



AVALIAÇÃO DAS PROPRIEDADES CONFERIDAS PELO RECOBRIMENTO DE ALIMENTOS COM FILMES DE QUITOSANA ADITIVADOS COM LIMONENO OU POLI(LIMONENO)

Palavras-Chave: BIOFILMES, QUITOSANA, POLI(LIMONENO)

Autores(as):

Gabriel Scaramelli Sousa Pavanatti, FEQ – UNICAMP

Sayeny de Ávila Gonçalves, FEQ - UNICAMP

Prof. Dr. Roniérik Pioli Vieira (orientador), FEQ - UNICAMP

INTRODUÇÃO:

A busca por embalagens/recobrimentos biodegradáveis em alimentos é um dos desafios atuais da ciência. Revestimentos comestíveis são finas membranas aplicadas às superfícies dos alimentos a fim de prolongar seu tempo de prateleira (AZIZ et al., 2022). Dentre algumas opções de materiais para sua produção, destaca-se a quitosana.

A quitosana é um polissacarídeo de origem natural bastante conhecido, obtido a partir da desacetilação da quitina, presente no exoesqueleto de crustáceos. Filmes de quitosana pura já são estudados há algum tempo, graças a sua biocompatibilidade e não toxicidade (OLIVERA et al., 2016). Alguns métodos de produção destes filmes já são dominados, como o *dip coating*, visto que o material possui propriedades antimicrobianas e formadoras de filmes (HE et al., 2021), interessantes para a conservação alimentar.

O limoneno é uma das moléculas do óleo essencial de cítricos. Sua aplicação já é corriqueira na indústria farmacêutica, graças às suas próprias propriedades antioxidantes (BACANLI; BAŞARAN; BAŞARAN, 2015) e antimicrobianas. Apesar de tais características promissoras, o uso do limoneno em filmes ativos é limitado, devido a sua massa molecular baixa, a alta volatilidade e a baixa estabilidade. Como ele se degrada muito facilmente com o aquecimento e/ou com a luz, é possível que, durante o processamento, uma parte do óleo se perca ou até que, mesmo após sua incorporação, as propriedades bioativas diminuam com o tempo (ANTOSIK et al., 2017). A obtenção de oligômeros estáveis derivados do limoneno seria uma possível alternativa para superar os desafios na sua utilização.

Assim, o objetivo deste trabalho foi investigar o efeito do recobrimento de morangos com filmes de quitosana aditivados com limoneno e poli(limoneno). Para se comprovar a viabilidade do biopolímero como aditivo em filmes de quitosana no recobrimento de frutas, utilizaram-se morangos como modelos de estudo. Esta fruta, apesar de ser bastante consumida ao redor do mundo e rica em antocianinas, aminoácidos e vitaminas (HAN et al., 2004), possui uma vida pós-colheita curtíssima devido ao ataque de fungos e insetos (PAGLIARULO et al., 2016). Diante disso, avaliaram-se a presença de grupos funcionais no filme, além de propriedades relacionadas ao deterioramento da fruta embalada, como a perda de massa percentual, o pH, acidez total titulável e o grau de apodrecimento visual.

METODOLOGIA:

Para efeitos comparativos, foram estudados os grupos presentes na Tabela 1, com suas composições devidamente discriminadas, sendo o grupo C o de controle (sem recobrimento). O tratamento dos morangos foi realizado por *dip coating*, como na Figura 1. As seguintes propriedades foram avaliadas: a presença de grupos funcionais no filme, a perda de massa percentual, o pH e o grau

de apodrecimento visual. Realizou-se os testes levando-se em conta um período de 6 dias após o recobrimento.

Tabela 1 – Composição dos filmes de quitosana (m/m) (%)

Materiais	CH	LM015	LM030	PLM015	PLM030
Quitosana	3,00	3,00	3,00	3,00	3,00
Glicerol	0,45	0,45	0,45	0,45	0,45
Ácido acético	2,00	2,00	2,00	2,00	2,00
Limoneno	0,00	0,15	0,30	0,00	0,00
Poli(limoneno)	0,00	0,00	0,00	0,15	0,30
Tween 80	0,00	0,10	0,10	0,10	0,10
Água	94,55	94,30	94,15	94,30	94,15

Perda percentual de massa

As frutas foram pesadas utilizando-se uma balança analítica digital diariamente por um período de 6 dias após o recobrimento (considerado como dia 0). Os morangos são frutos bastante perecíveis que alcançariam um nível muito alto de apodrecimento se as medições fossem realizadas apenas de 4 em 4 dias, como proposto inicialmente para o recobrimento de bananas (SIKDER et al., 2019). A perda de massa foi determinada com base na Equação 1, sendo M_i a massa inicial e M_f a massa final.

$$PM = \frac{M_i - M_f}{M_i} \cdot 100\% \quad (1)$$

A média de 5 amostras de frutas foi utilizada para a comparação entre os diferentes grupos de recobrimento com composições diferentes.

Grau de apodrecimento

O grau de apodrecimento dos morangos com e sem recobrimento foi avaliado visualmente com base na aparência da fruta e do recobrimento (PAVINATTO et al., 2020). As avaliações foram realizadas diariamente por um período de 6 dias após o recobrimento, uma vez que os morangos são muito perecíveis; impossibilitando um período maior de análise.

A importância dessa propriedade se dá no que diz respeito à aceitação pelo público, tendo em vista a cor e a textura, caso as frutas com recobrimentos venham a ser comercializadas.

Determinação do pH

Para a determinação do pH preparou-se uma solução (0,5 g morango/mL) utilizando-se a fruta processada em liquidificador e água destilada. Em seguida, o pH das amostras foi aferido em um pHmetro de bancada PHS-3C Impac a temperatura ambiente (SIKDER et al., 2019). O teste foi realizado em triplicata para cada composição de filme, 6 dias após o recobrimento das amostras correspondentes.

Presença de grupos funcionais

As amostras dos filmes foram, após seu preparo, mantidas em dessecadores. Posteriormente, foi utilizado um espectrômetro FT-IR (Thermo Scientific, Nicolet Continuum, Madison, USA) na faixa de 4000 a 675 cm^{-1} com resolução de 4 cm^{-1} para identificação de grupos funcionais e possíveis interações químicas entre a matriz de quitosana e os aditivos utilizados (HE et al., 2021).

Análise estatística

Os resultados foram apresentados como média \pm desvio padrão. A diferença entre os fatores e os níveis foi avaliada pela análise de variância (ANOVA one-way) por meio do software MiniTab® (Penn State University, EUA). O teste de Tukey foi utilizado para comparar as médias ($p < 0,05$).

RESULTADOS E DISCUSSÃO:

Perda percentual de massa

A perda de massa devido à evaporação da água presente nas frutas está ligada com o grau de apodrecimento em função do tempo (PERDONES et al., 2012). Desta maneira, a perda de massa percentual média de cada grupo foi calculada e os resultados apresentados na Figura 2.

Observou-se que a perda de massa de todos os grupos aumentou gradativamente, aproximando-se da perda de massa do grupo C. A partir do dia 4, a perda de massa entre as amostras

de todos os grupos não foi estatisticamente distinta ($p>0,05$). Resultados semelhantes foram reportados na literatura por Perdones et al. (2012), isto é, os recobrimentos são mais efetivos nos primeiros dias de teste.

Finalmente, ressalta-se que a composição PLM015 apresentou o menor percentual de perda de massa em todos os dias. Assim, esses resultados sugerem que o PLM pode ter contribuído para a diminuição da evaporação da água presente nos alimentos, em concordância com Gonçalves et al. (2023), que constatou, em geral, permeabilidade ao vapor de água mais baixas para filmes de quitosana aditivados com PLM do que em relação à CH pura.

Grau de apodrecimento

As condições das frutas revestidas ao longo dos dias são apresentadas na Figura 3. Observa-se que os grupos C, LM015 e LM030 apresentaram pontos visíveis de apodrecimento das frutas ao final do período estudado. Isso pode estar relacionado ao fato de que a aderência dos filmes aos morangos não foi satisfatória (PAVINATTO et al., 2020), o que comprovaria os dados de perda de massa desses grupos, ao passo que não haveria uma proteção eficaz contra a perda de massa e/ou de umidade. Além disso, o recobrimento do grupo PLM030 parece se romper durante o processo de secagem, expondo a fruta ao ambiente, o que não é adequado para que se alcance um maior período de conservação e que comprova também os dados de perda de massa.

Finalmente, as composições CH e PLM015 não permitiram um apodrecimento marcante das frutas nem à aparência descascada do filme ao final do período de estudo. Assim, tem-se que o teste de apodrecimento visual corrobora ao que foi observado nos ensaios de perda de massa.

Determinação de pH

O pH das amostras após 6 dias desde o recobrimento estão apresentados na Tabela 2. A avaliação de tal propriedade é essencial, tendo em vista o impacto dela na experiência sensorial dos consumidores. O pH de morangos nacionais *in natura* foi registrado por Aché et al. (1950) e a média se manteve entre 3,01 e 3,50. A interação com as membranas das células pode afetar o processo de amadurecimento e, conseqüentemente, a senescência das frutas (SÁNCHEZ-GONZÁLEZ et al., 2011).

Assim, depreende-se que os recobrimentos aplicados aos morangos levaram a valores de pH, em geral, significativamente distintos entre si ($p<0,05$). Dentre eles, o que mais se destacou foi o PLM015, o qual possibilitou um valor de pH médio de $3,34 \pm 0,04$; o mais baixo dentre as amostras recobertas. As amostras recobertas com PLM030 e o LM030 apresentaram valores de $3,48 \pm 0,03$ e $3,5 \pm 0,00$, respectivamente; sendo não substancialmente distintos entre si ($p>0,05$). Por fim, amostras recobertas com CH e LM015 alcançaram valores de $3,59 \pm 0,01$ e $3,69 \pm 0,06$.

Os resultados em questão estão em concordância com aqueles conduzidos por Perdones et al. (2012) e Iftikhar et al. (2022), que demonstraram que a presença de aditivos provenientes do óleo essencial de limão na matriz de CH melhora o controle da propriedade em questão (que tende a

Figura 2 - Perda percentual de massa média ao longo do tempo.

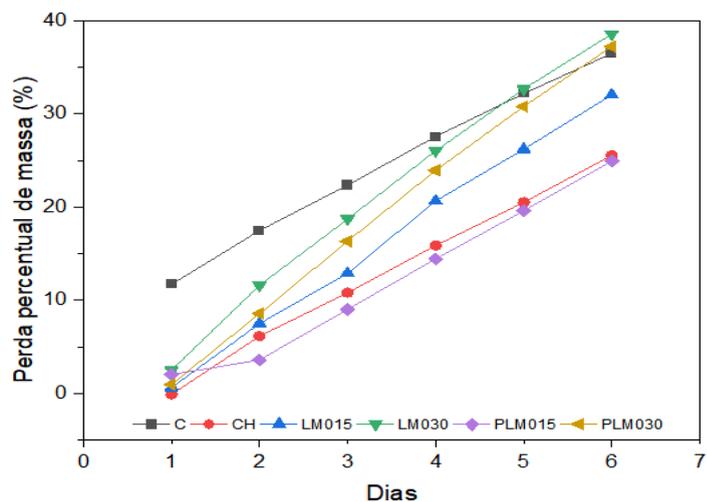
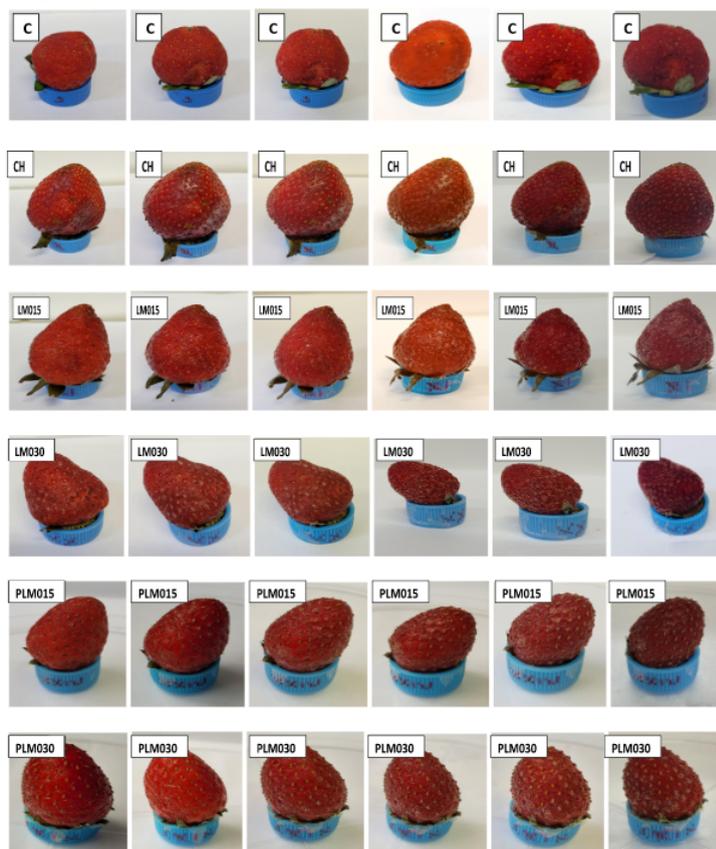


Figura 3 - Aspecto visual de morangos com e sem o recobrimento de filme polimérico.



umentar com o passar do tempo, em geral) do que em relação a recobrimentos somente de CH; o que pode indicar efeitos na atividade metabólica, isto é, o apodrecimento, dos alimentos.

Tabela 1 - pH e acidez titulável (mol/L). Letras diferentes na mesma coluna indicam valores significativamente diferentes, conforme determinado pelo teste de Tukey ($p < 0,05$).

Filme	C	CH	LM015	LM030	PLM015	PLM030
pH	3,30 ± 0,03 ^d	3,59 ± 0,01 ^b	3,69 ± 0,06 ^a	3,50 ± 0,00 ^{b,c}	3,34 ± 0,04 ^d	3,48 ± 0,03 ^c

Presença de grupos funcionais

As estruturas dos filmes foram analisadas por espectroscopia FT-IR, e os resultados podem ser observados na Figura 4.

Segundo os espectros, é possível identificar, para o recobrimento CH, um pico para valores de número de onda próximos a 3300 cm^{-1} , que relacionam-se com vibrações de estiramento do grupo hidroxila livre em sobreposição ao estiramento de ligações N-H do seu grupo amina; enquanto que o sinal na região próxima a 2900 cm^{-1} relaciona-se com absorção de vibração das ligações C-H (ODJO et al., 2022). Por sua vez, os picos próximos a 1650, 1550 e 1030 cm^{-1} dizem respeito a, respectivamente: alongamento de ligações C=O (nas aminas primárias da CH), vibrações de dobramento em ligações N-H (nas aminas secundárias da CH) e estiramento de ligações C-O-C (SHAHZADI et al., 2016).

Foi observada a formação de um pico em regiões próximas a 1320 cm^{-1} nos filmes aditivados com LM e PLM, podendo estar relacionada com o alongamento de ligações C-N (SHAHZADI et al., 2016); que por sua vez pode ser causado pela entrada dos aditivos em meio à matriz. Observou-se também o surgimento de um pico em 859 cm^{-1} , podendo estar relacionado com vibrações de dobramento dos anéis para-substituídos do PLM (GONÇALVES et al., 2023); que apareceu somente na composição PLM030, provavelmente devido à maior porcentagem do aditivo, que não estaria encoberto pela presença maior de quitosana. O surgimento destes picos, somados ao deslocamento dos picos em 1647, 1553 (que também teve um aumento visível na sua intensidade) e 1035 cm^{-1} nos demais filmes em relação à quitosana, podem então indicar uma interação entre a matriz de quitosana e os aditivos.

Tanto o aumento visível do pico próximo a 3300 cm^{-1} quanto as mudanças nos níveis de absorção (CAZÓN et al., 2021) podem indicar a formação de novas ligações de hidrogênio entre matriz de CH e os aditivos; já que essas ligações poderiam ser feitas a dupla mais reativa no caso do LM ou com o álcool terminal do tribromoetanol (o iniciador) ou com o álcool da solução em que o aditivo está presente no caso do PLM.

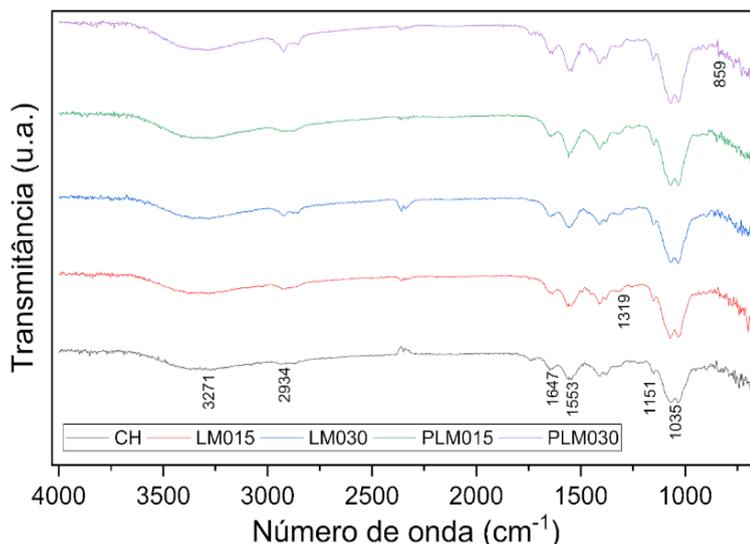
CONCLUSÕES:

Os resultados demonstraram que o filme PLM015 apresentou maior potencial para ser utilizado como recobrimento de frutas altamente perecíveis como o morango. Isto é, a interação da matriz aditivada com o PLM015 com as membranas celulares das frutas aparentemente possibilitou um retardamento na atividade metabólica relacionada ao amadurecimento delas, levando aos valores mais baixos de pH, perda de massa percentual e a melhor aparência.

Na avaliação da presença de grupos funcionais, os resultados indicaram que houve, aparentemente, uma melhor incorporação deste aditivo à matriz (devido ao surgimento, deslocamento e desaparecimento de picos nos espectros FT-IR). Isto é bastante importante quando se leva em conta um possível *scale-up* para o ambiente industrial.

Conclui-se que o PLM é um aditivo em potencial para o recobrimento de alimentos perecíveis visando prolongar sua vida útil e aumentar a qualidade da alimentação dos consumidores, em combate ao desperdício de alimentos e ao problema da fome. Ressalta-se que mais testes podem ser conduzidos acerca do assunto para que se tenham mais insumos que ratifiquem a utilização dos mesmos no cotidiano, como o de morfologia do recobrimento, de resistência à tração, antimicrobianos,

Figura 4 - Espectros FT-IR dos filmes.



etc. Ademais, avaliar outras combinações nas proporções das substâncias utilizadas também pode ser produtivo.

BIBLIOGRAFIA:

AZIZ, M. S. A.; SALAMA, H. E. Development of alginate-based edible coatings of optimized UV-barrier properties by response surface methodology for food packaging applications. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 212, p. 294–302, jul. 2022.

OLIVERA, S. et al. Potential applications of cellulose and chitosan nanoparticles/composites in wastewater treatment: A review. **Carbohydrate Polymers**, v. 153, p. 600–618, nov. 2016.

HE, X. et al. Biodegradable and antimicrobial csc films containing cinnamon essential oil for preservation applications. **Food Packaging and Shelf Life**, v. 29, p. 100697, 2021.

BACANLI, M.; BA ŞARAN, A. A.; BA ŞARAN, N. The antioxidant and antigenotoxic properties of citrus phenolics limonene and naringin. **Food and Chemical Toxicology**, v. 81, p. 160–170, 2015.

ANTOSIK, A. et al. Fragrant starch-based films with limonene. **Current Chemistry Letters**, v. 6, p. 41–48, 01 2017.

HAN, C. et al. Edible coatings to improve storability and enhance nutritional value of fresh and frozen strawberries (*fragaria × ananassa*) and raspberries (*rubus ideaus*). **Postharvest Biology and Technology**, v. 33, n. 1, p. 67–78, jul. 2004.

PAGLIARULO, C. et al. Preservation of strawberries with an antifungal edible coating using peony extracts in chitosan. **Food and Bioprocess Technology**, Springer Science and Business Media LLC, v. 9, n. 11, p. 1951–1960, ago. 2016.

SIKDER, M. B. H.; ISLAM, M. M. Effect of shrimp chitosan coating on physico-chemical properties and shelf life extension of banana. **International Journal of Engineering Technology and Sciences**, Universiti Malaysia Pahang Publishing, v. 6, n. 1, p. 41–54, jun. 2019.

PAVINATTO, A. et al. Coating with chitosan-based edible films for mechanical/biological protection of strawberries. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 151, p. 1004–1011, 2020.

A. Perdones, L. Sánchez-González, A. Chiralt, M. Vargas. Effect of chitosan–lemon essential oil coatings on storage-keeping quality of strawberry. **Postharvest Biology and Technology**. 2012.

GONÇALVES, S. de Á. et al. Poly(limonene): A novel renewable oligomeric antioxidant and UV-light blocking additive for chitosan-based films. **Food Packaging and Shelf Life**, v. 37, p. 101085, jun. 2023.

ACHÉ, L.; RIBEIRO, I. F. O pH de frutas nacionais. **Revista da Faculdade de Medicina Veterinária**, Universidade de São Paulo, Universidade de São Paulo, Agência USP de Gestão da Informação Acadêmica (AGUIA), v. 4, n. 2, p. 267, dez. 1950.

Sánchez González, Laura & Vargas, Maria & Gonzalez-Martinez, Chelo & Chiralt, Amparo & Cháfer, Maite. Use of Essential Oils in Bioactive Edible Coatings: A Review. **Food Engineering Reviews**, v. 3. 2011.

IFTIKHAR, A. et al. Influence of guar gum and chitosan enriched with lemon peel essential oil coatings on the quality of pears. **Food Science & Nutrition**, v. 10, n. 7, p. 2443–2454, mar. 2022.

ODJO, K. et al. Preparation and characterization of chitosan-based antimicrobial films containing encapsulated lemon essential oil by ionic gelation and cranberry juice. **Food Chemistry**, v. 397, p. 133781, dez. 2022.

SHAHZADI, K. et al. Preparation and characterization of bio-based hybrid film containing chitosan and silver nanowires. **Carbohydrate Polymers**, v. 137, p. 732–738, fev. 2016.

CAZÓN, P. et al. Evaluation of easy-removing antioxidant films of chitosan with melaleuca alternifolia essential oil. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 186, p. 365–376, sep 2021.