

**UNIVERSIDADE FEDERAL
DO TOCANTINS**



**FUNDAÇÃO UNIVERSIDADE FEDERAL DO TOCANTINS
CAMPUS UNIVERSITÁRIO DE PALMAS**

LUANA MIRANDA LOPES DE MELLO

EFEITO DA IRRADIAÇÃO GAMA NA QUITOSANA

PALMAS- TO

2016

LUANA MIRANDA LOPES DE MELLO

EFEITO DA IRRADIAÇÃO GAMA NA QUITOSANA

Dissertação apresentada ao Programa de Pós- Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos da Universidade Federal do Tocantins, para obtenção do título de Mestre em Ciência e Tecnologia de Alimentos.

Orientador: Profa. Dra. Adriana Régia Marques de Souza

Concentração: Desenvolvimento de novos produtos alimentícios.

PALMAS- TO

2016

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)
Sistema de Bibliotecas da Universidade Federal do Tocantins

M527e Mello, Luana Miranda Lopes de.
Efeito da irradiação gama na quitosana. / Luana Miranda Lopes de Mello.
– Palmas, TO, 2016.
76 f.

Dissertação (Mestrado Acadêmico) - Universidade Federal do Tocantins
– Câmpus Universitário de Palmas - Curso de Pós-Graduação (Mestrado) em
Ciência e Tecnologia de Alimentos, 2016.

Orientadora : Souza Dra. Adriana Régia Marques de

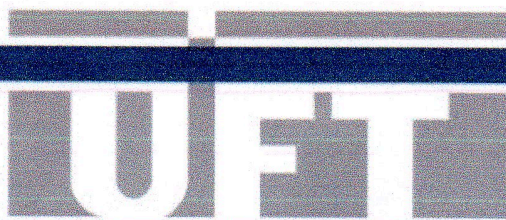
1. Quitosana. 2. Irradiação Gama. 3. Biofilmes. 4. Tecnologia de Alimentos.
I. Título

CDD 664

TODOS OS DIREITOS RESERVADOS – A reprodução total ou parcial, de qualquer forma ou por qualquer meio deste documento é autorizado desde que citada a fonte. A violação dos direitos do autor (Lei nº 9.610/98) é crime estabelecido pelo artigo 184 do Código Penal.

Elaborado pelo sistema de geração automática de ficha catalográfica da UFT com os dados fornecidos pelo(a) autor(a).

UNIVERSIDADE FEDERAL
DO TOCANTINS



FUNDAÇÃO UNIVERSIDADE FEDERAL DO TOCANTINS
CAMPUS UNIVERSITÁRIO DE PALMAS

LUANA MIRANDA LOPES DE MELLO

EFEITO DA IRRADIAÇÃO GAMA NA QUITOSANA

Dissertação DEFENDIDA e APROVADA em 12 de Julho de 2016,
pela banca examinadora constituída pelos seguintes membros:

Prof. Dr. Aroldo Arévalo-Pinedo
CTA – UFT

Prof. Dr.ª. Denise Gomes Alves
UFT

Prof. Dr.ª. Adriana Régia Marques de Souza
Orientadora – UFG

DEDICO

À minha família, que está sempre presente me incentivando e mostrando que sou capaz de alcançar novos objetivos.

AGRADECIMENTOS

À Deus por todas as bênçãos concedidas, por iluminar meu caminho, sempre me protegendo e me dando forças para seguir em frente mesmo com todos os obstáculos que a vida nos apresenta.

Aos meus pais, Vicente e Marilene, meus irmãos, Camila e Gabriel, por todo carinho, apoio, incentivo e suporte para a realização deste trabalho. Por todo amor que sempre me deram, por todas as oportunidades, por nunca negarem um esforço por um sonho meu. Por me mostrarem o caminho do bem, o caminho do sucesso, que com dedicação nós sempre alcançamos o que desejamos. Por não me deixarem desistir e por sempre me lembrarem que assim que acaba um desafio, o outro já começa.

Ao meu esposo, Arthur, melhor amigo, companheiro, amor da minha vida. Por toda paciência e ajuda na realização desse trabalho. Por me ouvir, por me ajudar, por me fazer feliz em momentos de desespero e por estar ao meu lado em todos os momentos. E pelo nosso melhor presente, nossa filha Helena, que está chegando para nos alegrar mais ainda.

À minha querida orientadora, Adriana, pela orientação, amizade, carinho, respeito e confiança. Pelo profissionalismo e competência, agradeço muito todo ensinamento agregado à minha formação. Pela alegria de viver e pelo amor à profissão, sempre um incentivo a mais para continuarmos nessa luta.

À Universidade Federal do Tocantins, pela oportunidade de realização deste trabalho. À Universidade Federal de Goiás pelos laboratórios para realização de análises e ao Centro de Energia Nuclear na Agricultura (CENA/USP) pela irradiação das minhas amostras. Ao professor Aroldo, por emprestar o laboratório de Frutas e Hortaliças para a realização dos experimentos e por toda contribuição ao trabalho.

Aos colegas de mestrado, pela amizade e ajuda. Pelas risadas que tornavam nossos dias melhores.

À banca pela disponibilidade e por contribuir com meu trabalho.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico – CNPq pela bolsa concedida.

Aos amigos que estiveram juntos dando força desde o início, ajudando a minimizar o estresse. A todos que de uma forma ou outra ajudaram na elaboração e desenvolvimento deste trabalho.

RESUMO

Filmes são estruturas pré-formadas, independentes, que são utilizadas para envolver o alimento após o seu processamento, aumentando seu período de conservação e conferindo aparência brilhante e atraente. São preparados a partir de materiais biológicos como alternativa às embalagens plásticas sintéticas para melhorar a qualidade do meio ambiente. A quitosana é um polímero biodegradável composto de ligações β -(1,4)-D-glucosamina (unidade desacetilada) e N-acetil-D-glucosamina (unidade acetilada). É produzida comercialmente pela desacetilação da quitina, que é um elemento estrutural do exoesqueleto de crustáceos. Ela é capaz de formar matrizes contínuas e, que através de diversas técnicas de produção, podem ser transformadas em filmes e revestimentos comestíveis e/ou biodegradáveis. Com o objetivo de avaliar o efeito das diferentes doses de radiação gama (0, 5, 10 e 15 kGy) no pó da quitosana, na solução filmogênica com concentrações de quitosana (1 e 2%), e nos biofilmes foi avaliado suas propriedades ópticas, morfológicas, reológicas e mecânicas. Os filmes foram caracterizados pela espessura, cor, opacidade, microscopia eletrônica de varredura e propriedades mecânicas. Os diferentes tratamentos estudados influenciaram significativamente as propriedades dos filmes, promovendo uma melhora nas suas propriedades.

Palavras chave: quitosana, irradiação gama, biofilmes.

EFFECT OF IRRADIATION GAMMA ON CHITOSAN

ABSTRACT

Films are preformed structures, independent, that are used to wrap food after processing, increasing their shelf life and enhancing its bright and attractive appearance. They are prepared from biological materials as an alternative to the plastic synthetic containers to improve the quality of the environment. Chitosan is a biodegradable polymer composed of β -(1-4) linked D-glucosamine (deacetylated unit) and N-acetyl-D-glucosamine (acetylated unit). It is produced commercially by deacetylation of chitin, which is a structural component of the exoskeleton of crustaceans. She is able to form films and edible and/or biodegradable coatings. This work aimed evaluate the effect of different doses of gamma radiation (0, 5, 10 and 15 kGy) in the chitosan powder, filmogenic solution and in biofilms in concentrations of 1 and 2% of chitosan, in their optical, morphological, rheological and mechanical properties. The films were characterized by the thickness, color, opacity, scanning electron microscopy and mechanical properties. The different treatments significantly influenced their properties, promoting an improvement.

Keywords: chitosan, gamma irradiation, biodegradable films.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1.1	Estrutura química da quitosana.....	21
Figura 2.1	Efeito da radiação gama na cor do pó de quitosana (a) sem irradiação, (b) dose de 5 kGy, (c) dose de 10 kGy e (d) dose de 15 kGy.....	41
Figura 2.2	Microscopia eletrônica de varredura do pó de quitosana irradiada.....	44
Figura 2.3	Comportamento reológico das soluções de 1% de quitosana tratadas com radiação gama nas doses 0, 5, 10 e 15 kG.	47
Figura 2.4	Comportamento reológico das soluções de 2% de quitosana tratadas com radiação gama nas doses 0, 5, 10 e 15 kGy.	47
Figura 2.5	Viscosidade das soluções de 1% de quitosana tratadas com radiação gama nas doses 0, 5, 10 e 15 kGy.	49
Figura 2.6	Viscosidade das soluções de 2% de quitosana tratadas com radiação gama nas doses 0, 5, 10 e 15 kGy.	49
Figura 3.1	Cor dos filmes obtidos (a) controle 1% de quitosana, (b) controle 2% de quitosana, (c) 5 kGy 1% de quitosana, (d) 5 kGy 2% de quitosana, (e) 10 kGy 1% de quitosana, (f) 10 kGy 2% de quitosana], (g) 15 kGy 1% de quitosana, (h) 15 kGy 2% de quitosana.....	67
Figura 3.2	MEV de filmes biodegradáveis a base de quitosana irradiada.....	68
Figura 3.3	Tensão de ruptura (MPa) de filmes biodegradáveis a base de quitosana irradiada.	70
Figura 3.4	Elongação (%) de filmes biodegradáveis a base de quitosana irradiada.	71

LISTA DE TABELAS

Tabela 2.1.	Efeito da irradiação na cor do pó de quitosana.....	40
Tabela 2.2	Efeito da radiação gama na cor da solução filmogênica de quitosana.....	45
Tabela 3.1	Espessura (mm) de filmes biodegradáveis a base de quitosana irradiada.....	63
Tabela 3.2	Efeito da radiação gama na cor de filmes biodegradáveis de quitosana.....	65
Tabela 3.3	Opacidade (%) de filmes biodegradáveis a base de quitosana irradiada.....	66

SUMÁRIO

CAPÍTULO 1

1	INTRODUÇÃO GERAL	13
2	REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	15
2.1	FILMES BIODEGRADÁVEIS	15
2.1.1	Definições	15
2.1.2	Processos de produção	16
2.1.3.	Caracterização de filmes	16
2.1.4	Matérias primas utilizadas na fabricação de filmes e coberturas e aplicações em alimentos	18
2.2	QUITOSANA	19
2.3	IRRADIAÇÃO GAMA	22
2.3.1	Irradiação de proteínas	23
3	OBJETIVOS	25
3.1	OBJETIVO GERAL	25
3.2	OBJETIVOS ESPECÍFICOS	25
	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	26

CAPÍTULO 2: INFLUÊNCIA DA IRRADIAÇÃO GAMA NAS

	CARACTERÍSTICAS DO PÓ E SOLUÇÃO DE QUITOSANA	32
	RESUMO	33
	ABSTRACT	34
1	INTRODUÇÃO	35
2	MATERIAIS E MÉTODOS	37
2.1	MATERIAIS	37
2.2	MÉTODOS	37
2.2.1	Irradiação da quitosana.....	37
2.2.2	Solução de quitosana	37
2.2.3	Caracterização do pó de quitosana	38
2.2.4	Caracterização da solução filmogênica de quitosana	38
2.2.3	Análise estatística	39
3	RESULTADOS E DISCUSSÃO	40
3.1	PÓ DA QUITOSANA	40
3.1.1	COR.....	40
3.1.2	MICROSCOPIA ELETRÔNICA	42
3.2	SOLUÇÃO FILMOGÊNICA	45
3.2.1	COR.....	45
3.2.1	REOLOGIA	46
	CONCLUSÃO	51
	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	52

CAPÍTULO 3. FILMES BIODEGRADÁVEIS A BASE DE QUITOSANA

	IRRADIADA	55
	RESUMO	56
	ABSTRACT	57
1.	INTRODUÇÃO	58
2	MATERIAIS E MÉTODOS	60

2.1	MATERIAIS.....	60
2.2	MÉTODOS	60
2.2.1	Irradiação da quitosana.....	60
2.2.2	Solução de quitosana.....	60
2.2.3	Elaboração dos filmes de quitosana	60
2.2.4	Caracterização dos filmes.....	61
2.2.5	Análise estatística.....	62
3	RESULTADOS E DISCUSSÃO	63
3.1	ESPESSURA.....	63
3.2	COR E OPACIDADE	64
3.3	MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE VARREDURA	67
3.4	PROPRIEDADES MECÂNICAS	69
	CONCLUSÃO	72
	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	73
	CONCLUSÃO GERAL.....	76

CAPÍTULO 1

1 INTRODUÇÃO GERAL

A quitosana é um polissacarídeo obtido a partir da reação de desacetilação da quitina em solução alcalina, composta por unidades de glucosamina e n-acetilglucosamina (YEN et al., 2009).

A quitosana tem sido muito estudada pois possui uma grande variedade de aplicações devido à sua biocompatibilidade, biodegradabilidade, é derivada de biomassa abundante e barata (SZYMANSKA e WINNICKA, 2015) e tem a capacidade de formar gel. Também possui atividades antimicrobianas, propriedades de cicatrização de feridas e atividade hemostática que são características muito úteis no campo da biomedicina.

Nas indústrias de alimentos são utilizadas como estabilizantes, espessantes, no tratamento de água e são facilmente processadas em nanofibras, nanopartículas, géis e filmes (YEN et al., 2008). É insolúvel em água, mas dissolve em soluções aquosas de ácidos orgânicos, como acético, fórmico, cítrico, além de ácidos inorgânicos, como clorídrico, resultando em soluções viscosas capazes de formar filmes.

Os biofilmes a base de quitosana são biodegradáveis, pois a quitosana é um material completamente degradado por microrganismos em processo de decomposição, o que é mais um atrativo para as indústrias, pois é uma tentativa de diminuir ou solucionar o problema da poluição. Suas principais características estão relacionadas à habilidade de melhorar a qualidade nutricional e de aparência dos alimentos, prolongando a sua vida de prateleira (ASSIS et al., 2009).

A radiação gama é um método de modificar as propriedades de materiais poliméricos biodegradáveis (CHOI et al, 2002). Apresenta vantagem ao ser aplicada em polímeros uma vez que pontes fortes entre as macromoléculas podem ser formadas, havendo reticulação das proteínas promovendo melhora nas propriedades mecânicas e de barreira dos materiais (CHANTRA et al., 2006).

Irradiação é um fenômeno físico o qual há interação das ondas eletromagnéticas com a matéria, que ionizam átomos ou moléculas induzindo reações químicas que podem interromper os processos celulares, orgânicos ou fisiológicos e provocar o efeito desejado. A sua finalidade é aumentar a estabilidade de

armazenamento através da redução de microrganismos, da eliminação de parasitas ou insetos, ou o bloqueio da atividade enzimática (FDA, 2016). Portanto, o objetivo do presente trabalho foi desenvolver filmes biodegradáveis a base de quitosana e avaliar os efeitos da irradiação gama nas suas propriedades.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 FILMES BIODEGRADÁVEIS

2.1.1 Definições

Coberturas são definidas como uma camada fina de material que é aplicada diretamente no alimento de forma líquida pelo método de imersão ou aspersão, enquanto que filmes são estruturas pré-formadas, independentes, que são utilizadas para envolver o alimento após o seu processamento (FLAGUERA et al., 2011). São preparados a partir de materiais biológicos que agem como barreira a elementos externos (fatores como umidade, óleo e gases), reduzem a perda de massa e as taxas de respiração durante o transporte e a estocagem, aumentando seu período de conservação e conferindo aparência brilhante e atraente (AZEREDO, 2003).

O uso de películas com esse propósito constitui vantagem econômica, evitando a necessidade de estocagem em atmosfera controlada, que é um método mais complexo e custoso, e implicaria em custos operacionais e de equipamento (DHALL, 2013). O desenvolvimento de filmes com características de permeabilidade seletiva, especialmente O₂, CO₂ e etileno permitem o controle da respiração da fruta e reduzem o desenvolvimento dos microrganismos (FABRA et al., 2011).

Quando um filme ou uma cobertura é parte integrante do alimento, sendo consumido juntamente com ele, a embalagem é definida como comestível. As propriedades requeridas da película comestível dependem das características do alimento. Os revestimentos comestíveis não podem alterar a aparência, gosto e odor originais do alimento e devem possuir boa aderência para não serem facilmente removíveis no manuseio (ASSIS et al., 2009).

O termo biodegradável é aplicado quando o material é completamente degradado por microrganismos em um processo de decomposição, levando a formação de biomassa e compostos naturais mais simples. O processo de biodegradação envolve etapas de despolimerização ou hidrólise (quebra da cadeia) e mineralização a CO₂, água e sais, na presença de microrganismos apropriados, meio ambiente favorável e substrato polimérico (KROCHTA e DE MULDER-JOHNSTON, 1997).

As embalagens biodegradáveis e/ou comestíveis devem apresentar algumas

propriedades funcionais e específicas. A principal utilidade de biofilmes está relacionada à habilidade de melhorar a qualidade de alimentos, prolongando a sua vida de prateleira. Biofilmes podem também melhorar as propriedades mecânicas do produto, facilitando o seu manuseio e transporte; e sensoriais, tais como cor, brilho, transparência, rugosidade e pegajosidade (GUILBERT et al., 1996; THARANATHAN, 2003). Ingredientes funcionais, como antocianinas e polifenóis, são muitas vezes incorporado nos biofilmes e consumidos junto com o produto final para melhorar a qualidade nutricional e segurança do produto (DHALL, 2013).

2.1.2 Processos de produção

A formulação de filmes e coberturas requer o uso de pelo menos um componente capaz de formar uma matriz estrutural com adequada coesividade (MARINIELLO et al., 2003). As forças coesivas dependem da estrutura do polímero, do solvente utilizado, da temperatura e da presença de outras moléculas tais como plastificantes e agentes reticulantes (THARANATHAN, 2003). As substâncias formadoras de filmes, normalmente polímeros de alta massa molar, são capazes de formar uma estrutura contínua pelo rearranjo e interação entre as moléculas sob ação de um tratamento químico ou físico.

Os compostos mais utilizados na elaboração de revestimentos são as proteínas, os polissacarídeos, os lipídeos ou a combinação destes compostos (CHIEN et al., 2007).

O método mais utilizado, em escala laboratorial, para obtenção dos filmes, que são estruturas independentes, é através do espalhamento da solução filmogênica em um suporte (*casting*), seguido por um processo de secagem e posterior desprendimento do filme. Porém exige um controle rigoroso da forma do suporte e do nível da estufa para evitar diferenças na espessura provocadas por desníveis durante a secagem e, também, da temperatura, para os filmes não quebrarem durante a etapa de secagem (JAVANMARD, 2009). Em processos industriais, as técnicas utilizadas na fabricação dos filmes plásticos flexíveis podem ser adaptadas para a fabricação de filmes biodegradáveis e/ou comestíveis. São essas extrusão ou coextrusão, laminação, e secagem em rolos para a evaporação do solvente (THARANATHAN, 2003).

2.1.3. Caracterização de filmes

O uso adequado de biofilmes depende fortemente das suas propriedades

mecânicas e de barreira. Consequentemente, metodologias precisas para a determinação do desempenho dos filmes são desenvolvidas. Além dessas propriedades, outras caracterizações podem ser realizadas, tais como medidas de espessura, isotermas de sorção de umidade, massa solubilizada em água e em outros solventes, intumescimento, propriedades térmicas, difusividade de substâncias ativas, cor, brilho e opacidade (GUILBERT et al., 1996).

As propriedades mecânicas dos filmes estão associadas à formulação (macromolécula, solvente, plastificante), ao processo de obtenção e à maneira de aplicação (*casting*, pulverização no caso de recobrimentos, suspensão fundida) (GUILBERT et al., 1996). A tensão e a deformação no ponto de ruptura de filmes comestíveis podem ser determinadas em testes de tração (YANG e PAULSON, 2000). A tensão na ruptura é definida como a máxima força que um material pode suportar (KROCHTA e DE MULDER-JOHNSTON, 1997). A medida da tensão na ruptura fornece informações da magnitude das forças intermoleculares envolvidas na matriz polimérica. O alongamento é usualmente medido no ponto de ruptura do material e representa a capacidade do material em se estender, refletindo, portanto sua plasticidade.

A massa solubilizada em água (MS) de filmes é definida como a quantidade de matéria seca que é solubilizada após 24 horas de imersão (MULLER et al., 2008). A avaliação dessa propriedade é essencial para definir qual campo de aplicação do filme, por exemplo, embalagens primárias requerem uma baixa massa solubilizada em água devido ao manuseio, transporte e armazenamento das mesmas. Além disso, alimentos com alta atividade de água requerem filmes insolúveis para seu acondicionamento.

A elevada taxa de absorção de água traz consequências indesejáveis como a redução da estabilidade estrutural do polímero, ou seja, a umidade na estrutura do polissacarídeo provoca o intumescimento da matriz com consequente desagregação das fibras e destacamento do filme, além da aceleração da degradação por ataque de microrganismos (THEIN-HAN e KITTYANANT, 2007). O intumescimento de filmes é o resultado da difusão de moléculas de solvente para o interior dos mesmos e sua acomodação na estrutura 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).

2.1.4 Matérias primas utilizadas na fabricação de filmes e coberturas e aplicações em alimentos

A eficiência funcional do filme depende fortemente da natureza dos seus componentes e da sua composição e estrutura. O controle do conteúdo de umidade de produtos alimentícios é um dos fatores mais importantes para a manutenção do frescor, textura e segurança microbiológica. Os biofilmes podem controlar a atividade de água prevenindo seletivamente tanto a perda como o ganho de umidade, o que permite um melhor acondicionamento de frutas (KAMPF e NUSSINOVITCH, 2000; KITTUR et al., 2001) e reduz significativamente a oxidação de alimentos e a rancidez de gorduras polinsaturadas (DEBEAUFORT et al., 1998).

Os polissacarídeos são materiais naturalmente hidrofílicos, apresentando propriedades limitadas de barreira à água e ao vapor de água, sendo que em alimentos com alta atividade de água eles tendem a intumescer, dissolver e se desintegrar (PARRIS et al., 1995; KESTER e FENNEMA, 1986). No entanto, quando são aplicados na forma de gel em alimentos, a perda de umidade destes são retardadas devido à evaporação da umidade do gel antes da desidratação do alimento revestido (CEREDA et al., 1992). A baixa permeabilidade a gases da película formada pelo revestimento, reduz a taxa de escurecimento enzimático que ocorre devido a ação das polifenoloxidasas. Geralmente, os filmes de proteínas e polissacarídeos apresentam propriedades mecânicas melhores em relação a filmes de lipídios e outras substâncias hidrofóbicas.

A conservação do mamão Formosa Tainung, em temperatura ambiente, por meio de revestimento de fécula de mandioca foi estudada por Pereira et al. (2006). O método utilizado foi de imersão das frutas inteiras e o resultado mostrou que seu amadurecimento foi retardado e a vida de prateleira pós colheita foi prolongada por quatro dias. A firmeza da polpa foi mantida por mais tempo, o que garante uma melhor resistência a danos mecânicos durante o manuseio e transporte.

O revestimento à base de alginato foi estudado em melões, com óleo de girassol na solução para auxílio na barreira a umidade, (OLIU et al., 2008) e em maçãs (GRAU et al., 2007). Em ambas as frutas comprovou-se a eficácia do alginato na preservação de suas qualidades. A produção de etileno, hormônio responsável pelo amadurecimento das frutas, foi retardada, logo a vida de prateleira do melão e maçã foi prolongada por 15 dias.

As proteínas são insolúveis devido à presença de resíduos de aminoácidos apolares e agem como barreiras controladoras de umidade, oxigênio, CO₂, óleos e demais compostos voláteis, atuando eficientemente contra a deterioração natural (ASSIS et al., 2009).

Fakhouri e Grosso (2003) estudaram a aplicação de coberturas comestíveis produzidos com gelatina, triacetina e ácido láurico sobre goiabas brancas no estado “verde maduro”. Os resultados foram satisfatórios na extensão da vida de prateleira em relação às goiabas sem cobertura, pela realização de análise sensorial incluindo aparência global, brilho, cor e intenção de compra.

Zocche (2010) avaliou a aplicabilidade de três tratamentos (fécula de mandioca 1%, gelatina 5% e controle sem nenhum tipo de revestimento) na conservação de acerolas. A partir de análises sensoriais e visuais, o revestimento de gelatina apresentou o melhor resultado, realçando a aparência dos frutos.

Proteínas do soro de leite também foram estudadas como revestimento comestível em maçãs cortadas em cubos 2x2cm por Gago et al. (2006). O tratamento, combinado com o antioxidante ácido ascórbico, reduziu o escurecimento enzimático das frutas e não houve perda de peso.

Os revestimentos a base de lipídeos são utilizados principalmente para limitar o transporte de umidade em função de sua baixa polaridade. Na manga Tommy Atkins, foi avaliado o uso de revestimento comestível por imersão em uma suspensão à base de fécula de mandioca e óleo de girassol e foi verificado uma redução na perda de massa e retardamento na evolução da coloração externa (VIEIRA et al., 2009). Silva et al., (2009) estudaram o uso da cera de carnaúba no tempo de armazenamento do maracujá-amarelo e observaram um efeito positivo na conservação do fruto.

2.2 QUITOSANA

A quitina é o principal componente estrutural do exoesqueleto de crustáceos e de outros invertebrados marinhos. É um polissacarídeo linear constituído por 1,4 n-acetilglucosamina, insolúvel em solventes comuns devido à sua estrutura cristalina e ligações de hidrogênio entre os grupos carbonila, hidroxila e acetamida. A quitina e a celulose são os dois polímeros naturais mais abundantes na natureza. A quitosana é obtida a partir da reação de desacetilação da quitina em solução alcalina, composta

por unidades de glucosamina e n-acetilglucosamina (YEN et al., 2009). É insolúvel em água, mas dissolve em soluções aquosas de ácidos orgânicos, como acético, fórmico, cítrico, além de ácidos inorgânicos, como clorídrico, resultando em soluções viscosas capazes de formar filmes.

A quitosana tem sido muito estudada pois possui uma grande variedade de aplicações devido à sua biocompatibilidade, biodegradabilidade, é derivada de biomassa abundante e barata (SZYMANSKA e WINNICKA, 2015) e tem a capacidade de formar gel. Também possui atividades antimicrobianas, propriedades de cicatrização de feridas e atividade hemostática que são características muito úteis no campo da biomedicina. Além disso, na agricultura são utilizadas como fertilizantes e nas indústrias de alimentos como estabilizantes, espessantes, no tratamento de água e são facilmente processadas em nanofibras, nanopartículas, géis e filmes (YEN et al., 2008).

Ela constitui-se de fibras não digeríveis, não apresenta, portanto, valor calórico, independente da quantidade ingerida, o que é mais um atrativo para a indústria alimentar. Em razão da quitosana formar facilmente filmes e membranas em soluções ácidas diluídas, várias aplicações estão sendo sugeridas, dentre elas a formação de um filme transparente semi-permeável, que pode ser utilizado como envoltório protetor de alimentos frescos para aumentar sua vida de prateleira (ARANCIBIA et al., 2014).

A quitosana é preparada à partir da quitina por processo químico ou físico, os quais promovem sua desacetilação parcial. A qualidade e propriedade da quitosana variam, portanto, devido a fatores relacionados ao processo de fabricação podendo influenciar nas características do produto final. Ela é comercializada em variados graus de pureza, peso molecular e grau de desacetilação. O grau de desacetilação determina o conteúdo de grupos amino livres em polissacarídeos, permitindo a diferenciação entre quitina e quitosana. Quando a quantidade de unidades de n-glucosamina é maior que 50%, a molécula é chamada de quitosana, e quando as quantidades de unidades de n-acetil-glucosamina é maior que 50%, é chamada de quitina (CROISIER e JÉROME, 2013). A solubilidade da quitosana está relacionada com a quantidade de grupos amino protonados ($-NH_3$) na cadeia polimérica. A representação da estrutura química da quitosana é dada na figura 1.1.

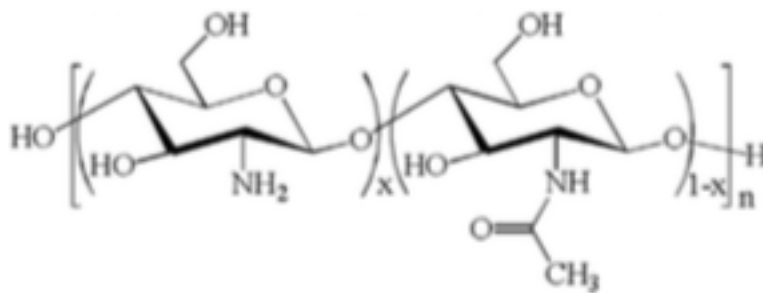


Figura 1.1: Estrutura química da quitosana (RINAUDO, 2006).

A quitosana pode agir como um eletrólito natural devido à protonação dos grupos amino em meio ácido (JAAFAR et al., 2011). No entanto, a incompleta desacetilação da quitosana pode influenciar suas propriedades, como a solubilidade, e limitar significativamente a sua utilização (MING e CHEN, 2003). Porém, graças a existência de grupos hidroxila e amino quimicamente ativos, a quitosana é facilmente modificada para melhorar suas propriedades intrínsecas e proporcionar novas propriedades. Grupos funcionais são inseridos na molécula da quitosana, e assim aumentam suas perspectivas de aplicações. O principal método de modificação da quitosana incluem, mas não limitam, a substituição do nitrogênio, do oxigênio e a inserção do radical livre na copolimerização (JI et al., 2014).

Estudos de coberturas comestíveis de quitosana foram recentemente revisados por (DHALL, 2013, ELSABEE E ABDU, 2014, SHIEKH et al., 2013) e concluído que a quitosana possui boas propriedades antibacterianas e antifúngicas para proteger os alimentos, mantendo as qualidades nutricionais durante o armazenamento pós colheita. Porém é necessário melhorar as propriedades mecânicas e de permeabilidade ao vapor de gás e água.

Jafarizadeh et al. (2011) obtiveram resultados satisfatórios em pedaços de bananas com a aplicação de biofilmes de quitosana e glicerol. Elas tiveram menor perda de peso, menor diferença na cor e nas quantidades de sólido solúvel total e titulável e uma maior firmeza quando comparado às amostras controle. Houve aumento da vida de prateleira e no retardamento do processo de amadurecimento da banana em condições ambientes.

Resultados de retenção de firmeza foram observados por Ali et al. (2011), onde papaias tratadas com 2% de cobertura de quitosana se mostraram mais firmes que outros tratamentos durante armazenamento a frio, também comprovadas em

manga (ZHU et al., 2008). Nesses estudos, o murchamento das frutas foi reduzido com o aumento do peso molecular da quitosana, e esse murchamento é devido à deterioração da estrutura da célula, a composição da parede celular e os materiais intracelulares (SEYMOUR et al., 1993).

A combinação de polissacarídeos na formulação dos biofilmes também tem demonstrado bons resultados (ARNON et al., 2014; ARNON et al., 2015). A cobertura feita de quitosana e pectina melhorou a qualidade de mamão papaia e melão frescos em pedaços, armazenados a 4°C (BRASIL et al., 2012; MARTIÑON et al., 2014). Em morangos, armazenados a 20°C e 35-40% de umidade relativa, o biofilme prolongou a vida de prateleira, retardando a senescência e perda de peso; pois age modificando a taxa de respiração e diminuindo o seu metabolismo (VELICKOVA et al., 2013).

Compostos ativos são frequentemente incorporados nos biofilmes para aumentar e melhorar as propriedades dos filmes de quitosana quanto às propriedades antimicrobianas, antioxidantes e mecânicas. São exemplos os óleos essenciais de manjeriço e tomilho (BONILLA et al., 2012), ácido ascórbico (SUN et al., 2010), tocoferol (MARTINS et al., 2012), ácido ferúlico e tânico (BENBETTAIEB et al., 2015). As mudanças nos filmes de quitosana com a adição dos compostos ativos são basicamente efetuadas por métodos químicos e enzimáticos.

2.3 IRRADIAÇÃO GAMA

Radiação gama é um método de modificar as propriedades de materiais poliméricos biodegradáveis (CHOI et al., 2002). Irradiação é um fenômeno físico o qual há interação das ondas eletromagnéticas com a matéria, que ionizam átomos ou moléculas induzindo reações químicas que podem interromper os processos celulares, orgânicos ou fisiológicos e provocar o efeito desejado. Em alimentos, o Cobalto 60 é o isótopo radioativo mais comum e mais utilizado na radiação gama. A sua finalidade é aumentar a estabilidade de armazenamento através da redução de microrganismos, da eliminação de parasitas ou insetos, ou o bloqueio da atividade enzimática (FDA, 2016).

São também aplicados em polímeros, onde as ligações cruzadas das moléculas causada pela radiação confere melhoria às propriedades dos materiais (SABATO, 2000). As principais vantagens do processo de irradiação gama, com a finalidade de

melhorar as propriedades dos filmes, quando comparados aos métodos físicos e enzimáticos, são o menor custo, um processo relativamente simples e ecologicamente apropriado e pode ser empregada em produção de larga escala de oligo quitosana (HAJI-SAEID et al., 2010).

A legislação específica brasileira define alimento irradiado como aquele que tenha sido intencionalmente submetido ao processo de irradiação com radiação ionizante, sendo, em suma com objetivos sanitários, fitossanitários e/ou tecnológicos (BRASIL, 2001). No Brasil ainda não são comercializados alimentos “inteiros” irradiados, como frutas ou carnes. O que existe são ingredientes irradiados que podem ser encontrados em produtos industrializados e embalagens (SILVA e ROZA, 2010).

2.3.1 Irradiação de proteínas

A irradiação aplicada em polímeros apresenta vantagens uma vez que pontes fortes entre as macromoléculas podem ser formadas, havendo reticulação das proteínas promovendo melhora nas propriedades mecânicas e de barreira dos materiais (CHANTRA et al., 2006).

Polímeros apresentam dois principais efeitos quando são irradiados: reticulação e degradação ou quebra da cadeia polimérica (SOBHARWAL et al., 2004). Dependendo da estrutura do polímero, da concentração, da dispersão do agente reticulador e das condições da irradiação (dose, temperatura e atmosfera), um desses processos é favorecido (MARTÍNEZ et al., 2010). Esses são métodos que modificam o material de acordo com suas possíveis aplicações, especialmente a redução do peso molecular da quitosana sem perder sua estrutura química (GRYCZKA et al., 2009). Essa redução do peso molecular está associado ao aumento das atividades antioxidantes e antimicrobianas da quitosana (GARCIA et al., 2015).

Alguns estudos foram realizados para avaliar o efeito da irradiação na quitosana. Choi et al., (2002) reportou uma diminuição na viscosidade da solução conforme o aumento da taxa de radiação; resultados similares foram obtidos com outras soluções de polissacarídeos irradiados, tais como ágar, alginato e carragena (ALISTE et al, 2000). A irradiação age induzindo a quebra das ligações glicosídicas 1-4 do polissacarídeo quitosana, que causa uma redução no peso molecular do polímero e faz com que a viscosidade da solução decresça rapidamente.

A cor da solução da quitosana também variou significativamente com a aplicação de doses de radiação, ou seja, conforme a dose aumenta, a cor da solução

fica mais intensa e escura (CHOI et al., 2002). Esse escurecimento do marrom é devido a formação de ligações duplas durante a quebra da cadeia (NAGASAWA et al. 2000).

Outra influência da irradiação na quitosana é a sua despolimerização, ou seja, o aumento da dose indica a quebra da cadeia da quitosana. Zainol et al., (2009) concluíram que uma dose de 100 kGy é suficiente para degradar a quitosana, pois acima disso não houve diferença significativa nos resultados. Foi constatado também, a partir da análise de HPLC, que os oligômeros da quitosana desde $(\text{GlcN})_2$ até $(\text{GlcN})_6$ são produzidos na degradação da quitosana pela irradiação, conseqüentemente este método pode ser utilizado para produção de chito-oligossacarídeos que possuem várias funções fisiológicas (CHOI et al., 2002).

3 OBJETIVOS

3.1 OBJETIVO GERAL

Desenvolver filmes biodegradáveis a base de quitosana irradiada e avaliar seus efeitos.

3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Caracterizar o pó da quitosana irradiada quanto à cor e microscopia eletrônica de varredura;
- Caracterizar a solução de quitosana irradiada quanto à cor e propriedades reológicas do fluido;
- Caracterizar os filmes de quitosana irradiada quanto à espessura, cor e opacidade, microscopia eletrônica de varredura, propriedades mecânicas (tração, elasticidade).

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALI, A., MUHAMMAD, M.T.M.; SIJAM, K.; SIDDIQUI, Y. Effect of chitosan coatings on the physicochemical characteristics of Eksotika II papaya (*Carica papaya* L.) fruit during cold storage. **Food Chemistry**, 124 (2): 620–626, 2011.
- ALISTE, A. J.; VIEIRA F. F.; DELMASTRO N. L. Radiation effects of on agar, alginates and carrageenan to be used as food additives. **Radiation Physics and Chemistry**, p. 57:305, 2000.
- ARANCIBIA, M. Y.; ALEMAN, A.; CALVO, M. M.; LOPEZ-CABALLERO, M. E.; MONTERO, P., & GOMEZ-GUILLEN, M. C. Antimicrobial and antioxidant chitosan solutions enriched with active shrimp (*Litopenaeus vannamei*) waste materials. **Food Hydrocolloids**, 35, p. 710-717, 2014.
- ARNON, H.; ZAITSEV, Y.; PORAT, R.; POVERENOV, E. Effects of carboxymethyl cellulose and chitosan bilayer edible coating on postharvest quality of citrus fruit. **Postharvest Biology and Technology**, 87, p. 21-26, 2014.
- ARNON, H.; GRANIT, R.; PORAT, R.; POVERENOV, E. Development of polysaccharides-based edible coatings for citrus fruits: a layer-by-layer approach. **Food Chemistry**, 166, p. 465-472, 2015.
- ASSIS, O. B. G.; BRITO, D.; FORATO, L. A. O uso de biopolímeros como revestimentos comestíveis protetores para conservação de frutas in natura e minimamente processadas. **Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento**. São Carlos, Embrapa Instrumentação Agropecuária, p.23, 2009.
- AZEREDO, H. M. C. Películas comestíveis em frutas conservadas por métodos combinados: potencial da aplicação. **Boletim do CEPPA**, Curitiba, v. 21, n.2, 2003.
- BENBETTAIEB, N.; KARBOWIAK, T.; BRACHAIS, C. H.; DEBEAUFORT, F. Coupling tyrosol, quercetin or ferulic acid and electron beam irradiation to cross-link chitosan-gelatin films: a structure-function approach. **European Polymer Journal**, 67, p. 113-127, 2015.
- BONILLA, J.; ATARES, L.; VARGAS, M.; CHIRALT, A. Effect of essential oils and homogenization conditions on properties of chitosan-based films. **Food Hydrocolloids**, 26, p. 9-16, 2012.
- BRASIL, Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). Resolução de Diretoria Colegiada no 21, de 26 de Janeiro de 2001. Brasília/DF, 2001.
- BRASIL, I. M.; GOMES, C.; PUERTA-GOMEZ, A.; CASTELL-PEREZ, M. E.; MOREIRA, R. G. Polysaccharide-based multilayered antimicrobial edible coating enhances quality of fresh-cut papaya. **LWT-Food Science and Technology**, 47, p. 39-45, 2012.
- CEREDA, M. P.; BERTOLINI, A. C.; EVANGELISTA, R. M. Uso de amido em

substituição às ceras na elaboração de ‘películas’ na conservação pós-colheita de frutas e hortaliças: estabelecimento de curvas de secagem. **Congresso brasileiro de mandioca**, p.7, Recife, 1992.

CHANTRA, T. R.; ABDULLA, Z.; ISMAIL, H. Electron beam irradiation of EVA/ENR. **Blend. Polymer** -Plastics Technology and Engineering, Glen Allen, v. 45, n. 4, p. 555–559, 2006.

CHIEN, P. J.; SHEU, F.; YANG, F. H. Effects os edible chitosan coating on quality and shelf life of sliced mango fruit. **Journal of Food Engineering**, 78, p. 225-229, 2007.

CHOI, W. -S.; AHN, K. -J.; LEE, D. -W.; BYUN, M. -W.; PARK, H. -J. **Polymer Degradation and Stability**, v. 78, p. 533–538, 2002.

CROISIER, F.; JÉRÔME, C. Chitosan-based biomaterials for tissue engineering. **European Polymer Journal**, 49, 780–792, 2013.

DEBEAUFORT, F.; QUEZADA-GALLO, J.A.; VOILLEY A. Edible films and coatings: tomorrow’s packagings: a review. **Critical Reviews in Food Science**, v. 38, n.4, p.299-313, 1998.

DHALL, R. K. Advances in edible coatings for fresh fruits and vegetables: a review. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, 53(5), p. 435-450, 2013.

ELSABEE, M. Z.; ABDOU, E. S. Chitosan based edible films and coatings: a review. **Materials Science and Engineering C: Materials for Biological Applications**, 33(4), p. 1819-1841, 2014.

FABRA, M. J.; HAMBLETON, A.; TALENS, P.; DEBEAUFORT, F.; CHIRALT, A. Effect of ferulic acid and a-tocopherol antioxidants on properties of sodium caseinate edible films. **Food Hydrocolloids**, 25(6), p.1441-1447, 2011.

FAKHOURI, F. M.; GROSSO, C. Efeito de coberturas comestíveis na vida útil de goiabas *in natura* (*Psidium guajava* L.). **Brazilian Journal of Food Technology**, p. 6(2):203-211, 2003.

FDA, U.S. Food and Drug Administration. Center for Food Safety and Applied Nutrition’s Food and Cosmetic, 2016. Disponível em: <http://www.fda.gov/educationresource/library>.

FLAGUERA, V.; QUINTERO, J.P.; JIMÉNEZ, A.; UMÑOZ, J.A.; IBARZ, A. Edible films and coatings: Structures, active functions and trends in their use. **Food Science & Technology**, v. 22, p. 292-303, 2011.

GAGO, M. B. P.; SERRA, M.; RIO, M. A. D. Color change of fresh-cut apples coated with whey protein concentrate-based edible coatings. **Postharvest Biology and Technology**, p. 39(1):84-92, 2006.

GARCIA, M. A.; PÉREZ, L.; PAZ, N.; GONZÁLEZ, J.; RAPADO, M.; CASARIEGO, A. Effect of molecular weight reduction by gamma irradiation on chitosan film properties. **Materials Science and Engineering C**, 174-180, 2015.

GRAU, M. A. R.; TAPIA, M. S.; BELLOSO, O. M. Using polysaccharide-based edible coatings to maintain quality of fresh-cut Fuji apples. **Food Science and Technology**, p. 41:139-147, 2007.

GRYCZKA, U.; DONDI, D.; CHMIELEWSKI, A. G.; MIGDAL, W.; BUTTAFAVA, A.; FAUCITANO, A. The mechanism of chitosan degradation by gamma and e-beam irradiation. **Radiation Physical Chemistry** 78 (7-8), 543-548, 2009.

GUILBERT, S.; GONTARD, N.; GORRIS, L.G.M. Prolongation of the shelf-life of perishable food products using biodegradable films and coatings. **LWT - Food Science and Technology**, v.29, p.10-17, 1996.

HAJI-SAEID, M.; SAFRANY, A.; SAMPA, M.H.O.; RAMAMOORTHY, N. Radiation processing of natural polymers: the IAEA contribution. **Radiation Physical Chemistry**, 79, 255-260, 2010.

JAAFAR, N. K.; LEPIT, A.; AINI, N. A.; SAAT, A.; ALI, A. M. M.; YAHYA, M. Z. A. **Materials Research Innovations** 15, p. 202-205, 2011.

JAFARIZADEH, M. H.; OSMAN, A.; TAN, C. P.; ABDUL, RAHMAN, R. Development of an edible coating based on chitosan-glycerol to delay 'Berangan' banana (*Musa sapientum* cv. Berangan) ripening process. **International Food Research Journal**; vol. 18, issue 3, p989, 2011.

JAVANMARD, M. Biodegradable Whey Protein Edible Films as a New Biomaterials for Food and Drug Packaging. **Iranian Journal of Pharmaceutical Sciences**, Iran, v.5, n.3, p.129-134, 2009.

JI, J.; WANG, L.; YU, H.; CHEN, Y.; ZHAO, Y.; ZHANG, H.; AMER, W. A.; SUN, Y. **Polymer-Plastics Technology** 53, 1494-1505, 2014.

KAMPF, N.; NUSSINOVITCH, A. Hydrocolloid coating of cheeses. **Food Hydrocolloids**, v.14, p.531-537, 2000.

KESTER, J. J.; FENNEMA, O. R. Edible films and coatings: a review. **Food Technology**, v.40, n.12, p.47-59, 1986.

KITTUR, F. S.; SOROJA, N.; THARANATHAN, H. R. N. Polysaccharide-based composite coating formulations for shelf-life extension of fresh banana and mango. **European Food Research and Technology**, v.213, p.306-311, 2001.

KROCHTA, J. M.; DE MULDER-JOHNSTON, C. Edible and biodegradable polymer films: challenges and opportunities. **Food Technology**, v.51, n.2, p. 61-74, 1997.

LEONHARDT J.; ARNOLD G.; BAER M.; LANGGUTH H.; GEY M.; HUBBER S. **Radiation Physical Chemistry**, 25:899, 1985.

LUCAS, E. F., SOARES, B. G., MONTEIRO, E. Caracterização de polímeros: determinação de peso molecular e análise térmica. **Rio de Janeiro: Editora e-papers**, 2001.

MARINIELLO, L.; DI PIERRO, P.; ESPOSITO, C.; SORRENTINO, A.; MAIS, P.; PORTA, R. Preparation and mechanical properties of edible pectin-soy flour films obtained in the absence or presence of transglutaminase. **Journal of Biotechnology**, v.102, p.191-198, 2003.

MARTÍNEZ, M. E.; BENAVIDES, R.; CARRASCO, H. Efecto de la radiación ionizante en polímeros [en línea]. **Contribuciones del Instituto Nacional de Investigaciones Nucleares al avance de la Ciencia y la Tecnología**, México , 2010.

MARTIÑON, M. E.; MOREIRA, R. G.; CASTELL-PEREZ, M. E.; GOMES, C. Development of a multilayered antimicrobial edible coating for shelf-life extension of fresh-cut cantaloupe (*Cucumis melo* L.) stored at 4 C. **LWT - Food Science and Technology**, 56, p. 341-350, 2014.

MARTINS, J. T.; CERQUEIRA, M. A.; VICENTE, A. A. Influence of alpha-tocopherol on physicochemical properties of chitosan-based films. **Food Hydrocolloids**, 27, p. 220-227, 2012.

MING, L. T.; CHEN, R. H. **Journal of Applied Polymer Science** 88, p. 2917–2923, 2003.

MÜLLER; C. M. O., YAMASHITA, F; LAURINDO, J. B. Evaluation of the effects of glycerol and sorbitol concentration and water activity on the water barrier properties of cassava starch films through a solubility approach. **Carbohydrate Polymers**, Barking, v.72, n.1, p.82-87, 2008.

NAGASAWA N.; MITOMO H.; YOSHII F.; KUME T. Radiation-induced degradation of sodium alginate. **Polymer Degradation and Stability**, p. 69:279, 2000.

OLIU, O. G.; FORTUNY, S. R.; BELIOSO, M. O. Using polysaccharide-based edible coatings to enhance quality and antioxidant properties of fresh-cut melon. **Food Science and Technology**, p. 41:862-1870, 2008.

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 Food Chemistry**, v.43, p.1432-1435, 1995.

PEREIRA, M. E. C.; SILVA, A. S.; BISPO, A. S. R.; SANTOS, D. B.; SANTOS, S. B.; SANTOS, V. J. Amadurecimento de mamão formosa com revestimento comestível à base de fécula de mandioca. **Ciência e Agrotecnologia**, p. 30(6):1116-1119, 2006.

RINAUDO, M. Chitin and chitosan: properties and applications. **Progress in Polymer Science (Oxford)**, 31, p. 603-632, 2006.

SABATO, S. F. Aplicação da irradiação na formação de filmes comestíveis protéicos. 2000. 107f. Tese (Doutorado em Ciências na Área de Tecnologia Nuclear - Aplicações.) – Universidade de São Paulo, São Paulo, 2000.

SEYMOUR, G. B.; TAYLOR, J. E.; TUCKER, G. A. Biochemistry of fruit ripening. **Chapman and Hall Publishing**, London, pp. 1-454, 1993.

SHIEKH, R. A.; MALIK, M. A.; AL-THABAITI, S. A.; SHIEKH, M. A. Chitosan as a novel edible coating for fresh fruits. **Food Science and Technology Research**, 19, p. 139-155, 2013.

SILVA, L. J. B.; SOUZA, M. L.; NETO, S. E. A.; MORAIS, A. P. Revestimentos alternativos na conservação pós-colheita de maracujá-amarelo. **Revista Brasileira de Fruticultura**, p. 31(4):995-1003, 2009.

SILVA, A. L. F.; ROZA, C. R. da. Uso da Irradiação em Alimentos: Revisão. **B. CEPPA**, v. 8, n. 1, p. 49-56, jan./jun., 2010.

SOBHARWAL, S.; VARSHNEY, L.; CHAUDHARI, A. D.; RAMNANI, S. P. Radiation processing of natural polymer: achievements and trends. **Radiation Processing of Polysaccharides**, International Atomic Energy Agency, Viena, 2004.

SUN, D. Q.; LIANG, G. B.; XIE, J. H.; LEI, X. T.; MO, Y. W. Improved preservation effects of litchi fruit by combining chitosan coating with ascorbic acid treatment during postharvest storage. **African Journal of Biotechnology**, 9, p. 3272-3279, 2010.

SZYMANSKA, E; WINNICKA, K. Stability of chitosan - a challenge for pharmaceutical and biomedical applications. **Marine Drugs**, 13, 1819–1846, 2015.

THARANATHAN, R. N. Biodegradable films and composite coatings: past, present and future. **Trends in Food Science and Technology**, v.14, p.71-78, 2003.

THEIN-HAN, W. W. e KITTYANANT, Y. Chitosan scaffolds for in vitro buffalo embryonic stem-like cell culture: An approach to tissue engineering. **Journal of Biomedical Materials Research Part B: Applied Biomaterials**, v. 80, n. 1, pp. 92-101, 2007.

VELICKOVA, E.; WINKELHAUSEN, E.; KUZMANOVA, S.; ALVES, V. D.; MOLDÃO-MARTINS, M. Impact of chitosan-beeswax edible coatings on the quality of fresh strawberries (*Fragaria ananassa* cv Camarosa) under commercial storage conditions. **LWT - Food Science and Technology**, 52, p. 80-92, 2013.

VIEIRA, E. L.; PEREIRA, M. E. C.; SANTOS, D. B.; LIMA, M. A. C. Aplicação de biofilmes na qualidade da manga ‘Tommy Atkins’. **Magistra**, p. 21(3):165-170, 2009.

JI, J.; WANG, L.; YU, H.; CHEN, Y.; ZHAO, Y.; ZHANG, H.; AMER, W. A.; SUN, Y. **Polymer-Plastics Technology and Engineering** 53, p. 1494–1505, 2014.

YANG, L.; PAULSON, A.T. Mechanical and water vapour barrier properties of edible gellan films. **Food Research International**, v.33, p.563-570, 2000.

YEN, M. T.; YANG, J. H.; MAU, J. L. Antioxidant properties of chitosan from crab shells. **Carbohydrate Polymers**, 74, 840–844, 2008.

YEN, M. T.; YANG, J. H.; MAU, J. L. Physicochemical characterization of chitin and chitosan from crab shells. **Carbohydrate Polymers**, 75, 15–21, 2009.

ZHU, X., WANG Q. M., CAO J. K., JIAN, W. B. Effects of chitosan coating on postharvest quality of mango (*Mangifera indica* L. CV. Tainong) fruits. **Journal of Food Processing and Preservation**, 32(5): 770-784, 2008.

ZAINOL, I.; AKIL, H.M.; MASTOR, A. Effect of gamma irradiation on the physical and mechanical properties of chitosan powder. **Materials Science and Engineering C** 29, 292–297, 2009.

ZOCHE, L. Avaliação da eficiência, aceitação visual e sensorial de acerolas tratadas com biofilmes comestíveis. Medianeira, PR. Trabalho de Conclusão de Curso. Universidade Tecnológica Federal do Paraná, p. 22, 2010.

CAPÍTULO 2:

INFLUÊNCIA DA IRRADIAÇÃO GAMA NAS CARACTERÍSTICAS DO PÓ E SOLUÇÃO DE QUITOSANA

RESUMO

Quitosana é um polímero biodegradável composto de ligações β -(1,4)-D-glucosamina (unidade desacetilada) e N-acetil-D-glucosamina (unidade acetilada). É produzida comercialmente pela desacetilação da quitina, que é um elemento estrutural do exoesqueleto de crustáceos. Com o objetivo de avaliar o efeito da irradiação gama nas propriedades de cor (pelo HunterLab) e morfológicas (pela microscopia eletrônica de varredura - MEV) do pó de quitosana e propriedades de cor e reológicas (reômetro) da solução filmogênica, amostras de pó de quitosana foram irradiadas nas doses de 5, 10 e 15 kGy usando a fonte de ^{60}Co . Foi observado que a radiação gama induz a mudança da intensidade da tonalidade do pó e solução de quitosana, aumentando o tom marrom. Esse fato pode ser atribuído ao aumento da concentração das ligações C=O da quitosana devido à reação da quebra da cadeia e pela reação de Maillard. Essas mudanças são observadas pelos valores decrescentes do delta L* (luminosidade) com o aumento da dose de radiação, e conseqüentemente, um aumento nos valores de delta b* (tom marrom), croma C* e h*, indicando maior intensidade de cor. Os resultados do MEV mostraram que as partículas de quitosana possuem uma rede aglomerada com arranjos irregulares, e as amostras irradiadas apresentaram grânulos menores. Essa deformação do carboidrato acontece porque a irradiação causa quebra na cadeia separando as ligações glicosídicas 1-4, degradando a molécula. A solução foi caracterizada por fluido Newtoniano uma vez que a relação tensão de cisalhamento (τ) *versus* taxa de deformação (γ) se manteve constante, e a irradiação alterou a viscosidade da solução, deixando-a menos viscosa.

Palavras-chaves: quitosana, irradiação gama, cor, morfologia e reologia.

INFLUENCE OF GAMMA IRRADIATION ON THE PROPERTIES OF POWDER AND SOLUTION OF CHITOSAN

ABSTRACT

Chitosan is a biodegradable polymer composed of randomly distributed β -(1,4)-linked D-glucosamine (deacetylated unit) and N-acetyl-D-glucosamine (acetylated unit). It is produced commercially by deacetylation of chitin, which is the structural element in the exoskeleton of crustaceans. In order to evaluate the effect of gamma irradiation on the color properties (by HunterLab) and morphological (by scanning electron microscopy - SEM) of chitosan powder and color and rheological properties (rheometer) of the filmogenic solution, powder samples chitosan were irradiated at doses of 5, 10 and 15 kGy using a ^{60}Co source. It was observed that gamma radiation increases the intensity of the hue of the powder and chitosan solution. This fact can be attributed to the increased concentration of C = O bonds of chitosan due to the breakdown of the chain reaction and the Maillard reaction. These changes are observed by the decreasing values of the delta L* (lightness) with increasing radiation dose, and consequently, an increase in delta b* values (brown color), chroma C* and h*, indicating a greater color strength. The SEM results showed that the chitosan particles have agglomerated irregular network arrangements, and the irradiated samples showed smaller granules. This carbohydrate deformation happens because radiation causes breaks in the chain separating the glycosidic 1-4, degrading the molecule. The solution was characterized by Newtonian fluid as the ratio of shear stress (τ) versus shear rate ($\dot{\gamma}$) is kept constant, and the irradiation changed the solution viscosity, making it less viscous.

Keywords: chitosan, gamma irradiation, color, morphology and rheology.

1 INTRODUÇÃO

Grandes esforços estão sendo tomados para o desenvolvimento de materiais de compostos sustentáveis para os diversos fins industriais devido à sua capacidade de renovação, biodegradabilidade, baixo custo, fonte não vinda do petróleo e baixa liberação de dióxido de carbono (MOON et al., 2011). Assim, polissacarídeos como celulose e quitina são muito importantes pois são os dois polímeros naturais mais abundantes na natureza.

A quitina é o principal componente estrutural do exoesqueleto de crustáceos e de outros invertebrados marinhos. É um polissacarídeo linear constituído por 1,4 n-acetilglucosamina, insolúvel em solventes comuns devido à sua estrutura cristalina e ligações de hidrogênio entre os grupos carbonila, hidroxila e acetamida. A quitosana é obtida a partir da reação de desacetilação da quitina em solução alcalina, e composta por unidades de glucosamina e n-acetilglucosamina (YEN et al., 2009). É insolúvel em água, mas dissolve em soluções aquosas de ácidos orgânicos, como acético, fórmico, cítrico, além de ácidos inorgânicos, como clorídrico, resultando em soluções viscosas capazes de formar filmes.

A quitosana tem sido muito estudada pois possui uma grande variedade de aplicações devido à sua biocompatibilidade, biodegradabilidade, mucoaderência e é derivada de biomassa abundante e barata (SZYMANSKA e WINNICKA, 2015). Nas indústrias de alimentos são utilizadas como estabilizantes, espessantes, no tratamento de água e são facilmente processadas em nanofibras, géis, nanopartículas e filmes (YEN et al., 2008).

A radiação gama é um método de modificar as propriedades de materiais poliméricos biodegradáveis (CHOI et al, 2002). Irradiação é um fenômeno físico o qual há interação das ondas eletromagnéticas com a matéria, que ionizam átomos ou moléculas induzindo reações químicas que podem interromper os processos celulares, orgânicos ou fisiológicos e provocar o efeito desejado. A sua finalidade é aumentar a estabilidade de armazenamento através da redução de microrganismos, da eliminação de parasitas ou insetos, ou o bloqueio da atividade enzimática (FDA, 2016). Apresentam também vantagens ao ser aplicadas em polímeros uma vez que pontes fortes entre as macromoléculas podem ser formadas, havendo reticulação das proteínas promovendo melhora nas propriedades mecânicas e de barreira dos

materiais (CHANTRA et al., 2006).

Polímeros apresentam dois principais efeitos quando são irradiados: reticulação e degradação ou quebra da cadeia polimérica (SOBHARWAL et al., 2004). Dependendo da estrutura do polímero, da concentração, da dispersão do agente reticulador e das condições da irradiação (dose, temperatura e atmosfera), um desses processos é favorecido (MARTÍNEZ et al., 2010). Esses são métodos que modificam o material de acordo com suas possíveis aplicações, especialmente a redução do peso molecular da quitosana sem perder sua estrutura química (GRYCZKA et al., 2009). Essa redução do peso molecular está associado ao aumento das atividades antioxidantes e antimicrobianas da quitosana (GARCIA et al., 2015).

Dessa forma, o estudo teve como objetivo avaliar o efeito da irradiação nas propriedades de cor e morfológicas do pó de quitosana e propriedades de cor e reológicas da solução filmogênica.

2 MATERIAIS E MÉTODOS

2.1 MATERIAIS

A quitosana em pó foi adquirida da empresa Polymar, situada em Fortaleza (CE) e possui peso molecular médio e grau de desacetilação de 85%.

O experimento foi realizado no Laboratório de Frutas e Hortaliças da Universidade Federal do Tocantins, Palmas/TO, (análise de cor e preparo da solução filmogênica) e no Laboratório Multiusuário da Universidade Federal de Goiás, Goiânia/ GO (microscopia eletrônica de varredura e reologia).

2.2 MÉTODOS

2.2.1 Irradiação da quitosana

O pó de quitosana foi dividido em quatro porções, de pesos iguais, e acondicionados em sacos de polietileno. Foram submetidos à doses de 0 (controle); 5, 10 e 15 kGy, utilizando o irradiador comercial com fonte de ^{60}Co com taxa de irradiação de 0,6 kGy/hora. A irradiação foi feita no Centro de Energia Nuclear na Agricultura (CENA/USP), localizado em Piracicaba (SP). A amostra controle (0 kGy) foi mantida nas mesmas condições, sem irradiação.

2.2.2 Solução de quitosana filmogênica

Foram preparadas soluções filmogênicas de quitosana com concentrações de 1% e 2%. Foram adicionados 5g e 10g de quitosana, respectivamente, em 25 mL de ácido acético glacial e o restante de água destilada até completar 500mL para dissolver a quitosana. A solução ficou em constante agitação no Turrax por 1 hora ou até completa dissolução.

2.2.3 Caracterização do pó de quitosana

2.2.3.1 Cor

O sistema CIE foi utilizado para calcular os parâmetros: luminosidade (L^*), de preto (0) até branco (100); a^* (intensidade da cor verde a vermelho) e b^* (intensidade da cor amarelo a azul). Os parâmetros de cor foram determinados através do software do equipamento. Em cada amostra, cinco leituras foram realizadas.

Também foram calculados o índice croma (C^*), considerado atributo quantitativo de cor (Equação 1) e hue (h^*), considerado o atributo qualitativo de cor (Equação 2).

$$C = (a^{*2} + b^{*2})^{1/2} \quad (1)$$

$$h = \tan^{-1} \left(\frac{b^*}{a^*} \right) \quad (2)$$

2.2.3.2 Microscopia eletrônica de varredura (MEV)

As amostras analisadas foram colocadas em suporte de alumínio ou “stubs” com fita adesiva dupla-face, em seguida, foram levadas para câmara metalizadora (SCO –040 Marca Balzers), onde foram revestidas com uma capa de ouro. A microscopia eletrônica de varredura foi realizada no microscópio eletrônico (JEOL – JSM 6610, Japão), utilizando-se um acelerador de voltagem de 2,5kV.

2.2.4 Caracterização da solução filmogênica de quitosana

2.2.4.1 Cor

O sistema CIE foi utilizado para calcular os parâmetros: luminosidade (L^*), de preto (0) até branco (100); a^* (intensidade da cor verde a vermelho) e b^* (intensidade da cor amarelo a azul). Os parâmetros de cor foram determinados através do software do equipamento. Em cada amostra, cinco leituras foram realizadas.

Também foram calculados o índice croma (C^*), considerado atributo quantitativo de cor (Equação 1) e hue (h^*), considerado o atributo qualitativo de cor (Equação 2).

$$C = (a^{*2} + b^{*2})^{1/2} \quad (1)$$

$$h = \tan^{-1} \left(\frac{b^*}{a^*} \right) \quad (2)$$

2.2.4.2 Reologia

O comportamento reológico foi determinado por Reômetro (Anton Paar - Physica MCR101), computadorizado. Os parâmetros utilizados para caracterização do fluido foram temperatura constante de 25°C com a variação da taxa de deformação de 1 a 500 s⁻¹, com sistema homogêneo cone-placa 50, para determinação do perfil de escoamento, com a obtenção de 50 pontos.

Para a confirmação do comportamento de fluido Newtoniano, aplicou-se a regressão linear para ajustar os dados de tensão de cisalhamento e taxa de deformação conforme a equação (1) (BRAUN E ROSEN, 2000):

$$\tau = \eta \dot{\gamma} \quad (1)$$

Onde τ = tensão de cisalhamento (Pa), η = viscosidade do fluido (Pa.s) e $\dot{\gamma}$ = taxa de deformação (s⁻¹).

2.2.3 Análise estatística

A análise estatística dos resultados foi efetuada pelo teste de Tukey ($p \leq 0,05$), utilizando o programa estatístico SISVAR 5.6 (FERREIRA, 2008).

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 PÓ DA QUITOSANA

3.1.1 COR

A cor é um atributo visual resultante da luz emitida, transmitida ou refletida pelos objetos. A cor caracteriza o aspecto global do objeto em questão e qualquer alteração ocorrida na sua estrutura ou composição tende a se refletir neste atributo. O sistema CIELCh é uma representação polar do sistema de coordenadas retangulares (CIELab) e utiliza três coordenadas para localizar a cor em um espaço colorido em termos de luminosidade (L^*), saturação (croma, C^*) e tonalidade da cor (ângulo *hue*, h^*) (NEMTANU, 2008). A tabela 2.1 apresenta os resultados da cor do pó da quitosana com as três doses de radiação aplicadas, comparando com a amostra controle sem irradiação.

Tabela 2.1. Efeito da irradiação na cor do pó de quitosana.

Parâmetro	Pó			
	Dose (kGy)			
	0	5	10	15
L^*	77,49 ^{a*} ±0,06	65,86 ^b ±0,08	64,29 ^{b,c} ±0,04	62,55 ^c ±0,06
a^*	1,18 ^a ±0,05	0,93 ^b ±0,05	0,75 ^c ±0,06	0,38 ^d ±0,08
b^*	15,58 ^b ±0,03	18,83 ^a ±0,05	18,50 ^a ±0,06	18,58 ^a ±0,03
C^*	15,62 ^b ±0,01	18,85 ^a ±0,04	18,51 ^a ±0,06	18,58 ^a ±0,04
h^*	85,67 ^a ±0,02	87,17 ^a ±0,03	87,67 ^a ±0,03	88,83 ^a ±0,01

*Letras minúsculas diferentes indicam diferença significativa ($p < 0,05$) entre as colunas (doses).

Foi observado que a luminosidade L^* diminui conforme a dose de radiação aumenta, apresentando diferença significativa ($p < 0,05$) entre as amostras controle e as irradiadas. Essa alteração no tom da quitosana se deve às mudanças químicas e

biológicas que a molécula sofre com o processo (ZAINOL et al., 2009). Observa-se também que os valores de croma a^* próximos a 0 indicam que o pó não apresentam tendência às cores verde e vermelha.

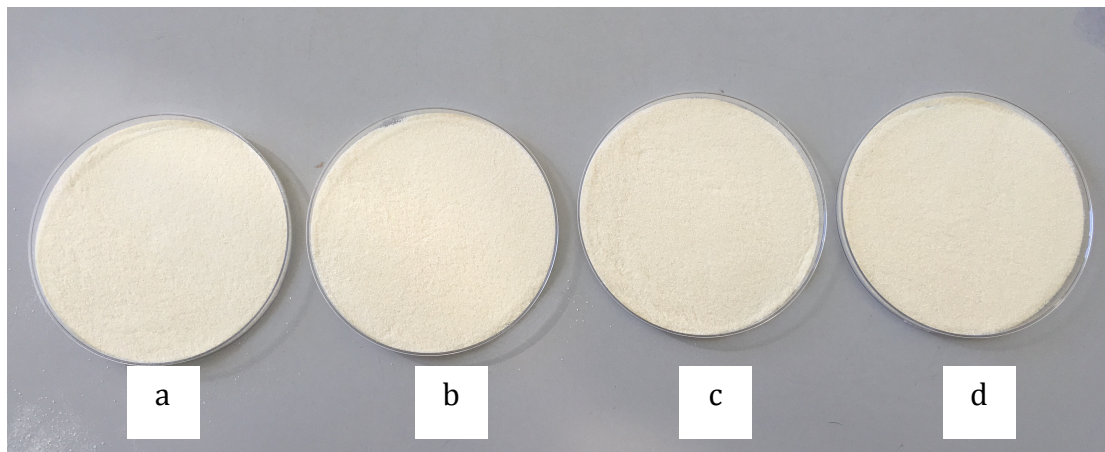


Figura 2.1. Efeito da radiação gama na cor do pó de quitosana (a) sem irradiação, (b) dose de 5 kGy, (c) dose de 10 kGy e (d) dose de 15 kGy.

A irradiação promoveu incremento nos valores de croma b^* , apresentando uma coloração amarela mais intensa tendendo ao marrom. Esse fato pode ser atribuído ao aumento da concentração das ligações $C=O$ da quitosana após a irradiação devido à reação da quebra da cadeia. No entanto, a diferença significativa foi detectada somente entre as amostras controle e as irradiadas, não apresentando, portanto, diferença nos valores de b^* entre as doses 5, 10 e 15 kGy de radiação. Além disso, o tom marrom mais forte foi associado à reação de Maillard ocorrida durante a irradiação, que, segundo Chawla et al., (2009), ocorre a degradação dos açúcares, e durante esta degradação há a formação de compostos que absorvem uma energia emitida gerando compostos de coloração marrom. A partir da espectroscopia de infravermelho, Lim et al. (1998) observaram que a quitosana irradiada a uma dose alta de 560 kGy indicou a formação de grupos carbonilo e carboxilo, juntamente com o decaimento da $C1\{O\{C4$, OH e grupos NH_2 , resultando na reação de Maillard entre os grupos NH_2 e OH, indicando mais uma vez a coloração mais amarelada do pó irradiado.

A irradiação provocou aumento significativo no valor do croma C^* , quando comparado ao pó de quitosana sem irradiação, variando de 15,62 da amostra controle a 18,58 com 15 kGy (Figura 2.1). No entanto, entre as doses de radiação não houve variação significativa do C^* , portanto a dose mais indicada, no quesito cor, é a de 5 kGy.

De acordo com Granato e Masson (2010), quanto maior os valores de croma, maior é a intensidade da cor das amostras. O índice croma foi fortemente influenciado pelos valores b^* , seguindo a mesma tendência que estes, ou seja, a irradiação intensificou a coloração amarelada do pó tendendo ao marrom.

Os valores de h^* variaram de $85,67^\circ$ para $88,83^\circ$, sem irradiação e com dose de 15 kGy, respectivamente, o que significa que as amostras são amarelas. O tom das amostras se intensificou com o aumento das doses de radiação, no entanto não houve diferença significativa ($p>0,05$) que comprove a influência da irradiação nesse parâmetro.

Em aplicações na área de tecnologia de alimentos, a aparência é considerada um dos estímulos mais importantes, pois acredita-se que se o produto não apresentar um aspecto atraente, muito provavelmente o consumidor não avaliará as outras características como o sabor e a textura. A irradiação neste caso não apresentou alterações visíveis que depreciariam o produto, podendo o material ser utilizado para biofilmes e embalagens comestíveis em frutas e outros alimentos.

3.1.2 MICROSCOPIA ELETRÔNICA

A caracterização microscópica do pó de quitosana é importante quando uma melhor compreensão do comportamento da irradiação é desejada. A visualização a partir da microscopia eletrônica de varredura permite verificar o quão homogênea é a estrutura do pó. As imagens são mostradas na Figura 2.2, com aumento de 150x e 2500x, nas três doses de radiação recebidas, comparadas com a amostra controle não irradiada.

Os resultados do MEV mostraram que as partículas de quitosana possuem uma rede aglomerada com arranjos irregulares. As amostras de pó irradiadas se diferenciaram levemente das demais, apresentando grânulos menores. De acordo com RASHID et al., (2012) após a irradiação, uma deformação no carboidrato tende a ocorrer porque a irradiação causa quebra na cadeia separando as ligações glicosídicas 1-4, tornando-as oligômeros com cadeias com número pequeno de unidades repetitivas.

As vantagens que a irradiação apresentam ao degradar a molécula da quitosana são: reduz o peso molecular, que está associado ao aumento das atividades

antioxidantes e antimicrobianas da quitosana (GARCIA et al., 2015), produzem oligo quitosana em larga escala, que possuem várias funções fisiológicas (CHOI et al., 2002), além de ser um processo relativamente simples, ecologicamente apropriado e possui custos menores que os métodos físicos e químicos (HAJI-SAEID et al., 2010).

Resultados semelhantes foram encontrados por Dotto et al., (2011), que concluíram que as moléculas de quitosana são degradadas com a aplicação da radiação gama. Eles observaram a quitosana como um pó fino e homogêneo, e que a partícula de quitosana obtida após a irradiação possuía uma superfície porosa heterogênea. Esta estrutura porosa do pó é principalmente constituída de macro poros, característica importante nas aplicações da quitosana, tais como, corantes de adsorção (DOTTO e PINTO, 2011) e filmes ativos biodegradáveis (AIDER, 2010).

Rashid et al. (2012) estudaram a microscopia das moléculas de quitosana não irradiadas e irradiadas nas doses de 100 kGy. Eles também observaram que as partículas não irradiadas são aglomeradas, havendo quebra nas cadeias da quitosana após a irradiação, obtendo moléculas com arranjos irregulares. Revelaram que a irradiação causa degradação na molécula da quitosana, resultando em uma superfície com estrutura de partículas mais dispersa e com presença de bolhas.

Essa degradação que ocorre na molécula da quitosana é vantajosa pois dá origem a novos grupos funcionais nas unidades de base da quitosana. A irradiação induz a formação de radicais e podem ocorrer aleatoriamente em qualquer átomo de carbono das unidades de base da quitosana. As reações de radicais em C₁ ou C₄ levam à divisão da ligação glicosídica 1-4, causando cisão da cadeia principal (CHEN e HWA, 1996). Portanto, ao alterar a estrutura da cadeia da quitosana, os novos grupos funcionais influenciam na orientação e interação da cadeia, conforme estudos de ROSIAK et al., (1992). Esse comportamento foi visualizado no MEV aqui apresentado, sendo que as amostras de pó irradiadas apresentaram moléculas menores e mais dispersas.

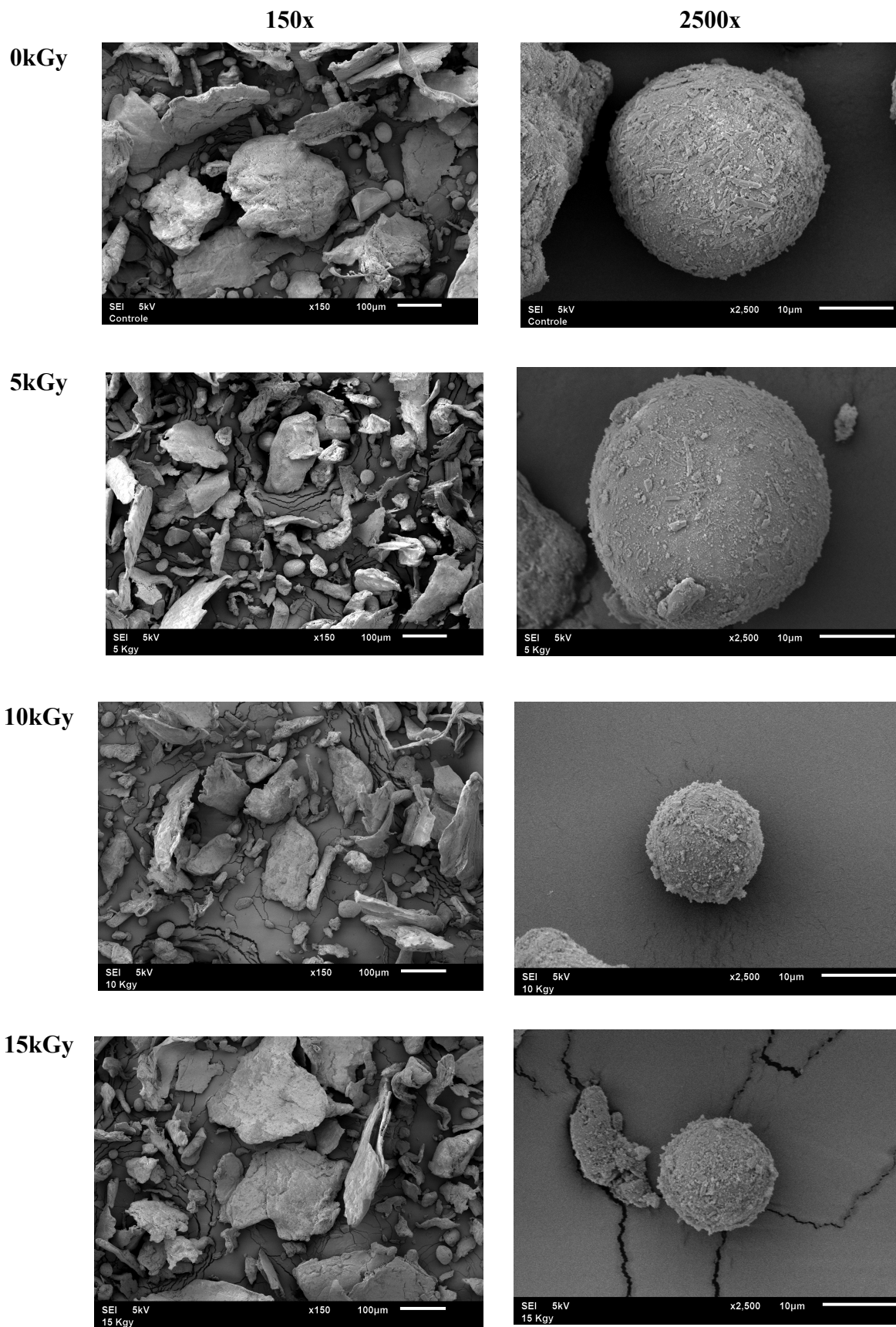


Figura 2.2. Microscopia eletrônica de varredura do pó de quitosana irradiada.

3.2 SOLUÇÃO FILMOGÊNICA

3.2.1 COR

Os parâmetros da cor da solução filmogênica da quitosana estão apresentados na Tabela 2.2. Houve diferença significativa ($p < 0,05$) de todos os parâmetros analisados tanto entre as doses de radiação quanto das concentrações de quitosana. Uma grande influência da irradiação foi identificada no tom das soluções, tornando as mais escuras. A amostra com dose de 15 kGy de radiação apresentou maiores valores de croma C^* e h^* , e está de acordo com os valores obtidos do pó, comprovando que quanto maior a dose da radiação, mais forte é o tom amarelo da amostra.

Tabela 2.2. Efeito da radiação gama na cor da solução filmogênica de quitosana.

Parâmetro	Solução				
	Concentração (%)	Dose (kGy)			
		0	5	10	15
L^*	1	29,38 ^{c*B**} ±0,01	29,47 ^{bcB} ±0,08	31,21 ^{aA} ±0,03	29,53 ^{bB} ±0,01
	2	35,62 ^{aA} ±0,02	34,16 ^{bA} ±0,02	31,86 ^{cA} ±0,03	34,31 ^{bA} ±0,04
a^*	1	-0,33 ^{aA} ±0,01	-0,40 ^{bA} ±0,02	-0,52 ^{cA} ±0,02	-0,36 ^{abA} ±0,03
	2	-0,80 ^{bb} ±0,06	-0,90 ^{cb} ±0,01	-0,65 ^{ab} ±0,01	-0,89 ^{cb} ±0,02
b^*	1	1,19 ^{dA} ±0,03	1,38 ^{cb} ±0,02	1,56 ^{bb} ±0,03	1,76 ^{ab} ±0,05
	2	1,83 ^{db} ±0,02	2,19 ^{cA} ±0,02	2,47 ^{aA} ±0,007	2,39 ^{bA} ±0,02
C^*	1	1,28 ^{cA} ±0,03	1,39 ^{bb} ±0,04	1,65 ^{ab} ±0,04	1,65 ^{ab} ±0,05
	2	2,02 ^{cb} ±0,03	2,37 ^{bA} ±0,02	2,54 ^{aA} ±0,003	2,54 ^{aA} ±0,02
h^*	1	74,54 ^{bA} ±0,32	73,25 ^{bA} ±0,86	71,38 ^{cb} ±0,64	78,21 ^{aA} ±1,25
	2	65,27 ^{db} ±0,29	67,64 ^{cb} ±0,2	74,94 ^{aA} ±0,35	69,45 ^{bB} ±0,28

*Letras minúsculas diferentes indicam diferença significativa ($p < 0,05$) entre as colunas (doses).

**Letras maiúsculas diferentes indicam diferença significativa ($p < 0,05$) entre as linhas (concentração).

Resultados similares foram encontrados com Choi et al. (2002), que trabalharam com quitosana irradiada nas doses de 30, 50, 100 e 200 kGy e observaram que o tom da solução ficou marrom escuro conforme o aumento da dose. Concluíram que acima de 100 kGy, o tom não era mais desejável. Nagasawa et al. (2000) investigou os efeitos da irradiação na mudança da cor do alginato e concluiu que o aumento do tom marrom é devido à formação de duplas

ligações na quebra da cadeia da molécula. Zainol et al. (2009) obteve resultados semelhantes, irradiou a quitosana nas doses 10, 25, 50 e 100 kGy e reportou um aumento no tom conforme o aumento da dose.

3.2.1 REOLOGIA

O comportamento reológico das soluções filmogênicas de quitosana controle (0 kGy) e das amostras irradiadas nas doses de 5, 10 e 15 kGy, baseado no modelo de Braun e Rosen (2000), onde se relaciona a tensão de cisalhamento pela taxa de deformação do fluido está representado nas figuras 2.3 e 2.4, com concentrações de 1% e 2% de quitosana, respectivamente, com temperatura constante à 25°C.

Verificou-se que todas as amostras assumiram o comportamento de fluido newtoniano, uma vez que a relação tensão de cisalhamento (τ) *versus* taxa de deformação ($\dot{\gamma}$) se manteve constante. Os coeficientes de determinação, R^2 , que é a medida de ajuste da regressão linear, apresentaram valores próximos a 1, logo o modelo é explicativo e se ajusta perfeitamente às amostras. Os valores encontrados de R^2 para a amostra controle foi 0,998 e para as amostras irradiadas com as diferentes doses foram 0,999, para ambas concentrações de quitosana.

As curvas de escoamento foram caracterizadas por curvas sobrepostas com as medidas da tensão de cisalhamento em função de valores crescentes e decrescentes da taxa de cisalhamento. Como não houve aparecimento de duas curvas distintas, significa que não houve alteração da estrutura do material com o aumento gradativo da taxa de cisalhamento, o que aconteceria se ao alcançar o valor máximo da taxa de cisalhamento, a taxa começaria a diminuir com o relaxamento da estrutura do material. Esse comportamento também foi visualizado por Torres (2006).

Percebe-se que apesar de todas as amostras apresentarem comportamento de fluido newtoniano, as amostras tratadas com radiação gama apresentaram características semelhantes entre si, sobrepondo suas retas (Figura 2.3), porém se diferenciaram da amostra padrão (0 kGy), a qual apresentou maior tensão de cisalhamento.

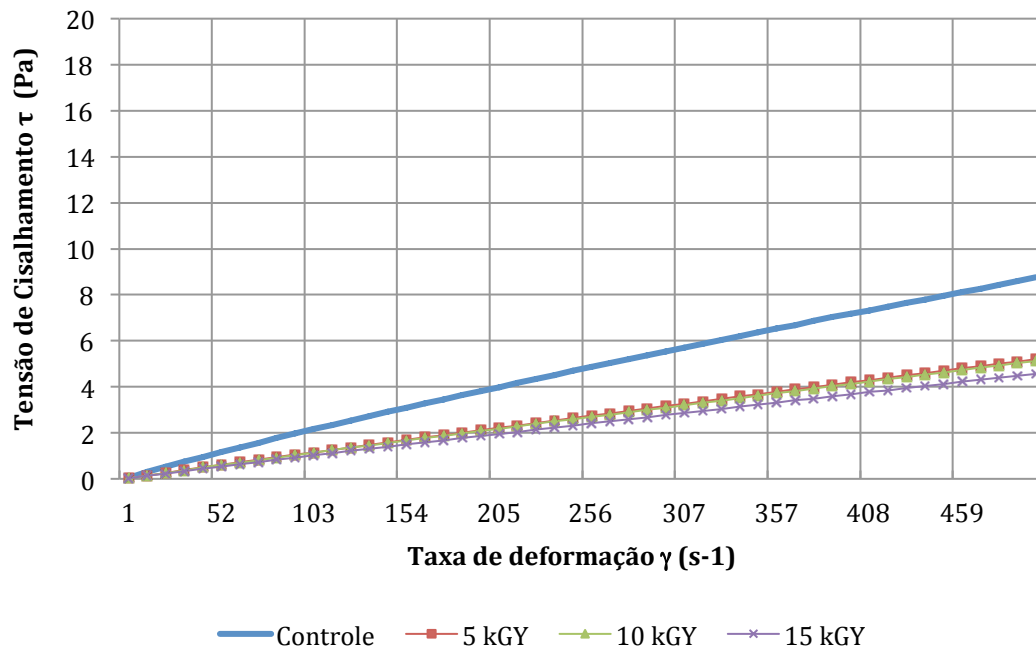


Figura 2.3. Comportamento reológico das soluções de 1% de quitosana tratadas com radiação gama nas doses 0, 5, 10 e 15 kGy.

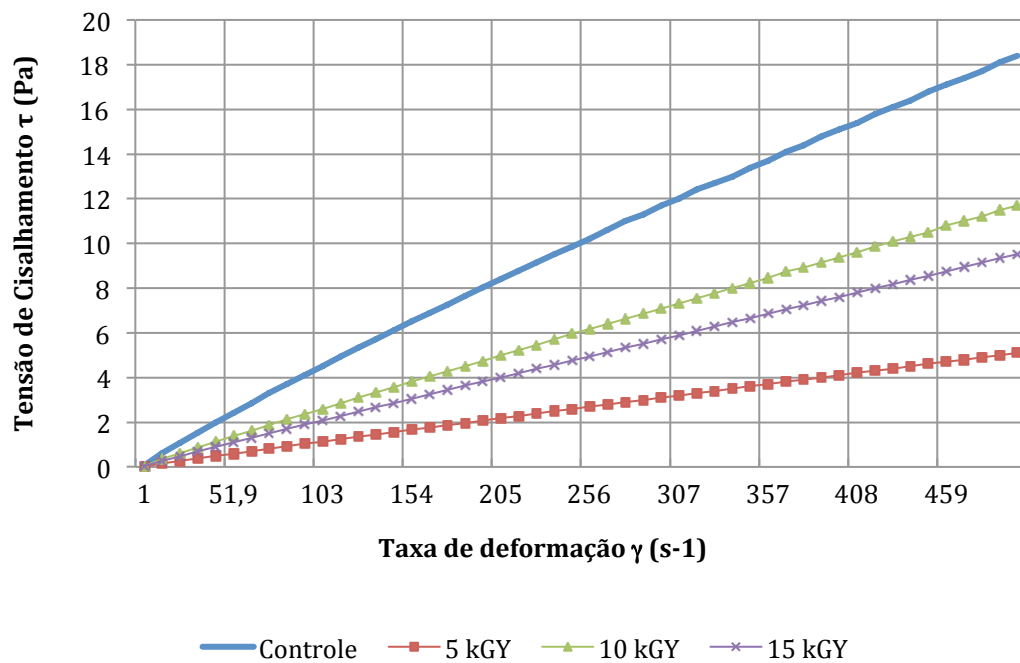


Figura 2.4. Comportamento reológico das soluções de 2% de quitosana tratadas com radiação gama nas doses 0, 5, 10 e 15 kGy.

A amostra padrão apresentou valores maiores de tensão de cisalhamento conforme a taxa de cisalhamento aumentava, sendo que no final de 500s^{-1} , a tensão foi de 8,8 Pa enquanto as amostras irradiadas apresentaram valores de 5,2; 5,13 e 4,57 Pa, respectivamente as doses de radiação 5, 10 e 15 kGy. Portanto, verificou-se que a radiação gama foi capaz de modificar tal relação, podendo ser citada como um fator que pode influenciar na viscosidade do fluido, diminuindo a resistência ao escoamento do fluido.

As curvas de viscosidade representativas do comportamento viscoso das amostras de quitosana também foram estudadas nas duas concentrações, e estão representadas nas figuras 2.5 e 2.6. Elas seguiram comportamento análogo entre si, caracterizadas pela diminuição da viscosidade de cisalhamento conforme o aumento progressivo da taxa de deformação. Ou seja, a resistência ao fluxo foi diminuindo ao longo da taxa de deformação.

De acordo com os resultados foi observado que a taxa de deformação é inversamente proporcional à viscosidade, devido ao aumento da taxa de deformação que favorece o alinhamento das moléculas na direção do fluxo. Na concentração de 1% de quitosana, as curvas das amostras irradiadas praticamente sobrepõem entre as mesmas, diferenciando apenas da amostra controle. No entanto a amostra não irradiada apresenta praticamente o dobro da viscosidade de cisalhamento, ou seja, $0,02\text{ Pa}\cdot\text{s}^{-1}$ contra $0,01\text{ Pa}\cdot\text{s}^{-1}$ das irradiadas.

As amostras irradiadas apresentaram comportamento diferenciado se comparadas com a curva das amostras com concentração de 2% de quitosana, pois não ficaram sobrepostas entre elas. A amostra que sofreu a menor dose de radiação, de 5 kGy, apresentou a menor viscosidade de cisalhamento, $0,01\text{ Pa}\cdot\text{s}^{-1}$, e a amostra controle que não sofreu irradiação apresentou a maior viscosidade, $0,04\text{ Pa}\cdot\text{s}^{-1}$, depois de estabilizada. As amostras com doses de radiação de 10 kGy e 15 kGy apresentaram, respectivamente, viscosidades de 0,025 e $0,02\text{ Pa}\cdot\text{s}^{-1}$.

A dose de 5 kGy possui um efeito bem marcante, diferenciando das demais. Relacionando os resultados de cor e MEV obtidos, observamos que esta dose é a mais indicada para aplicação e obtenção de melhores resultados.

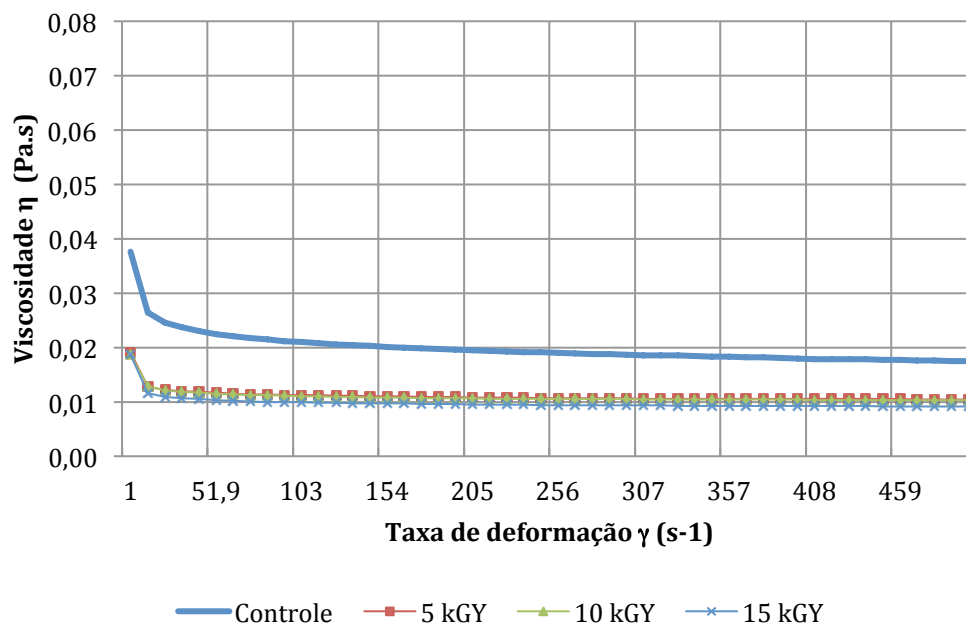


Figura 2.5. Viscosidade das soluções de 1% de quitosana tratadas com radiação gama nas doses 0, 5, 10 e 15 kGy.

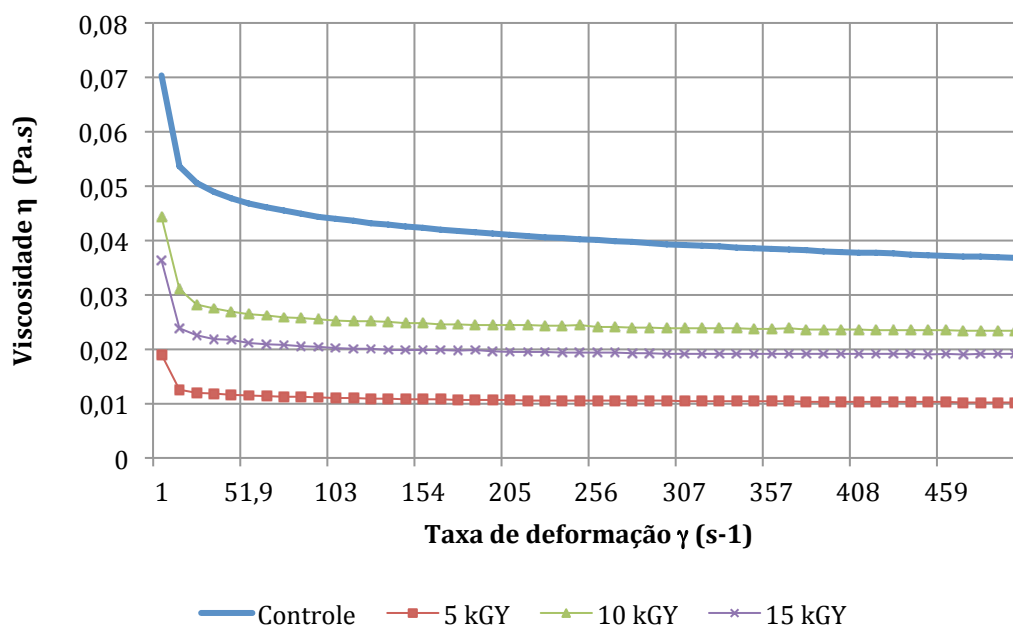


Figura 2.6. Viscosidade das soluções de 2% de quitosana tratadas com radiação gama nas doses 0, 5, 10 e 15 kGy.

A energia ionizante da radiação quebra a cadeia da quitosana nas ligações 1-4, produzindo oligo quitosana com baixa peso molecular, o que faz com que a viscosidade da solução decresça. Um decréscimo na taxa de viscosidade por causa da irradiação também foi observado por Choi et al. (2002), sendo que até a dose de 10 kGy, a viscosidade diminuiu rapidamente e depois foi diminuindo gradualmente até 200 kGy.

As curvas das figuras 2.5 e 2.6 indicaram que a viscosidade é alterada pela concentração de quitosana, e resultados semelhantes foram apresentados por Torres (2006). As curvas com a solução de quitosana com concentração de 2% partem de valores de viscosidade maiores, ou seja, possuem maiores resistências ao escoamento, devido a maior área de contato entre as moléculas presentes na amostra dificultando o seu desembaraçamento, o que leva a uma maior restrição na liberdade de movimento das cadeias individuais.

El-Hefian et al., (2010) estudaram a relação entre a viscosidade (com a taxa de deformação constante) e temperatura com concentração de 1% de quitosana. O resultado mostrou um gráfico linear ($R^2 = 0,947$), onde a viscosidade da solução da quitosana em ácido acético diminui significativamente com o aumento da temperatura. A viscosidade variou de $0,093 \text{ Pa}\cdot\text{s}^{-1}$ à 20°C para $0,042 \text{ Pa}\cdot\text{s}^{-1}$ à 50°C . Esse decréscimo linear é atribuído ao aumento no movimento térmico do polímero com a temperatura. Neste trabalho não avaliamos a variação da viscosidade em função da temperatura, no entanto a 25°C , a viscosidade obtida foi de $0,04 \text{ Pa}\cdot\text{s}^{-1}$ (Figura 5), valor inferior que do trabalho acima citado.

CONCLUSÃO

A irradiação provocou um efeito mais intenso na tonalidade do pó e da solução filmogênica de quitosana. A microscopia eletrônica revelou degradação da molécula e formação de grânulos menores e arranjos irregulares, evidenciando o efeito da irradiação. A solução apresentou comportamento de fluido Newtoniano e a irradiação promoveu uma diminuição na viscosidade.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AIDER, M. Chitosan application for active bio-based films production and potential in the food industry: review. **LWT Food Science and Technology**, 43, pp. 837–842, 2010.
- BRAUN, D. B.; ROSEN, R. R.; **Rheology Modifiers Handbook: Pratical Use & Application**. Willian Andrew Publishing, 2000.
- CHANTRA, T. R; ABDULLA, Z.; ISMAIL, H. Electron beam irradiation of EVA/ENR. **Blend. Polymer -Plastics Technology and Engineering**, Glen Allen, v. 45, n. 4, p. 555–559, 2006.
- CHAWLA, S.P.; CHANDER, R.; SHARMA, A. Antioxidant properties of Maillar reaction products obtained by gamma-irradiation of whey proteins. **Food Chemistry**, Great Britain, v. 116, n. 1, p. 122-128, 2009.
- CHEN, R. H.; HWA, H. D. Effect of molecular weight of chitosan with the same degree of deacetylation on the thermal, mechanical and permeability properties of the prepared membrane. **Carbohydrate Polymers**. 29:353–358, 1996.
- CHOI, W. -S.; AHN, K. -J.; LEE, D. -W.; BYUN, M. -W.; PARK, H. -J. **Polymer Degradation and Stability**, v. 78, p. 533–538, 2002.
- DOTTO, G. L; PINTO, L. A. A. Adsorption of food dyes onto chitoosan: optimization process and kinetic. **Carbohydrate Polymers**, 84, p. 231- 238, 2011.
- DOTTO, G. L; SOUZA, V. S.; PINTO, L. A. A. Drying of chitosan in a spouted bed: The influence of temperatura and equipment geometry in powder quality. **LWT Food Science and Technology**, v. 44, p. 1786-1792, 2011.
- EL-HEFIAN, E. A.; ELGANNOUDI, E. S.; MAINAL, A.; YAHAYA, A. H. Characterization of chitosan in acetic acid: Rheological and thermal studies. **Turkish Journal of Chemistry**, 47-56, 2010.
- FDA, U.S. Food and Drug Administration. Center for Food Safety and Applied Nutrition's Food and Cosmetic, 2016. Disponível em: <http://www.fda.gov/educationresourcelibrary>.
- FERREIRA, D. F. SISVAR: um programa para análises e ensino de estatística. **Revista Symposium** (Lavras), v. 6, p. 36-41, 2008.
- GARCIA, M.A.; PÉREZ, L.; PAZ, N.; GONZÁLEZ, J.; RAPADO, M.; CASARIEGO, A. Effect of molecular weight reduction by gamma irradiation on chitosan film properties. **Materials Science and Engineering C**, 174-180, 2015.
- GRANATO, D.; MASSON, M. L. Instrumental color and sensory acceptance of soy-based emulsions: a response surface approach. **Ciência e Tecnologia de Alimentos. Campinas**, vol. 30, n. 4, p. 1090-1096, 2010.
- GRYCZKA, U.; DONDI, D.; CHMIELEWSKI, A.G.; MIGDAL, W.; BUTTAFAVA, A.;

FAUCITANO, A. The mechanism of chitosan degradation by gamma and e-beam irradiation. **Radiation Physical Chemistry** 78 (7–8), 543–548, 2009.

HAJI-SAEID, M.; SAFRANY, A.; SAMPA, M.H.O.; RAMAMOORTHY, N. Radiation processing of natural polymers: the IAEA contribution. **Radiation Physical Chemistry**, 79, 255–260, 2010.

LIM, L. Y.; KHOR, E.; KOO, O. Gamma irradiation of chitosan. **Journal of biomedical materials research (Applied biomaterials)** 43, 282-290, 1998.

MARTÍNEZ, M.E.; BENAVIDES, R.; CARRASCO, H. Efecto de la radiación ionizante en polímeros [en línea]. **Contribuciones del Instituto Nacional de Investigaciones Nucleares al avance de la Ciencia y la Tecnología**, México , 2010.

MOON, R.J.; MARTINI, A.; NAIRN, J.; SIMONSEN, J.; YOUNGBLOOD, J. Cellulose nanomaterials review: structure: properties and nanocomposites. **Chemical Society Reviews**, 40, p. 3941-3994, 2011.

NAGASAWA N.; MITOMO H.; YOSHII F.; KUME T. Radiation-induced degradation of sodium alginate. **Polymer Degradation and Stability**, p. 69:279, 2000.

NEMTANU, M. R. Influence of the electron beam irradiation on the colorimetric attributes of starches. **Romanian Journal of Physics**, v.53, n.7-8, p.873-879, 2008.

RASHID, T. U.; RAHMAN, M. M.; KABIR, S.; SHAMSUDDIN, S. M.; KHAN, M. A. A new approach for the preparation of chitosan from Y-irradiation of prawn shell: effects of irradiation on the characteristics of chitosan. **Polymint**, 61: 1302-1308, 2012.

ROSIK, J.; ULANSKI, P.; KUCHARSKA, M.; DUTKIEWICZ, J.; JUD- KIEWICZ, L. Radiation sterilization of chitosan sealant for vascular prostheses. **Journal Radioanalytical and Nuclear Chemistry**. 1:87–96, 1992.

SOBHARWAL, S.; VARSHNEY, L.; CHAUDHARI, A. D.; RAMNANI, S. P. Radiation processing of natural polymer: achievements and trends. **Radiation Processing of Polysaccharides**, International Atomic Energy Agency, Viena, 2004.

SZYMANSKA, E; WINNICKA, K. Stability of chitosan - a challenge for pharmaceutical and biomedical applications. **Marine Drugs**, 13, 1819–1846, 2015.

TORRES, M. A.; BEPPU, M. M.; SANTANA, C. C.; ARRUDA, E. J. Viscous and viscoelastic properties os chitosan solutions and gels. **Brazilian Journal of Food Technology**, v. 9, n. 2, p. 101- 108, 2006.

YEN, M. T.; YANG, J. H.; MAU, J. L. Antioxidant properties of chitosan from crab shells. **Carbohydrate Polymers**, 74, 840–844, 2008.

YEN, M. T.; YANG, J. H.; MAU, J. L. Physicochemical characterization of chitin and chitosan from crab shells. **Carbohydrate Polymers**, 75, 15–21, 2009.

ZAINOL, I.; AKIL, H. M.; MASTOR, A. Effect of gamma irradiation on the physical and mechanical properties of chitosan powder. **Materials Science and Engineering C** 29, 292–297, 2009.

CAPÍTULO 3:

FILMES BIODEGRADÁVEIS A BASE DE QUITOSANA IRRADIADA

RESUMO

Filmes são estruturas pré-formadas, independentes, que são utilizadas para envolver o alimento após o seu processamento, aumentando seu período de conservação e conferindo aparência brilhante e atraente. São preparados a partir de materiais biológicos como alternativa às embalagens plásticas sintéticas para melhorar a qualidade do meio ambiente. A quitosana é um polímero biodegradável composto de ligações β -(1,4)-D-glucosamina (unidade desacetilada) e N-acetil-D-glucosamina (unidade acetilada). É produzida comercialmente pela desacetilação da quitina, que é um elemento estrutural do exoesqueleto de crustáceos. Ela é capaz de formar matrizes contínuas e, que através de diversas técnicas de produção, podem ser transformadas em filmes e revestimentos comestíveis e/ou biodegradáveis. Com o objetivo de avaliar o efeito das diferentes doses de radiação gama (0, 5, 10 e 15 kGy) e das concentrações de quitosana (1 e 2%) nas propriedades do filme, foi avaliado suas propriedades ópticas, morfológicas e mecânicas. Os filmes foram produzidos pelo método de *casting*. A irradiação não alterou a espessura dos filmes, porém influenciou os parâmetros ópticos, intensificando a tonalidade dos filmes para uma cor amarelada mais forte. Os filmes irradiados apresentaram superfície mais lisa e menos rugosa. Os filmes não apresentaram boa flexibilidade e alongamento.

Palavras-chaves: filmes biodegradáveis, quitosana, irradiação gama, propriedades ópticas, morfológicas e mecânicas.

IRRADIATION GAMMA ON CHITOSAN FILMS

ABSTRACT

Films are preformed structures, independent, that are used to wrap food after processing, increasing their shelf life and enhancing its bright and attractive appearance. They are prepared from biological materials as an alternative to the plastic synthetic containers to improve the quality of the environment. Chitosan is a biodegradable polymer composed of β -(1-4) linked D-glucosamine (deacetylated unit) and N-acetyl-D-glucosamine (acetylated unit). It is produced commercially by deacetylation of chitin, which is a structural component of the exoskeleton of crustaceans. She is able to form films and edible and/or biodegradable coatings. With the objective to evaluate the effect of different doses of gamma radiation (0, 5, 10 and 15 kGy) and chitosan concentrations (1 and 2%) in film properties, it was evaluated its optical, mechanical and morphological properties. The films were produced by casting. Irradiation did not affect the thickness of the films, but influenced its colors, increasing the tone of the film for a stronger yellowish color. Irradiated films showed smoother surface and less rough, and poor mechanical properties.

Keywords: biodegradable films, chitosan, gamma irradiation, optical, morphology and mechanical properties.

1. INTRODUÇÃO

Embalagens biodegradáveis provindas de fontes renováveis como alternativa às embalagens plásticas sintéticas são cada vez mais estudadas com objetivo de melhorar a qualidade do meio ambiente. As macromoléculas biológicas mais utilizadas para esse fim são as proteínas e os polissacarídeos, polímeros capazes de formar matrizes contínuas e, que através de diversas técnicas de produção, podem ser transformadas em filmes e revestimentos comestíveis e/ou biodegradáveis (THARANATHAN, 2003, PELISSARI et al., 2012).

Coberturas são definidas como uma camada fina de material que é aplicada diretamente no alimento de forma líquida pelo método de imersão ou aspersão, enquanto que filmes são estruturas pré-formadas, independentes, que são utilizadas para envolver o alimento após o seu processamento (FLAGUERA et al., 2011). São preparados a partir de materiais biológicos que agem como barreira a elementos externos (fatores como umidade, óleo e gases), reduzem a perda de massa e as taxas de respiração durante o transporte e a estocagem, aumentando seu período de conservação e conferindo aparência brilhante e atraente (AZEREDO, 2003).

A produção de embalagens exige materiais resistentes à ruptura e à abrasão para proteger o produto embalado, mantendo a sua flexibilidade para se adaptar às deformações eventuais do produto (PELISSARI et al., 2012). As propriedades funcionais dos filmes plásticos mais importantes são as propriedades ópticas, mecânicas e de barreira (TANADA-PALMU e GROSSO, 2003).

Em razão da quitosana formar facilmente filmes e membranas em soluções ácidas diluídas, ela é um polissacarídeo bastante utilizada na formação de um filme transparente semi-permeável, que pode ser utilizado como envoltório protetor de alimentos frescos para aumentar sua vida de prateleira (ARANCIBIA et al., 2014). Além disso, ela é um atrativo para a indústria alimentar pois constitui-se de fibras não digeríveis, não apresenta, portanto, valor calórico, e devido a sua biocompatibilidade, biodegradabilidade e por ser derivada de biomassa abundante e barata (SZYMANSKA e WINNICKA, 2015).

A irradiação gama é um método físico que, quando aplicado à quitosana, possui a finalidade de alterar as suas características e melhorar as propriedades dos filmes. A irradiação, ao ser aplicado em polímeros, formam pontes fortes entre as macromoléculas e há reticulação das proteínas, promovendo melhora nas propriedades mecânicas e de barreira dos materiais (CHANTRA et al., 2006).

O objetivo deste estudo foi avaliar o efeito da irradiação nas propriedades ópticas, microscópicas e mecânicas de filmes a base de quitosana.

2 MATERIAIS E MÉTODOS

2.1 MATERIAIS

A quitosana em pó, peso molecular médio e grau de desacetilação de 85%, foi comprada da empresa Polymar, situada em Fortaleza (CE).

O experimento foi realizado no Laboratório de Frutas e Hortaliças da Universidade Federal do Tocantins, Palmas/TO, (elaboração dos filmes e análise de cor) e no Laboratório Multiusuário da Universidade Federal de Goiás, Goiânia/ GO (espessura, microscopia eletrônica de varredura e propriedades mecânicas).

2.2 MÉTODOS

2.2.1 Irradiação da quitosana

O pó de quitosana foi dividido em quatro porções, de pesos iguais, e acondicionados em sacos de polietileno. Foram submetidos à doses de 0 (controle); 5, 10 e 15 kGy, utilizando o irradiador comercial com fonte de ^{60}Co com taxa de irradiação de 0,6 kGy/hora. A irradiação foi feita no Centro de Energia Nuclear na Agricultura (CENA/USP), localizado em Piracicaba (SP). A amostra controle (0 kGy) foi mantida nas mesmas condições, sem irradiação.

2.2.2 Solução de quitosana

Foram preparadas soluções filmogênicas de quitosana com concentrações de 1% e 2%. Foram adicionados 5g e 10g de quitosana, respectivamente, em 25 mL de ácido acético glacial e o restante de água destilada até completar 500mL para dissolver a quitosana. A solução ficou em constante agitação no Turrax até completa dissolução.

2.2.3 Elaboração dos filmes de quitosana

Os filmes foram produzidos pelo método de *casting* segundo Garcia et al. (2015), com adaptações pois foram secas a temperatura ambiente. Soluções filmogênicas foram preparadas, conforme descrito no item 2.2.2, e 15mL de solução de cada tratamento foi despejado em placas de petri de polietileno de 9cm de diâmetro. As placas foram colocadas

em superfície plana, deixando secar por dois dias ou até a formação completa do biofilme. Os filmes foram retirados das placas de petri, identificados e armazenados em dessecador com sílica gel.

2.2.4 Caracterização dos filmes

2.2.4.1 Espessura

A espessura foi determinada através de um micrometro digital. A espessura foi calculada pela média aritmética de três medidas aleatórias em diferentes segmentos do filme.

2.2.4.2 Cor

O sistema CIE foi utilizado para calcular os parâmetros: luminosidade (L^*), de preto (0) até branco (100); a^* (intensidade da cor verde a vermelho) e b^* (intensidade da cor amarelo a azul). Os parâmetros de cor foram determinados através do *software* do equipamento. Em cada amostra, cinco leituras foram realizadas.

Também foram calculados o índice croma (C^*), considerado atributo quantitativo de cor (Equação 1) e hue (h^*), considerado o atributo qualitativo de cor (Equação 2).

$$C = (a^{*2} + b^{*2})^{1/2} \quad (1)$$

$$h = \tan^{-1} \left(\frac{b^*}{a^*} \right) \quad (2)$$

A opacidade dos filmes foi determinada de acordo com o método HunterLab (1997) utilizando o mesmo equipamento da determinação da cor (operando no modo de transmitância), após a calibração do mesmo com um fundo padrão branco e um fundo padrão negro (Equação 3).

$$\% \text{ opacidade} = \frac{T_{\text{negro}}}{T_{\text{branco}}} \cdot 100 \quad (3)$$

onde: T_{negro} = transmitância do filme sobreposto a um fundo negro;

T_{branco} = transmitância do filme sobreposto a um fundo branco.

2.2.4.3 Microscopia eletrônica de varredura (MEV)

As amostras a serem analisadas foram montadas em suporte de alumínio ou “stubs” com fita adesiva dupla-face, em seguida, foram colocadas em câmara metalizadora (SCO – 040 Marca Balzers), para serem revestidas com uma capa de ouro. A microscopia eletrônica

de varredura foi realizada no microscópio eletrônico (JEOL – JSM 6610, Japão), utilizando-se um acelerador de voltagem de 2,5kV.

2.2.4.4 Propriedades Mecânicas

As análises de tensão na ruptura (TR) e alongação na ruptura (E) dos filmes foram realizadas com o texturômetro (Stable Micro System – Surrey, TA.XT.plus Texture Analyser, Inglaterra), operando de acordo com o método ASTM D 882-91 (ASTM, 1995). As dimensões das amostras dos filmes foram 6,0 x 1,0 cm, e a espessura foi determinada conforme descrito no Item 2.2.4.1 . Os filmes eram fixados por duas garras corrugadas distantes 6,0 cm entre si e uma delas se movimentava a uma velocidade de 0,21 mm/s. A tensão de ruptura do filme foi calculada dividindo a força máxima no rompimento pela área da seção transversal (Equação 4):

$$TR = \frac{Fm}{As} \quad (4)$$

Onde: TR é a tensão na ruptura (MPa), Fm a força máxima no rompimento (N) e a As a área da seção transversal inicial da amostra (m²).

A porcentagem de alongação na ruptura foi calculada dividindo a alongação pelo tamanho inicial do filme e multiplicando por 100.

2.2.5 Análise estatística

A análise estatística dos resultados foi efetuada pelo teste de Tukey ($p \leq 0,05$), utilizando o programa estatístico SISVAR 5.6 (FERREIRA, 2008).

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 ESPESSURA

Os valores das espessuras dos filmes de quitosana nas diferentes doses de radiação gama estão apresentados na Tabela 3.1. Os resultados para as diferentes formulações dos filmes mostraram diferenças significativas entre os valores de espessura, indicando que a incorporação da quitosana em concentrações maiores tendeu, de maneira geral, a causar um incremento na espessura do filme. Os filmes com concentração de 2% de quitosana apresentaram o dobro do valor da espessura que os filmes de 1%, indicando que a espessura agiu de forma proporcional à concentração do pó de quitosana.

Tabela 3.1. Espessura (mm) de filmes biodegradáveis a base de quitosana irradiada.

Concentração (%)	Dose (kGy)			
	0	5	10	15
1	0,07 ^{a*B**} ±0,003	0,049 ^{bB} ±0,002	0,059 ^{abB} ±0,002	0,067 ^{aB} ±0,012
2	0,139 ^{aA} ±0,010	0,104 ^{bA} ±0,027	0,105 ^{bB} ±0,008	0,124 ^{aA} ±0,003

*Letras minúsculas diferentes indicam diferença significativa ($p < 0,05$) entre as colunas (doses).

**Letras maiúsculas diferentes indicam diferença significativa ($p < 0,05$) entre as linhas (concentração).

A espessura média dos filmes com 1% de quitosana variou entre 0,049±0,002 e 0,07±0,003, e com 2% de quitosana entre 0,104±0,027 e 0,139±0,01 para os diferentes tratamentos. O controle da espessura dos biofilmes é de grande dificuldade, sobretudo nos processos de produção do tipo *casting*, pois pode haver desnível na superfície que as placas estão secando, assim como variação de umidade e temperatura.

A irradiação não apresentou uma influência nítida nos resultados. Nas doses de 5 e 10 kGy, os filmes apresentaram-se mais finos e na dose de 15 kGy, mais espessos, valores mais próximos aos do filme sem irradiação. Garcia et al. (2015) apresentou valores de espessura que variaram de 0,067 a 0,077 mm para filmes de quitosana a 1,5 e 2% de concentração, a 1% de ácido láctico, com doses de radiação de 0, 5, 10, 20 e 50 kGy. Eles atribuíram essa variação devido à diferença no teor de umidade entre os filmes, o qual possui uma alta afinidade pela

água a ser protonada, tornando-as mais hidrofílicas que o pó de quitosana (FERNANDEZ, 2004).

Trejo et al. (2001) obteve valores de espessura de 0,02 e 0,033 mm para filmes de quitosana a 1 e 2% de concentração, respectivamente, os dois em 1% de ácido acético. Fernandez et al. (2004) reportou valores de espessura de 0,054 mm. Ojagh et al. (2010) também apresentou valores de 0,095 mm para filmes de quitosana a 2% de concentração em 1% de ácido acético. Aljawish et al. (2016) reportou valores de 0,034mm, para filmes de quitosana a 1% de concentração em 1% de ácido acético.

3.2 COR E OPACIDADE

Cor é uma propriedade importante na aparência do filme. As medidas da cor dos filmes (Tabela 3.2) refletem a influência da concentração da quitosana e da dose aplicada de radiação nas coordenadas cromáticas desses filmes.

Observou-se uma tendência na diminuição do brilho com o aumento da concentração da quitosana e da dose de radiação. Na concentração de 1%, a diferença significativa esteve presente na dose de 5 kGy, com L^* 87,98, já na de 2%, os menores valores encontrados foram nas doses 10 e 15 kGy, com L^* 85,45 e 86,02. Garcia et al. (2015) apresentaram menor valor de L^* na dose de 50 kGy, com valores de 78 e 71 nas concentrações de 1,5 e 2% de quitosana. Rhim et al. (2006) incorporaram nanopartículas nas concentrações de 5% de quitosana, obtendo filmes com valores de L^* entre 66,8 e 85,8.

Da mesma forma foi reportado por Casariego (2009) valores de L^* de 92,79 e 91,34 para filmes de quitosana a 1,5 e 2% de concentração, respectivamente. Garcia et al. (2015) obtiveram valores de 81,6 e 74,8, para concentrações de 1,5 e 2% e Wang et al. (2013) obtiveram filmes de 1% com L^* de 86,28.

Os filmes obtidos apresentaram valores de b^* com diferença significativa entre as doses de radiação e as concentrações 1 e 2% de quitosana. Os filmes sem irradiação e menor concentração apresentaram menores valores, entre b^* 3,71 e 10,26, e com maior dose e concentração valores entre 4,25 e 11,61, ambos menos amarelados que aqueles reportados por Garcia et al. (2015), 18,1 e 21,64. Park et al. (2002) reportou valores de 15,43 para b^* em filmes de 2% de quitosana. Essas variações são influenciadas pela espessura do filme e também pelo método de obtenção de quitosana (CASARIEGO, 2009).

O aumento da dose de radiação influenciou no aumento do tom amarelado do filme. Os valores de C^* mostram um comportamento similar ao descrito por b^* , sendo que, quanto

maior os valores de croma, maior é a intensidade da cor das amostras (GRANATO e MASSON 2010). A irradiação afetou o valor de C*, levando a intensidade da cor amarela de mais fraco para mais forte. Segundo Garcia et al. (2015), os filmes que contém em sua formulação maior concentração de quitosana apresentam uma cor amarelada mais intensa, verificado também no nosso trabalho, o que pode interferir na sensorial do produto quando utilizado para embalagens de alimentos.

Tabela 3.2. Efeito da radiação gama na cor de filmes biodegradáveis de quitosana.

Parâmetro	Solução				
	Concentração (%)	Dose (kGy)			
		0	5	10	15
L*	1	89,22 ^{aA**} ±0,32	87,98 ^{bA} ±0,45	88,87 ^{aA} ±0,1	89,02 ^{aA} ±0,28
	2	86,93 ^{aB} ±0,17	86,54 ^{aB} ±0,1	85,45 ^{aB} ±0,54	86,02 ^{aB} ±0,2
a*	1	0,03 ^{aA} ±0,01	-0,03 ^{bA} ±0,02	-0,13 ^{cA} ±0,01	-0,12 ^{cA} ±0,04
	2	-0,5 ^{bB} ±0,02	-0,58 ^{bB} ±0,01	-0,57 ^{bB} ±0,03	-0,32 ^{aB} ±0,02
b*	1	3,71 ^{bB} ±0,12	4,85 ^{aB} ±0,89	4,47 ^{aB} ±0,9	4,25 ^{aB} ±0,5
	2	10,26 ^{bA} ±0,4	10,17 ^{bA} ±0,5	11,66 ^{aA} ±0,4	11,61 ^{aA} ±0,5
C*	1	3,71 ^{bB} ±0,11	4,85 ^{aB} ±0,89	4,47 ^{aB} ±0,91	4,25 ^{aB} ±0,50
	2	10,27 ^{bA} ±0,44	10,18 ^{bA} ±0,54	11,67 ^{aA} ±0,49	11,61 ^{aA} ±0,49
h*	1	89,54 ^{aA} ±0,31	89,64 ^{aA} ±0,39	88,33 ^{aA} ±0,1	88,38 ^{aA} ±0,27
	2	87,21 ^{bB} ±0,19	86,73 ^{bB} ±0,15	87,2 ^{bA} ±0,55	88,42 ^{aA} ±0,23

*Letras minúsculas diferentes indicam diferença significativa ($p < 0,05$) entre as colunas (doses).

**Letras maiúsculas diferentes indicam diferença significativa ($p < 0,05$) entre as linhas (concentração).

A mudança na cor dos filmes está relacionada com as mudanças químicas e biológicas da molécula. O escurecimento resultante da irradiação pode ser atribuída ao aumento de grupos C=O da quitosana devido a reação da quebra da cadeia e também pela reação de Maillard entre os grupos NH₂ e OH. Zainol et al. (2009) notaram mudanças visíveis na luminosidade das amostras analisadas, tendo que a quitosana irradiada a 100 kGy foi a mais escura quando comparada às outras doses de 50, 25 e 10 kGy. Garcia et al. (2015) observaram um escurecimento nos filmes nas doses entre 10 e 50 kGy.

A cor propriamente dita, que é a tonalidade dada pelo croma h* reforça mais uma vez que a cor dos filmes é amarela. Porém a irradiação não afetou o tom da amostra na concentração de 1%, não apresentando diferença significativa entre as doses. Na concentração de 2%, houve um ligeiro aumento no tom na dose de 15 kGy.

A opacidade do filme é uma propriedade de grande importância quando se deseja utilizar como embalagem alimentícia. Em alguns casos, a proteção contra a luz incidente é necessária, especialmente para produtos que são sensíveis a reações de degradação catalisada por luz (PELISSARI et al., 2012). Em outros, a transparência é desejável para que os consumidores possam ver o produto que estão comprando, apresentando uma boa apresentação visual para as embalagens. Os valores encontrados de opacidade dos filmes estão apresentados na tabela 3.3.

Tabela 3.3. Opacidade (%) de filmes biodegradáveis a base de quitosana irradiada.

Concentração (%)	Dose (kGy)			
	0	5	10	15
1	46,78 ^{aB} ±1,86*	47,32 ^{aB} ±1,41	46,28 ^{aB} ±1,53	48,03 ^{aB} ±1,22
2	53,29 ^{aA} ±1,72	50,60 ^{bA} ±1,27	50,82 ^{bA} ±0,37	52,17 ^{aA} ±0,22

*Letras minúsculas diferentes indicam diferença significativa ($p < 0,05$) entre as colunas (doses).

**Letras maiúsculas diferentes indicam diferença significativa ($p < 0,05$) entre as linhas (concentração).

As diferentes concentrações de quitosana influenciaram significativamente ($p < 0,05$) a opacidade dos filmes, sendo os filmes de 2% mais opacos, ou seja, valores 53,29%, contra 46,28% dos filmes com 1% de quitosana. Já a irradiação não apresentou resultados com tendência bem definida, houve uma pequena variação entre os valores, porém não foi detectada uma variação visual na opacidade dos filmes. Os filmes produzidos estão apresentados na Figura 3.1, e são considerados como translúcidos.

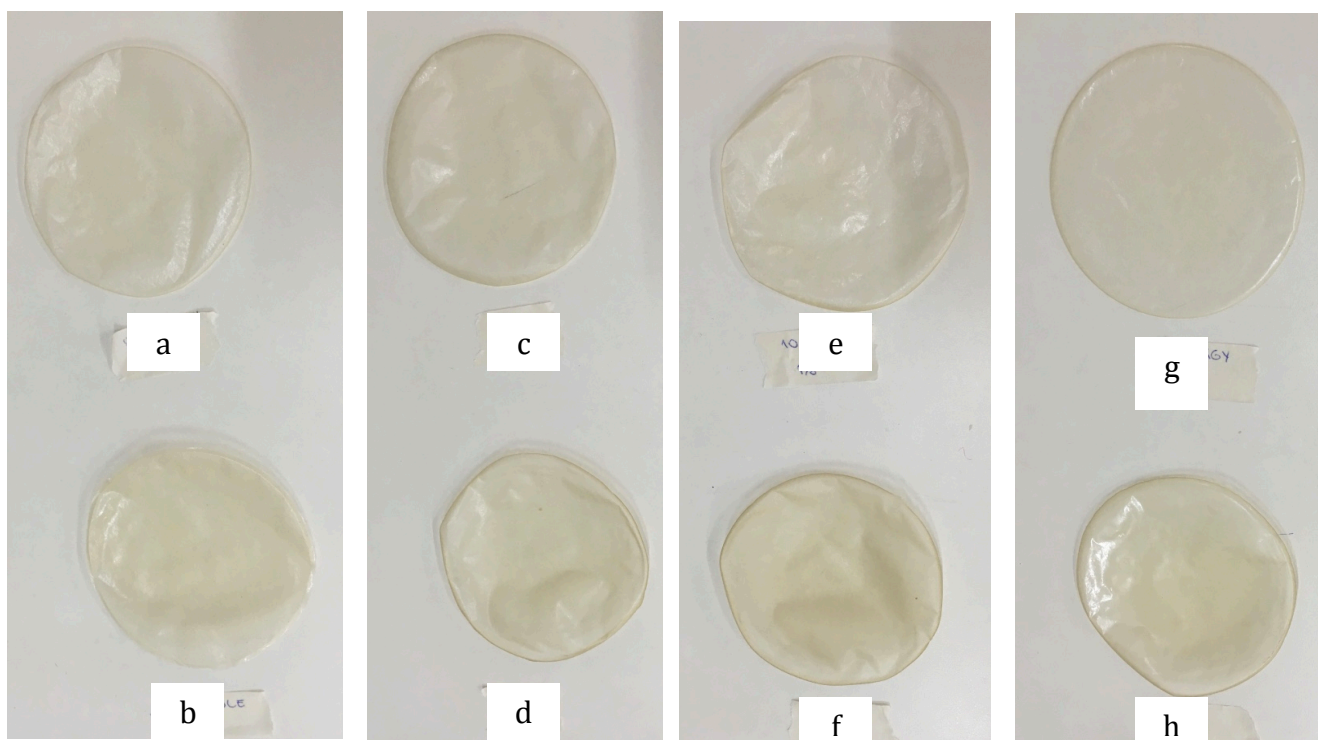


Figura 3.1. Cor dos filmes obtidos (a) controle 1% de quitosana, (b) controle 2% de quitosana, (c) 5 kGy 1% de quitosana, (d) 5 kGy 2% de quitosana, (e) 10 kGy 1% de quitosana, (f) 10 kGy 2% de quitosana, (g) 15 kGy 1% de quitosana, (h) 15 kGy 2% de quitosana.

3.3 MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE VARREDURA

A estrutura superficial dos filmes representa um papel importante no entendimento das propriedades dos mesmos. As micrografias estão apresentadas na Figura 3.2.

As imagens que apresentaram mais lisas e homogêneas foram as amostras controle e a tratada com 15 kGy de radiação, e a que apresentou mais irregularidades e rugosidades foi a de 5 kGy de radiação, todas de 1% de concentração de quitosana. Devido à baixa solubilidade da quitosana, dificuldades foram encontradas para completa dissolução do pó na solução. Esse pode ter sido um motivo pelo qual a amostra 5 kGy com 1% de quitosana apresentou mais imperfeições na sua superfície, devido ao acúmulo de material presente no filme analisado, associado à sua espessura que foi a menor apresentada entre os filmes, 0,049mm. Em contrapartida, o filme com 15 kGy foi o mais espesso, 0,067mm, apresentando uma superfície mais lisa e com menos imperfeições.

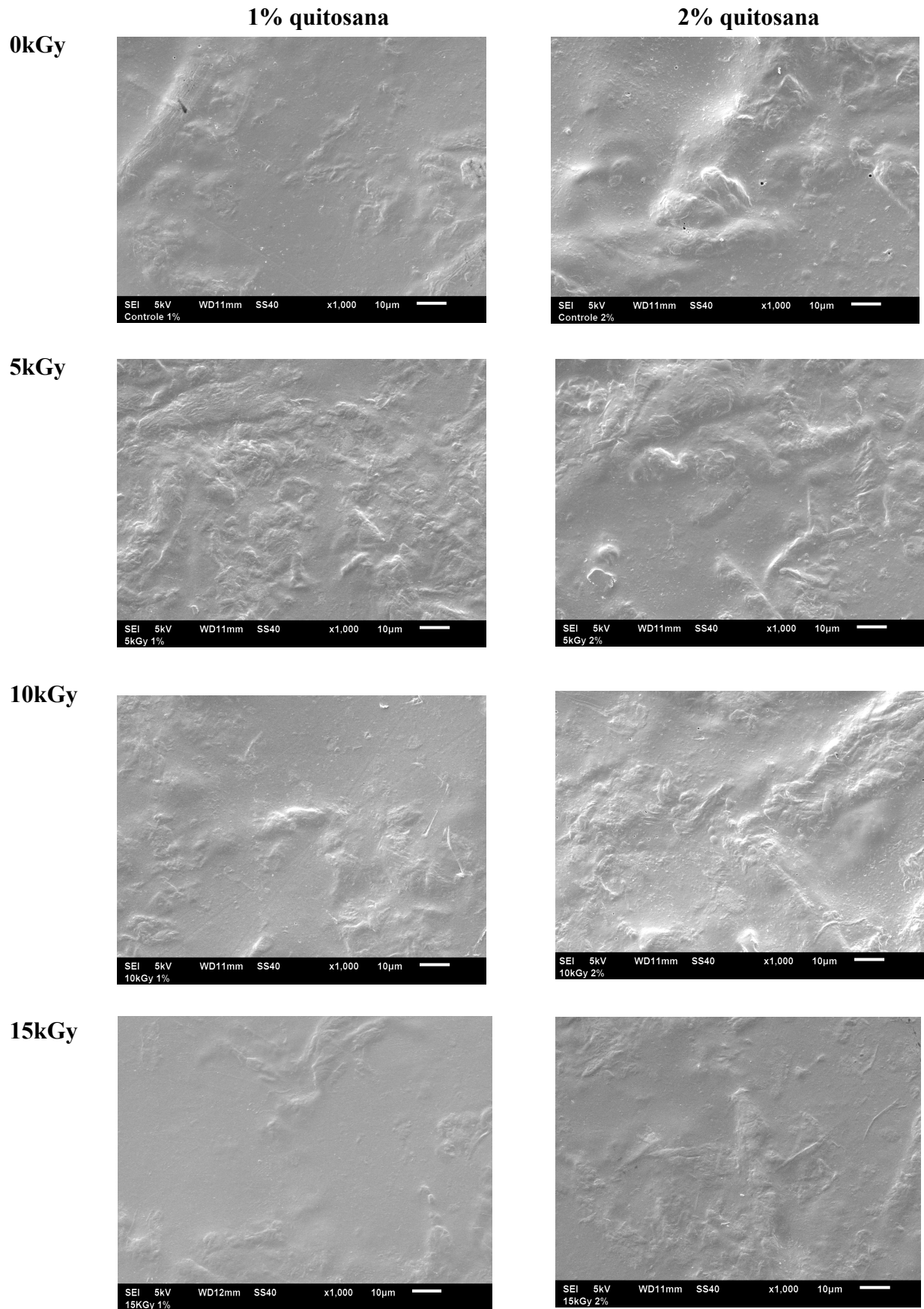


Figura 3.2. MEV de filmes biodegradáveis a base de quitosana irradiada.

Sharmin et al., (2012) analisaram a microscopia dos filmes de quitosana sem nenhum tratamento e com irradiação de 10 kGy de dose e inserção da molécula de silano. Resultados diferentes entre os filmes foram obtidos, sendo que a superfície do filme sem tratamento apresentou irregular e áspera, e o filme irradiado e com silano revelou uma estrutura homogênea, mais suave e sem defeitos graves. Um revestimento de polisiloxano é formado durante a irradiação e ele é o responsável pela superfície mais lisa.

A radiação gama na dose de 20 kGy influenciou os resultados de Ferreira (2010), reduzindo a rugosidade e estrutura porosa nas membranas quitosano-g-HEMA, devido à reticulação do polímero. Yan et al. (2001) relatam que os filmes que utilizam quitosana de baixa e média massa molar ($1,3 \times 10^5$ g/gmol) apresentam superfície com estrias finas e homogeneamente distribuídas. No entanto, filmes com quitosana de massa molar alta (10×10^5 g/gmol) apresentam superfície mais ondulada e com estrias mais intensas. A massa molar da quitosana utilizada neste trabalho foi fornecida pela empresa Polymar, sendo $3,7 \times 10^5$ g/gmol, ou seja, está entre a massa molar média e a alta utilizada por Yan et al. (2001).

A mistura de polímeros estudada por Mollah et al. (2016) apresentou um resultado fantástico na preparação de filmes biodegradáveis para alimentos. A quitosana, amido e uma resina natural (Acacia catechu) foram misturados e apresentaram uma superfície homogênea, livres de bolhas e irregularidades. Essas características são indicadores de boa integridade estrutural e boas propriedades mecânicas, ideal para aplicações em embalagens de alimentos.

De uma maneira geral, os filmes com maiores concentrações de quitosana apresentaram superfície mais ondulada e com estrias mais intensas, já que a quantidade de grânulos tende a aumentar com o aumento da concentração da solução. A irradiação, ao degradar a molécula com a quebra na cadeia da quitosana separando as ligações glicosídicas 1-4, apresentou uma superfície menos rugosa nos filmes; que é um indicador de boa integridade estrutural e de boas propriedades mecânicas.

3.4 PROPRIEDADES MECÂNICAS

Propriedades mecânicas são importantes para identificar a habilidade do filme em suportar o stress durante o manuseio, transporte e armazenamento e, em seguida, para proteger a integridade do alimento.

Os valores obtidos de tensão de ruptura, TR, (Figura 3.3) são baixos, todos próximos a 2 MPa. Na concentração de 1%, a dose de 5 kGy apresentou maior valor, se diferindo significativamente dos demais. O filme com esta dose, apesar de apresentar maior

rugosidade, como visto no MEV, é o que suporta uma maior tensão de ruptura. O mesmo ocorreu com as doses 5 e 10 kGy na concentração de 2%, com resultados de 2,3MPa, enquanto o filme com 15 kGy apresentou comportamento semelhante ao filme controle, de 1,6MPa. No entanto, os valores continuaram bem abaixo dos encontrados por Garcia et al. (2015), com tensão de 15 MPa nas doses de radiação de 5, 10 e 20 kGy e de Lim et al. (1998) com valores de 61,9; 100,3; 101,8; 98 MPa nas doses 0, 3.7, 11, 18 kGy, respectivamente.

Os filmes de 2% apresentaram maiores valores de TR, pois com o aumento da concentração de quitosana na formação dos filmes, a quantidade de ligações de hidrogênio e grupos hidroxilo e amino também aumenta. Essa tendência é similar aos trabalhos de Garcia et al. (2015) e Casariego et al. (2008), que avaliaram filmes a 1, 1,5 e 2% de concentração, 1% de ácido láctico e Tween 80.

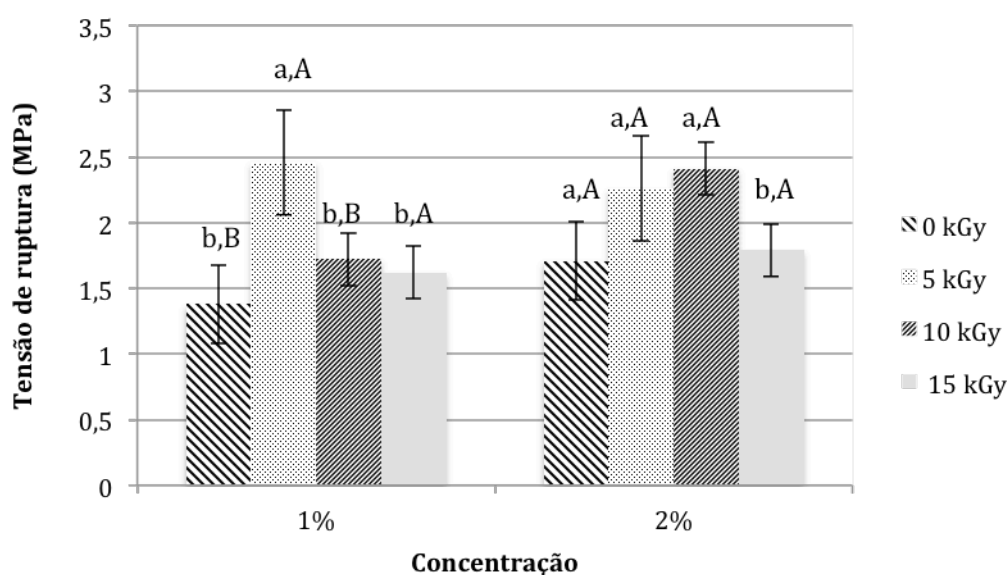


Figura 3.3. Tensão de ruptura (MPa) de filmes biodegradáveis a base de quitosana irradiada. Letras minúsculas diferentes indicam diferença significativa ($p<0,05$) entre as colunas (doses). Letras maiúsculas diferentes indicam diferença significativa ($p<0,05$) entre as linhas (concentração).

Os valores de alongação, E, (Figura 3.4) também foram baixos. Em ambas concentrações não houve diferença significativa entre as doses de radiação, porém estes se diferenciaram dos filmes controle, que apresentaram valores maiores (5%). Comportamento similar foi observado por Zainol et al. (2009), onde a alongação dos filmes diminuiu com o aumento da dose de radiação, analisados nas doses 10, 25, 50 e 100 kGy.

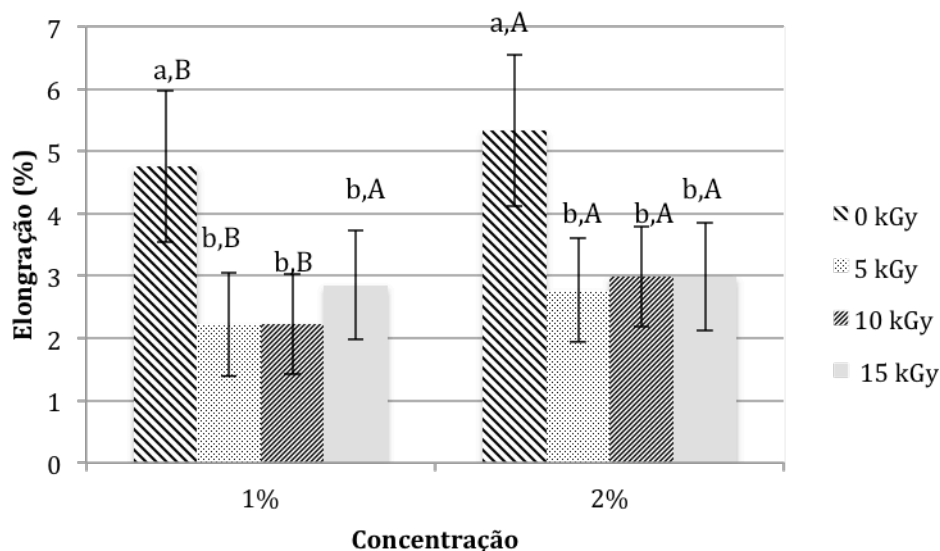


Figura 3.4. Elongação (%) de filmes biodegradáveis a base de quitosana irradiada.

Letras minúsculas diferentes indicam diferença significativa ($p < 0,05$) entre as colunas (doses).

Letras maiúsculas diferentes indicam diferença significativa ($p < 0,05$) entre as linhas (concentração).

Não foi visualizado uma relação entre o aumento da TR com o decréscimo de E, como observado por Lim et al. (1998) e Garcia et al. (2015). Já Chen e Hwa (1996) informaram que para filmes de quitosana de baixa massa molecular, a TS é baixa possivelmente devido à baixa cristalinidade e quebra de cadeia das moléculas, comportamento visualizado no nosso trabalho. Para melhorar as propriedades mecânicas dos filmes de quitosana, Fernandes et al. (2010) adicionaram fibras de nanocelulose.

As diferenças encontradas entre os valores obtidos e os estudos acima citados podem ser devido ao efeito do ácido utilizado na solubilização da quitosana, da concentração da quitosana e na espessura e conteúdo de umidade dos filmes obtidos.

Em trabalhos com filmes biodegradáveis a base de amido, a adição da quitosana aumentou a eficácia da TR de forma significativa, agindo como um reforço aos filmes, tornando-os mais rígidos. A melhor relação encontrada foi de 50% quitosana 50% amido, pois os filmes apresentaram valores ótimos de TR e E e se mantiveram transparentes (MOLLAH et al., 2016).

CONCLUSÃO

A maior concentração de quitosana na solução filmogênica causou um incremento na espessura do filme, no entanto, a irradiação não influenciou esse parâmetro. Um efeito mais intenso na tonalidade dos filmes foi visualizado com o aumento da dose de radiação, levando a intensidade da cor amarelada de mais fraco para mais forte. Os filmes com maiores concentrações de quitosana apresentaram superfície mais ondulada e com estrias mais intensas, e os filmes irradiados apresentaram superfície mais lisa e menos rugosa, devido à degradação da molécula da quitosana. Os filmes não apresentaram boa flexibilidade e alongamento. A dose de radiação de 5 kGy foi a que causou mais modificações na molécula da quitosana, influenciando positivamente as propriedades do biofilme formado.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALJAWISH, A.; MUNIGLIA, L.; KLOUJ, A.; JASNIEWSKI, J.; SCHER, J.; DESOBRY, S. Characterization of filmes based on enzymatically modified chitosan derivatives with phenol compounds. **Food Hydrocolloids**, 551-558, 2016.
- ARANCIBIA, M. Y.; ALEMAN, A.; CALVO, M. M.; LOPEZ-CABALLERO, M. E.; MONTERO, P., & GOMEZ-GUILLEN, M. C. Antimicrobial and antioxidant chitosan solutions enriched with active shrimp (*Litopenaeus vannamei*) waste materials. **Food Hydrocolloids**, 35, p. 710-717, 2014.
- ASTM D 882-91, Standard test methods for tensile properties of thin plastic sheet- ing, En Annual Book of ASTM Standards, American Society for Testing and Materials, Philadelphia, 1995.
- AZEREDO, H. M. C. Películas comestíveis em frutas conservadas por métodos combinados: potencial da aplicação. **Boletim do CEPPA**, Curitiba, v. 21, n.2, 2003.
- CASARIEGO, A.; SOUZA, B. W. S.; VICENTE, A. A.; TEIXEIRA, J. A.; CRUZ, L.; DÍAZ, R. Chitosan coating surface properties as affected by plasticizer, surfactant and polymer concentrations in relation to the surface properties of tomato and carrot, **Food Hydrocolloids**, 22, p. 1452–1459, 2008.
- CASARIEGO, A. Desarrollo de películas y coberturas de quitosana de empelo potencial en alimentos. Doctoral thesis, University of Havana, 194 p., 2009.
- CHANTRA, T. R.; ABDULLA, Z.; ISMAIL, H. Electron beam irradiation of EVA/ENR. **Blend. Polymer-Plastics Technology and Engineering**, Glen Allen, v. 45, n. 4, p. 555–559, 2006.
- CHEN, R. H.; HWA, H. D. Effect of molecular weight of chitosan with the same degree of deacetylation on thermal, mechanical and permeability properties of the prepared membrane, **Carbohydrate Polymers**, 29, p. 353–358, 1996.
- FERNANDES, S. C. M.; FREIRE, C. S. R.; SILVESTRE, A. J. D.; PASCOAL NETO, C.; GANDINI, A.; BERGLUND, L. Transparent chitosan films reinforced with a high content of nanofibrillated cellulose. **Carbohydrate Polymers**, 81, 394–401, 2010.
- FERREIRA, D. F. SISVAR: um programa para análises e ensino de estatística. **Revista Symposium** (Lavras), v. 6, p. 36-41, 2008.
- FERREIRA, L. M.; CASIMIRO, M. H.; LEAL, J. P.; FALCÃO, A. N.; GIL, M. H. Matrizes poliméricas modificadas por radiação gama para bioaplicações. Encontro Nacional de Materiais e Estruturas Compósitas, 2010.
- FERNÁNDEZ, M.; HEINÄMÄKI, J.; KROGARS, K.; JÖRGENSEN, A.M.; IRAIZOZ, A.; YLIRUUSI, J. Solid- state and mechanical properties of aqueous chitosan-amylose starch films plasticized with polyols. **Pharmaceutical Science and Technology** 5 (1) 109–114, 2004.

FLAGUERA, V.; QUINTERO, J.P.; JIMÉNEZ, A.; UMÑOZ, J.A.; IBARZ, A. Edible films and coatings: Structures, active functions and trends in their use. **Food Science & Technology**, v. 22, p. 292-303, 2011.

GARCIA, M.A.; PÉREZ, L.; PAZ, N.; GONZÁLEZ, J.; RAPADO, M.; CASARIEGO, A. Effect of molecular weight reduction by gamma irradiation on chitosan film properties. **Materials Science and Engineering C**, 174-180, 2015.

GRANATO, D.; MASSON, M. L. Instrumental color and sensory acceptance of soy-based emulsions: a response surface approach. **Ciência e Tecnologia de Alimentos. Campinas**, vol. 30, n. 4, p. 1090-1096, 2010.

HUNTERLAB. Universal Software Versions 3.2 and Above. User's Manual Hunter Associates Laboratory, Reston, VA, 1997.

LIM, L. Y.; KHOR, E.; KOO, O. γ Irradiation of chitosan, **Journal of Biomedical Materials Research**. 43, p. 282–290, 1998.

MOLLAH, M.Z.I.; AKTER, N.; QUADER, F.B.; SULTANA, S.; KHAN R.A. Biodegradable Colour Polymeric Film (Starch-Chitosan) Development: Characterization for Packaging Materials. **Open Journal of Organic Polymer Materials**, p.6, 11-24, 2016.

OJAGH, S.M.; REZAEI, M.; RAZAVI, S.H.; HOSSEINI, S.M. Development and evaluation of a novel biodegradable film made from chitosan and cinnamon essential oil with low affinity toward water. **Food Chemistry**, 122, 161–166, 2010.

PARK, S.Y.; MARSH, K.S.; RHIM, J.W. Characteristics of different molecular weight chitosan films affected by the type of organic solvents. **Journal of Food Science: Food Eng. Phys. Prop.** 67 (1), 104–197, 2002.

PELLISSARI, F. M.; YAMASHITA, F.; GARCIA, M. A.; MARTINO, M. N.; ZARITZKY, N. E.; GROSSMANN, M. V. E. Constrained mixture design applied to the development of cassava starch–chitosan blown films. **Journal of Food Engineering**, Londres, v. 108, n. 2, p. 362-367, 2012.

RHIM, J.; HONG, S.; PARK, H.; PERRY, K.W. Preparation and characterization of chitosan-based nanocomposite films with antimicrobial activity. **Journal Agriculture Food Chemistry** 54, 5814–5822, 2006.

SHARMIN, N.; KHAN, R. A.; DUSSAULT, D.; SALMIERI, S.; AKTER, N.; LACROIX, M. Effectiveness of silane monomer and gamma radiation on chitosan films and PCL-based composites. **Radiation Physics and Chemistry** 81, p. 932-935, 2012.

SZYMANSKA, E; WINNICKA, K. Stability of chitosan - a challenge for pharmaceutical and biomedical applications. **Marine Drugs**, 13, 1819–1846, 2015.

TANADA-PALMU, GROSSO, C. R. F. Development and characterization of edible films based on gluten from semi hard and soft Brazilian wheat flours. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 23, n. 2, p. 264-269, 2003.

THARANATHAN, R. N. Biodegradable films and composite coatings: past, present and future. **Trends in Food Science and Technology**, v.14, p.71-78, 2003.

TREJO, V.; ARAGÓN, N.; MIRANDA, P. Estimación de la permeabilidad al vapor de agua en películas a base de quitosán. **Revista de la Sociedad Química de México** 45 (1), 1-5, 2001.

WANG, L.; DONG, Y.; MEN, H.; TONG, J.; ZHOU J. Preparation and characterization of active films based on chitosan incorporated tea polyphenols. **Food Hydrocolloids** 32, 35–41, 2013.

YAN, X-L.; KHOR, E.; KIM, L-Y. Chitosan-alginate films prepared with chitosan of different molecular weights. **Journal of Biomedical Materials Research: Applied Biomaterials**, v. 58, n. 4, p. 358-364, 2001.

ZAINOL, I.; AKIL, H. M.; MASTOR, A. Effect of gamma irradiation on the physical and mechanical properties of chitosan powder. **Materials Science and Engineering C** 29, 292–297, 2009.

CONCLUSÃO GERAL

A quitosana representa uma boa alternativa de matéria-prima na elaboração de filmes biodegradáveis.

Os diferentes tratamentos aplicados promoveram mudanças nas propriedades reológicas da solução filmogênica e nas propriedades ópticas e morfológicas dos filmes. Apenas as propriedades mecânicas não foram influenciadas pela irradiação.

A solução apresentou comportamento de fluido Newtoniano e a irradiação promoveu uma diminuição na viscosidade.

A opacidade dos filmes foi influenciada pela maior concentração de quitosana na solução, mas não pela irradiação. Já na cor verificamos a maior influência da irradiação na coloração amarelada dos filmes.

A irradiação causou degradação na molécula da quitosana, sendo representada pela microscopia a partir da presença de grânulos menores e arranjos irregulares na estrutura do pó e superfície mais lisa e menos rugosa nos filmes.

Os filmes não apresentaram boas propriedades mecânicas, com baixos valores de flexibilidade e alongamento.

É possível promover melhora nas propriedades dos filmes aplicando a irradiação pois apresentaram características que viabilizam sua utilização como embalagem primária em alimentos, como proteção. Porém devido à sua baixa resistência, não pode ser utilizado para manuseio e transportes. A dose de 5 kGy de radiação foi a que apresentou melhores resultados nas propriedades do biofilme.