânicas e solubilidade em água.

2.7.1- Propriedades de barreira

Para filmes comestíveis, as propriedades de barreira de interesse são a permeabilidade do filme a gases, vapor de água e solutos. A permeabilidade é definida como uma propriedade do par filme/permeado (vapor de água, oxigênio, gás carbônico, etc.) e das fases em contato com as duas faces do filme.

A migração de gás, vapor ou soluto em membranas pode ocorrer de duas maneiras: por escoamento capilar e por difusão molecular. A capilaridade ocorre em membranas porosas ou com alguma imperfeição (fissuras). A difusão molecular ocorre pela absorção (solubilização) do soluto em um lado do filme, a migração através do filme e a posterior desorção do outro lado do filme. Essa última ocorre em filmes comestíveis e o parâmetro único que define a velocidade do processo é a permeabilidade.

Em um meio contínuo homogêneo e isotrópico, a permeabilidade é o produto da difusividade (D), que representa a mobilidade das moléculas do permeado através do polímero e do coeficiente de solubilidade (S), representado pela concentração do permeante no interior do filme, em equilíbrio com a concentração da fase externa. No caso específico do vapor d'água, a concentração na fase gasosa é definida em termos da pressão parcial de vapor e a solubilidade é obtida de isothermas de sorção de equilíbrio, e a permeabilidade é $D.S$ (McHUGH e KROCHTA, 1994).

A permeabilidade dos filmes ao vapor de água e a gases de interesses (O_2 e CO_2) não é da mesma ordem de grandeza, apesar de terem difusividades semelhantes. A seletividade está relacionada com a solubilidade, consideravelmente menor desses dois gases no filme.

A natureza química da macromolécula interfere nas propriedades de barreira dos filmes comestíveis ou biodegradáveis. Macromoléculas altamente polares (proteínas e polissacarídeos) contêm grupos hidrofílicos, resultando em filmes com alta permeabilidade ao vapor de água. Normalmente, o grupo funcional das macromoléculas polares interage com a água através de pontes de hidrogênio, resultando na adsorção de água em ambientes com altas umidades relativas. Assim, os altos coeficientes de solubilidade e absorção em água (rompimento de interações intermoleculares que leva a um aumento do coeficiente de difusão) são responsáveis pelas altas taxas de permeabilidade ao vapor de água. A natureza química dos aditivos presentes na formulação dos filmes também exerce influência nas propriedades de barreira (McHUGH e KROCHTA, 1994).

Outro parâmetro determinante nas propriedades de barreira é a característica estrutural da matriz polimérica. Matrizes formadas por cadeias poliméricas lineares simples levam a um maior empacotamento e conseqüentemente a filmes com baixa permeabilidade, enquanto que cadeias poliméricas formadas por grupos laterais volumosos conduzem a uma matriz pouco empacotada (aumento de espaços livres) e a um aumento da permeabilidade (McHUGH e KROCHTA, 1994; ROBERTSON, 1993).

2.7.2- Características mecânicas

As propriedades mecânicas dos filmes comestíveis dependem da natureza do material filmogênico utilizado e da coesão envolvida na estruturação da matriz polimérica. A coesão está relacionada com a aptidão do polímero para formar ligações fortes e/ou numerosas entre duas cadeias poliméricas, que dificultam sua separação, quando submetidas a forças mecânicas. Esta resistência depende da extensão da cadeia polimérica, da sua geometria, da dispersão da força molecular, da natureza e da posição de grupamentos laterais (GONTARD *et al.*, 1993). Macroscopicamente, as propriedades mecânicas dos filmes comestíveis dependem da formulação (macromolécula, solvente, plastificante, etc.), do processo de obtenção e modo de aplicação (pulverização no caso de coberturas, suspensão fundida, etc.).

Métodos clássicos para a avaliação da resistência mecânica de filmes sintéticos podem ser utilizados em filmes comestíveis e/ou biodegradáveis. Os mesmos, entretanto,

são extremamente sensíveis às condições ambientais. Entre os métodos clássicos utilizados na avaliação mecânica, testes de tração são amplamente utilizados. A tensão na ruptura é definida como sendo a máxima força que um material pode sustentar (ROBERTSON, 1993).

A medida da tensão na ruptura pode dar informações da magnitude das forças intermoleculares envolvidas na estabilização da matriz polimérica. A elongação é usualmente medida no ponto de ruptura do material, sendo expressa como a diferença percentual entre o comprimento inicial do material fixado para a realização do teste e o final (momento da ruptura). A elongação é um dado importante, pois alta elongação indica que um material pode absorver uma grande quantidade de energia antes do rompimento (ROBERTSON, 1993).

2.7.3- Solubilidade em água

Biofilmes com características hidrofílicas tendem a ser susceptíveis a ação da água. Galietta *et al.* (1998) definem solubilidade em água de filmes como a quantidade de matéria seca que é solubilizada após 24 horas de imersão. A avaliação dessa propriedade é essencial, sobretudo para que seja definido o campo de aplicação do filme.

Polímeros cujas cadeias apresentam melhor empacotamento são menos solúveis, uma vez que a interação solvente-polímero depende da distância intramolecular.

A solubilidade de filmes pode ser diminuída com a adição de componentes hidrofóbicos (lipídios, ceras), mas esta combinação pode provocar efeitos adversos nas propriedades ópticas e mecânicas dos mesmos (MARTIN-POLO *et al.*, 1992; YANG e PAULSON, 2000b). Outra alternativa é o processo de reticulação, que impede a separação das cadeias e sua passagem para a solução. Se o nível de reticulação em um polímero é relativamente baixo, as moléculas de pequena massa molecular (solvente) podem penetrar na fase de polímero. Desta maneira, um polímero parcialmente reticulado pode sofrer intumescimento parcial (LUCAS *et al.*, 2001).

Rhim (2003) estudou filmes de alginato de sódio tratados com solução de CaCl_2 a 25°C e 80°C. Os resultados mostraram que existe diferença significativa na solubilidade em água quando o filme é imerso em soluções a diferentes temperaturas (a solubilidade ficou em torno de 16,5% a 25°C e em torno de 21,0% a 80°C), mas não mostra diferença significativa pela imersão em diferentes concentrações de CaCl_2 na solução de tratamento que variou de 2g à 5g/100 mL solução.

De modo geral, a adição de plastificantes tende a aumentar a solubilidade de filmes. Em filmes reticulados, entretanto, esse efeito pode ser menos pronunciado. As moléculas de plastificante podem permanecer fortemente ligadas à estrutura tridimensional do polímero dificultando, desta maneira, a sua liberação para a solução (IRISSIN-MANGATA *et al.*, 2001).

2.7.4- Intumescimento

O intumescimento de filmes é o resultado da difusão de moléculas de solvente para o interior dos mesmos e que se acomodam na fase polimérica. Essa retenção de moléculas ocorre, inicialmente nos espaços vazios. O intumescimento, entretanto, envolve inevitavelmente uma mudança no arranjo espacial das cadeias poliméricas resultando em um aumento de volume da amostra (LUCAS *et al.*, 2001).

O grau de intumescimento depende da interação polímero-solvente e do grau de reticulação do polímero, sendo que a variação do grau de intumescimento é maior com a variação do parâmetro de solubilidade do solvente. Os grupamentos químicos responsáveis pela reticulação, como quimicamente são diferentes dos segmentos das cadeias, não influenciam significativamente na interação polímero-solvente.

Existem duas classificações de intumescimento: o ilimitado e o limitado. O primeiro culmina espontaneamente na dissolução total. As moléculas do solvente possuem maior mobilidade do que as moléculas do polímero. Desta maneira, as moléculas do polímero necessitam de um certo tempo para se integrar na fase do solvente. Como consequência, antes de se dissolver, o polímero absorve grande parte do solvente, ou seja, intumesce. Quando a interação do polímero com o solvente é limitada ao estágio de sorção do líquido

pelo polímero, a dissolução espontânea não ocorre, ou seja, as cadeias poliméricas não se separam completamente umas das outras. Ocorre a formação de duas fases: a solução do líquido no polímero e uma outra do solvente puro ou de uma solução bem diluída de polímero. Este processo ocorre tanto em polímeros lineares como em polímeros reticulados.

Se o polímero é composto por uma rede tridimensional formada através de ligações químicas entre as cadeias poliméricas, estas cadeias não se separam a qualquer temperatura (abaixo da decomposição do polímero). Eles não se dissolvem e o processo de dissolução é limitado ao estágio de intumescimento. Esse é o caso dos filmes de alginato de cálcio (ZACTITI, 2004).

CAPÍTULO 3

MATERIAIS E MÉTODOS

3.1 MATERIAIS

Para a confecção dos filmes, foi utilizado alginato de sódio (Synth P.A., Brasil). Cloreto de cálcio monohidratado (Merck ACS, USA) foi utilizado como agente reticulante, glicerol (Synth P.A., Brasil) como agente plastificante e benzoato de cálcio trihidratado (Avocado, USA) como agente ativo e auxiliar na reticulação.

Nos dessecadores utilizados para o armazenamento dos filmes a 52% URE e para os ensaios de permeabilidade ao vapor de água a 75% URE, foram adicionadas soluções saturadas de nitrato de magnésio (Ecibra) e cloreto de sódio (Synth), respectivamente.

3.2 MÉTODOS

3.2.1 Concentrações de benzoato de cálcio

Para a determinação da concentração de benzoato de cálcio em solução aquosa, foi utilizado um espectrofotômetro (HP, modelo 8453, EUA) equipado com controlador de temperatura HP 89090^A e software *UV-Visible ChemStation*. Foi obtida uma curva de calibração utilizando-se padrões de concentração de 0,05; 0,50; 1,00; 2,50; 5,00; 7,00; 10,00; 15,00; 25,00; 50,00 mg/L de benzoato de cálcio.

3.2.2 Metodologia de preparação de filmes de alginato

Os filmes de alginato de sódio foram obtidos segundo a técnica de *casting* que consiste na preparação da solução filmogênica e aplicação da mesma em um suporte. O fluxograma de confecção dos filmes está apresentado na Figura 2.3.

Inicialmente, devido ao alto poder gelificante do Ca^{++} , é necessário produzir um filme de baixo grau de reticulação com Ca^{++} , na qual a solução filme-formadora contém alginato, plastificante e CaCl_2 e/ou benzoato de cálcio. Essa etapa inicial foi denominada de 1º estágio.

Primeiramente, solubiliza-se o glicerol (0,6 g glicerol/g alginato) em 400 mL de água destilada a 70°C e, em seguida, adiciona-se o alginato de sódio (1,5%), mantendo-se uma intensa agitação até a completa dissolução. Na sequência, adiciona-se 30mL de solução reticuladora mantendo a temperatura em 70°C, sob intensa agitação. Devido à rápida reação de reticulação com Ca^{++} , esta solução reticuladora deve ser adicionada lentamente à solução de alginato (no máximo 1mL / min) para evitar gelificação localizada. O sistema (copo de 600 mL) foi encamisado para garantir que toda a solução estivesse a 70°C e, desta maneira, foi possível adicionar uma maior quantidade de íons cálcio do que descrito por Zactiti (2004), sem que ocorresse gelificação. Essa solução foi, então, transferida para placas de polipropileno (diâmetro = 14 cm), que foram levadas a uma estufa de circulação de ar, a 40°C, por cerca de 16 a 20 horas, para gelificação incipiente e formação de um filme.

Esse filme é solúvel em água e deve sofrer uma reticulação complementar (2º estágio). A presente pesquisa investigou várias formas de realizar o contato entre a solução reticuladora e as duas faces do filme. O procedimento considerado padrão neste trabalho consiste na imersão por 30 minutos em um banho a temperatura ambiente contendo 50 mL de uma solução de CaCl_2 (3,0; 5,0; 7,0 %) e/ou benzoato de cálcio e o plastificante. Após a reticulação do 2º estágio, os filmes foram retirados do banho e mantidos sobre um suporte por três horas a temperatura ambiente para uma uniformização de sua concentração interna. Para o acabamento final, esses filmes foram submetidos a secagem em estufa (30°C/20h). Os filmes foram armazenados em dessecador a uma umidade relativa de 52% por três dias para uma equilibrização nesse ambiente antes de sua caracterização.

3.2.3 Caracterização dos filmes

Os filmes foram caracterizados quanto à espessura, aspecto visual, incorporação de benzoato, teor de umidade, solubilidade em água, grau de intumescimento (*swelling*), propriedades mecânicas (tensão e elongação na ruptura), permeabilidade ao vapor d'água, e cinética de liberação de benzoato de cálcio.

3.2.3.1. Espessura

O controle da espessura dos filmes foi obtido vertendo um volume adequado de solução filmogênica (em torno de 100 mL) de modo a manter constante a massa seca nas placas. A espessura dos filmes foi determinada utilizando-se um micrômetro digital (MITUTOYO, modelo MDC-25S, resolução 0,001mm, EUA). A espessura final foi calculada pela média aritmética de dez medidas aleatórias sobre uma área de 50,3 cm² (diâmetro igual a 8 cm) nos ensaios de permeabilidade ao vapor de água, e a média de cinco medidas aleatórias sobre uma área de 26,7 cm² (10,5 x 2,54 cm) nos ensaios mecânicos.

3.2.3.2. Aspecto visual

As análises visuais e táteis foram realizadas de forma subjetiva (CARVALHO, 2002). Os filmes foram avaliados levando em consideração parâmetros como homogeneidade (ausência de partículas insolúveis e coloração uniforme), continuidade (ausência de rupturas ou fraturas após a secagem), flexibilidade, facilidade de desprendimento do suporte e facilidade de manuseio.

3.2.3.3. Incorporação máxima de benzoato

Uma das limitações dos filmes ativos de alginato é a capacidade limite que o filme tem de incorporar os agentes antimicrobianos (ZACTITI, 2004). Após uma certa

concentração, o filme fica esbranquiçado e um excesso de antimicótico pode também influenciar nas propriedades mecânicas do filme.

A determinação direta da concentração do benzoato no filme é imprecisa por causa da interferência do próprio alginato na espectrometria. Para determinar concentrações críticas de benzoato no filme, amostras de aproximadamente 0,15 g foram deixadas equilibrar com 25 mL de água destilada a 25°C sob agitação. A solução formada foi analisada espectrofotometricamente e a quantidade de benzoato originalmente presente no filme foi obtida através de um balanço de massa.

3.2.3.4. Conteúdo de umidade (W)

A massa total (m_i) de uma amostra de filme de 2,5 cm de diâmetro foi quantificada e na sequência levada em estufa (Lab-Line, Squaroid, EUA) mantida a 105°C durante 24 h. Após este período, a massa seca final (ms_f) foi quantificada. O conteúdo de umidade do filme (W) foi expresso em função da massa seca inicial do filme através da Equação [3.1].

$$W = \frac{(m_i - ms_f)}{m_i} \times 100 \quad [3.1]$$

onde: W é a umidade do filme [%];

m_i é a massa seca inicial da amostra [g];

ms_f é a massa seca final da amostra [g].

3.2.3.5 Solubilidade em água (S)

Primeiramente, a massa seca inicial (ms_i) de uma amostra de filme de 2,5 cm de diâmetro foi determinada em função de sua umidade em uma estufa (Lab-Line, Squaroid, EUA) mantida a 105°C durante 24 h. Outra amostra foi então imersa em excesso de água

destilada e o sistema mantido sob agitação branda a 25°C por 24 h, utilizando-se um *Shaker Bath Orbit* (Lab-Line, EUA). A massa seca final (ms_f) foi determinada submetendo-se esta amostra à secagem (105°C/ 24 h). A solubilidade do filme (S) foi expressa em função da massa seca inicial do filme através da Equação [3.2].

$$S = \frac{(ms_i - ms_f)}{ms_i} \times 100 \quad [3.2]$$

onde: S é a quantidade de matéria solúvel [%];

ms_i é a massa seca inicial da amostra [g];

ms_f é a massa seca final da amostra [g].

3.2.3.6. Grau de intumescimento (*swelling*)

A massa inicial total (m_i) de uma amostra de filme foi quantificada e o material foi imerso em água destilada durante diferentes períodos de tempo. Em determinado período de tempo, o filme foi retirado da água, sua massa total (m_u) determinada e a amostra retornou à água. O excesso de umidade na superfície das amostras foi retirado, colocando o filme entre duas folhas de papel de filtro, antes de cada pesagem. O grau de intumescimento (GI) foi calculado segundo a Equação [3.3].

$$GI = \frac{(m_u - m_i)}{m_i} \quad [3.3]$$

onde: GI é o grau de intumescimento do filme;

m_u é a massa da amostra retirada da solução;

m_i é a massa inicial da amostra.

3.2.3.7 - Tensão e elongação na ruptura

A tensão na ruptura (TR) e a elongação no momento da ruptura (E) dos filmes foram obtidas segundo o método D882 (ASTM, 1995a), utilizando um texturômetro TA.XT2 (Stable Microsystems SMD) pertencente ao Laboratório Central Analítico do Departamento de Planejamento Alimentar e Nutrição da FEA/UNICAMP. Um tira do filme de $26,7 \text{ cm}^2$ ($10,5 \times 2,54 \text{ cm}$) era presa pelas duas garras do equipamento e submetida à uma tração. A tensão na ruptura foi calculada através da Equação [3.4] e a elongação na ruptura de acordo com a Equação [3.5].

$$TR = \frac{Fm}{A} \quad [3.4]$$

onde: TR é a tensão na ruptura [Pa];

Fm é a força máxima no momento da ruptura [N];

A é a área da seção transversal do filme [m^2].

$$E = \frac{(d_r - d_i)}{d_i} \times 100 \quad [3.5]$$

onde: E é a elongação [%];

d_r é a separação entre as garras no momento da ruptura [cm];

d_i é a separação inicial entre as garras [cm].

3.2.3.8. Permeabilidade ao vapor de água (PVA)

A permeabilidade ao vapor de água foi determinada gravimetricamente, de acordo com o método E95-96 (ASTM, 1995b) utilizando pequenas células de alumínio, com as dimensões especificadas na Figura 3.1.

Cloreto de cálcio granulado (Ecibra) foi utilizado para preencher o fundo da célula. O filme foi fixado na borda da célula por meio de parafina, e permaneceu no interior de um dessecador com umidade relativa de 75%.

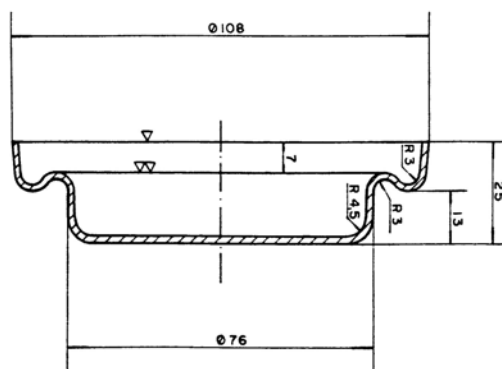


Figura 3.1. Célula de alumínio utilizada nos testes de permeabilidade ao vapor de água.

O valor da permeabilidade ao vapor de água foi calculado através da Equação [3.6], segundo método E96-95 (ASTM, 1995b).

$$PVA = \frac{\overset{\circ}{G} \cdot L}{A_e \cdot P^{sat} \cdot (UR_1 - UR_2)} \quad [3.6]$$

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

L é a espessura inicial do filme [mm];

$\overset{\circ}{G}$ é a taxa de ganho de massa [g/dia];

A_e é a área exposta do filme [m^2];

$(UR_1 - UR_2)$ é a diferença de umidade relativa, expressa em fração;

P^{sat} é a pressão de saturação de vapor de água, na temperatura do ensaio [kPa].

3.2.3.9. Cinética da liberação de benzoato

Os ensaios de liberação foram realizados utilizando-se amostras de filmes ativos de dimensões 4 x 4 cm (massa média igual a 0,15 g).

Como sorvedouro para a liberação, foram utilizados volumes de 25 mL de água destilada a temperatura ambiente (25°C). Os béqueres contendo a água foram dispostos em um *shaker* e mantidos sob agitação durante o ensaio, a fim de diminuir uma possível resistência por convecção de massa.

No tempo zero, a amostra de filme era mergulhada no primeiro copo e, após um intervalo de tempos pré-determinado, era rapidamente transferida para o segundo copo, e assim por diante, de maneira que a massa de benzoato na solução de cada béquer corresponde a um ponto de curva de liberação. Com a utilização de quantidades renovadas de água, garante-se que a concentração de benzoato nas interfaces do filme seja zero, além de se obter amostras bem definidas de soluto liberado nos intervalos de tempo.

O primeiro minuto desse ensaio é crítico, pois testes preliminares indicaram a necessidade de fazer a transposição do filme nos copos a cada 5 segundos (até 35 segundos) e então a cada 10 segundos. Nesse período, a amostra de filme era mantida presa a uma pinça. Após essa etapa inicial, os intervalos eram maiores sendo mais fácil controlar a retirada e transferência do filme para o copo seguinte.

A massa de benzoato de cálcio liberada no tempo t (M_t) e os valores de fração de benzoato liberado (M_t/M_∞) foram calculados e locados em gráfico em função do tempo. A quantidade de benzoato que poderia ser liberada em um tempo infinito (M_∞) foi considerada como a massa total desorvida a partir da qual não se constatou variação de concentração. A espessura média do filme foi determinada antes e no final de cada ensaio.

Para soluções de tempos curtos, a difusividade do benzoato de cálcio foi calculada a partir do coeficiente angular da reta que relaciona (M_t/M_∞) em função da raiz quadrada do tempo e para os ensaios completos (até 4855 s), os valores experimentais foram ajustados à Equação [2.7a], fornecendo a difusividade.

3.3. ENSAIOS

3.3.1. Ensaios preliminares: metodologia para reticulação no 2º estágio

Em um trabalho que antecedeu a presente pesquisa, Zactiti (2004) usava um borrifador para cobrir as superfícies do filme com a solução reticuladora no 2º estágio. Essa técnica mostrou-se trabalhosa e de difícil uniformização da cobertura pelo líquido. Procurou-se então alternativas para esse procedimento. Esses ensaios desenvolvidos para definir a metodologia para o controle da reticulação no 2º estágio contemplaram a forma e o tempo de contato.

Os filmes obtidos foram avaliados em relação ao conteúdo de umidade, solubilidade em água e grau de intumescimento. Os resultados obtidos estão apresentados e comentados na Secção 4.1.

3.3.1.1. Contato do filme com tecido ou esponja umidecidas

Na primeira tentativa de tratamento, cada lado do filme recebeu uma cobertura líquida, através de um contato com tecido de algodão ou esponja de uso doméstico (espuma de plástico), encharcados em solução de 3% de cloreto de cálcio e 0,7% de glicerol.

O contato era feito primeiramente em uma das faces do filme e depois na outra. O filme era colocado sobre uma placa de polipropileno, suas bordas eram presas à placa por fita adesiva, e então se depositava a esponja ou o tecido sobre o filme. Após o contato, o filme era separado da placa, invertido, e a outra face processada da mesma forma.

Esses filmes obtidos conforme o procedimento padrão no 1º estágio, após o contato com a solução de 3% de cálcio, eram mantidos por 3 horas em uma posição horizontal sobre um suporte, no ambiente do laboratório, para completar a uniformização da concentração do Ca^{++} no interior do mesmo. Em seguida, as superfícies eram “enxaguadas” com algumas pinceladas de água destilada, e então seca em estufa por 18 horas e mantidos em ambiente em 52%UR por 3 dias. O tratamento das superfícies do filme com água destilada era necessário para evitar que durante a secagem ocorresse a formação de cristais de CaCl_2 , ainda presente na solução aderida.

3.3.1.2. Contato do filme com tecido + esponja umidecidas

No segundo método de tratamento ensaiado, foi feito o contato de cada lado do filme com uma combinação de tecido + esponja embebidos em solução de 3% de cloreto de cálcio e 0,7% plastificante. O tecido era mantido em contato com a face do filme e a esponja funcionava como uma reserva de solução. O procedimento pós-contato foi o mesmo já descrito anteriormente.

Em uma tentativa de assegurar que o processo de gelificação/reticulação seja completo, filmes tratados por 4 e 10 minutos com CaCl_2 foram mantidos por 18 horas em geladeira doméstica (+5°C) antes da secagem em estufa, por outras 18 horas. Embora não se tenha aferido a resistência mecânica, o manuseio dos filmes que foram primeiramente para a geladeira e depois para estufa indicou que os mesmos ficaram mais resistentes. Infelizmente, entretanto, durante a secagem na estufa ocorre a formação de inúmeras pequenas bolhas nos filmes e que comprometem a aparência dos mesmos.

3.3.1.3. Recobrimento do filme usando pincel ou rolo de pintura

No terceiro método de contato, foi feito o tratamento dos filmes utilizando pincel e rolo de pintura contendo diferentes volumes (5, 10, 15, 20, 25 e 30 mL) da solução reticuladora (3% de CaCl_2 e 0,7% glicerol) do 2º estágio.

O procedimento também foi realizado em seqüência, primeiro uma das faces e depois a outra, da forma como descrita em 3.3.1.1. Os volumes de solução foram medidos em proveta, colocados em um copo e o pincel ou o rolo foram embebidos nos mesmos, várias vezes, até que toda a solução tenha sido transferida para a superfície de cada lado do filme. Como consequência desse procedimento, os ensaios com os maiores volumes de líquido levaram mais tempo para completar o recobrimento. Após completar a cobertura líquida, os filmes foram tratados da mesma forma como descrito nos itens anteriores.

3.3.1.4. Recobrimento do filme usando pincel de pintura variando o conteúdo de glicerol

Os filmes obtidos em 3.3.1.3, usando mais de 20 mL de solução, apresentaram características de solubilidade e intumescimento aceitáveis.

Em um quarto método de avaliação da eficiência de contato foi feito o tratamento com 20 e 30 mL de solução em cada uma das faces dos filmes utilizando pincel, variando a concentração de glicerol nessa solução. Os mesmos procedimentos pós-contato com a solução, usados em 3.3.1.1, foram utilizados. Esses ensaios foram programados porque uma constatação feita em pesquisa anterior indicava que a solubilidade do filme era devida à lixiviação do glicerol (CARULO, 2005).

3.3.1.5. Contato por imersão do filme em 50 mL de solução

Em um quinto método para otimizar a forma de contato, foi feito o tratamento dos filmes por imersão em solução de 3% de CaCl_2 em diferentes tempos no 2º estágio. A imersão na solução seguiu dois padrões diferentes: contato individual de cada face por imersão no banho e contato por imersão completa do filme. No primeiro caso, as bordas do filme eram fixadas com fita adesiva a uma placa de polipropileno e a placa invertida sobre a solução. Em seguida, a outra face recebia tratamento equivalente. No segundo método, o filme inteiro era imerso no banho, sem agitação.

3.3.2. Ensaios preliminares: definição da concentração de CaCl_2 no 1º estágio

Uma vez definida a forma mais conveniente para realizar o contato entre o filme produzido no 1º estágio e a solução reticuladora no 2º estágio, avaliou-se o efeito do grau de pré-reticulação no 1º estágio, usando diferentes concentrações de CaCl_2 . Os filmes foram avaliados em termos de solubilidade em água e os resultados estão apresentados na Secção 4.2.

3.3.3. Ensaios preliminares: definição da concentração de glicerol

Para definir um limite de concentração de glicerol no 2º estágio, que representasse um compromisso entre solubilidade em água, flexibilidade e trabalhabilidade do filme, foram realizados ensaios com filmes obtidos em dois níveis de reticulação do 1º estágio (30 mL de solução contendo 0,4% CaCl_2 ou 0,8% CaCl_2) e, no 2º estágio, um nível constante de CaCl_2 (3%) e quantidades crescentes de glicerol (3, 5, 7, 10, 12 e 15%). Os resultados obtidos estão apresentados na Secção 4.3.

3.3.4. Ensaios definitivos

As formulações dos ensaios definitivos usaram o conteúdo de glicerol definido nos ensaios preliminares, e diferentes proporções CaCl_2 / benzoato de cálcio, tanto no 1º como no 2º estágio. As formulações ensaiadas e as correspondentes concentrações estão apresentadas nas Tabelas 3.1 e 3.2. As tabelas incluem a porcentagem em massa do íon cálcio adicionado (36% do CaCl_2 e 11,9% do benzoato).

A fim de simplificar referências, esses filmes foram denominados de Filme 1 (quando a fonte de Ca^{++} no 1º estágio era apenas o benzoato); Filme 2 (quando o Ca^{++} era fornecido pelo CaCl_2 e pelo benzoato); e Filme 3 (quando o Filme 2A foi reticulado com quantidades diferentes de CaCl_2 no 2º estágio).

Tabela 3.1. Composição em Ca^{++} da solução filmogênica contendo 0,7% glicerol no 1º estágio. Filmes reticulados com 3% CaCl_2 e 5% de glicerol no 2º estágio.

Filme	% CaCl_2	% Benzoato	% Ca^{++}
1A	-	1,5	0,18
1B	-	1,8	0,21
1C	-	2,1	0,25
1D	-	2,4	0,29
1E	-	2,7	0,32
1F	-	3,0	0,36
1G	-	3,5	0,42
1H	-	3,6	0,43
1I	-	3,8	0,45
1J	-	3,9	0,46
1K	-	4,2	0,50
1L	-	4,5	0,54
2A	0,8	0	0,29
2B	0,8	0,4	0,34
2C	0,8	0,8	0,38
2D	0,8	1,2	0,43
2E	0,8	1,5	0,47
2F	0,8	1,8	0,50
2G	0,8	2,1	0,54

% CaCl_2 e %benzoato - quantidade adicionada no 1º estágio

Tabela 3.2. Composição da solução reticuladora (2º estágio) de filmes formados com 0,8% de CaCl_2 e 0,7% glicerol no 1º estágio e 5% de glicerol e concentrações variáveis de CaCl_2 no 2º estágio.

Filme	% CaCl_2	% Benzoato	% Ca^{++}
3A	3,0	-	1,08
3B	5,0	-	1,80
3C	7,0	-	2,52

Pode-se observar que as Formulações 1 avaliam o efeito de quantidades crescentes de benzoato no 1º estágio sem usar CaCl_2 . As Formulações 2 mantinham constante a porcentagem de CaCl_2 (0,8%) e quantidades crescentes de benzoato de cálcio. As Formulações 3 mantinham constante a porcentagem de CaCl_2 (0,8%) no 1º estágio, e quantidades crescentes de cloreto de cálcio no 2º estágio.

Após a análise dos resultados de caracterização de suas propriedades, selecionou-se algumas formulações consideradas mais adequadas para a confecção de filmes ativos. Esses filmes foram obtidos conforme a composição do 1º estágio listada na Tabela 3.1, mas receberam dois tratamentos no 2º estágio: reticulação com solução de 3% e 7% de CaCl_2 (além de 5% de plastificante). Para facilitar a associação com as formulações no 1º estágio esses filmes mantiveram sua denominação mas com um subscrito referente a concentração de CaCl_2 na solução do 2º estágio. Dessa maneira, Filme 1G₇ significa filme formulado com 3,5% de benzoato e 0% de CaCl_2 no 1º estágio (ver Tabela 3.1) e 7% de CaCl_2 na solução do 2º estágio.

CAPÍTULO 4

RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1. DEFINIÇÃO DO MODO DE CONTATO NO TRATAMENTO DO 2º ESTÁGIO

Conforme mencionado em Materiais e Métodos, para a confecção dos filmes seguiu-se a metodologia proposta por Zactiti (2004) com duas adequações. Na formação da solução filmogênica, obteve-se um melhor controle da uniformização da temperatura do líquido no recipiente, encamisando-o com um outro béquer maior, contendo água, com suas superfícies exteriores isoladas termicamente. A outra adaptação consistiu em simplificar os procedimentos de contato do filme formado no 1º estágio com a solução reticuladora no 2º estágio. Os resultados das diversas alterações são apresentados nesta secção.

4.1.1. Contato do filme com tecido ou esponja umidecidas

Os valores de umidade e solubilidade dos filmes obtidos com este tipo de tratamento estão apresentados na Tabela 4.1.

Tabela 4.1. Conteúdo de umidade e solubilidade em água de filmes pré-reticulados com 0,8% CaCl₂ e 0,7% glicerol (1º estágio), tratados por contato de cada face com tecido ou esponja, contendo solução de 3% CaCl₂ e 0,7% glicerol (2º estágio).

Tratamento / tempo (min)	Umidade, <i>W</i> (g / 100 g _{filme})	Solubilidade, <i>S</i> (%)
esponja / 2 min	20,0 ± 0,54 ^a	7,0 ± 0,77 ^a
tecido / 2 min	19,3 ± 0,65 ^a	12,4 ± 0,97 ^b
tecido / 4 min	19,4 ± 0,27 ^a	12,8 ± 0,48 ^b

Média ± desvio padrão (3 repetições)

Nota: letras diferentes, na mesma coluna, representam diferenças significativas ($p > 0,05$) entre as médias obtidas através do teste de Tukey.

Os valores da Tabela 4.1 indicam que o conteúdo de umidade dos filmes não varia significativamente com o tratamento. Esse valor, na realidade, é função do nível de equilíbrio obtido com o ambiente a 52%UR, no dessecador. Em relação à solubilidade, os melhores resultados foram obtidos quando a esponja foi utilizada, visto que para um tempo de 2 min a solubilidade no tratamento com tecido é quase 2 vezes maior se comparada ao tratamento com a esponja. Verifica-se também que o aumento do tempo de exposição à solução de tratamento não interferiu na solubilidade do filme.

O valor da solubilidade, entretanto, pode ter sido influenciado pela solubilização de matéria solúvel contida no filme, durante o contato com o tecido/esponja. O grau de intumescimento pode ser considerado uma referência mais adequada da reticulação obtida.. A Figura 4.1 mostra curvas do grau de intumescimento dos filmes obtidos da forma descrita acima nas três situações, e se observa que as curvas indicam considerável intumescimento.

Filmes tratados com tecido por 4 minutos apresentam o menor grau de intumescimento, enquanto que o filme tratado com esponja embebe grande quantidade de água. Esses resultados contrariam a tendência observada nos dados da Tabela 4.1, pois o filme tratado com esponja apresentou a menor solubilidade em água comparada aos outros dois tratamentos. A posição das curvas de intumescimento obtida com o tecido deixa evidente que o tempo de tratamento é importante para a reticulação.

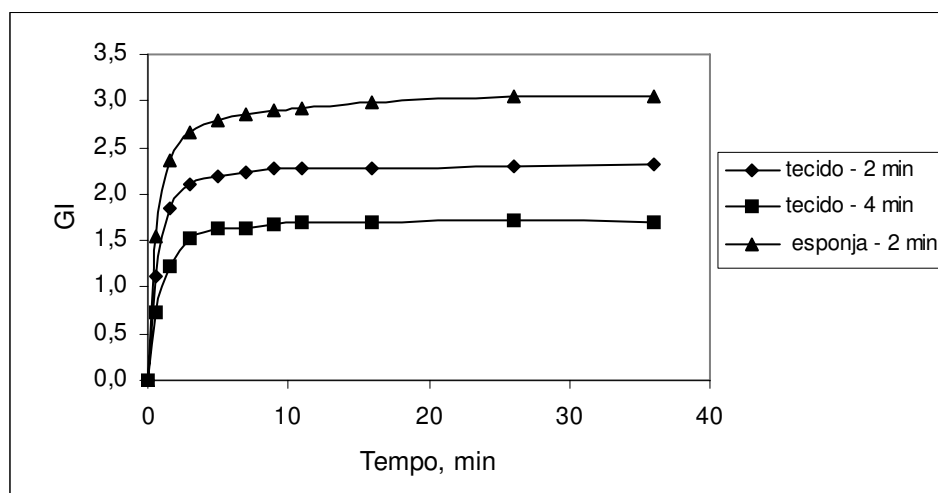


Figura 4.1. Grau de intumescimento de filmes de alginato de cálcio tratados com tecido ou esponja.

É possível observar que o tipo de material empregado e o volume de solução reticuladora utilizado no tratamento tiveram influência na quantidade de água embebida pelos filmes. O equilíbrio nos ensaios de embebição dos filmes tratados com tecido foi atingido aproximadamente aos 5 min e apenas aos 15 min pelo filme tratado com esponja. Os filmes mantiveram sua integridade e apresentaram uma aparência geral próxima à original, mesmo após 36 minutos de imersão em água, tendo apenas ocorrido um aumento na espessura dos mesmos. Essa variação foi de 1 a 5 vezes o valor da espessura inicial, dependendo do tempo e do processo empregado no tratamento.

4.1.2. Contato do filme com tecido + esponja umedecida

Os dados de umidade e solubilidade para este tipo de tratamento estão apresentados na Tabela 4.2.

Tabela 4.2. Conteúdo de umidade e solubilidade em água de filmes pré-reticulados com 0,8% CaCl_2 e 0,7% glicerol (1º estágio), tratados por contato com tecido + esponja, contendo solução de 3% CaCl_2 e 0,7% glicerol (2º estágio).

Tratamento / tempo (min)	Umidade, W (g / 100 g _{filme})	Solubilidade, S (%)
esponja + tecido / 4 min	$20,9 \pm 0,90^a$	$10,9 \pm 2,77^a$
esponja + tecido / 6 min	$17,4 \pm 0,13^b$	$19,8 \pm 3,28^b$
esponja + tecido / 8 min	$29,9 \pm 1,31^c$	$16,6 \pm 2,74^a$
esponja + tecido / 10 min	$17,4 \pm 0,25^b$	$13,5 \pm 0,25^a$

Média $\pm$ desvio padrão (3 repetições)

Nota: letras diferentes, na mesma coluna, representam diferenças significativas ($p > 0,05$) entre as médias obtidas através do teste de Tukey.

Os valores de umidade na Tabela 4.2 mostram uma maior variação entre si do que a obtida na Tabela 4.1. Com exceção do tratamento com 4 minutos, a solubilidade dos filmes diminui consideravelmente com o tempo de contato, mas apresenta valores maiores do que os obtidos nos tratamentos da Tabela 4.1. A constatação mais reveladora, entretanto, é a diminuição da solubilidade quando o tempo de contato aumentou e essa tendência indica

um possível aumento do grau de reticulação e reforça a necessidade de um controle do tempo de contato, já constatado na análise da Figura 4.1.

Em uma tentativa de assegurar que o processo de gelificação/reticulação seja completo, filmes tratados por 4 e 10 minutos com CaCl_2 foram mantidos por 18 horas em geladeira doméstica ($+5^\circ\text{C}$) antes da secagem em estufa, por outras 18 horas. Os resultados da umidade e solubilidade destes filmes estão lançados na Tabela 4.3. Observa-se que os valores obtidos não se diferenciam muito dos valores correspondentes no tratamento sem a geladeira (Tabela 4.2).

Tabela 4.3. Conteúdo de umidade e solubilidade em água de filmes pré-reticulados com 0,8% CaCl_2 e 0,7% glicerol (1º estágio), tratados por contato com tecido + esponja, contendo solução de 3% CaCl_2 e 0,7% glicerol (2º estágio), mantidos em geladeira por 18 horas antes da secagem em estufa.

Tratamento / tempo (min)	Umidade, W (g / 100 g _{filme})	Solubilidade, S (%)
esponja + tecido / 4 min	$20,1 \pm 0,67^a$	$12,8 \pm 0,19^a$
esponja + tecido / 10 min	$18,7 \pm 2,69^a$	$13,8 \pm 0,01^a$

Média $\pm$ desvio padrão (3 repetições)

Nota: letras diferentes, na mesma coluna, representam diferenças significativas ($p > 0,05$) entre as médias obtidas através do teste de Tukey.

Surpreendentemente, os filmes tratados por 4 minutos novamente apresentaram o melhor resultado em termos de menor solubilidade. O valor obtido, entretanto, não é um índice confiável para mensurar o nível de reticulação, pois ele pode ter sido influenciado pela rápida lixiviação de solutos durante o tratamento, sem que tenha havido penetração de Ca^{++} na estrutura do filme.

Conforme já demonstrado na Seção 4.1.1, o grau de intumescimento é um parâmetro mais significativo para aferir o progresso da reticulação. Os resultados obtidos para o intumescimento estão apresentados na Figura 4.2. A Figura 4.2 também inclui os resultados obtidos com os filmes mantidos na geladeira.

Conforme já observado nas curvas da Figura 4.1, a maioria dos filmes apresentou considerável intumescimento após contato com o meio aquoso, uma indicativa de

reticulação incompleta. O tempo de tratamento confirmou ter grande influência na quantidade de água embebida pelos filmes. Filmes tratados com esponja + tecido por 4 minutos apresenta grau de intumescimento de 2,95, enquanto que filmes tratados nas mesmas condições por um período de 10 minutos o grau de intumescimento é de 1,62.

É possível observar também que os filmes que foram primeiramente para a geladeira intumescem menos do que os filmes tratados nas mesmas condições e secos imediatamente em estufa. Infelizmente, entretanto, a geração de bolhas durante a secagem prejudicou sua aceitabilidade.

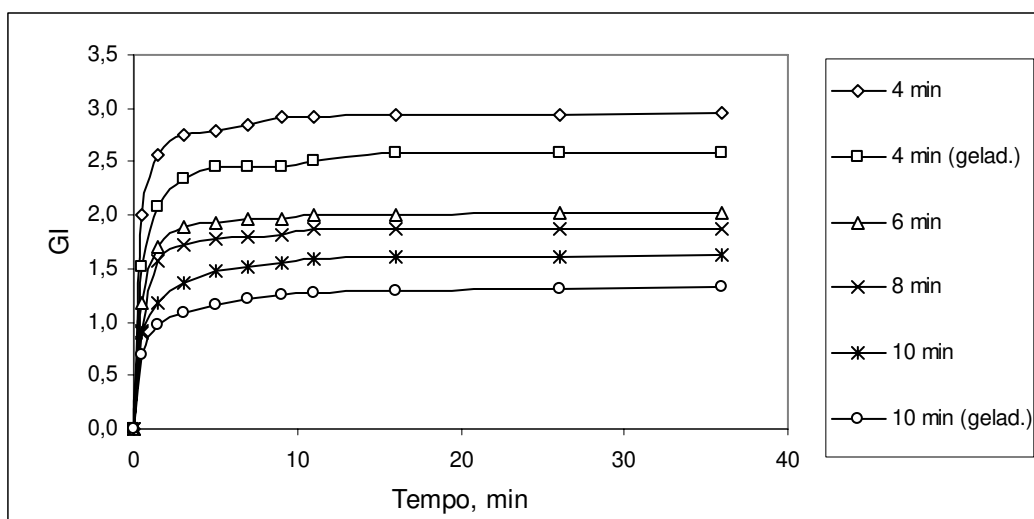


Figura 4.2. Grau de intumescimento de filmes de alginato de cálcio tratados com tecido + esponja.

Embora o tempo de tratamento tenha exercido influência na quantidade de água absorvida pelos filmes, o formato das curvas indica que o equilíbrio na embebição foi atingido aproximadamente aos 5 min em todas as situações estudadas. Assim como observado no tratamento descrito na Seção 4.1.1, os filmes mantiveram sua integridade e após 36 minutos de imersão em água e apresentaram uma aparência próxima à original, embora mais espessos.

4.1.3. Recobrimento do filme usando pincel ou rolo de pintura

Os valores de umidade e solubilidade em água obtidos para filmes com este tipo de tratamento estão apresentados na Tabela 4.4.

Tabela 4.4. Conteúdo de umidade e solubilidade em água de filmes pré-reticulados com 0,8% CaCl_2 e 0,7% glicerol (1º estágio), tratados com diferentes volumes de solução de 3% CaCl_2 e 0,7% glicerol (2º estágio) recobertos por meio de pincel ou rolo.

Tratamento	Umidade, W ($g / 100 g_{\text{filme}}$)	Solubilidade, S (%)
rolo 5 mL	$18,8 \pm 0,19^a$	$11,9 \pm 0,26^a$
pincel 5 mL	$16,9 \pm 0,22^b$	$12,7 \pm 0,28^a$
rolo 10 mL	$19,2 \pm 0,24^a$	$11,2 \pm 0,76^a$
pincel 10 mL	$18,4 \pm 0,37^a$	$15,6 \pm 0,68^b$
rolo 15 mL	$19,0 \pm 0,22^a$	$6,0 \pm 0,38^c$
pincel 15 mL	$19,3 \pm 0,24^a$	$7,5 \pm 0,62^c$
rolo 20 mL	$18,5 \pm 0,25^a$	$6,4 \pm 0,49^c$
pincel 20 mL	$19,1 \pm 0,40^a$	$7,8 \pm 0,53^c$
rolo 25 mL	$18,8 \pm 0,11^a$	$4,8 \pm 0,06^c$
pincel 25 mL	$20,7 \pm 0,36^c$	$10,2 \pm 0,06^a$
rolo 30 mL	$19,4 \pm 0,43^a$	$6,0 \pm 0,66^c$
pincel 30 mL	$18,3 \pm 0,18^a$	$7,5 \pm 1,04^c$

Média $\pm$ desvio padrão (3 repetições)

Nota: letras diferentes, na mesma coluna, representam diferenças significativas ($p > 0,05$) entre as médias obtidas através do teste de Tukey.

Verifica-se que a variação nos valores do conteúdo de umidade dos filmes, mesmo entre os dois diferentes tipos de tratamentos (pincel e rolo) tem o mesmo nível de valores obtidos nas técnicas anteriores (inferior a 20%), sem uma tendência definida em relação ao volume de solução. A solubilidade em água, entretanto, varia de acordo com o tratamento. Filmes tratados com rolo apresentam solubilidade menor quando comparada à solubilidade no tratamento feito com pincel. Com volumes de solução iguais ou acima de 15 mL, obteve-se solubilidades abaixo de 10%, um nível não alcançado nas duas metodologias anteriores. Conforme aumenta o volume de solução reticuladora, a solubilidade dos filmes diminui.

A Figura 4.3 mostra o grau de intumescimento dos filmes obtidos com este tipo de tratamento. Observa-se que pela primeira vez, há uma correlação entre solubilidade em água (Tabela 4.4) e o grau de intumescimento com a intensidade de tratamento, mas, ao contrário dos dados de solubilidade, o uso do pincel produz filmes de menor intumescimento.

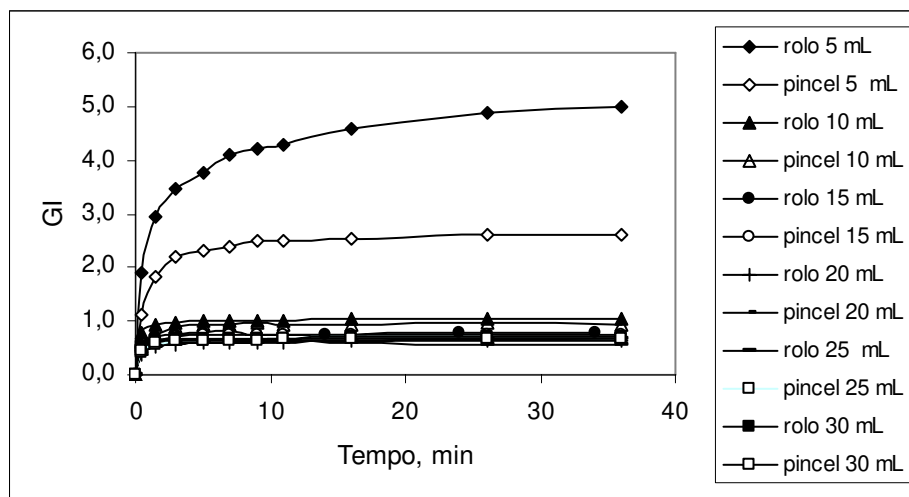


Figura 4.3. Grau de intumescimento de filmes de alginato de cálcio tratados com pincel ou rolo.

Os filmes tratados com apenas 5 mL de solução reticuladora, tanto com pincel como com rolo intumesceram muito, e nesta situação, o equilíbrio demorou para ser atingido (aproximadamente 30 minutos). Nos demais tratamentos, o grau de intumescimento ficou abaixo de 1,0 e o produto tratado com o rolo de pintura sempre mostrou um intumescimento maior. Esse comportamento mais eficiente do pincel pode ser atribuído a uma distribuição mais uniforme do líquido sobre o filme e uma maior retenção de solução no rolo, no final do processo.

Os filmes intumescidos apresentaram características idênticas às dos filmes que receberam outros tipos de tratamento, mas observou-se que o aumento na espessura nos filmes tratados com 5 mL de solução foi maior (cerca de 7 vezes), indicando que a reticulação nessa situação é apenas incipiente.

4.1.4. Recobrimento do filme usando pincel de pintura variando o conteúdo de glicerol.

Os valores de umidade e solubilidade obtidos para este tipo de tratamento estão apresentados na Tabela 4.5.

Tabela 4.5. Conteúdo de umidade e solubilidade em água de filmes pré-reticulados com 0,4% CaCl_2 e 0,7% glicerol (1º estágio), tratados com pincel usando 20 e 30 mL de solução com 3% de CaCl_2 e diferentes conteúdos de glicerol (2º estágio).

Tratamento / variação da [%] glicerol	Umidade, W ($g / 100 g_{\text{filme}}$)	Solubilidade, S (%)
pincel 30 mL (1% glicerol)	$18,2 \pm 0,50^a$	$9,0 \pm 0,76^a$
pincel 30 mL (2% glicerol)	$17,8 \pm 0,28^a$	$11,4 \pm 0,78^a$
pincel 30 mL (3% glicerol)	$17,9 \pm 0,58^a$	$11,7 \pm 0,38^a$
pincel 30 mL (4% glicerol)	$20,4 \pm 0,44^b$	$13,1 \pm 0,10^a$
pincel 30 mL (5% glicerol)	$19,1 \pm 0,60^a$	$13,3 \pm 0,45^a$
pincel 20 mL (2% glicerol)	$19,3 \pm 0,93^a$	$9,1 \pm 0,76^a$
pincel 20 mL (3% glicerol)	$18,6 \pm 0,44^a$	$11,3 \pm 0,09^a$
pincel 20 mL (4% glicerol)	$21,7 \pm 1,32^b$	$12,1 \pm 0,76^a$
pincel 20 mL (5% glicerol)	$21,2 \pm 1,85^b$	$13,5 \pm 0,15^a$

Média $\pm$ desvio padrão (3 repetições)

Nota: letras diferentes, na mesma coluna, representam diferenças significativas ($p > 0,05$) entre as médias obtidas através do teste de Tukey. O tratamento estatístico para as amostras com pincel 20 e 30 mL foi feito separadamente.

Observa-se que não existe tendência nítida entre o conteúdo de umidade dos filmes e o conteúdo de glicerol na solução e a dispersão entre os valores é pequena. O aumento da concentração de glicerol na solução reticuladora, entretanto, provocou o aumento da solubilidade do filme em água, não havendo diferença entre filmes tratados com 30 ou com 20 mL de solução. Esse resultado confirma a hipótese do glicerol ser o responsável pela alta solubilização, não apenas por separar as cadeias poliméricas, facilitando a extração de solutos, mas, sobretudo por ser um soluto muito solúvel em água e, portanto, facilmente lixiviado. Na faixa estudada, os melhores resultados foram obtidos utilizando-se tratamento com solução reticuladora de 1% de glicerol. Os filmes, entretanto, ficaram difíceis de manusear devido a sua fragilidade pela falta de plasticidade.

Os ensaios de intumescimento indicaram resultados praticamente iguais para filmes tratados com 20 ou com 30 mL de solução. Apenas as curvas de embebição dos filmes tratados com 30 mL estão lançadas na Figura 4.4.

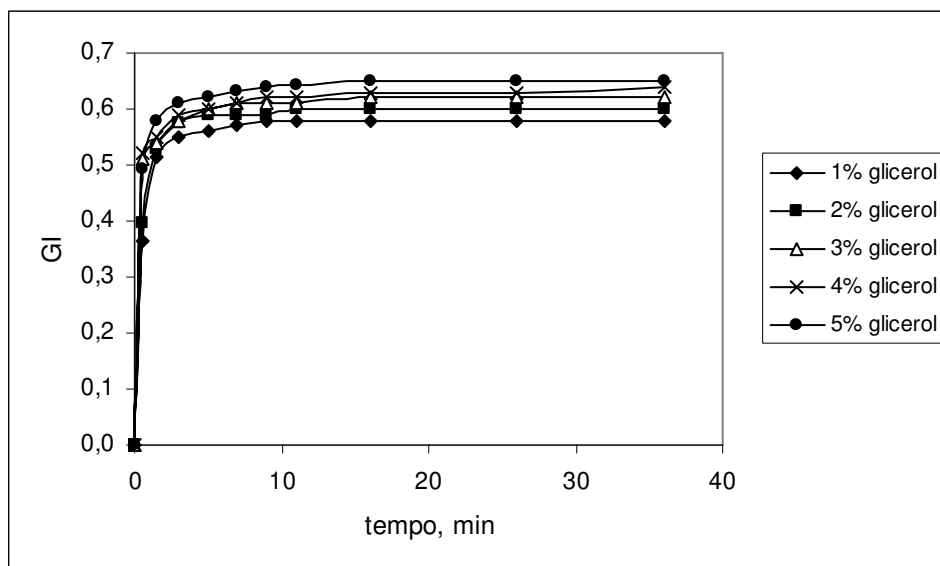


Figura 4.4. Grau de intumescimento de filmes de alginato de cálcio tratados com pincel usando 30 mL de solução 3% CaCl_2 e diferentes conteúdos de glicerol no 2º estágio.

O aumento da concentração de glicerol na solução reticuladora provocou um aumento na quantidade de água embebida pelo filme. Isto ocorre porque o glicerol, por ser plastificante, aumenta a mobilidade molecular, afastando as cadeias poliméricas na estrutura reticular, facilitando assim a embebição. A tendência encontrada, tanto na solubilidade como na embebição não recomendam o uso de glicerol. Ele, entretanto, é necessário como agente plastificante para conferir manuseabilidade ao filme. Sua concentração, portanto, deve ser otimizada por esse critério, devendo ser a mínima necessária.

O equilíbrio de embebição foi atingido praticamente ao mesmo tempo em quase todas as situações estudadas (aproximadamente 10 min) e os filmes mantiveram sua aparência geral.

4.1.5. Contato por imersão do filme em 50 mL de solução.

Os valores de umidade e solubilidade dos filmes obtidos com estes tipos de tratamento estão apresentados na Tabela 4.6.

Tabela 4.6. Conteúdo de umidade e solubilidade em água de filmes reticulados com 0,8% CaCl₂ e 0,7% glicerol (1º estágio), tratados por imersão em solução de 3% de CaCl₂ e 0,7% glicerol em diferentes tempos.

Tratamento / tempo (min)	Umidade, <i>W</i> (g / 100 g _{filme})	Solubilidade, <i>S</i> (%)
imersão cada lado 4 min	17,7 ± 0,59 ^a	11,5 ± 0,11 ^a
imersão total 4 min	17,9 ± 0,74 ^a	10,0 ± 0,41 ^b
imersão cada lado 8 min	18,3 ± 0,46 ^a	10,9 ± 0,50 ^a
imersão total 8 min	20,1 ± 0,44 ^b	9,5 ± 0,12 ^b
imersão cada lado 12 min	21,5 ± 1,08 ^b	9,9 ± 0,60 ^b
imersão total 12 min	20,8 ± 0,25 ^b	8,5 ± 0,52 ^b
imersão cada lado 16 min	20,5 ± 0,72 ^b	7,9 ± 0,66 ^c
imersão total 16 min	20,6 ± 1,05 ^b	7,4 ± 0,20 ^c

Média ± desvio padrão (3 repetições)

Nota: letras diferentes, na mesma coluna, representam diferenças significativas ($p > 0,05$) entre as médias obtidas através do teste de Tukey.

O conteúdo de umidade dos filmes tratados por imersão nos dois casos aumenta com o tempo de tratamento, havendo diferenças entre o tratamento individual de cada face e a imersão de todo o filme.

Filmes tratados por imersão total em solução reticuladora apresentam menor solubilidade quando comparados aos filmes tratados por imersão de cada lado, em um mesmo período de tempo. Há uma tendência bem definida de uma diminuição da solubilidade com o tempo de processamento.

A Figura 4.5 mostra o grau de intumescimento nas diversas situações estudadas.

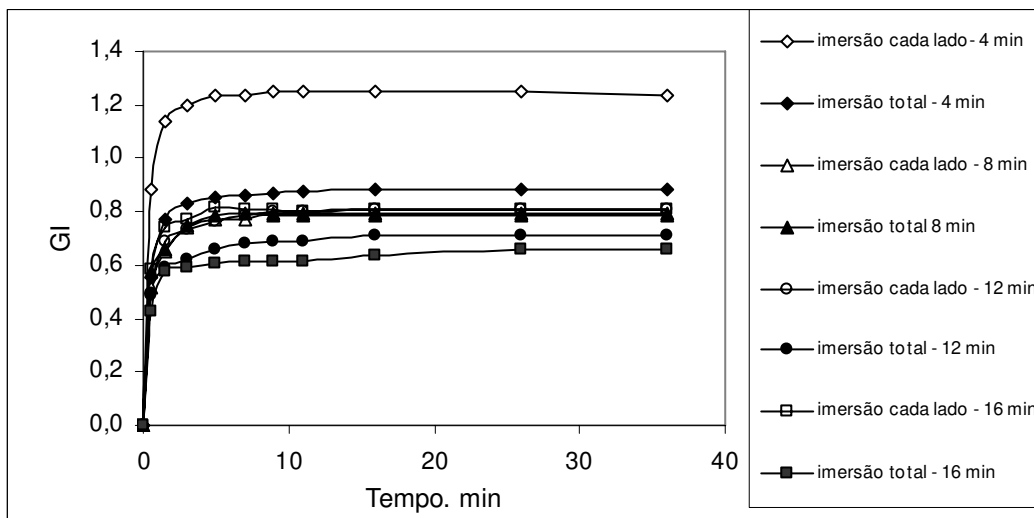


Figura 4.5. Grau de intumescimento de filmes de alginato de cálcio tratados por imersão em solução reticuladora.

Os filmes apresentaram intumescimento após contato com o meio aquoso, que variou muito com o tempo e a forma de tratamento. Filmes formados por imersão total mostraram um intumescimento muito menor do que os filmes nos quais cada face foi tratada individualmente.

A influência do tempo de tratamento também se mostrou importante, e a tendência de aproximação entre as curvas indica que aparentemente, não foi utilizado um tempo suficiente para uma reticulação mais completa. Filmes tratados por imersão total por um período de 4 minutos, por exemplo, apresentaram um intumescimento de 88%, enquanto que filmes tratados nas mesmas condições por um período de 8 minutos, o intumescimento é de 79%, e com 16 minutos, foi de 66%.

O equilíbrio foi atingido aproximadamente aos 5 minutos em todas as situações estudadas. Após 36 minutos de imersão em água, foi verificado um aumento na espessura dos mesmos, da ordem de 1 a 2,2 vezes o valor da espessura inicial.

Como o aumento do tempo de exposição dos filmes aos íons cálcio diminuiu a solubilidade em água assim como a quantidade de água absorvida pelos mesmos, os ensaios descritos na secção seguinte foram conduzidos utilizando tempos de imersão maiores.

Dentre os diversos métodos de tratamento estudados, o que apresentou melhores resultados e maior facilidade de controle do manuseio, foi o contato do filme por imersão em solução reticuladora de íons cálcio. Com base nesses resultados, todos os filmes elaborados a seguir foram confeccionados com tratamento por imersão no segundo estágio.

4.2. INFLUÊNCIA DO GRAU DE PRÉ-RETICULAÇÃO

Nos ensaios descritos a seguir, procurou-se verificar se o grau de pré-reticulação influencia a solubilidade dos filmes, variando a concentração de CaCl_2 no primeiro estágio.

4.2.1. Filmes pré-reticulados com 1,0 % CaCl_2

Filmes pré-reticulados com 1,0 % CaCl_2 e 0,6g glicerol /g alginato no 1º estágio foram imersos em solução de 3% CaCl_2 e 0,7% glicerol no 2º estágio. Baseando-se nos resultados já obtidos, o tempo máximo de imersão foi estendido a 40 minutos. Esses filmes receberam o mesmo acabamento que nos ensaios descritos no Item 4.1.

Os valores de umidade e solubilidade obtidos para os filmes com este tipo de tratamento estão apresentados na Tabela 4.7.

Tabela 4.7. Conteúdo de umidade e solubilidade em água de filmes pré-reticulados com 1,0 % CaCl_2 e 0,7% glicerol (1º estágio), tratados por imersão total em solução de 3% de CaCl_2 e 0,7% de glicerol a diferentes tempos de imersão (2º estágio).

Tempo (min)	Umidade, W (g / 100 g _{filme})	Solubilidade, S (%)
5	18,8 ± 0,79 ^{a,b}	4,9 ± 0,72 ^a
10	17,8 ± 0,22 ^a	4,7 ± 0,24 ^a
15	18,9 ± 0,37 ^{a,b}	4,5 ± 0,42 ^a
20	18,9 ± 0,11 ^{a,b}	4,2 ± 0,50 ^a
25	19,3 ± 0,32 ^{a,b}	4,3 ± 0,79 ^a
30	20,0 ± 0,73 ^{b,c}	3,7 ± 0,06 ^{a,b}
35	20,1 ± 0,74 ^{b,c}	3,3 ± 0,03 ^{a,b}
40	20,0 ± 0,47 ^{b,c}	2,4 ± 0,60 ^{b,c}

Média ± desvio padrão (3 repetições)

Nota: letras diferentes, na mesma coluna, representam diferenças significativas ($p > 0,05$) entre as médias obtidas através do teste de Tukey.

Como em todas as experiências anteriores, os resultados apresentados na Tabela 4.7 mostram que o conteúdo de umidade dos filmes tratados por imersão em solução reticuladora varia muito pouco apresentando uma leve tendência de aumento com o tempo de imersão. A solubilidade em água desses filmes mostrou ser extremamente baixa, e todos os valores foram inferiores a 5%. O aumento do tempo de exposição dos filmes aos íons cálcio diminui a solubilidade em água dos mesmos, e com um tempo de 40 minutos, apenas 2,4% da massa seca do filme é solúvel.

A adição de uma solução com 1% de CaCl_2 no primeiro estágio, entretanto, exige uma agitação muito intensa na mistura, a fim de evitar gelificação local na região de contato da solução com o alginato. Alguns dos filmes confeccionados nessa situação foram descartados por apresentarem irregularidades, como por exemplo, a presença de bolhas de ar ou zonas translúcidas.

4.2.2. Filmes pré-reticulados com 0,8% e 0,4% CaCl_2

A fim de definir o tempo de imersão no banho de reticulação do 2º estágio, tornou-se a confeccionar filmes pré-reticulados com uma solução de 0,8% CaCl_2 . Para uma comparação, alguns filmes pré-reticulados com 0,4% CaCl_2 também foram avaliados.

A metodologia seguiu a mesma sequência já descrita nos ensaios anteriores e os resultados estão apresentados na Tabela 4.8.

Tabela 4.8. Conteúdo de umidade e solubilidade em água de filmes pré-reticulados com 0,8% ou 0,4% de CaCl_2 e 0,7% glicerol (1º estágio), tratados por imersão total em solução com 3% CaCl_2 e 0,7% de glicerol a diferentes tempos de imersão.

Tempo (min)	0,8% CaCl_2 (1º estágio)		0,4% CaCl_2 (1º estágio)	
	Umidade, W (g / 100 g _{filme})	Solubilidade, S (%)	Umidade, W (g / 100 g _{filme})	Solubilidade, S (%)
5	26,1 ± 3,16 ^a	19,6 ± 1,35 ^a	-	-
10	25,7 ± 1,84 ^a	17,6 ± 4,89 ^b	-	-
15	-	-	19,9 ± 0,74 ^a	15,3 ± 1,45 ^a
20	28,1 ± 2,39 ^a	13,0 ± 0,54 ^c	-	-
25	28,0 ± 0,91 ^a	10,1 ± 1,02 ^d	-	-
30	21,9 ± 0,70 ^{a,b}	6,7 ± 0,06 ^e	20,9 ± 0,11 ^a	8,8 ± 1,40 ^b
35	19,2 ± 0,73 ^b	8,2 ± 0,96 ^e	-	-
40	20,6 ± 0,26 ^b	6,1 ± 0,90 ^e	-	-
45	20,3 ± 0,21 ^b	7,4 ± 0,55 ^e	21,9 ± 0,34 ^a	8,3 ± 0,57 ^b
50	17,8 ± 0,71 ^b	6,4 ± 0,21 ^e	-	-
55	19,0 ± 1,09 ^b	4,4 ± 0,88 ^f	-	-
60	18,5 ± 0,53 ^b	6,7 ± 0,17 ^e	21,0 ± 0,62 ^a	7,7 ± 0,57 ^b

Média ± desvio padrão (3 repetições)

Nota: letras diferentes, na mesma coluna, representam diferenças significativas ($p > 0,05$) entre as médias obtidas através do teste de Tukey.

Analisando os resultados da Tabela 4.8, observa-se que a variação no conteúdo de umidade dos filmes tratados por imersão em solução reticuladora é maior do que nas situações estudados anteriormente. Não se encontrou explicação para os altos valores de umidade nos filmes pré-reticulados com 0,8% de CaCl_2 e imersão até 25 minutos na solução do 2º estágio.

A solubilidade em água dos filmes tende a diminuir com o tempo de exposição dos filmes aos íons cálcio, devido a formação de redes tridimensionais mais compactas, dificultando, desta maneira, a penetração das moléculas de água. A partir de 30 minutos, o efeito do tempo de imersão sobre a solubilidade em água dos filmes se tornou menos pronunciado, podendo indicar o início da saturação das cadeias de alginato por íons cálcio, nas concentrações estudadas. Como metodologia padrão, então, foi adotado um tempo de tratamento de 30 minutos.

Observa-se também que os filmes pré-reticulados com solução de 0,8% CaCl_2 no 1º estágio apresentaram valores de solubilidade em água mais baixos quando comparados aos filmes pré-reticulados com solução de 0,4% CaCl_2 . Analisando esses resultados em conjunto com os valores apresentados na Tabela 4.7, (filmes 1,0% de CaCl_2), confirma-se a tendência de que o maior grau de reticulação das cadeias de alginato pelos íons de cálcio no 1º estágio auxilia a estruturação final feita no 2º estágio. O limite prático adotado para a concentração no 1º estágio deve ser 0,8% de CaCl_2 , entretanto, enquanto um equipamento mais adequado para a incorporação do CaCl_2 no 1º estágio, que evite a gelificação heterogênea e a incorporação de ar não for desenvolvido.

Resultados semelhantes foram encontrados por Galiotta *et al.* (1998), que adicionaram pequenas quantidades de cloreto de cálcio (0,05 g/100g de matéria seca) à solução filmogênica de proteína de soja, reduzindo a solubilidade em água para menos de 1%.

4.3. DEFINIÇÃO DA CONCENTRAÇÃO DE GLICEROL NO 2º ESTÁGIO

Com o objetivo de definir uma concentração mínima de glicerol necessária para se obter filmes com boa aparência, flexibilidade, facilidade de manuseio e com baixa solubilidade em água, foram avaliadas seis concentrações diferentes deste plastificante (3,0; 5,0; 7,0; 10,0; 12,0; 15,0 %) na solução reticuladora do 2º estágio em vez de apenas 0,7% como foi utilizado até agora. Conforme estabelecido nos itens anteriores, logo após o tratamento por imersão, os filmes eram mantidos a temperatura ambiente sobre um suporte por três horas e então submetidos à secagem em estufa (30°C/20h).

A solubilidade em água e o teor de umidade dos filmes de alginato reticulados com solução de cloreto de cálcio (0,4 e 0,8%) no 1º estágio, imersão em 50 mL de uma solução 3% CaCl_2 contendo diferentes concentrações de glicerol na solução de tratamento do 2º estágio estão apresentadas nas Tabelas 4.9 e 4.10, respectivamente.

Tabela 4.9. Conteúdo de umidade e solubilidade em água de filmes pré-reticulados com 0,4% CaCl_2 e 0,7% glicerol (1º estágio), e 3% CaCl_2 e diferentes concentrações de glicerol por 30 minutos (2º estágio).

Concentração de glicerol no 2º estágio (%)	Umidade, <i>W</i> (g / 100 g <i>filme</i>)	Solubilidade, <i>S</i> (%)
3	15,7 ± 0,37 ^a	15,8 ± 0,62 ^a
5	15,0 ± 0,18 ^{a,b}	20,6 ± 0,44 ^b
7	12,3 ± 0,33 ^c	27,6 ± 0,73 ^c
10	12,5 ± 0,43 ^c	33,0 ± 0,49 ^d
12	13,0 ± 0,24 ^c	33,3 ± 0,24 ^d
15	14,6 ± 0,46 ^b	35,1 ± 0,96 ^e

Média ± desvio padrão (3 repetições)

Nota: letras diferentes, na mesma coluna, representam diferenças significativas ($p > 0,05$) entre as médias obtidas através do teste de Tukey.

Tabela 4.10. Conteúdo de umidade e solubilidade em água de filmes reticulados com 0,8% CaCl_2 e 0,7% glicerol (1º estágio) e 3% CaCl_2 e diferentes concentrações de glicerol por 30 minutos (2º estágio).

Conc. de glicerol no 2º estágio (%)	Umidade, <i>W</i> (g / 100 g <i>filme</i>)	Solubilidade, <i>S</i> (%)
3	12,2 ± 0,16 ^a	15,6 ± 1,80 ^a
5	12,5 ± 0,35 ^a	18,2 ± 0,35 ^b
7	12,6 ± 0,20 ^a	21,4 ± 0,32 ^c
10	15,1 ± 0,14 ^b	25,9 ± 0,11 ^d
12	14,4 ± 0,11 ^c	26,7 ± 0,65 ^d
15	15,0 ± 0,21 ^b	28,2 ± 0,63 ^d

Média ± desvio padrão (3 repetições)

Nota: letras diferentes, na mesma coluna, representam diferenças significativas ($p > 0,05$) entre as médias obtidas através do teste de Tukey.

Nos filmes reticulados com solução de CaCl_2 0,8%, o conteúdo de umidade aumentou significativamente com o aumento da concentração de glicerol. Schou *et al.* (2005) observaram uma tendência semelhante em filmes de caseinato de sódio. Os autores constataram que aumentando a relação glicerol: proteína de 0,16 para 0,32, duplicava o conteúdo de umidade.

Observa-se que os valores de solubilidade em água aumentaram significativamente com o aumento da concentração de glicerol na solução. Essa tendência já havia sido constatada na metodologia que usava o pincel (Tabela 4.5).

Observa-se também que os filmes reticulados com solução de 0,8% CaCl_2 no 1º estágio apresentaram valores de solubilidade em água mais baixos quando comparados aos filmes reticulados com solução de 0,4% CaCl_2 . Isto se deve ao maior grau de reticulação das cadeias de alginato pelos íons de cálcio, confirmando a tendência constatada no Item 4.2.

Como um compromisso entre a melhor aparência e manuseio do filme (obtido com maiores quantidades de glicerol) e baixas solubilidades, fixou-se em 20% o limite de massa solubilizável. Esse valor é menor do que o da maioria dos biofilmes. Analisando as Tabelas 4.9 e 4.10, verifica-se que com 5% de glicerol na segunda etapa, obtêm-se filmes com cerca de 20% de solubilidade tanto para a pré-reticulação de 0,4% como para a de 0,8% de CaCl_2 . Com base nesses resultados, todos os filmes foram confeccionados com 5% de glicerol no segundo estágio.

4.4. ENSAIOS COM CLORETO E BENZOATO DE CÁLCIO

Os ensaios apresentados a seguir dizem respeito ao objetivo principal desse estudo, isto é, a avaliação da adição de benzoato de cálcio, um antimicótico, como fonte de Ca^{++} para a reticulação. Foram definidas 22 formulações, sendo 12 nos quais apenas benzoato de cálcio foi usado no 1º estágio (Filme 1), 7 formulações que usaram misturas de cloreto de cálcio com benzoato de cálcio no 1º estágio (Filme 2) e 3 formulações básicas com diferentes concentrações de CaCl_2 (3, 5 e 7%) no 2º estágio (Filme 3). Finalmente, 6 filmes com equivalentes % Ca^{++} no 1º estágio receberam um tratamento com 7 % de CaCl_2 no 2º

estágio, para comparar suas características com as de 3% CaCl_2 . Esses filmes receberam denominação adicional na forma de um índice 3 ou 7, conforme a concentração.

Uma quarta opção de formulação compreendeu o estudo da adição de benzoato de cálcio na solução do 2º estágio. A perspectiva dessa variante de procedimento foi, na realidade, a maior motivação para a realização dessa proposta de pesquisa, pois buscava a máxima saturação possível do filme com benzoato e assim tornar mais eficiente sua atividade anti-micótica. Os resultados de todas as formulações ensaiadas, entretanto, foram frustrados pela formação de um depósito de cristais de benzoato de cálcio sobre o filme, que se iniciava no momento da imersão do filme no banho, e se intensificava após a secagem. Os filmes apresentaram uma aparência leitosa e sensação de arenosidade ao tato. A permeabilidade ao vapor de água e sua resistência mecânica também foram prejudicadas.

Como consequência, a confecção de filmes seguindo essa metodologia foi descartada e os resultados parciais obtidos não serão apresentados aqui.

4.4.1. Umidade e solubilidade em água

O conteúdo de umidade e a solubilidade em água dos filmes confeccionados de acordo com as formulações das Tabelas 3.1 e 3.2 estão apresentados nas Tabelas 4.11 e 4.12. Esses filmes foram preparados com solução filmogênica contendo 1,5% de alginato de sódio e glicerol (0,6g glicerol/ g alginato) e sofreram idêntico tratamento no 2º estágio, isto é, imersão por 30 minutos em 50 mL de um banho contendo 3% CaCl_2 e 5% de glicerol.

O conteúdo de umidade dos filmes, conforme Tabela 4.11, variou de 11,3% a 18,8%, mas sem uma tendência definida, embora filmes apenas com benzoato (Filme 1), ou contendo CaCl_2 e altas concentrações de benzoato (Filmes 2F e 2G) se mostraram menos úmidos.

Observa-se pela Tabela 4.11, que filmes que receberam a mesma quantidade de Ca^{++} mas contendo apenas benzoato (Filmes 1), apresentaram maior solubilidade em água do que filmes confeccionados com cloreto e benzoato (Filmes 2). Esse resultado indica a menor eficiência do benzoato de cálcio como agente reticulador quando comparado ao cloreto de cálcio. É provável que o benzoato atue também como plastificante. Essa

conclusão é confirmada pela baixa solubilidade (10,2%) encontrada para o filme contendo apenas cloreto de cálcio no primeiro estágio (Filme 2A). A adição de pequena quantidade de benzoato aumenta dramaticamente esse valor (Filme 2B) e apenas quando uma quantidade considerável de benzoato é adicionada, alcançou-se o mesmo nível de solubilidade (Filme 2F), ou então uma solubilidade muito mais baixa (Filme 2 G).

Tabela 4.11. Conteúdo de umidade e solubilidade em água de filmes confeccionados com CaCl_2 e/ou benzoato de cálcio no 1º estágio e 3% CaCl_2 e 5% glicerol no 2º estágio.

Filme	% Ca^{++}	Umidade, W ($g / 100 g_{\text{filme}}$)	Solubilidade, S (%)
1A	0,18	$13,0 \pm 0,28^{a,c}$	$29,0 \pm 0,42^a$
1B	0,21	$12,6 \pm 0,13^{a,b}$	$27,4 \pm 0,44^{a,b}$
1C	0,25	$11,3 \pm 0,83^b$	$25,8 \pm 1,19^{a,b}$
1D	0,29	$18,8 \pm 0,20^d$	$23,1 \pm 1,02^b$
1E	0,32	$16,8 \pm 0,30^e$	$20,2 \pm 1,68^{b,c}$
1F	0,36	$12,7 \pm 0,56^a$	$19,9 \pm 2,26^b$
1G	0,42	$13,7 \pm 0,33^a$	$19,5 \pm 0,55^b$
1H	0,43	$14,4 \pm 0,42^c$	$18,8 \pm 2,31^b$
1I	0,45	$12,6 \pm 0,52^a$	$17,8 \pm 2,43^c$
1J	0,46	$15,4 \pm 0,31^e$	$16,8 \pm 0,04^c$
1K	0,50	$15,6 \pm 0,83^e$	$16,9 \pm 2,62^c$
1L	0,54	$13,7 \pm 0,27^a$	$15,5 \pm 0,46^d$
2A	0,29	$18,8 \pm 0,27^d$	$10,2 \pm 2,93^e$
2B	0,34	$18,7 \pm 0,68^d$	$25,6 \pm 0,89^a$
2C	0,38	$18,1 \pm 0,31^{d,e}$	$19,7 \pm 1,14^{b,d}$
2D	0,43	$17,2 \pm 0,36^e$	$18,4 \pm 1,58^{c,d}$
2E	0,47	$18,2 \pm 0,52^{d,e}$	$15,3 \pm 0,88^d$
2F	0,50	$12,9 \pm 0,60^a$	$10,2 \pm 0,09^e$
2G	0,54	$12,9 \pm 0,56^a$	$7,1 \pm 0,30^e$

Média $\pm$ desvio padrão (3 repetições)

Nota: letras diferentes, na mesma coluna, representam diferenças significativas ($p > 0,05$) entre as médias obtidas através do teste de Tukey.

Tabela 4.12. Conteúdo de umidade e solubilidade em água de filmes confeccionados com 0,8% CaCl_2 no 1º estágio e imersão em solução com 5% glicerol e diferentes conteúdos de CaCl_2 no 2º estágio.

Filme	CaCl_2 %	Umidade, W (g / 100 g _{filme})	Solubilidade, S (%)
3A	3	$16,2 \pm 0,35^a$	$10,2 \pm 0,11^a$
3B	5	$16,9 \pm 0,08^b$	$12,8 \pm 0,57^b$
3C	7	$18,1 \pm 0,32^c$	$13,8 \pm 0,21^c$

Média $\pm$ desvio padrão (3 repetições)

Nota: letras diferentes, na mesma coluna, representam diferenças significativas ($p > 0,05$) entre as médias obtidas através do teste de Tukey.

A Tabela 4.12 apresenta os Filmes 3 com quantidades crescentes de CaCl_2 no 2º estágio. Ao contrário do que se esperava, observa-se um aumento da fração de material solúvel com o aumento no teor de cloreto na solução de tratamento do 2º estágio. Esse aumento consistente pode ser justificado pela possível formação de uma reticulação compacta na superfície dos mesmos, devido ao contato com excesso de Ca^{++} , conforme já verificado por Al-Musa *et al.* (1999). Essa camada dificulta a difusão de mais cálcio para o interior da matriz filmogênica. Por outro lado, esse resultado pode refletir também uma maior lixiviação de solutos, durante a fase de imersão no banho, quando baixas concentrações de CaCl_2 estão presentes nessa solução.

Considerando que a finalidade do estudo era produzir filmes contendo benzoato, conclui-se que Filmes 2C a 2G foram os que apresentaram melhor desempenho, com baixa solubilidade.

4.4.2. Grau de intumescimento

Foram realizados ensaios de intumescimento de todos os filmes confeccionados de acordo com as formulações das Tabelas 3.1 e 3.2. As Figuras 4.6 a 4.8 apresentam apenas

as curvas de algumas das formulações mais representativas, para facilitar o reconhecimento.

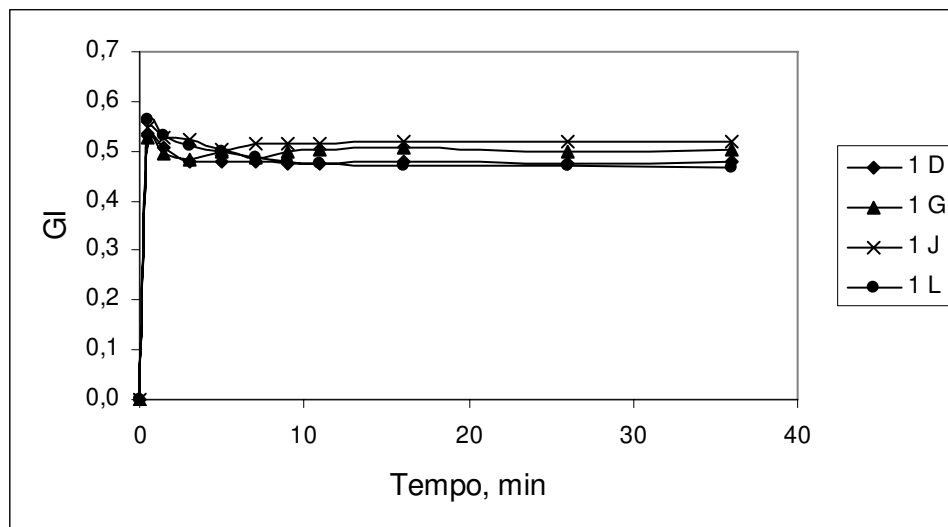


Figura 4.6. Grau de intumescimento de filmes de alginato de cálcio confeccionados com benzoato de cálcio no 1º estágio.

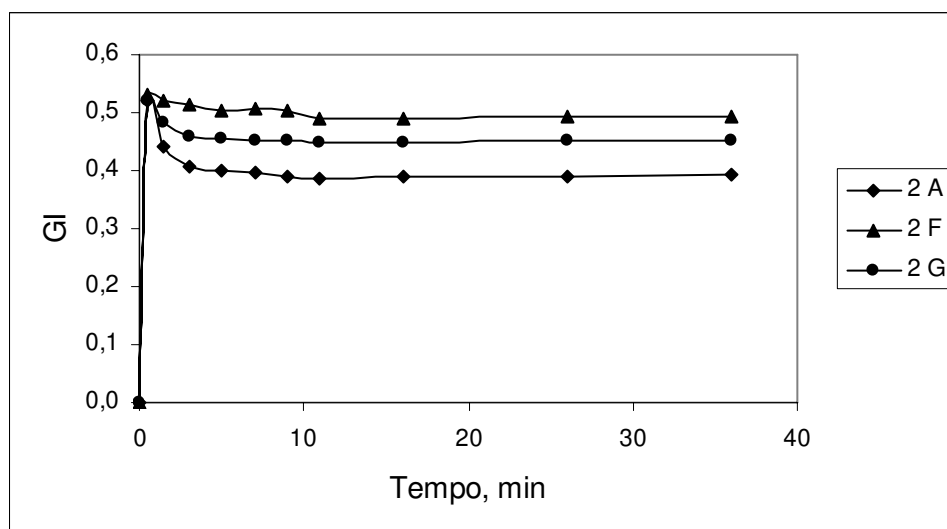


Figura 4.7. Grau de intumescimento de filmes de alginato de cálcio confeccionados com benzoato e cloreto de cálcio no 1º estágio.

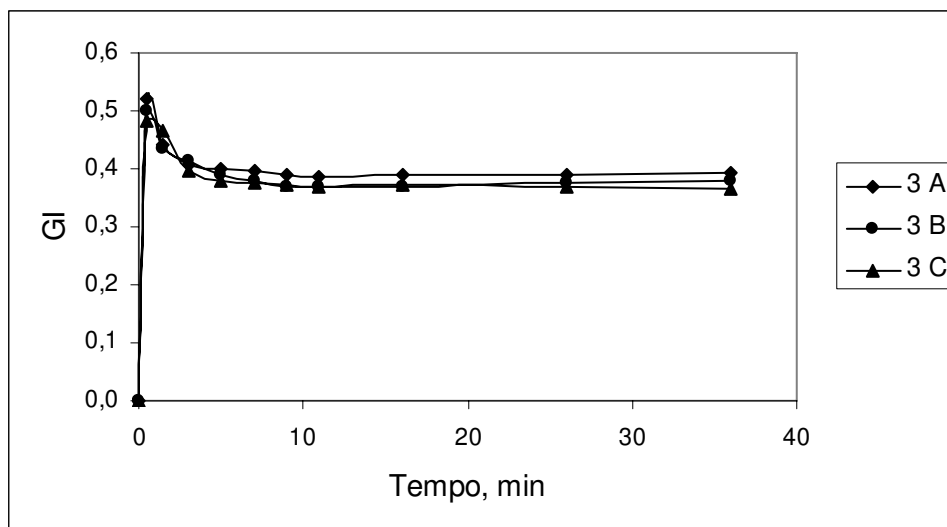


Figura 4.8. Grau de intumescimento de filmes de alginato de cálcio confeccionados com benzoato e cloreto de cálcio no 1º estágio e diferentes concentrações de CaCl_2 no 2º estágio.

Ao examinar as curvas das figuras, dois eventos ficam bem evidentes: os valores extremamente baixos de GI e o pico de intumescimento, em torno de um minuto de contato. Esse ponto máximo na curva de absorção de água não era perceptível nos ensaios descritos nas Secções 4.1 a 4.3 e resultam de uma adequação da metodologia. Nos ensaios preliminares para definir a metodologia, os filmes após a imersão em água eram colocados entre folhas de papel de filtro e uma leve compressão era aplicada. Nos ensaios definitivos, os filmes colocados entre folhas de filtro não eram mais comprimidos. Observou-se que desta forma os valores de GI obtidos eram mais reprodutíveis e que as duas técnicas obtinham o mesmo valor de GI de equilíbrio. A formação de um máximo de absorção de água pode ser explicado pela sequência de mecanismos envolvidos. A água é rapidamente absorvida pelo filme e então promove uma relaxação de sua estrutura reticular que irá facilitar a solubilização e difusão dos solutos lixiviados pela água. A diminuição dos valores de GI é devida não apenas a uma menor retenção de água pela estrutura reticular enfraquecida, como pela perda de massa lixiviada.

A Tabela 4.13 apresenta os valores de equilíbrio de intumescimento encontrado para os Filmes 1, 2 e 3.

Tabela 4.13. Grau de intumescimento de filmes de alginato de cálcio com Formulações 1, 2 e 3.

Filme	% Ca^{++}	GI
1A	0,18	0,36
1D	0,29	0,48
1F	0,36	0,49
1G	0,42	0,50
1J	0,46	0,52
1L	0,54	0,49
2A	0,29	0,39
2B	0,34	0,47
2C	0,38	0,49
2D	0,43	0,49
2E	0,47	0,48
2G	0,54	0,50
3A	1,08	0,39
3B	1,80	0,38
3C	2,52	0,37

É possível observar através da Tabela 4.13 que os filmes apresentam intumescimentos próximos entre si, entre 40 e 50%. Cabe destacar, entretanto, que o Filme 2A (padrão sem benzoato) tem o valor mais baixo de intumescimento, 39%. Zactiti (2004) usando uma formulação com 3% CaCl_2 e 0,7% de glicerol, com pulverização de solução sobre as faces do filme no 2º estágio, obteve GI da ordem de 70%. A comparação entre esses valores indica que o processo por imersão além de ser mais simples, é mais eficiente em termos de menor intumescimento.

Filmes que não continham cloreto de cálcio no primeiro estágio (Filmes 1) apresentaram grau de intumescimento crescente, contrariando o esperado, pois deveria ocorrer uma maior reticulação com o aumento da quantidade de íons Ca^{++} em suas formulações. Essa tendência pode ser atribuída a uma ação plastificante do íon benzoato. Esse mesmo comportamento não foi seguido por filmes contendo ambos os agentes reticulantes (Filmes 2, Figura 4.7), que apresentaram pouca variação no GI calculado. O

grau de intumescimento para filmes do Tipo 2 ficou em torno de 47%, com exceção do Filme 2A. Na Tabela 4.14 são apresentados alguns valores de intumescimento de Filmes 1 e 2 selecionados contendo a mesma percentagem de Ca^{++} .

Tabela 4.14. Grau de intumescimento de filmes de alginato de cálcio com formulação 1 e 2, contendo a mesma porcentagem de cálcio na pré-reticulação.

3% CaCl_2 (2º estágio)			7% CaCl_2 (2º estágio)		
Filme	% Ca^{++}	GI	Filme	% Ca^{++}	GI
1D	0,29	0,48	1G	0,42	0,38
2A	0,29	0,39	2D	0,42	0,36
1L	0,54	0,47	1J	0,47	0,36
2G	0,54	0,49	2E	0,47	0,32

Para os filmes com a mesma quantidade total de íons cálcio na pré-reticulação, mas contendo somente benzoato de cálcio em sua formulação (Filmes 1), encontrou-se maior grau de intumescimento do que para filmes contendo benzoato/cloreto de cálcio (Filmes 2). Zactiti (2004) também encontrou um aumento de intumescimento com o aumento do conteúdo de antimicótico (no caso, sorbato).

Os resultados encontrados para filmes com conteúdos constantes de cloreto de cálcio no primeiro estágio e quantidades crescentes do mesmo no segundo estágio (Filme 3 da Figura 4.8), mostraram uma pequena diminuição do grau de intumescimento para formulações tratadas com maior quantidade de Ca^{++} . A mesma tendência foi encontrada por Zactiti (2004), para crescentes quantidades de cloreto de cálcio em filmes sem atividade antimicótica.

Todos os filmes mantiveram sua integridade e apresentaram uma aparência próxima à original após 36 minutos de imersão em água. O aumento na espessura dos filmes variou de 1 a 3,7 vezes o valor da espessura inicial, dependendo da formulação e das condições de tratamento.

Analisando as curvas das Figuras 4.1 a 4.8, verifica-se que filmes tratados por imersão absorvem uma quantidade de água bem inferior a filmes tratados por tecido,

esponja, pincel e rolo. O intumescimento dos filmes tratados por imersão está em torno de 50%, enquanto que para os outros tipos de tratamento mencionados este valor variou entre 30 e 500%.

4.4.3. Tensão e alongação na ruptura

Na Tabela 4.15, são apresentados os valores de tensão e alongação na ruptura para os Filmes 1, 2 e 3 submetidos ao tratamento com cálcio.

Tabela 4.15. Tensão (TR) e alongação na ruptura (E) de Filmes 1, 2 e 3.

Filme	% Ca ⁺⁺	Tensão (N/cm ²)	Elongação (%)
1A	0,18	58,7 ± 4,7 ^a	0,88 ± 0,21 ^a
1B	0,21	61,3 ± 2,1 ^{a,b}	1,22 ± 0,11 ^{a,b}
1C	0,25	64,1 ± 3,0 ^{a,c}	1,10 ± 0,17 ^a
1D	0,29	66,4 ± 1,4 ^{a,d}	1,18 ± 0,18 ^{a,c}
1E	0,32	68,2 ± 2,2 ^{a,e}	2,14 ± 0,37 ^d
1F	0,36	70,9 ± 1,9 ^{a,f}	1,68 ± 0,26 ^{b,c,d}
1G	0,42	71,2 ± 2,0 ^a	0,71 ± 0,12 ^a
1H	0,43	73,5 ± 2,6 ^{b,c,d,e,f}	0,84 ± 0,15 ^a
1I	0,45	88,6 ± 4,1 ^g	1,78 ± 0,23 ^{b,d}
1J	0,46	95,2 ± 3,8 ^g	2,09 ± 0,27 ^d
1K	0,50	102,5 ± 6,3 ^g	2,03 ± 0,33 ^d
1L	0,54	107,3 ± 4,2 ^{g,h}	1,89 ± 0,25 ^{b,d}
2A	0,29	79,0 ± 2,5 ^{d,e,f,g}	1,47 ± 0,29 ^{a,d}
2B	0,34	82,6 ± 4,3 ^{e,f,g}	0,99 ± 0,12 ^a
2C	0,38	87,4 ± 5,3 ^g	1,32 ± 0,24 ^a
2D	0,43	95,1 ± 2,3 ^g	1,58 ± 0,32 ^{a,d}
2E	0,47	110,7 ± 3,7 ^{g,i}	2,66 ± 0,37 ^d
2F	0,50	119,4 ± 8,1 ^{h,i}	1,93 ± 0,29 ^{b,d}
2G	0,54	120,1 ± 7,2 ^{h,i}	1,18 ± 0,18 ^a
3A	1,08	61,4 ± 4,3 ^a	1,27 ± 0,23 ^a
3B	1,80	107,8 ± 6,7 ^g	2,30 ± 0,36 ^d
3C	2,52	123,3 ± 8,9 ⁱ	2,08 ± 0,30 ^d

Média ± desvio padrão (8 repetições)

Nota: letras diferentes, na mesma coluna, representam diferenças significativas ($p > 0,05$) entre as médias obtidas através do teste de Tukey.

Observa-se que, independentemente da origem do Ca^{++} (do cloreto ou do benzoato), o aumento da concentração de cálcio na formulação melhorou significativamente a tensão de ruptura do filme. Esse aumento da tensão na ruptura após o tratamento com cálcio pode ser explicado pelo desenvolvimento de *crosslinking* entre os grupos carboxílicos presentes na molécula de alginato e os íons Ca^{++} (CHAVEZ *et al.*, 1994; PAVLATH *et al.*, 1999).

Comparando-se filmes com mesmo conteúdo de Ca^{++} , tem-se a necessidade de uma maior tensão na ruptura de Filmes 2, confirmando a melhor ação reticulante do cloreto de cálcio.

Os valores de tensão de ruptura encontrados são ligeiramente inferiores aos reportados por Zactiti (2004), que usou, entretanto, apenas 0,7% de glicerol na solução do 2º estágio, isto é, uma quantidade muito menor de plastificante.

A variação da tensão de ruptura para os Filmes 3 indicam uma maior reticulação provavelmente na região da superfície, dado que seus valores de tensão aumentam com o aumento da quantidade de cloreto de cálcio na solução de tratamento.

Os resultados relativos às elongações apresentaram-se baixos em todas as condições avaliadas e não seguiram uma tendência padrão. Isso pode ser devido à fragilidade dos filmes quanto à preparação para a análise, uma vez que pequenas fissuras nas laterais das amostras facilitam o rompimento, no início da elongação. Os resultados são muito inferiores (cerca da metade) dos valores encontrados por Zactiti (2004). Esse valor é surpreendente, sobretudo porque foi usado menor quantidade de plastificante no banho do 2º estágio, mas pode ser atribuído ao fato da pré-reticulação dos filmes de Zactiti terem sido mais brandas (0,4% CaCl_2). Uma adequada elongação dos filmes ativos confeccionados com alginato de sódio é um atributo desejável na embalagem de alimentos, pois o envoltório mantém maior área de contato com o produto. Essa característica desses filmes deve ser otimizada, talvez com formulações contendo outros tipos de plastificantes.

A nível molecular, a presença do íon Ca^{++} é considerada como um obstáculo à rotação (movimento) das cadeias de alginato, diminuindo a mobilidade das mesmas e conseqüentemente a capacidade do filme em alongar-se (SMIDSRØD, 1974). Resmuñan-López e Bodmeier (1997) verificaram que a porcentagem de elongação diminui após reticulação dos filmes de alginato com cálcio, utilizando concentrações entre 1 e 15% Ca^{++} . Além disso, eles constataram que a partir de 20% de cálcio, os filmes apresentaram maior

elongação quando comparados aos filmes reticulados com menores concentrações de cálcio. Embora os autores tenham utilizado filmes de maior espessura e metodologia de reticulação diferente, a tendência foi a mesma encontrada neste trabalho.

Outro fator que deve ser controlado é a quantidade de plastificantes. Estes são necessários para evitar que os filmes fiquem quebradiços, dificultando seu manuseio e utilização, mas a sua adição promove modificações na estrutura da cadeia do polímero. Mudanças nas propriedades mecânicas após adição de plastificantes foram observadas anteriormente por Cuq *et al.* (1997) e Gennadios *et al.* (1993), que trabalharam com filmes baseados em proteínas e polissacarídeos.

4.4.4. Permeabilidade ao vapor de água

Na Tabela 4.16, são apresentados os valores de permeabilidade ao vapor de água para alguns dos Filmes 1 e 2 juntamente com a espessura dos filmes, submetidos ao tratamento com 3% de cloreto de cálcio.

Tabela 4.16. Permeabilidade ao vapor de água (PVA) de Filmes 1 e 2, reticulados com 3 % CaCl_2 .

Filme	% Ca^{++}	Espessura (mm)	PVA (g.mm)/(m ² .dia.kPa)
1D	0,29	0,065 ± 0,005 ^a	4,59 ± 0,38 ^a
1G	0,42	0,057 ± 0,004 ^a	4,28 ± 0,43 ^a
1K	0,50	0,064 ± 0,005 ^a	4,15 ± 0,16 ^a
2A	0,29	0,059 ± 0,003 ^a	4,42 ± 0,16 ^a
2E	0,47	0,063 ± 0,004 ^a	4,42 ± 0,16 ^a
2G	0,54	0,068 ± 0,003 ^a	4,48 ± 0,18 ^a

Média ± desvio padrão (3 repetições)

Nota: letras diferentes, na mesma coluna, representam diferenças significativas ($p > 0,05$) entre as médias obtidas através do teste de Tukey.

Os dados da Tabela 4.16 indicam que a permeabilidade variou pouco, independentemente da formulação e mantém praticamente a mesma, da ordem de 4,4

g.mm/(m².dia.kPa). Essa tendência já havia sido encontrada por Zactiti (2004) nesse mesmo intervalo de concentração de CaCl₂.

Os valores de PVA encontrados são da mesma ordem de grandeza dos encontrados em filmes obtidos com outros biopolímeros. Zactiti (2004) encontrou valores ligeiramente maiores de permeabilidade. Carvalho (2002) constatou que filmes de gelatina (0,10 g de gelatina/mL de solução) apresentam permeabilidade ao vapor de água de aproximadamente $4,9 \pm 0,17$ g.mm/m².dia.kPa, utilizando umidade relativa igual a 50%, em filmes com espessura de $0,08 \pm 0,004$ mm. Filmes à base de pectina (0,04g de pectina/mL de solução) com espessura igual a 0,07mm apresentaram permeabilidade ao vapor de água igual a $6,80 \pm 0,12$ g.mm/m².dia.kPa (BATISTA, 2004).

A qualificação de filmes em relação a suas propriedades de barreira ao vapor de água pode ser estabelecida através da comparação com algum material já existente no mercado. Uma forma apresentada por Krochta e Mulder-Johnston (1997) é a definição de faixas de valores que corresponderão a filmes com boas, moderadas ou pobres propriedades de barreira, conforme mostrado na Tabela 4.17.

Tabela 4.17. Classificação da permeabilidade ao vapor de água de filmes (PVA)

(Krochta e Mulder-Johnston, 1997).

Propriedades	PVA* [(g.mm/(m ² .dia.kPa))]
Pobre	10 – 100
Moderada	0,10 – 10
Boa	0,01 – 0,10

* 38°C e 90% de UR.

Embora essas definições tenham sido realizadas em condições de temperatura e umidade relativa um pouco diferentes das estabelecidas neste trabalho, os filmes de alginato de cálcio analisados apresentam-se como moderadas barreiras à umidade. Assim como ocorre em filmes de proteína e celulose, em função da natureza hidrofílica da matriz de alginato, as moléculas de água provocam mudanças estruturais nas cadeias do polímero, ocasionando tensões internas que influenciam na permeação do solvente (PARK e CHINNAN, 1995).

Outro parâmetro que justifica os valores de permeabilidade ao vapor de água encontrados neste trabalho é a alta quantidade de plastificante utilizada. A inclusão das moléculas de glicerol entre as cadeias do polímero faz com que o espaçamento entre as mesmas aumente, facilitando a difusão do vapor de água através do filme (YANG e PAULSON, 2000a). As moléculas de glicerol também podem dimerizar, acentuando ainda mais este problema. Além disso, devido à alta hidrofilicidade das moléculas de glicerol, a adsorção de moléculas de água é favorecida, contribuindo desta maneira para o aumento da permeabilidade.

4.5. OTIMIZAÇÃO DOS RESULTADOS

Para a definição da formulação mais adequada dos filmes pesquisados, levou-se em consideração a quantidade de Ca^{++} adicionada, valores intermediários de solubilidade (em torno de 17%) e conteúdo não nulo de benzoato de cálcio nas formulações.

A escolha da quantidade de cálcio a ser utilizada na otimização da concentração da solução filmogênica teve como parâmetro principal a incorporação da máxima quantidade de benzoato de cálcio aceita pelo filme. O valor máximo encontrado para a adição do antimicótico à solução base foi o equivalente a 0,54% em íons Ca^{++} (4,5% de benzoato em massa), mas soluções com conteúdos superiores a 0,48% formaram filmes contendo bolhas, incorporadas durante a intensa agitação necessária no 1º estágio (em torno de 2000rpm). Ensaio feitos durante a confecção dos mesmos mostraram que, soluções filmogênicas contendo até 0,48 % em íons Ca^{++} produziam filmes de boa aparência e nenhuma gelificação incipiente durante o preparo no 1º estágio.

Conforme já mencionado na Secção 4.4, não foi possível a adição de benzoato de cálcio no 2º estágio de reticulação devido a seu baixo Produto de Solubilidade, que gerava a recristalização do mesmo sobre o filme.

Para a recomendação da melhor formulação de filme, indica-se composições contendo benzoato de cálcio apenas no 1º estágio devido ao melhor aspecto visual do filme produzido, e ao baixo risco de gelificação local induzido por esse produto, de grau de ionização mais baixa que o CaCl_2 . Selecionaram-se os filmes 1G, 1J, 2D e 2E por terem

apresentado adequadas características físicas e aproximadamente a mesma % de Ca^{++} no 1º estágio (de 0,42 a 0,47%). Para confirmar algumas tendências anômalas encontradas com os Filmes 3 (apenas CaCl_2 na pré-reticulação), além de ensaios com 3% de CaCl_2 no banho do 2º estágio, intensificou-se o tratamento usando uma solução de 7% de CaCl_2 .

Os valores do conteúdo de umidade e solubilidade em água estão apresentados na Tabela 4.18.

Tabela 4.18. Conteúdo de umidade e solubilidade em água de filmes pré-reticulados com benzoato e/ou cloreto de cálcio e 0,7% glicerol (1º estágio), tratados com solução 3% e 7% de CaCl_2 e 5,0% de glicerol (2º estágio).

Filme	% Ca^{++} (1º estágio)	% Ca^{++} (2º estágio)	Umidade, W (g / 100 g _{filme})	Solubilidade, S (%)
1G ₃	0,42	1,08	13,7 ± 0,33 ^a	19,5 ± 0,55 ^a
1G ₇	0,42	2,52	16,5 ± 0,73 ^b	28,1 ± 0,17 ^b
2D ₃	0,43	1,08	16,8 ± 0,36 ^b	18,4 ± 1,58 ^a
2D ₇	0,43	2,52	17,2 ± 0,27 ^b	24,4 ± 3,82 ^c
1J ₃	0,46	1,08	13,7 ± 0,31 ^a	19,5 ± 0,88 ^a
1J ₇	0,46	2,52	17,2 ± 0,36 ^b	22,7 ± 1,04 ^{c,d}
2E ₃	0,47	1,08	15,4 ± 0,18 ^c	16,8 ± 0,04 ^a
2E ₇	0,47	2,52	17,5 ± 0,18 ^b	21,2 ± 0,49 ^{a,d}

Média ± desvio padrão (3 repetições)

Nota: letras diferentes, na mesma coluna, representam diferenças significativas ($p > 0,05$) entre as médias obtidas através do teste de Tukey.

Pelos resultados apresentados na Tabela 4.18, nota-se que o conteúdo de umidade sofre pequena variação com o aumento de íons cálcio na solução reticuladora, sendo este conteúdo maior nos filmes tratados com 7% de CaCl_2 no 2º estágio. Já, a solubilidade em água dos filmes aumenta consideravelmente com o aumento de Ca^{++} na solução reticuladora do 2º estágio. Confirmou-se assim a tendência encontrada com os Filmes 3 (ver Tabela 4.12), mesmo em sistemas que contém benzoato no 1º estágio.

A Tabela 4.19 apresenta o grau de intumescimento obtido para os filmes selecionados.

Tabela 4.19. Grau de intumescimento de filmes pré-reticulados com benzoato e/ou cloreto de cálcio e 0,7% glicerol (1º estágio), tratados com solução 3% e 7% de CaCl_2 e 5,0% de glicerol (2º estágio).

Filme	% Ca^{++} (1º estágio)	% Ca^{++} (2º estágio)	GI
1G ₃	0,42	1,08	$0,50 \pm 0,027^a$
1G ₇	0,42	2,52	$0,38 \pm 0,039^b$
2D ₃	0,43	1,08	$0,49 \pm 0,042^a$
2D ₇	0,43	2,52	$0,37 \pm 0,029^b$
1J ₃	0,46	1,08	$0,52 \pm 0,037^a$
1J ₇	0,46	2,52	$0,37 \pm 0,021^b$
2E ₃	0,47	1,08	$0,48 \pm 0,032^a$
2E ₇	0,47	2,52	$0,32 \pm 0,018^b$

Média $\pm$ desvio padrão (3 repetições)

Nota: letras diferentes, na mesma coluna, representam diferenças significativas ($p > 0,05$) entre as médias obtidas através do teste de Tukey.

Todos os valores de GI são muito baixos. Ao contrário dos resultados obtidos com Filmes 3 (ver Tabela 4.13), o efeito do aumento da concentração de Ca^{++} na solução reticuladora sobre a diminuição do GI é considerável.

A Tabela 4.20 apresenta o resultado dos ensaios de resistência mecânica. A mesma tendência encontrada para Filmes 3 é válida para os filmes contendo benzoato, isto é, há um ligeiro aumento na tensão e na elongação na ruptura ao aumentar o conteúdo de Ca^{++} na solução reticuladora do 2º estágio.

Tabela 4.20. Tensão (TR) e elongação (E) na ruptura de filmes reticulados com 0,8% CaCl₂ e 0,7% glicerol (1º estágio), tratados com solução de 3 e 7% CaCl₂ e 5,0% glicerol (2º estágio).

Filme	% Ca ⁺⁺ (1º estágio)	% Ca ⁺⁺ (2º estágio)	Resistência Mecânica	
			Tensão (N/cm ²)	Elongação (%)
1G ₃	0,42	1,08	71,2 ± 2,0 ^a	0,71 ± 0,12 ^a
1G ₇	0,42	2,52	86,2 ± 5,1 ^{a,b}	1,57 ± 0,33 ^{a,b}
2D ₃	0,43	1,08	95,1 ± 2,3 ^{b,c}	1,58 ± 0,32 ^{a,c}
2D ₇	0,43	2,52	109,2 ± 8,9 ^c	3,30 ± 0,45 ^d
1J ₃	0,46	1,08	95,2 ± 3,8 ^b	2,09 ± 0,27 ^{b,c,d}
1J ₇	0,46	2,52	110,0 ± 9,9 ^c	3,10 ± 0,27 ^d
2E ₃	0,47	1,08	110,7 ± 3,7 ^c	2,66 ± 0,37 ^d
2E ₇	0,47	2,52	97,1 ± 8,8 ^b	2,70 ± 0,32 ^d

Média ± desvio padrão (8 repetições)

Nota: letras diferentes, na mesma coluna, representam diferenças significativas (p>0,05) entre as médias obtidas através do teste de Tukey.

A Tabela 4.21 compara valores de permeabilidade ao vapor de água. Infelizmente, devido a pouca confiabilidade do equipamento selador dos recipientes, apenas o resultado de dois filmes é apresentado.

Tabela 4.21. Permeabilidade ao vapor de água (PVA) de Filmes 1 e 2, reticulados com 3 % e 7% de CaCl₂.

Filme	% Ca ⁺⁺ (1º estágio)	% Ca ⁺⁺ (2º estágio)	Espessura (mm)	PVA [(g.mm/(m ² .dia.kPa)]
1G ₃	0,42	1,08	0,057 ± 0,004 ^a	4,28 ± 0,43 ^a
1G ₇	0,42	2,52	0,061 ± 0,004 ^a	4,79 ± 0,28 ^a
2E ₃	0,47	1,08	0,063 ± 0,004 ^a	4,42 ± 0,16 ^a
2E ₇	0,47	2,52	0,062 ± 0,002 ^a	5,34 ± 0,23 ^a

Média ± desvio padrão (3 repetições)

Nota: letras diferentes, na mesma coluna, representam diferenças significativas (p>0,05) entre as médias obtidas através do teste de Tukey.

Os resultados indicam que a reticulação com 7% de CaCl_2 no 2º estágio aumenta ligeiramente a permeabilidade ao vapor de água.

Conclui-se, portanto, a não ser pela drástica redução no intumescimento conforme valores apresentados na Tabela 4.19, não existe vantagem em aumentar o conteúdo de Ca^{++} na solução reticuladora do 2º estágio, pois a solubilidade aumenta consideravelmente.

4.6. CINÉTICA DE LIBERAÇÃO DO BENZOATO

Os ensaios de liberação do agente ativo, o íon benzoato, foram realizados com os Filmes 1G e 1K, isto é, filmes que receberam apenas benzoato de cálcio no 1º estágio de reticulação. Esses filmes foram reticulados com dois níveis de intensidade no 2º estágio: 30 minutos em banho em solução de 3 e de 7% CaCl_2 contendo também 5% de glicerol. A Tabela 4.22 reapresenta as formulações utilizadas e as novas denominações que esses filmes receberam.

Tabela 4.22. Formulações dos filmes ativos nos ensaios de liberação.

Filme	1º estágio			2º estágio		
	% Benzoato	% CaCl_2	% Glicerol	% Benzoato	% CaCl_2	% Glicerol
1G ₃	3,5	-	0,7	-	3	5
1G ₇	3,5	-	0,7	-	7	5
1K ₃	4,2	-	0,7	-	3	5
1K ₇	4,2	-	0,7	-	7	5

As amostras cortadas desses filmes (dimensões 4 x 4cm) foram submetidas aos ensaios de liberação em água a temperatura ambiente ($23 \pm 1^\circ\text{C}$), conforme descrito no Ítem 3.2.2.8. Os resultados obtidos foram enquadrados na forma de fração de massa liberada por tempo.

A massa total inicial passível de ser liberada no ensaio, M_∞ , foi calculada como a massa total após 1,5 horas de contato.

4.6.1. Filmes reticulados com 3% de cloreto de cálcio no 2º estágio

Na Figura 4.9, é mostrado o histórico de liberação de benzoato dos Filmes 1G₃ e 1K₃. As tabelas contendo dados de variação da massa de benzoato de cálcio durante um período de tempo de 10255s, são apresentadas no Anexo C.

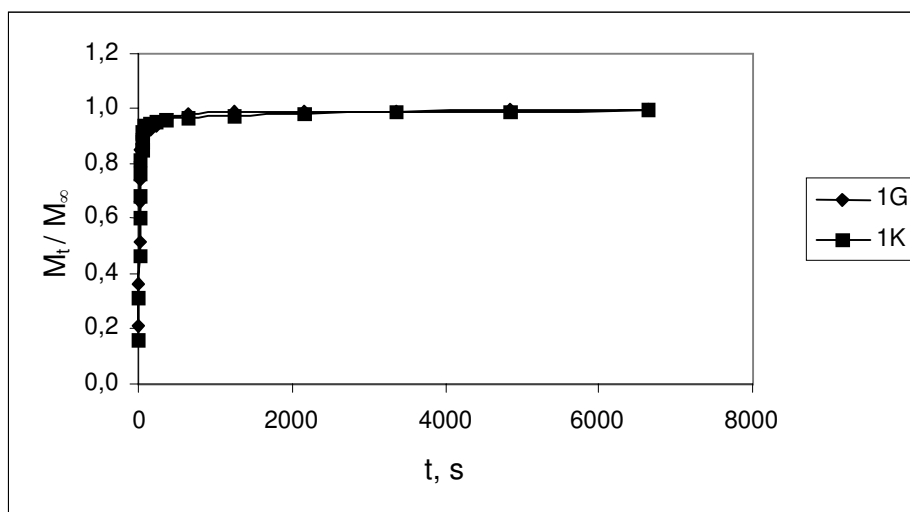


Figura 4.9. Fração de benzoato liberada de filmes reticulados com solução de 3% CaCl_2 no 2º estágio.

A curva de liberação segue uma cinética de 1ª ordem, apresentando uma taxa inicial extremamente alta. Analisando os resultados obtidos, verifica-se que 95% da massa é transferida nos primeiros 4 minutos, isto é, ainda durante o período de intumescimento, podendo concluir, portanto, que o filme produzido tem baixo controle de liberação.

As condições do ensaio, entretanto, foram extremamente adversas. Ao atuar como embalagem de alimentos, a difusão ocorre apenas por uma das faces (a liberação é 4 vezes mais lenta), pode haver uma resistência de contato entre o filme e o alimento e a concentração de benzoato na superfície não será zero, mas dependerá da capacidade de absorção por parte do alimento, e o filme, a não ser que esteja em contato com um alimento muito úmido, não estará intumescido pelo contato com água pura.

A Tabela 4.23 apresenta a espessura inicial e final do filme e a espessura média do filme, assim como a massa inicial de benzoato contida no filme, calculada pelo somatório da massa liberada em cada béquer.

Tabela 4.23. Massa inicial de benzoato de cálcio contida no filme (M_∞), espessuras inicial (L_i), final (L_f) e média (L_m) dos filmes utilizados nos ensaios de liberação.

Filme ativo	M_∞ , mg	L_i , mm	L_f , mm	L_m , mm
1G ₃	0,702	0,059	0,094	0,077
1K ₃	1,167	0,064	0,117	0,091

Inicialmente, levando em consideração o Modelo da Lei da Potência, foi avaliado o mecanismo envolvido no processo de difusão (CRANK, 1975) relacionando a perda de soluto no período inicial de liberação ($M_t/M_\infty < 0,60$) com o tempo através de uma exponencial simples (Equação [4.1]).

$$\frac{M_t}{M_\infty} = kt^n \quad [4.1]$$

A partir do coeficiente angular das retas obtidas plotando-se $\ln (M_t/M_\infty)$ versus $\ln (t)$, foi calculado o expoente difusional n , enquanto a constante difusional k foi calculada a partir da intersecção na ordenada. A Figura 4.10 apresenta as linearizações dos dados experimentais dos dois filmes.

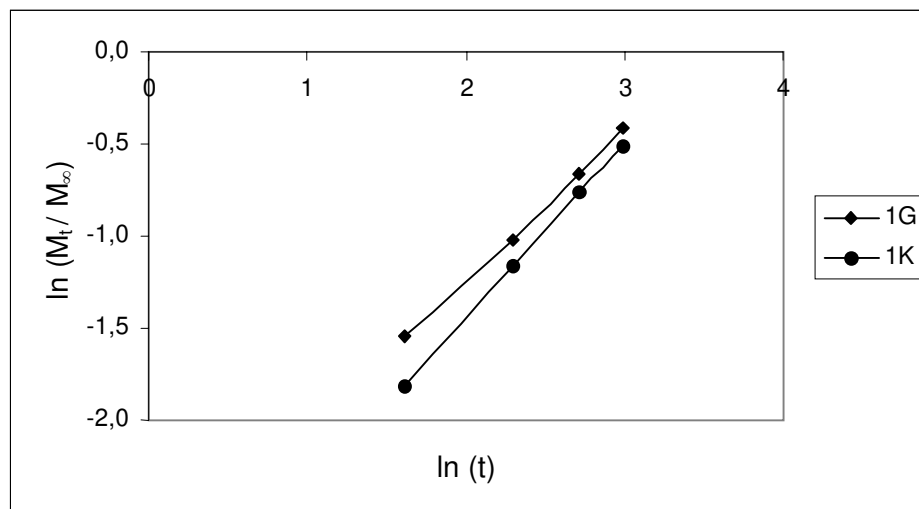


Figura 4.10. $\ln(M_t/M_\infty)$ vs $\ln(t)$ para filmes ativos reticulados com solução cloreto de cálcio 3%.

As linearizações para as duas situações estudadas alcançaram excelentes coeficientes de correlação, como mostrado na Tabela 4.24, onde estão também apresentados os valores encontrados do expoente difusional e da constante difusional.

Tabela 4.24. Expoente difusional (n), constante difusional (k) e coeficiente de correlação R^2 para os dois tipos de filmes ativos estudados.

Filme ativo	n	$k \cdot 10^2(s)$	R^2
1G ₃	0,8148	2,8659	0,9981
1K ₃	0,9504	3,3459	0,9998

Verifica-se que o parâmetro n encontra-se entre 0,5 e 1, sugerindo que o processo de transporte é uma difusão não-Fickiana. Esse processo no qual a taxa de difusão do solvente e a taxa de relaxação da estrutura do polímero são da mesma ordem de magnitude é conhecido como difusão anômala (MASSARO e ZHU, 1999). Resultados similares foram encontrados por Zactiti (2004). Naquela situação, Zactiti estudou filmes ativos de sorbato de potássio reticulados com solução de cloreto de cálcio.

Comportamento não-Fickiano foi também observado durante a liberação de drogas a partir de sistemas poliméricos. Brazel e Peppas (1999) estudaram os mecanismos de

transporte de droga em dois polímeros reticulados: poli-2-hidroxietil metacrilato-co-metil metacrilato (P(HEMA-co-MMA)) e álcool polivinílico (PVA). Eles constataram que a estrutura e a composição do polímero exerceram grande influência na difusão da droga. O principal fator que influenciou no perfil de liberação da droga foi relacionado ao comportamento de intumescimento do polímero, que inclui hidrofilicidade, grau de *crosslinking* e composição do polímero.

Zactiti (2004) constatou através de ensaios em regime permanente, usando uma célula de difusão, que após a saturação com a água, a transferência de sorbato de potássio em filmes de alginato de cálcio segue o modelo de difusão da lei de Fick.

A fim de comparar valores de difusividade obtidos nos ensaios de liberação até o equilíbrio com a difusividade efetiva de benzoato nos instantes iniciais de liberação, adequou-se os dados obtidos nos experimentos ao modelo da difusão em sólidos semi-infinitos (tempos curtos), Equação [2.7]. 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 $t^{1/2}$.

A Figura 4.11 apresenta as retas obtidas para os dois filmes estudados e na Tabela 4.25 são mostrados os parâmetros obtidos após ajuste linear dos pontos experimentais.

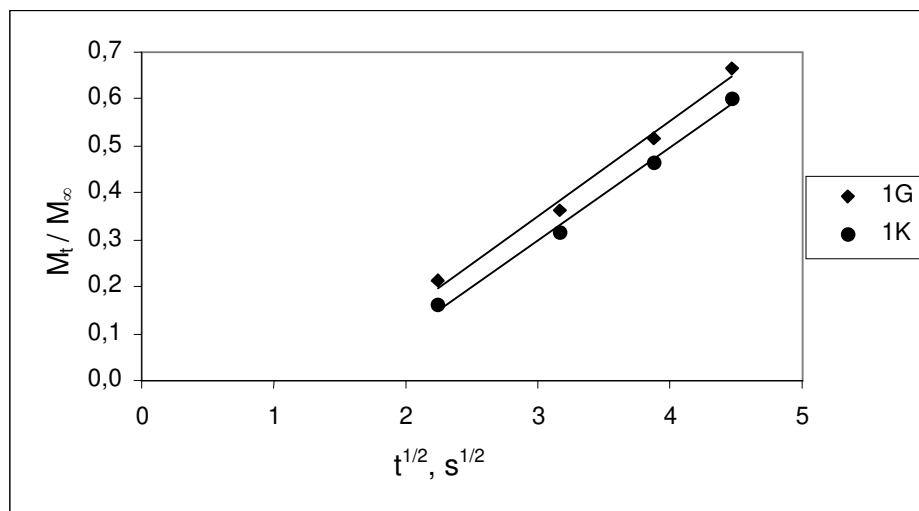


Figura 4.11. Ajuste ao Modelo de Sólidos Semi-infinitos (linha contínua) para filmes ativos reticulados com solução de 3% cloreto de cálcio.

Tabela 4.25. Coeficiente angular (a), coeficiente linear (b) e coeficiente de correlação (R^2) obtidos a partir dos ensaios em tempo curto realizados para os filmes ativos.

Filme ativo	a	b	R^2
1G ₃	0,2008	-0,2508	0,9893
1K ₃	0,1971	-0,2908	0,9938

A partir dos resultados apresentados, observa-se que o coeficiente de correlação obtido após o ajuste dos dados foi aceitável. Segundo o modelo (Equação 2.4), o coeficiente linear deveria ser igual a zero. Os valores encontrados indicam uma diferença no tempo inferior a 2 segundos. Como os ensaios foram realizados inicialmente em uma sequência de intervalos de tempo igual a 5 segundos, é aceitável que ocorra um desvio, justificado pela dificuldade de realização do experimento, que mantém uma camada úmida sobre o filme, na transferência do mesmo de um copo para o outro.

Através dos valores apresentados na Tabela 4.23 (coeficiente angular) e a espessura média do filme, calculou-se a difusividade do benzoato no filme. Os valores encontrados estão apresentados na Tabela 4.26.

Tabela 4.26. Espessura média dos filmes utilizados nos ensaios de liberação e coeficiente de difusão (D) do agente através do filme.

Filme ativo	L_m , mm	$D \cdot 10^{-7}$, cm ² /s
1G ₃	0,077	4,69
1K ₃	0,091	6,32

O valor da difusividade encontrado deve ser considerado com um parâmetro efetivo único de ajuste matemático que simplifica uma situação física extremamente complexa. Vários fenômenos estão ocorrendo simultaneamente. Um pequeno volume de benzoato é liberado em contra-difusão a um grande volume de água. A estrutura reticular do alginato de cálcio sofre relaxação e a espessura do filme aumenta, quase duplicando o percurso da difusão.

A difusividade calculada, portanto, é uma difusividade efetiva, a ser usada apenas para comparação com valores obtidos em situações semelhantes.

A ordem de grandeza encontrada para as difusividades de benzoato nos filmes de alginato é típica de valores registrados na literatura para biofilmes.

Os valores de difusividade obtidos indicam uma tendência de aumento, com o aumento da concentração de benzoato na solução filmogênica.

Os pontos experimentais obtidos também foram ajustados pela Equação [2.5], tendo-se o cuidado de usar como comprimento característico, a metade da espessura do filme, uma vez que nos ensaios a transferência de soluto ocorre pelas duas faces do filme. Esta equação é adaptada a Equação [2.5a].

Os dados experimentais ajustados a esta equação são apresentados nas Figuras 4.12 e 4.13.

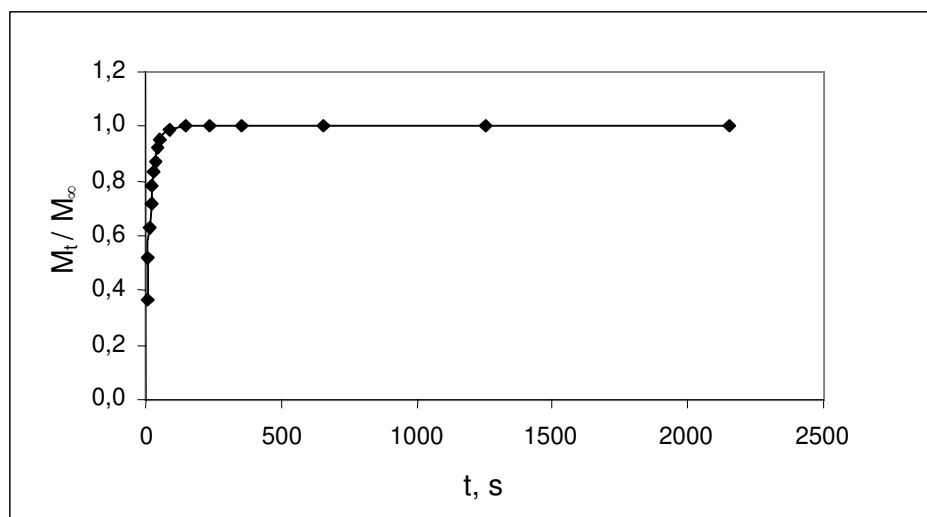


Figura 4.12. Fração de benzoato liberada do Filme Ativo 1G₃ em contato com água a 22°C.

A curva corresponde ao ajuste à solução em Série de Fourier .

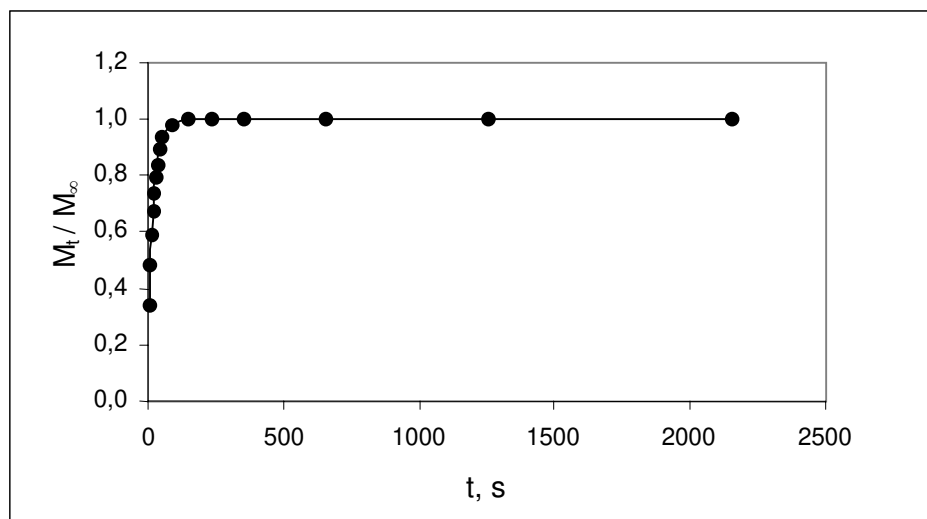


Figura 4.13. Fração de benzoato liberada do Filme Ativo 1K₃ em contato com água a 22°C.

A curva corresponde ao ajuste à solução em Série de Fourier .

Na Tabela 4.27, são apresentados os coeficientes de difusão obtidos a partir do ajuste. A espessura utilizada nos cálculos é a final, uma vez que a maior parte do tempo de difusão ocorre após a saturação do filme com água. Como já discutido com relação aos dados da Tabela 4.26, esse coeficiente deve ser considerado uma difusividade aparente.

Tabela 4.27. Coeficiente de difusão aparente(D) do benzoato através do filme nas duas condições de concentrações iniciais de benzoato.

Filme ativo	L_f , mm	$D \cdot 10^{-7}$, cm ² /s	R^2
1G ₃	0,094	4,23	0,9991
1K ₃	0,117	5,93	0,9996

Uma comparação entre os valores apresentados na Tabela 4.26 (difusividade nos instantes iniciais) e na Tabela 4.27 (difusividade média global) mostram que os valores das difusividades calculadas são muito próximos. É importante ressaltar, entretanto, que a espessura adotada e a precisão de sua medida afeta consideravelmente esses cálculos e um modelo numérico obteria valor com significado físico mais realista.

Os resultados de difusividades obtidos encontram-se na faixa esperada para biofilmes e indicam uma tendência de aumentar com o aumento do conteúdo de benzoato no filme, conforme já observado anteriormente na análise dos resultados por tempos curtos.

Os valores de difusividade encontrados são ligeiramente superiores às difusividades de sorbato de potássio em filmes de alginato de cálcio, conforme verificado por Zactiti (2004), apresentando, porém, a mesma ordem de magnitude. Han e Floros (1998) determinaram a difusividade de sorbato de potássio em filmes de polietileno e encontraram $1,83 \times 10^{-8} \text{ cm}^2/\text{s}$.

4.6.2. Filmes reticulados com 7% cloreto de cálcio no 2º estágio

Os resultados foram analisados da mesma forma que os dos filmes com 3% de CaCl_2 na solução reticuladora e revelaram um comportamento semelhante. Nesta secção faz-se uma comparação entre os resultados obtidos com as duas formulações. Os ensaios de liberação de benzoato de Filmes 1G₇ e 1K₇ foram realizados nas mesmas condições descritas no Item 4.3.5.1.

Nas Figuras 4.14 e 4.15, é comparado o histórico de liberação de benzoato de cálcio dos Filmes 1G com o 1K. As tabelas contendo dados de variação da massa de benzoato de cálcio durante um período de tempo de 10255s, são apresentadas no Anexo C.

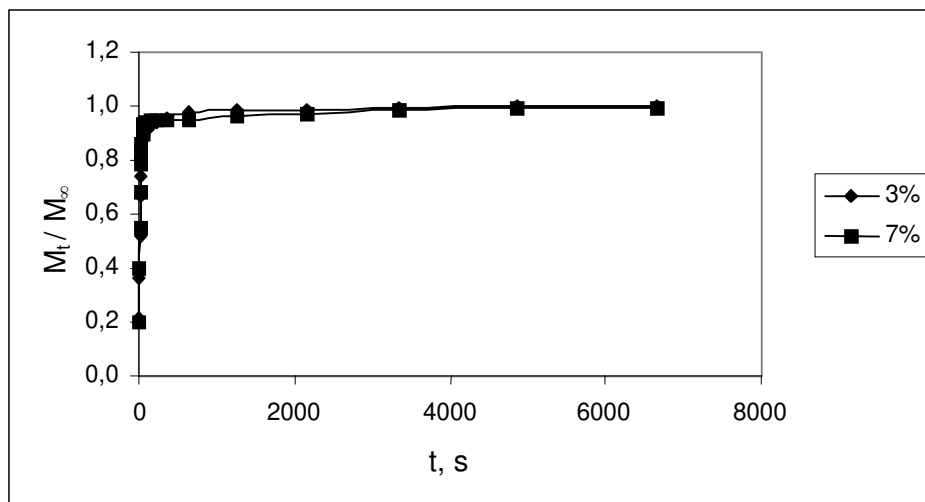


Figura 4.14. Fração de benzoato liberada dos filmes 1G, reticulados com solução 3 e de 7% de cloreto de cálcio .

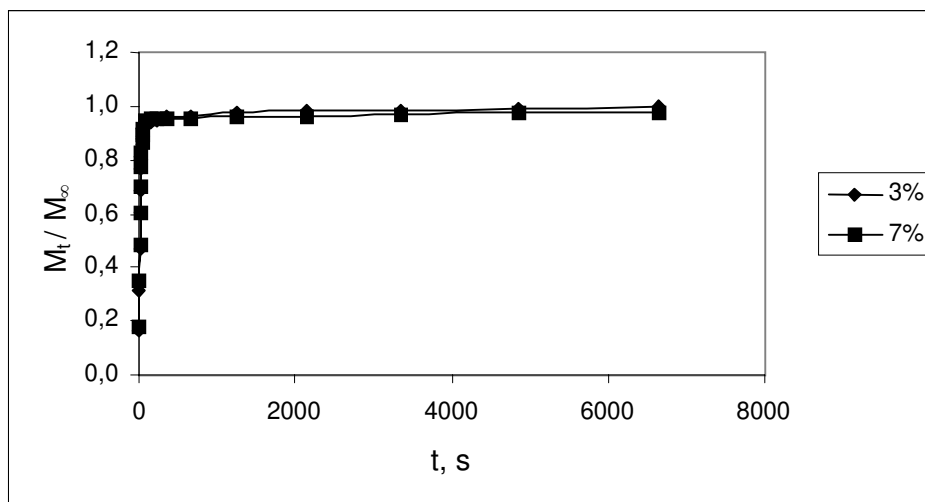


Figura 4.15. Fração de benzoato liberada dos filmes 1K reticulados com solução 3 e de 7% de cloreto de cálcio.

A Tabela 4.28 apresenta a espessura inicial e final dos filmes e a espessura média, assim como a massa inicial de benzoato contida no filme e liberada ao longo de todo o ensaio. Observa-se que de acordo com a formulação no 1º estágio, o Filme 1K não apenas é

mais rico em benzoato, como reteve maior fração de benzoato do que a proporção usada na formulação da solução do 1º estágio.

Tabela 4.28. Massa inicial de benzoato de cálcio contida no filme (M_{∞}), espessuras inicial (L_i), final (L_f) e média (L_m) dos filmes utilizados nos ensaios de liberação.

Filme ativo	M_{∞} , mg	L_i , mm	L_f , mm	L_m , mm
1G ₃	0,702	0,059	0,094	0,077
1G ₇	0,630	0,053	0,074	0,064
1K ₃	1,167	0,064	0,117	0,091
1K ₇	1,102	0,064	0,108	0,086

A Tabela 4.28 indica também que o tratamento com 7% de CaCl_2 disponibiliza uma quantidade ligeiramente menor de benzoato do que o de 3% de CaCl_2 .

A análise do comportamento de transporte do benzoato nos filmes tratados com 7% de CaCl_2 também indicou um comportamento não-fickiano e na Tabela 4.29 são apresentados os valores do expoente difusional e da constante difusional.

Tabela 4.29. Expoente difusional (n), constante difusional (k) e coeficiente de correlação R^2 para os quatro tipos de filmes ativos estudados.

Filme ativo	n	$k \cdot 10^2$, s	R^2
1G ₃	0,8148	2,8659	0,9981
1G ₇	0,9042	3,0361	0,9975
1K ₃	0,9504	3,3459	0,9998
1K ₇	0,8900	3,1414	0,9972

Os dados obtidos ao modelo de difusão em sólidos semi-infinitos (tempos curtos) foram ajustados usando os primeiros quatro pontos experimentais e as retas obtidas para as quatro situações estudadas são apresentadas nas Figuras 4.16 e 4.17.

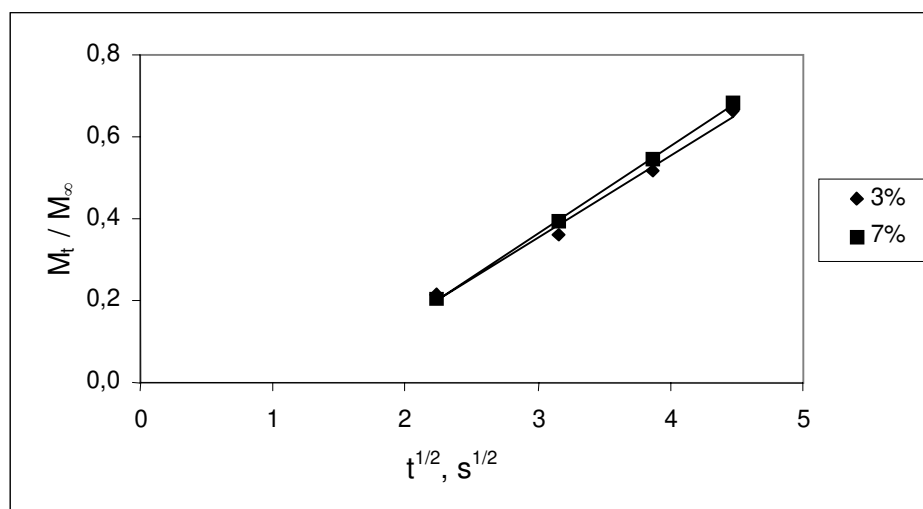


Figura 4.16. Ajuste ao Modelo de Sólidos Semi-infinitos para o filme ativo 1G reticulado com solução 3 e 7% de cloreto de cálcio.

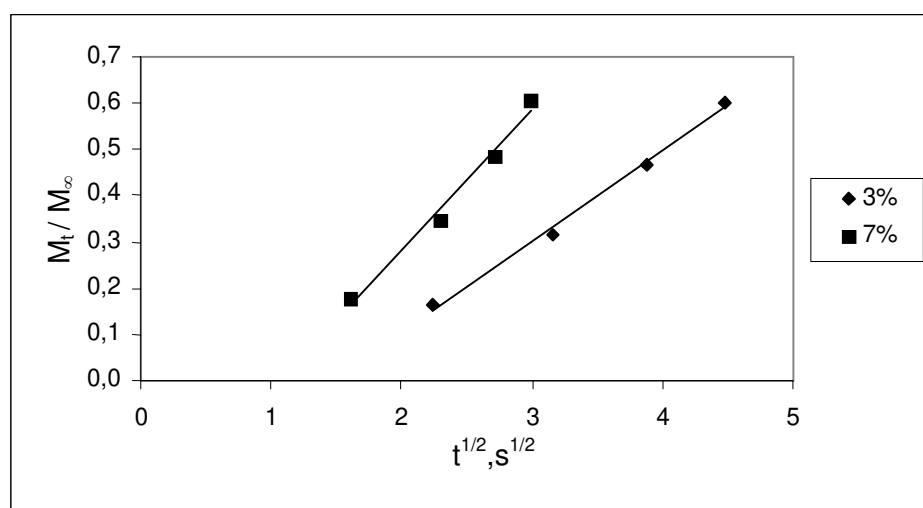


Figura 4.17. Ajuste ao Modelo de Sólidos Semi-infinitos para o filme ativo 1K reticulado com solução 3 e 7% de cloreto de cálcio.

Os parâmetros obtidos após ajuste linear dos pontos experimentais são mostrados na Tabela 4.30 que também inclui os dados correspondentes aos filmes 1G₃ e 1K₃.

Tabela 4.30. Coeficiente angular (a), coeficiente linear (b) e coeficiente de correlação (R^2) obtidos a partir dos ensaios em tempo curto realizados com os filmes ativos estudados.

Filme ativo	a	b	R^2
1G ₃	0,2008	-0,2508	0,9893
1G ₇	0,2090	-0,2639	0,9999
1K ₃	0,1971	-0,2908	0,9938
1K ₇	0,1916	-0,2539	0,9996

Através dos valores apresentados na Tabela 4.30 (coeficiente angular) e a espessura média do filme, calculou-se a difusividade aparente do benzoato no filme. Os valores encontrados estão apresentados na Tabela 4.31.

Tabela 4.31. Espessura média dos filmes utilizados nos ensaios de liberação e coeficiente de difusão aparente (D) do benzoato dos Filmes 1G₇ e 1K₇.

Filme ativo	L_m , mm	$D \cdot 10^{-7}$, cm ² /s
1G ₇	0,064	3,51
1K ₇	0,086	5,33

O aumento no valor de difusividade obtido com o Filme 1K₇ comparado com o 1G₇ confirma a tendência já encontrada nos Filmes reticulados com 3% de CaCl₂ e com várias outras correlações ao longo deste trabalho, de que o próprio benzoato atua como plastificante, e assim um aumento de sua concentração aumenta a mobilidade de todo o sistema.

Uma comparação entre os valores da difusividade calculados para tempos iniciais nos filmes reticulados com 7% de CaCl₂ (Tabela 4.31) com os de 3% de CaCl₂ (Tabela 4.26) confirma o maior grau de reticulação alcançado nos Filmes 1G₇ e 1K₇, pois neles a difusividade é prejudicada pela estrutura reticular mais rígida.

Esses resultados confirmam que o grau de embebição é um parâmetro mais confiável para mensurar o grau de reticulação (ver, por exemplo, os GIs decrescentes dos

Filmes 3) do que a solubilidade (nos Filmes 3 a ordem é inversa). A solubilidade em água é uma determinação que pode estar viciada pela própria condução da confecção dos filmes.

Complementando o estudo, foi feita a modelagem da difusão do benzoato usando a solução completa (Série de Fourier) da 2ª Lei de Fick. As Figuras 4.18 e 4.19 já antevêm um bom ajuste e os parâmetros estatísticos obtidos confirmam o modelo.

Os valores de difusividade obtidos são próximos ao modelo de tempos curtos e as mesmas conclusões e comparações já explicitadas podem ser conduzidas.

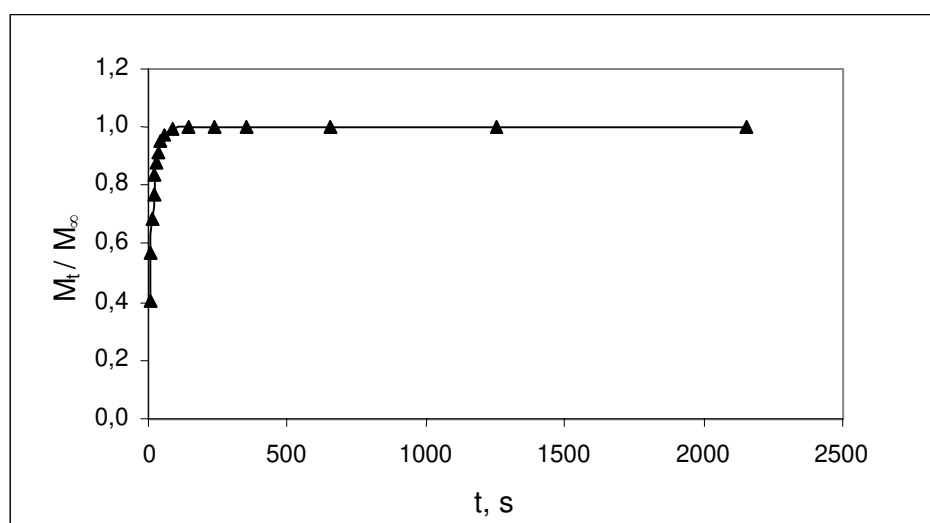


Figura 4.18. Fração de benzoato liberada do Filme Ativo 1G reticulado com cloreto de cálcio 7% em contato com água a 22°C. A curva corresponde ao ajuste à solução em Série de Fourier.

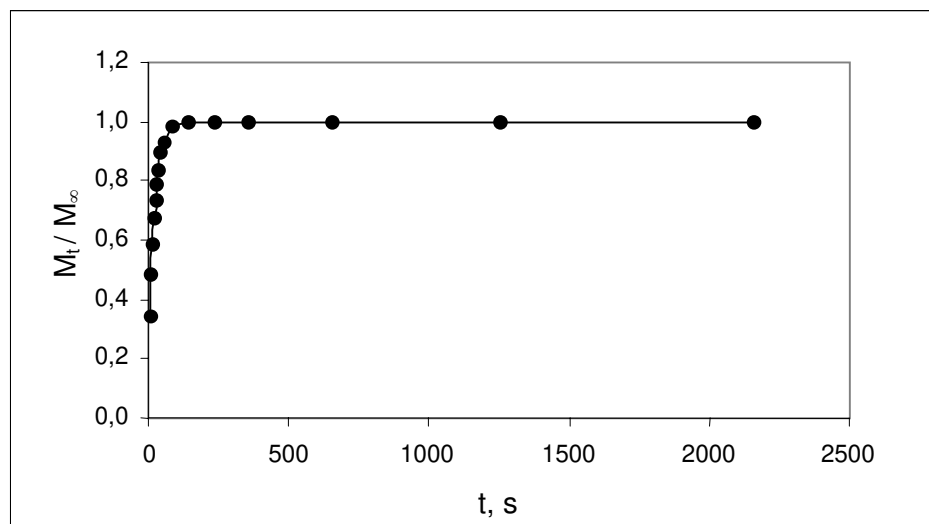


Figura 4.19. Fração de benzoato de cálcio liberada do Filme Ativo 1K reticulado com cloreto de cálcio 7% em contato com água a 22°C. A curva corresponde ao ajuste à solução em Série de Fourier.

Tabela 4.32. Coeficiente de difusão aparente (D) do benzoato através do filme nas duas condições de concentrações iniciais de benzoato.

Filme ativo	L_f , mm	$D \cdot 10^{-7}$, cm^2/s	R^2
1G ₇	0,074	3,21	0,9995
1K ₇	0,108	5,01	0,9996

CAPÍTULO 5

CONCLUSÕES

A metodologia desenvolvida neste trabalho de pesquisa permite confeccionar filmes de alginato de cálcio com ampla faixa de características funcionais, assim como o controle da confecção do mesmo.

Filmes homogêneos e de baixa solubilidade em água devem, necessariamente, ser manufaturados em duas etapas: uma pré-reticulação produz um filme solúvel em água (1º estágio) e, em seguida, faz-se o contato do filme formado com solução de Ca^{++} para complementar a reticulação e consolidar suas características funcionais.

Essa pesquisa de Dissertação de Mestrado permite concluir:

a) com relação ao processo de confecção de filmes

1. Quando uma mistura de CaCl_2 e benzoato são usados na pré-reticulação, é necessário o uso de maior concentração total de íons Ca^{++} para se obter o mesmo grau de reticulação.
2. O benzoato adicionado no 1º estágio tem ação plastificante e apresenta menor eficiência como agente reticulador, se comparado ao CaCl_2 .
3. Um maior grau de reticulação alcançado no 1º estágio melhora as propriedades do filme obtido. A solubilidade e o grau de intumescimento diminuem consideravelmente, independentemente da fonte do Ca^{++} , se cloreto ou benzoato.
4. O uso de benzoato de cálcio como fonte de Ca^{++} no 1º estágio permite a adição mais rápida de reticulante e com concentrações mais altas de cálcio e, conseqüentemente, alcançar maior grau de pré-reticulação.
5. O nível de agitação, o controle da uniformização da temperatura da solução filme-formadora e uma lenta adição do reticulante é essencial para a formação de um filme homogêneo de boa aparência.

6. Uma forma prática, simples e de fácil controle de conduzir a reticulação final é a imersão total do filme por 30 minutos em um banho contendo 3% de CaCl_2 e plastificante.
7. O aumento da concentração de cálcio de 3% a 7% na solução reticuladora do 2º estágio aumenta a solubilidade e a resistência mecânica (tração e alongação), e diminui o grau de intumescimento do filme. O aumento na permeabilidade ao vapor de água é discreto.

b) com relação a adição de benzoato de cálcio como agente anti-micótico

1. O benzoato de cálcio deve ser adicionado no 1º estágio, para evitar cristalização do mesmo sobre o filme, no 2º estágio.
2. A liberação do benzoato, quando o filme entra em contato com água, é muito rápida: 95% de sua massa é liberada nos primeiros 4 minutos.
3. A difusão do benzoato de cálcio em filmes de alginato apresenta características não-fickianas.
4. O ajuste dos dados experimentais de liberação de benzoato a soluções da 2ª Lei de Fick produz difusividades aparentes da ordem de 3 a $5 \cdot 10^{-7} \text{ cm}^2/\text{s}$.
5. A difusividade aparente aumenta com o aumento do conteúdo de benzoato no filme e diminui com o grau de reticulação.

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-alginate coating. *Food Technology*, v.17, p. 1437, 1963.
- ASTM. Tensile properties of thin plastic sheeting. Annual Book of ASTM Standards, American Society for Testing and Materials, Philadelphia, D 82, 1995a.
- ASTM. Standard test methods of water vapor transmission of materials. American Society for Testing and Materials, Philadelphia, E 96-95, 1995b.
- ASSIS, O. B. G., LEONI, A. M. Filmes comestíveis de quitosana. *Revista Biotecnologia Ciência e Desenvolvimento*, Ed.30, jan-jun 2003.
- AXELSSON, A., 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. *Journal of Pharmaceutical Science*, Washington, v. 55, n. 1, p. 81-89, 1966.
- BASTIOLLI, C. Global status of the production of biobased packaging materials. *Starch*, v. 53, p.351-355, 2001.
- BATISTA, J. A. *Desenvolvimento, caracterização e aplicações de biofilmes a base de pectina, gelatina e ácidos graxos em bananas e sementes de brócolos*. Campinas: Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, Dissertação (Mestrado), 137 p., 2004.

- BODMEIER, R., PAERATAKUL, O. Plasticizer uptake by aqueous colloidal polymer dispersions used for the coating of solid dosage forms. *International Journal of Pharmaceutics*, Amsterdam, v.152, p.17-26, 1997.
- BRAZEL, C. S., PEPPAS, N. A. Mechanisms of solute and drug transport in relaxing, swellable, hydrophilic glassy polymers. *Polymer*, v. 40, p. 3383-3398, 1999.
- BRODELIUS, P. Immobilization of cultural plant cells and protoplasts. *Cell Culture and Somatic Cell Genetics of Plants*, v. 1, p. 535-546, 1984.
- BRYCE, T. A., McKINNON, A. A., MORRIS, E. R., REES, D. A., THOM, D. Chain conformations in the sol-gel transitions for polysaccharide systems, and their characterization by spectroscopic methods. *Faraday Discuss. Chemical Society*, v.57, p. 221-229, 1974.
- CALLEGARIN, F.; GALLO, J-A Q; DEBEAUFORT, F.; VOILLEY, A. Lipids and biopackaging. *Journal of American Oil Chemistry Society*, Champaign, v. 74, n.10, p.1183-1192, 1997.
- CARULO, M. F. *Desenvolvimento e caracterização de biofilmes ativos contendo sorbato de potássio, feitos de alginato de cálcio e ácidos graxos*. Campinas: Faculdade de Engenharia Química, Universidade Estadual de Campinas, 120p. Tese de Mestrado, 2005.
- CARVALHO, R. A. *Elaboração e caracterização de filmes a base de gelatina modificada enzimática e quimicamente*. Campinas: Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, 227p. Tese de Doutorado, 2002.
- CHANDRA, R. e RUSTGI, R. Biodegradable polymers. *Progress in Polymer Science*, v.23, n.7, p.1273-1335, 1998.

- CHAVEZ, M. S., LUNA, J. A., GARROTE, R. L. Crosslinking kinetics of thermally preset alginate gels. *Journal of Food Science*, v. 59, n.1114, p. 1108-1110, 1994.
- CHERIAN, G. GENNADIOS, A.; WELLER, C.; CHINACHOTI, P. Thermomechanical behavior of wheat gluten films: effect of sucrose, glycerin and sorbitol. *Cereal Chemistry*, St. Paul, v. 72, n. 1, p. 1-6, 1995.
- CLEMENTI, F., CRUDELE, M. A., PARENTE, E., MANCINI, M., MORESI, M. Production and characterization of alginate by azotobacter vinelan, *J. Science Food Agr.*, v. 79, n. 4, p. 602-610, 1999.
- CRANK, J. *The Mathematics of Diffusion*, Oxford University Press, 2^aEd., 1975.
- CUQ, B., GONTARD, N., CUQ, J. L., GUILBERT, S. Selected functional properties of fish myofibrillar protein-based films affected by hydrophilic plasticizers. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, v. 45, n.3, p. 622-626, 1997.
- CUQ, B., GONTARD, N., GUILBERT, S. Edible films and coatings as active layers. In *Active Food Packaging*, M. Rooney (Ed.), p. 111-142, 1995.
- CUSSLER, E. L. *Diffusion Mass Transfer in Fluid Systems*. Cambridge University Press, 2^a Edição, 1997.
- DEBEAUFORT, F., QUEDAIZA-GALLO, J. A., VOILLEY, A., Edible films and coatings, tomorrow's packagings: A Review, *Critical Reviews in Food Science*, v.38, p. 299-313, 1998.
- DONHOWE, G. e FENNEMA, O. The effects of plasticizers on crystallinity, permeability, and mechanical properties of methylcellulose films. *Journal of Food Processing Preservation*, v.17, p.247-257, 1993.

- ERTESVÁG, H., VALLA, S. Biosynthesis and applications of alginates, *Polymer Degradation and Stability*, v. 59, p. 85-91, 1998.
- GALIETTA, G., DI GIOLA, L., GUILBERT, S. e CUQ, B. Mechanical and thermomechanical properties of films based on whey proteins as affected by plasticizer and crosslinking agents. *Journal of Dairy Science*, v. 81, p. 3123-3130, 1998.
- GENNADIOS, A., WELLER, C. L., TESTIN, R. F. Modification of physical and barrier properties of edible wheat gluten-based films. *Cereal Chemistry*, v. 60, n. 4, p. 426-429, 1993.
- GLICKSMAN, M., Red seaweed extracts, *Food Hydrocolloids*, Ed. M. Glicksman., CRC Press, Inc. Boca Raton, FL, v. 2, p.73, 1983.
- GONTARD, N., GUILBERT, S., CUQ, J. L. Water and glycerol as plasticizers affect mechanical and water vapor barrier property of an edible wheat gluten film. *Journal of Food Science*, v. 58, n.1, p. 206-211, 1993.
- GRANT, G. T., MORRIS, E. R., REES, D. A., SMITH, P. J. C., THOM, D. Biological interactions between polysaccharides and divalent cations: The egg-box model, *Febs Letters*, v. 32, p. 195-198, 1973.
- GUILBERT, S., CUQ, B., GONTARD, N. Recent innovations in edible and/or biodegradable packaging materials. *Food Additives and Contaminants*, London, v. 14, n. 6-7, p. 741-751, 1997.
- GUILBERT, S. Technology and application of edible protective films. In *Food Packaging and Preservation*. M. Mathlouthi (Ed), Elsevier Applied Science Publishers, Ltd, New York, p. 371-394, 1986.

- HAN, J. H. Antimicrobial food packaging. *Food Technology*, Chicago, v. 54, n. 1, p. 56-65, 2000.
- HAN, J. H., FLOROS, J. D. Simulating diffusion model and determining diffusivity of potassium sorbate through plastics to develop antimicrobial packaging films. *Journal of Food Science*, v. 63, p. 435-437, 1998.
- IKEDA, A., TAKEMURA, A., ONO, H. Preparation of low-molecular weight alginic acid by acid hydrolysis. *Carbohydrate Polymers*, v. 42, p. 421-425, 2000.
- IRISSIN-MANGATA, J., BAUDUIN, G., BOUEVIN, B., GONTARD, N. New plasticizers for wheat gluten films. *European Polymer Journal*, v.37, p.1533-1541, 2001.
- KADER, A. A., ZAGORY, D., KERBEL, E. L. Modified atmosphere packaging of fruits and vegetables. *CRC – Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, v. 28, n. 1, p. 1-30, 1989.
- KESTER, J. J., FENNEMA, O. R. Edible films and coatings: a review, *Food Technology*, v. 40, n. 12, p. 47-59, 1986.
- KING, A. H. Brown seaweed extracts (Alginates). *Food Hydrocolloids*, v. 2, p. 115-188, 1983.
- KING, C.J. Rates of moisture sorption and desorption in porous, dried foodstuffs. *Food Technology*, v.22, p.165, 1968.
- KROCHTA, J. M., MULDER-JOHNSTON, C. D. Edible and biodegradable polymer films: Challenges and opportunities. *Food Technology*, v. 51, p. 61-73, 1997.
- LABUZA, T. P. *Moisture sorption: practical aspects of isotherm measurement and use*. American Association of Cereal Chemists, St. Paul, MN, 1984.

- LABUZA, T. P., CONTRERAS, M. R. Prediction of moisture protection requirements for foods. *Cereal Foods World*, v.26, p.335-343, 1981.
- LAZARUS, C. R., WEST, R. L., OBLINGER, J. L., PALMER, A. Z. Evaluation of a calcium alginate coating and a protective plastic wrapping for the control of lamb carcass shrinkage. *Journal of Food Science*, v. 41, p. 639-641, 1976.
- LUCAS, E. F., SOARES, B. G., MONTEIRO, E. *Caracterização de Polímeros - determinação de peso molecular e análise térmica*. Editora e-papers, Rio de Janeiro-RJ, 2001.
- MANCINI, M., MORESI, M. e SAPPINO, F. Rheological behaviour of aqueous dispersions of algal sodium alginates. *Journal of Food Engineering*, v. 28, p.283-295, 1996.
- MARTIN-POLO, M., MAUGUIN, C., VOILLEY, A. Hydrophobic films and their efficiency against moisture transfer. *Journal of Agricultural Chemistry*, v. 40, p. 407-412, 1992.
- MASARO, L., ZHU, X. X. Physical models of diffusion for polymer solutions, gels and solids. *Program Polymer Science*, v. 24, p. 731-775, 1999.
- McHUGH, T. H., KROCHTA, J. M. Permeability properties of edible films, in *Edible Coatings to Improve Food Quality*. Lancaster, Eds. J.M. Krochta, E.A. Balwin e M.O. Nisperos-Carriedo, Technomic Publishing Company, Ch. 7, p. 139-187, 1994.
- MOE, S. T., DRAGET, K. I., SKJAK-BRAEK, G., SMIDSRØD, O. Alginates. In A. M. Stephen (Ed.), *Food polysaccharides and their applications*, New York: Marcel Dekker, p. 245-286. 1995.
- OLIVEIRA, L. M. Filmes Plásticos incorporados de agentes antimicrobianos, *Informativo do CETEA*, www.cetea.ital.org.br, v. 1, n.2, 2003.

- ORHAN, Y., BÜYÜKGÜNGÖR, H. Enhancement of biodegradability of disposable polyethylene in controlled biological soil. *International Biodeterioration & Biodegradation*, v. 45, p. 49-55, 2000.
- PARK, H. J., CHINNAN, M. S. Gas and water barrier properties of edible films from protein and cellulosic materials. *Journal of Food Engineering*, v. 25, p. 497-507, 1995.
- PARK, J. W., TESTIN, R. F., PARK, H. J., VERGANO, P. J., WELLER, C. L., Fatty acid concentration effect on tensile strength, elongation, and water vapor permeability of laminated edible films. *Journal of Food Science*, Chicago, v. 59, n. 4, p. 916-919, 1994.
- PARRIS, N., COFFIN, D. R., JOUBRAN, R. F., PESSEN, H. Composition factors affecting the water vapor permeability and tensile properties of hydrophilic films. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, v. 43, p. 1432-1435, 1995.
- PAVLATH, A. E., VOISIN, A., ROBERTSON, G. H. Pectin-based biodegradable water insoluble films. *Macromolecular Symposium*, 140, p. 107-113, 1999.
- PETERSEN, K., NIELSEN, P. V., BERTELSEN, G., LAWOTHER, M., OLSEN, M. B., NILSSON, N. H., MORTENSEN, G. Potential of biobased materials for food packaging. *Trends in Food Science & Technology*, v. 10, p. 52-68, 1999.
- POMMET, M.; REDL, A.; MOREL, M-H; GUILBERT, S. Study of wheat plasticization with fatty acids. *Polymer*, v.44, p.115-122, 2003.
- RESMUÑAN-LÓPEZ, C., BODMEIER, R. Mechanical, water uptake and permeability properties of crosslinked chitosan glutamate and alginate films. *Journal of Controlled Release*, v. 44, p. 215-225, 1997.

- RHIM, J. W. Physical and mechanical properties of water resistant sodium alginate films. *Lebensmittel.-Wiss. U.-Techonology*, v. 37, p. 323-330, 2003.
- ROBERTSON, G. L. Optical and mechanical properties of thermoplastic polymers, in *Food Packaging: Principles and Prattice*, New York, Marcel Dekker, p. 63-107, 1993.
- SALWIN, H e SLAWSON, V. Moisture transfer in combinations of dehydrated foods. *Food Technology*, v.13, p.715, 1959.
- SCOTT, G. “Green” polymers. *Polymer Degradation and Stability*, v. 68, p. 1-7, 2000.
- SMIDSRØD, O. Molecular basis for some physical properties of alginates in the gel state. *Faraday Discuss. Chemical Society*, v. 57, p. 263-274, 1974.
- SUPPAKUL, P., MILTZ, J., SONNEVELD, K., BIGGER, S. W., Active packaging technologies with emphasis on antimicrobial packaging and its applications, *J. Food Science*, v. 68, n.2, 2003.
- TFOUNI, S. A. V. e TOLEDO, M. C. de F. Conservadores ácido benzóico e ácido sórbico – uma revisão. *Boletim SBCTA*, v.35, n.1/2, p.41-53, jan-dez 2001.
- THARANATHAN, R. N., Biodegradable films and composite coatings: past, present and future, *Trends in Food Science & Technology*, v. 14, p. 71-78, 2003.
- TORRES, J. A., KAREL, M. Microbial stabilization of intermediate food surfaces. III. Effects of surface preservative concentration and surface pH control on microbial stability of an intermediate moisture cheese analog. *Journal of Food Processing and Preservation*, v. 9, p. 107, 1985.
- WILLIAMS, S. K., OBLINGER, J. L., WEST, R. L. Evaluation of a calcium alginate film for use on beef cuts. *Journal of Food Science*, v. 43, p. 292-296, 1978.

- YANG, L., PAULSON, A. T., Mechanical and water barrier properties of edible gellan films. *Food Research International*, v.33, p.563-570, 2000a.
- YANG, L., PAULSON, A. T., Effects of lipids on mechanical and moisture barrier properties of edible gellan film. *Food Research International*, v.33, p.571-578, 2000b.
- ZACTITI, E. M., KIECKBUSCH, T. G. *Processo de produção de filmes plásticos ativos biodegradáveis de alginato de cálcio de baixa solubilidade*. Pedido de Privilégio de Patente. INPI, Prot. 01850064015 - 12/2005.
- 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 de Doutorado, 2004.
- ZACTITI, E. M., *Determinação da difusividade de agentes antimicrobianos em recobrimentos e filmes comestíveis ativos de alginato de cálcio*, Campinas: Faculdade de Engenharia Química, Universidade Estadual de Campinas, Bolsa de Doutorado, Relatório, FAPESP, 2003.

ANEXOS

ANEXO A

CURVA DE CALIBRAÇÃO PARA O BENZOATO DE CÁLCIO

A concentração de benzoato de cálcio foi determinada comparando-se os resultados obtidos nos ensaios de liberação com uma curva de calibração que relaciona absorbância de benzoato de cálcio a 225 nm. A Tabela A.1 apresenta os valores de absorbância encontrados.

Tabela A.1. Valores de absorbância de benzoato de cálcio em água, 225 nm.

Padrão	Benzoato de cálcio (mg / L)	Abs <225 nm>	Erro (%)
1	0,05	-0,0063	-146,64
2	0,5	0,0699	-57,69
3	1,0	0,0865	-31,59
4	2,5	0,1606	-7,87
5	5,0	0,3185	-7,10
6	7,0	0,4456	-7,05
7	10,0	0,6102	-3,03
8	15,0	0,9129	-2,77
9	25,0	1,6674	-11,29
10	50,0	2,8251	4,72

Na Figura A.1. é apresentada a curva de calibração obtida.

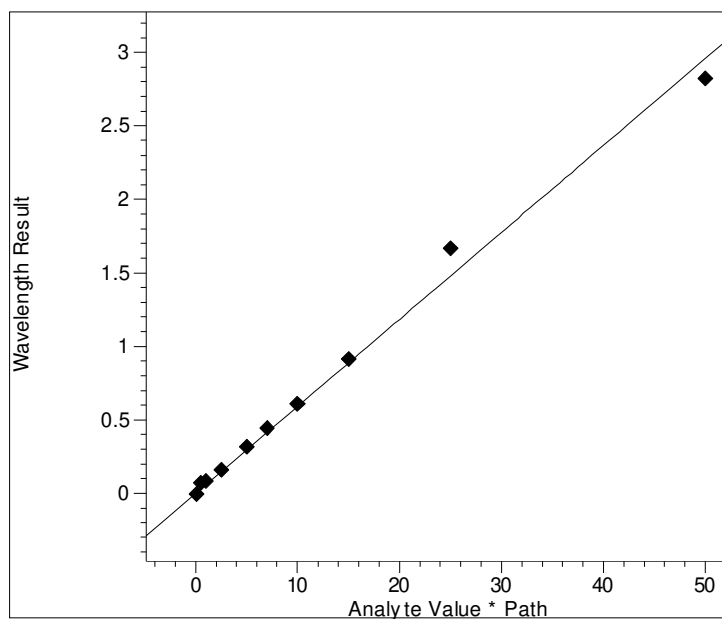


Figura A.1. Curva de calibração para o benzoato de cálcio: concentrações variando de 0,05 a 50,0 mg/L.

ANEXO B

DADOS DE INTUMESCIMENTO

Os ensaios de intumescimento foram realizados utilizando-se água pura e foi avaliado o grau de intumescimento dos filmes tratados com solução de cálcio 3 e 7%. A variação da massa e o grau de intumescimento são apresentados nas Tabelas B.1. a B.7

Tabela B.1. Variação da massa do filme durante os ensaios de intumescimento em filmes com contato em tecido ou esponja umidecidas.

tempo min	Massa do filme, g		
	tecido – 2 min	tecido – 4 min	esponja – 2 min
0	0,0588	0,0694	0,0723
0,5	0,1247	0,1200	0,1840
1,5	0,1676	0,1536	0,2435
3	0,1825	0,1745	0,2652
5	0,1882	0,1823	0,2737
7	0,1896	0,1832	0,2781
9	0,1921	0,1852	0,2816
11	0,1928	0,1865	0,2835
16	0,1926	0,1874	0,2884
26	0,1943	0,1887	0,2920
36	0,1953	0,1872	0,2932

Tabela B. 2. Variação da massa do filme durante os ensaios de intumescimento em filmes com contato em tecido + esponja umidecidas.

tempo min	Massa do filme, g			
	4 min	6 min	8 min	10 min
0	0,0602	0,0583	0,0583	0,0542
0,5	0,1804	0,1271	0,1123	0,1025
1,5	0,2140	0,1577	0,1500	0,1177
3	0,2262	0,1688	0,1588	0,1281
5	0,2286	0,1708	0,1623	0,1340
7	0,2313	0,1725	0,1635	0,1363
9	0,2355	0,1733	0,1645	0,1388
11	0,2360	0,1748	0,1677	0,1400
16	0,2368	0,1753	0,1678	0,1411
26	0,2372	0,1758	0,1679	0,1417
36	0,2378	0,1760	0,1679	0,1420

Tabela B. 3. Variação da massa do filme durante os ensaios de intumescimento em filmes com contato tecido + esponja umidecidas, mantidos em geladeira antes da secagem em estufa.

tempo min	Massa do filme, g	
	4 min (gelad.)	10 min (gelad.)
0	0,0543	0,0478
0,5	0,1371	0,0809
1,5	0,1671	0,0942
3	0,1809	0,0996
5	0,1872	0,1036
7	0,1879	0,1062
9	0,1879	0,1081
11	0,1902	0,1087
16	0,1941	0,1094
26	0,1942	0,1108
36	0,1942	0,1111

Tabela B. 4. Variação da massa do filme durante os ensaios de intumescimento em recobrimento do filme usando rolo de pintura.

tempo min	Massa do filme, g					
	5 mL	10 mL	15 mL	20 mL	25 mL	30 mL
0	0,0660	0,0476	0,0698	0,0657	0,0535	0,0589
0,5	0,1905	0,0844	0,1053	0,0899	0,0760	0,0888
1,5	0,2609	0,0922	0,1190	0,1007	0,0805	0,0962
3	0,2938	0,0945	0,1230	0,1033	0,0847	0,0986
5	0,3142	0,0952	0,1248	0,1048	0,0847	0,0986
7	0,3368	0,0952	0,1261	0,1057	0,0850	0,0984
9	0,3446	0,0960	0,1226	0,1060	0,0852	0,0995
11	0,3500	0,0961	0,1216	0,1060	0,0878	0,0991
16	0,3680	0,0978	0,1245	0,1061	0,0847	0,0996
26	0,3883	0,0976	0,1237	0,1061	0,0843	0,1003
36	0,3965	0,0971	0,0698	0,1061	0,0837	0,1003

Tabela B. 5. Variação da massa do filme durante os ensaios de intumescimento em recobrimento do filme usando pincel de pintura.

tempo min	Massa do filme, g					
	5 mL	10 mL	15 mL	20 mL	25 mL	30 mL
0	0,0630	0,0637	0,0712	0,0645	0,0642	0,0587
0,5	0,1326	0,0997	0,1058	0,0882	0,0910	0,0851
1,5	0,1599	0,1117	0,1173	0,0975	0,100	0,0935
3	0,1865	0,1196	0,1214	0,1003	0,1039	0,0949
5	0,2023	0,1224	0,1232	0,1029	0,1059	0,0952
7	0,2099	0,1241	0,1237	0,1041	0,1068	0,0956
9	0,2196	0,1243	0,1239	0,1053	0,1071	0,0965
11	0,2250	0,1222	0,1240	0,1054	0,1075	0,0975
16	0,2265	0,1231	0,1240	0,1056	0,1089	0,0984
26	0,2271	0,1250	0,1253	0,1075	0,1090	0,0986
36	0,2275	0,1233	0,1253	0,1075	0,1077	0,0990

Tabela B. 6. Variação da massa do filme durante os ensaios de intumescimento em recobrimento do filme usando pincel de pintura (30 mL) variando o conteúdo de glicerol.

tempo min	Massa do filme, g				
	1%	2%	3%	4%	5%
0	0,0533	0,0527	0,0583	0,0536	0,0527
0,5	0,0744	0,0795	0,0795	0,0802	0,0786
1,5	0,0814	0,0809	0,0882	0,0836	0,0832
3	0,0840	0,0860	0,0891	0,0842	0,0860
5	0,0838	0,0837	0,0933	0,0866	0,0851
7	0,0832	0,0801	0,0929	0,0843	0,0861
9	0,0846	0,0847	0,0936	0,0869	0,0855
11	0,0847	0,0841	0,0936	0,0865	0,0865
16	0,0878	0,0851	0,0945	0,0886	0,0864
26	0,0881	0,0866	0,0997	0,0887	0,0881
36	0,0875	0,0861	0,0972	0,0889	0,0881

Tabela B. 7. Variação da massa do filme durante os ensaios de intumescimento em contato por imersão do filme em 50 mL de solução.

tempo min	Massa do filme, g							
	cd	t	cd	t	cd	t	cd	t
	4 min	4 min	8 min	8 min	12 min	12 min	16 min	16 min
0	0,0556	0,0536	0,0538	0,0506	0,0563	0,0538	0,0535	0,0589
0,5	0,0844	0,0833	0,0814	0,0798	0,0835	0,0803	0,0846	0,0841
1,5	0,0958	0,0878	0,089	0,0838	0,0952	0,0857	0,0930	0,0928
3	0,0983	0,096	0,0936	0,0883	0,0977	0,0871	0,0949	0,0928
5	0,1003	0,0983	0,0953	0,0905	0,0995	0,0903	0,0970	0,0944
7	0,1002	0,0981	0,0953	0,0906	0,1005	0,0906	0,0969	0,0949
9	0,1009	0,1004	0,0964	0,0904	0,1016	0,0908	0,0967	0,0950
11	0,1009	0,1004	0,0965	0,0905	0,1016	0,0909	0,0963	0,0950
16	0,1007	0,1010	0,0963	0,0905	0,1017	0,0920	0,0969	0,0966
26	0,1009	0,1010	0,0963	0,0905	0,1017	0,0920	0,0969	0,0976
36	0,1003	0,1003	0,0964	0,0905	0,1017	0,092	0,0969	0,0976

Nota: cd – cada lado ; t – total.

ANEXO C

DADOS DE LIBERAÇÃO

O histórico de liberação de benzoato de cálcio dos Filmes 1G e 1K reticulados com solução de 3 e de 7% CaCl_2 durante um período de 10255s, é apresentado nas Tabelas C.1 a C.4.

Tabela C.1. Variação de massa de benzoato durante um período de tempo de 10255s:
Filme 1G₃.

Tempo total, s	Massa total, mg	M_t / M_∞
5	0,15048	0,21451
10	0,25314	0,36086
15	0,36232	0,51649
20	0,46599	0,66427
25	0,52040	0,74184
30	0,56699	0,80825
35	0,59698	0,85101
40	0,61224	0,87276
45	0,62464	0,89043
55	0,63687	0,90788
85	0,64079	0,91346
145	0,64876	0,92483
235	0,66024	0,94119
355	0,67179	0,95765
655	0,68655	0,97869
1255	0,69208	0,98658
2155	0,69284	0,98766
3355	0,69565	0,99167
4855	0,69980	0,99759
6655	0,70029	0,99828
10255	0,70150	1,00000

Tabela C.2. Variação de massa de benzoato durante um período de tempo de 10255s:

Filme 1G₇.

Tempo total, s	Massa total, mg	M_t / M_∞
5	0,12865	0,20426
10	0,25044	0,39764
15	0,34479	0,54745
20	0,43123	0,68469
25	0,49759	0,79005
30	0,52514	0,83379
35	0,54476	0,86494
40	0,56525	0,89748
45	0,57851	0,91853
55	0,59168	0,93943
85	0,59450	0,94391
145	0,59678	0,94754
235	0,59727	0,94831
355	0,59896	0,95099
655	0,59996	0,95258
1255	0,60990	0,96837
2155	0,61539	0,97708
3355	0,62196	0,98751
4855	0,62718	0,99581
6655	0,62862	0,99809
10255	0,62982	1,00000

Tabela C.3. Variação de massa de benzoato durante um período de tempo de 10255s:
Filme 1K₃.

Tempo total, s	Massa total, mg	M_t / M_∞
5	0,18961	0,16251
10	0,36654	0,31416
15	0,54550	0,46754
20	0,70355	0,60299
25	0,80252	0,68782
30	0,89409	0,76630
35	0,95092	0,81501
40	0,99708	0,85458
45	1,02846	0,88147
55	1,06801	0,91536
85	1,09454	0,93811
145	1,10088	0,94354
235	1,10967	0,95107
355	1,11971	0,95968
655	1,12651	0,96551
1255	1,13747	0,97490
2155	1,14591	0,98213
3355	1,15184	0,98722
4855	1,15856	0,99297
6655	1,16469	0,99823
10255	1,16676	1,00000

Tabela C.4. Variação de massa de benzoato durante um período de tempo de 10255s:

Filme 1K₇.

Tempo total, s	Massa total, mg	M_t / M_∞
5	0,19820	0,17992
10	0,38838	0,35257
15	0,54238	0,49237
20	0,67702	0,61460
25	0,78164	0,70957
30	0,86296	0,78339
35	0,92619	0,84079
40	0,96728	0,87809
45	1,00083	0,90855
55	1,02768	0,93292
85	1,05652	0,95910
145	1,06365	0,96557
235	1,06366	0,96558
355	1,06541	0,96718
655	1,06677	0,96841
1255	1,07034	0,97165
2155	1,07695	0,97765
3355	1,08025	0,98065
4855	1,08713	0,98689
6655	1,09244	0,99171
10255	1,10157	1,00000